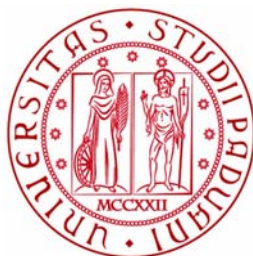


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA



DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN INGEGNERIA DELLE
TELECOMUNICAZIONI

Progetto di un Tomografo a Coerenza Ottica ad Alta Velocità

Laureando
CALABRESE MARCO

Relatore
Prof. PALMIERI LUCA

Padova, 10-04-2017

Anno Accademico 2016/2017

Ringraziamenti

Desidero ringraziare tutti coloro che mi hanno aiutato nella realizzazione della mia tesi.

Ringrazio anzitutto il professor Palmieri, Relatore, per essere stato una guida sapiente e aver speso molto tempo ad aiutarmi in questo lavoro di tesi. Proseguo con il personale di laboratorio e il gruppo di Fotonica, in particolare la Dottoressa Autizi per essere stata sempre disponibile, facilitando le mie ricerche.

Vorrei ringraziare i miei genitori, per avermi supportato durante tutto questo periodo di studi, per avermi aiutato a raggiungere questo traguardo e, soprattutto, per il supporto economico. Ringrazio la mia fidanzata per avermi supportato e sopportato in ogni momento standomi vicino in ogni occasione, e tutti i miei amici, dal primo all'ultimo, per essere stati un valido aiuto nei periodi di avversità presentatesi lungo il percorso accademico.

Sommario

Scopo di questa tesi è descrivere la tecnica definita Tomografia a Coerenza Ottica (Optical Coherence Tomography - OCT), la quale permette di ottenere immagini in due o tre dimensioni di tessuti biologici, e non, attraverso l'analisi della luce retrodiffusa dal campione preso in esame. In particolare, vengono presentati, descritti e testati i parametri fondamentali e le principali caratteristiche di un possibile sistema sperimentale implementato in laboratorio.

Le nuove tecnologie di imaging nel campo biomedicale permettono di migliorare la diagnosi e la gestione clinica di diverse malattie e patologie. Durante le ultime decadi, molte tecniche non invasive, o minimamente invasive, hanno rivoluzionato la medicina diagnostica come, ad esempio, la tomografia a raggi X, la risonanza magnetica o la tomografia a diffusione ottica (DOT). Tuttavia, attualmente la biopsia rimane la procedura standard in molte applicazioni cliniche quali la diagnosi di cancro. Inoltre, vi sono anche diverse tecniche che il cardiologo utilizza per diagnosticare e trattare le malattie coronariche come, ad esempio, la coronarografia e l'angioplastica coronarica. Tra gli strumenti che aiutano il cardiologo nella diagnosi e nel trattamento della coronaropatia vi è l'OCT: una tecnologia avanzata che fornisce informazioni aggiuntive alla coronarografia e permette di ottimizzare il risultato dell'angioplastica coronarica.

La Tomografia a Coerenza Ottica è stata presentata per la prima volta nel 1991 ricavando "*in vitro*" immagini della retina umana (imaging in mezzi trasparenti e a bassa diffusione) e di alcune placche aterosclerotiche (imaging in mezzi non trasparenti e ad alta diffusione). La prima tomografia "*in vivo*" del disco ottico umano è stata effettuata nel 1993 e da allora i miglioramenti tecnici hanno portato la tecnica OCT ad essere indispensabile nella diagnostica oftalmica. Essa permette infatti l'analisi senza contatto diretto con il tessuto a lunghezze d'onda invisibili (infrarosso) con tempi molto rapidi, i quali sono tutti fattori che risultano essere a vantaggio del paziente che non viene minimamente disturbato dall'esame. Lo sviluppo del tomografo ha portato vantaggi in molti campi della medicina odierna e permette di accedere anche agli organi interni del corpo per mezzo di cateteri ed endoscopi. In aggiunta, numerose innovazioni sono state introdotte recentemente nei campi dell'oftalmologia, della gastroenterologia e della cardiologia.

Questo lavoro di tesi si articola in sette capitoli:

Nei primi due capitoli vengono descritti i principi fisici che stanno alla base della tecnologia OCT, le tecniche di imaging ottenibili per mezzo di un Tomografo a Coerenza Ottica, e le varie tipologie di implementazioni di un sistema OCT evidenziandone i componenti, le principali caratteristiche e le possibili applicazioni.

Nel terzo e nel quarto capitolo vengono presentate le proprietà fondamentali del sistema di scanning galvanometrico (utilizzabile per la deviazione del fascio ottico) e della sorgente luminosa; in particolare, vengono descritte le caratteristiche principali e viene eseguita una caratterizzazione delle prestazioni di entrambi gli apparati.

Nel quinto capitolo vengono descritti i componenti ottici che consentono la progettazione di un tomografo e viene anche presentato il setup messo a punto specificandone i parametri teorici principali ottenibili con tale apparato sperimentale.

Nel sesto e settimo capitolo vengono presentate le diverse misure effettuate con i relativi risultati e le considerazioni conclusive.

Con il presente lavoro, dunque, si propone di dare delle indicazioni sulla realizzazione di un Tomografo a Coerenza Ottica ad alta velocità. Sviluppi futuri prevedono l'ottimizzazione del setup sperimentale per l'implementazione di un vero sistema OCT in grado di acquisire dati su campioni biologici reali.

Indice

Introduzione	7
Capitolo 1. Principi base della tecnica OCT	11
1.1. Coerenza della luce	11
1.2. Interferenza tra onde elettromagnetiche	13
1.3. Interferometria	17
1.4. Produzione delle immagini	19
1.5. Parametri fondamentali per immagini OCT	21
1.6. Confronto con altre tecnologie di imaging	25
Capitolo 2. Tomografia a Coerenza Ottica	27
2.1. Principio di funzionamento	27
2.2. Implementazione tecnica OCT	28
2.3. Sistemi OCT nel dominio del tempo	29
2.4. Sistemi OCT nel dominio della frequenza	32
2.5. Altri tipi di sistemi OCT	36
2.6. Confronto tra configurazioni	37
2.7. Inconvenienti tecnica OCT	39
2.8. Applicazioni	41
Capitolo 3. Sistema di Scanning Galvanometrico	45
3.1. Caratteristiche principali di motori e specchi	45
3.2. Connessioni elettriche	46
3.3. Caratterizzazione sistema galvanometrico	48
3.4. Gestione motori tramite MATLAB®	56
Capitolo 4. Sorgente Luminosa	59
4.1. Caratteristiche principali	59
4.2. Caratterizzazione sorgente luminosa	60
Capitolo 5. Setup Esperimento	71
5.1. Collimatore	71
5.2. Lente di Scan	72
5.3. Target per risoluzione e distorsione	74
5.4. Accoppiatori direzionali	77
5.5. Testa ottica OCT	78
5.6. Sistema di scanning completo	80
Capitolo 6. Risultati	85
6.1. Misura campo visivo	85
6.2. Misura risoluzione assiale e risoluzione trasversale	87
Capitolo 7. Conclusioni	93
Bibliografia	95

Elenco delle Figure

0.0.1: Evoluzione delle tecniche per analisi microscopica	8
0.0.2: Immagine OCT di retina umana	8
0.0.3: Prototipo di tomografo per immagini retinali	9
1.1.1: Luce incoerente e coerente	12
1.2.1: Interferenza costruttiva e distruttiva	14
1.2.2: Andamento visibilità in funzione di τ	16
1.2.3: Esempio di battimento tra due onde	17
1.3.1: Schemi di implementazione per interferometri	18
1.4.1: Esempio direzioni di scansione	19
1.4.2: Esempi di scansioni A-scan, B-scan e C-scan	20
1.4.3: Schema generale Tomografo a Coerenza Ottica	20
1.5.1: Risoluzione assiale nella tecnica OCT	23
1.5.2: Risoluzione trasversale nella tecnica OCT	24
2.3.1: Schema di sistema Time-Domain OCT	30
2.4.1: Schema sistema Spectral-Domain OCT	33
2.5.1: Schema di sistema Polarization-Sensitive OCT	37
2.6.1: Esempio di analisi TD-OCT e FD-OCT	39
2.7.1: Esempio di macchie su immagini	41
3.0.1: GVS002 Dual Axis Galvo/Mirror	45
3.3.1: Schema di pilotaggio motori sistema galvanometrico	49
3.3.2: Errore posizione - onda sinusoidale	50
3.3.3: Errore posizione - onda quadra	51
3.3.4: Errore posizione - onda scalino 10 livelli	51
3.3.5: Errore posizione - onda sinusoidale	52
3.3.6: Errore posizione - onda quadra	52
3.3.7: Errore posizione - onda quadra (peak)	53
3.3.8: Errore posizione - onda sinusoidale	53
3.3.9: Errore posizione - onda quadra	54
3.3.10: Errore posizione - onda scalino 10 livelli	54
3.3.11: Errore posizione - onda sinusoidale	55
3.3.12: Errore posizione - onda quadra	55
3.3.13: Errore posizione - onda quadra (peak)	56
4.0.1: OCT Swept Source AXP50125-6	59
4.2.1: Potenza ottica emessa in funzione di λ	61
4.2.2: Setup interferometro per battimento	61
4.2.3: Segnale uscita con battimento $\nu_B \simeq 86$ MHz	63
4.2.4: Segnale uscita con battimento nel dominio della frequenza	63
4.2.5: Segnale uscita campionato con il clock	64
4.2.6: Segnale uscita campionato nel dominio della frequenza	65
4.2.7: Segnale clock	65
4.2.8: Segnale trigger	66
4.2.9: Potenza emessa	66
4.2.10: Schema di misura per lunghezza di coerenza	67
4.2.11: Misura lunghezza di coerenza	69

5.1.1: Collimatore F280APC-C	71
5.1.2: Angolo divergenza teorico F280APC-C	72
5.2.1: Parametri principali lente di Scan	73
5.2.2: Lente LSM04: componente fisico + simulazione spot size	74
5.3.1: Target R1L1S1N	75
5.4.1: Accoppiatore direzionale	77
5.5.1: Alloggiamento testa ottica OCT	78
5.6.1: Assemblaggio sistema scanning	80
5.6.2: Circuito ottico misure	81
6.1.1: Campo visivo misurato	86
6.1.2: Potenza retrodiffusa	87
6.2.1: Target 1951 USAF	88
6.2.2: Ronchi Rulings	88
6.2.3: Star Sector	89
6.2.4: Acquisizione fuori fuoco	90
6.2.5: Acquisizione contorno campo visivo	90
6.2.6: Distorsione contorno campo visivo	91
6.2.7: Concentric Circle	91
7.0.1: Tomografo a Coerenza Ottica realizzato in laboratorio	94

Elenco delle Tabelle

5.3.1: Valori tipici risoluzione [lp=mm] 1951 USAF	76
5.4.1: Tabelle di diffusione accoppiatore 50:50	78
5.6.1: Angoli deviazione del fascio ingresso con sistema GVS002	81

Introduzione

La Tomografia a Coerenza Ottica, detta anche tecnica OCT (Optical Coherence Tomography), permette di ottenere immagini tomografiche di un sistema biologico (o una qualsiasi struttura) in due o tre dimensioni facendo incidere una radiazione luminosa e misurando le proprietà della luce retrodiffusa o riflessa. Inoltre, presenta il vantaggio di non richiedere il contatto fisico con il campione da analizzare e permette di monitorare localmente alcune patologie in tempo reale con una risoluzione di circa $1 \div 15 \mu\text{m}$.

Tali peculiarità rendono questa tecnologia particolarmente adatta ad applicazioni mediche diagnostiche, nelle quali vengono richieste strategie sempre meno invasive, veloci ed accurate. Il suo impiego in ambito medicale può rappresentare una valida alternativa a biopsie rischiose o impossibili. In particolare, un attuale utilizzo importante della tecnica OCT è in ambito oftalmico e nell'analisi della struttura oculare, dove eventuali difetti dovuti a patologie richiedono una risoluzione elevata dell'immagine micro-metrica.

Oltre al campo oftalmico, la tecnica OCT può essere applicata anche su tessuti non trasparenti e interni al corpo umano per mezzo di cateteri ed endoscopi, rendendo il Tomografo a Coerenza Ottica uno strumento prezioso in ambito:

- Oncologico: monitoraggio dello stato dei tessuti e delle cellule tumorali;
- Cardiovascolare: analisi delle placche e delle occlusioni coronariche;
- Muscolo-Scheletrico: controllo di cartilagine delle articolazioni, tendini e legamenti;
- Odontoiatrico: imaging post-intervento di occlusioni e carie.

La profondità raggiungibile risulta essere limitata dallo scattering e dall'assorbimento presentato dal tessuto preso in esame; tali parametri sono dipendenti dalla radiazione incidente e dalla lunghezza d'onda utilizzata. In aggiunta, è possibile ottenere immagini fino a $2 \div 3 \text{ mm}$ nella maggior parte dei tessuti, oppure immagini interne tramite l'utilizzo di alcuni dispositivi medici quali cateteri.

Date le sue proprietà, la tecnica OCT può essere efficacemente impiegata in quattro principali casi:

- Biopsia convenzionale rischiosa e/o impossibile;
- Biopsia soggetta a possibili errori di prelevamento dal campione;
- Guida quasi a tempo reale (real-time) in interventi chirurgici;
- Creazione di misure e di immagini funzionali¹.

Precedentemente la tomografia furono sviluppate anche altre tecniche di imaging con principi fisici simili come, ad esempio, la tecnica ad ultrasuoni (ecografia), la quale si differenzia dall'OCT per l'utilizzo di onde sonore al posto di radiazione luminosa. La grande differenza tra OCT ed ecografia sta nel fatto che la luce è circa un milione di volte più veloce rispetto al suono ($3 \cdot 10^8 \text{ m/s}$ contro 1500 m/s) e, dato che il principio base della misurazione è il ritardo temporale delle onde di ritorno, il Tomografo a Coerenza Ottica permette di eseguire delle analisi rapide e più accurate. In aggiunta, esso permette anche di ottenere immagini della morfologia dei tessuti a livello cellulare (μm) fino a profondità millimetriche e, dal momento che fa uso di fibre ottiche, la tecnica OCT può essere integrata facilmente in molti strumenti medicali.

¹Metodo di rilevamento o misura di cambiamenti in: metabolismo, flusso di sangue, assorbimento e composizione chimica regionale.

Dalla Figura 0.0.1 è possibile vedere che, in confronto alle altre tecnologie di imaging, l'OCT va a coprire una regione importante in termini di risoluzione e profondità raggiungibili.

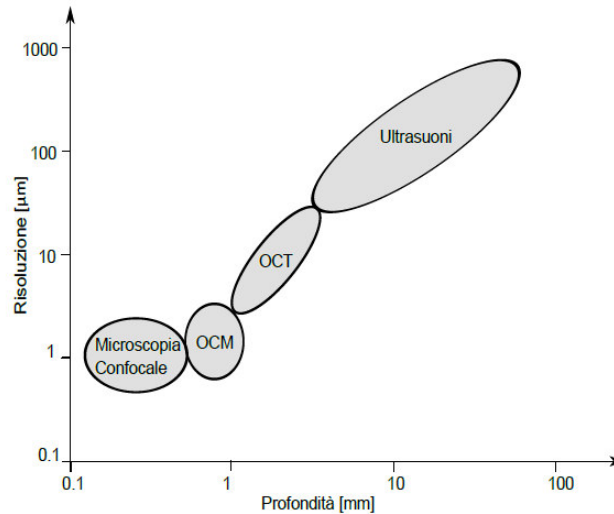


FIGURA 0.0.1. Evoluzione delle tecniche per analisi microscopica

La breve storia della Tomografia a Coerenza Ottica trova i suoi principi agli inizi degli anni '90 grazie alla collaborazione tra studiosi di medicina ed oculisti, tra i quali vengono ricordati James G. Fujimoto, Charles Lin, Joel Shuman, David Huang (studente del Massachusetts Institute of Technology - MIT - che ebbe l'intuizione delle immagini trasverse) e Eric Swanson (costruttore del primo apparecchio OCT e fondatore del gruppo Advanced Ophthalmic Diagnostics). Le prime immagini furono ricavate da un campione morto ("ex vivo") e risultarono avere una risoluzione assiale fino a $15 \mu\text{m}$ con sorgente luminosa a lunghezza d'onda di 830 nm . Un esempio di immagine OCT realizzata con tale tecnica viene riportata in Figura 0.0.2, nella quale è possibile notare il contorno del nervo ottico di una retina umana.

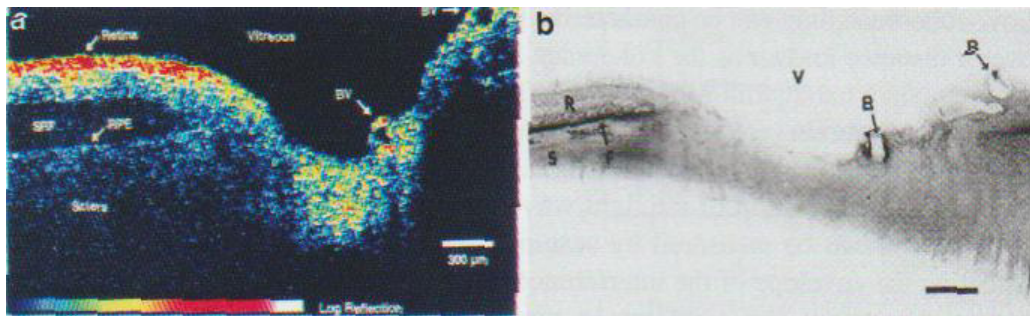


FIGURA 0.0.2. Immagine OCT di retina umana

Inizialmente l'imaging OCT fu eseguito "*in vitro*" sulla retina umana ed in strutture trasparenti e poco diffuse, successivamente in strutture non trasparenti ed altamente diffuse come, ad esempio, le placche arteriosclerotiche.

La prima tomografia "*in vivo*" del disco oculare umano e della macula fu fatta nel 1993, la quale permetteva un'analisi senza contatto e non invasiva dell'occhio anteriore, andando ad esaminare le caratteristiche morfologiche della retina, inclusa la fovea ed il disco ottico.

Nel 1996 questa tecnologia divenne industriale e passò al commercio per la diagnostica oftalmica (Humphrey Systems, Dublin, CA) e, inoltre, fu anche impiegata su altri tipi di tessuti usando lunghezze d'onda maggiori. In Figura 0.0.3 è possibile vedere un primo prototipo di tomografo progettato da Eric Swanson nei laboratori del MIT e utilizzato per i primi esperimenti clinici oftalmici.



FIGURA 0.0.3. Prototipo di tomografo per immagini retinali

Nel 2002 venne introdotto lo Stratus OCT, il quale era in grado di raggiungere una risoluzione assiale di circa $10\mu\text{m}$ e una velocità di analisi di $400 A - \text{scan}/s$, permettendo in tal modo una migliore qualità delle immagini.

La generazione più recente dell'OCT (Fourier-Domain, FD-OCT), rispetto ai precedenti sistemi (Time-Domain OCT), consente un campionamento delle immagini più veloce senza comprometterne la qualità. Tuttavia, relativamente ai parametri di risoluzione assiale, trasversale e di profondità di penetrazione nei tessuti, non vi sono importanti differenze rispetto ai sistemi tradizionali.

Lo sviluppo della Tomografia a Coerenza Ottica non è ancora terminato e recenti studi cercano di migliorarne le prestazioni in termini di risoluzione e di velocità di analisi.

Principi base della tecnica OCT

I principi che stanno alla base della tecnica OCT sono di fondamentale importanza per la comprensione dei fattori che possono influenzare le prestazioni del sistema reale finale.

Al fine di comprendere il funzionamento di un Tomografo a Coerenza Ottica, viene evidenziata la distinzione tra luce coerente e incoerente presupponendo nota la conoscenza della natura ondulatoria della luce, la quale risulta necessaria per spiegare fenomeni quali interferenza e battimento. Difatti, secondo tale teoria la luce si propaga sotto forma di onda ad una velocità, nel vuoto, pari a $c \simeq 3 \cdot 10^8$ m/s; ogni altro mezzo omogeneo è invece caratterizzato dall'indice di rifrazione (n), in prima approssimazione costante, il quale riduce tale velocità di propagazione secondo la legge:

$$(1.0.1) \quad v_p = \frac{c}{n}$$

1.1. Coerenza della luce

La luce è una radiazione elettromagnetica, ossia un campo elettromagnetico, che si propaga nello spazio e nel tempo, nel vuoto e nella materia, con una velocità dipendente dalla natura del mezzo attraversato. Questa radiazione mostra una duplice natura: corpuscolare ed ondulatoria; nel dettaglio, i processi di generazione e assorbimento della luce sono spiegabili attraverso la teoria quantistica, cioè supponendo che essa sia costituita da particelle (fotoni), mentre il fenomeno di propagazione nello spazio e nel tempo segue un comportamento di tipo ondulatorio.

1.1.1. Luce incoerente. La radiazione luminosa proveniente da una sorgente naturale, o da un corpo caldo (lampadina ad incandescenza), è formata da emissioni indipendenti di fotoni derivanti dal decadimento energetico di un gran numero di atomi. Ciascuna di queste particelle possiede frequenza e fase diverse e la loro sovrapposizione produce un andamento irregolare ed aleatorio del fronte d'onda; di conseguenza, la loro dipendenza dal tempo e dalla posizione di osservazione non sono note a priori, ma possono essere descritte mediante strumenti statistici. Questo tipo di radiazione viene detto incoerente o, in generale, parzialmente coerente.

Nel caso di luce incoerente, quindi, l'intensità risulta essere proporzionale alla media temporale del campo elettrico secondo la seguente formula:

$$(1.1.1) \quad I(\mathbf{r}, t) \propto \langle |E(\mathbf{r}, t)|^2 \rangle$$

dove $\mathbf{r} = (x, y, z)$ è la terna di coordinate che individuano il punto nello spazio di tre dimensioni e t è l'istante temporale di osservazione.

Nel caso in cui la posizione \mathbf{r} di un'onda statisticamente stazionaria è fissa, dall'equazione (1.1.1) l'intensità risulta essere costante. In aggiunta, entro un determinato intervallo temporale, le variazioni aleatorie di $E(\mathbf{r}, t)$ sono caratterizzate dal fatto che appaiono regolari; al contrario, le fluttuazioni sono irregolari se esaminate su intervalli più lunghi del medesimo intervallo.

1.1.2. Luce coerente. In ottica, si definisce luce coerente (o coerente in fase) un'onda elettromagnetica che mantiene una certa relazione di fase con se stessa durante la sua propagazione; inoltre, esistono due tipi di coerenza: spaziale e temporale.

Due onde provenienti da regioni diverse dello spazio e perpendicolari alla direzione di propagazione vengono dette coerenti spazialmente se la differenza di fase tra di loro rimane costante nel tempo. In particolare, maggiore è la dimensione della regione di spazio in cui si verifica questa correlazione tra le fasi e maggiore risulta essere la lunghezza di correlazione spaziale laterale.

Quando si parla di fase di un'onda, ci si riferisce sempre all'approssimazione di onde piane perfettamente monocromatiche; in realtà, essa presenta delle deviazioni rispetto a questo andamento ideale, le quali sono matematicamente descrivibili come delle oscillazioni della stessa fase dell'onda e risultano evidenti dopo la propagazione per una certa distanza, o per un certo intervallo di tempo. Di conseguenza, quando il rapporto di fase si perde per via di queste fluttuazioni si dice che l'onda ha perso la sua coerenza temporale.

Un esempio di luce coerente è dato da un'onda monocromatica di campo elettrico:

$$(1.1.2) \quad E(\mathbf{r}, t) = E(\mathbf{r})e^{j2\pi\nu t + \phi(\mathbf{r})}$$

dove ν è la frequenza ottica della radiazione luminosa e ϕ è la fase.

Per questa onda deterministica (non aleatoria), l'intensità ottica è definita come:

$$(1.1.3) \quad I(\mathbf{r}) = cn\varepsilon_0 \frac{|E(\mathbf{r})|^2}{2} \propto |E(\mathbf{r})|^2$$

dove n è l'indice di rifrazione del mezzo in cui si propaga e ε_0 è la costante dielettrica del vuoto.

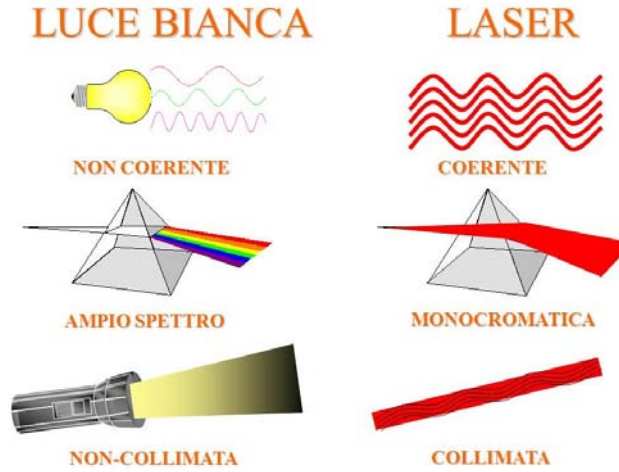


FIGURA 1.1.1. Luce incoerente e coerente

1.1.3. Tempo di coerenza e lunghezza di coerenza. Si definisce tempo di coerenza l'intervallo medio di tempo nel quale l'onda oscilla in modo prevedibile; in particolare, durante tale intervallo, essa compie un certo numero di oscillazioni prima di cambiare la sua fase. Una misura quantitativa di questo comportamento è data dalla funzione di autocorrelazione (1.1.4), la quale descrive l'estensione temporale entro cui le fluttuazioni relative a due istanti diversi, e separati da un dato ritardo τ , sono tra essi collegate.

$$(1.1.4) \quad \Gamma(\tau) = \langle |E^*(t)E(t + \tau)| \rangle = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{2T} \int_{-T}^T E^*(t)E(t + \tau) dt$$

con $\Gamma(0) = I(t)$ (intensità del campo elettrico).

Spesso conviene definire la sua versione normalizzata:

$$(1.1.5) \quad \gamma(\tau) = \frac{\Gamma(\tau)}{\Gamma(0)}$$

il cui modulo risulta essere compreso tra 0 e 1:

$$0 \leq |\gamma(\tau)| \leq 1 = |\gamma(0)|$$

Questo valore fornisce una misura del grado di correlazione tra i due campi $E(t)$ e $E(t + \tau)$.

Secondo il teorema di Wiener-Khinchin, la funzione di autocorrelazione $\Gamma(\tau)$ è legata alla densità spettrale di potenza $S(\nu)$ (PSD - Power Spectral Density) della sorgente secondo la seguente equazione:

$$(1.1.6) \quad \Gamma(\tau) = \int_0^\infty S(\nu) e^{-j2\pi\nu\tau} d\nu$$

Di conseguenza, vengono preferiti gli emettitori ottici ad ampio spettro poichè in grado di produrre interferenza entro brevi istanti temporali e spaziali. Inoltre, la relazione descritta dall'equazione (1.1.6) tra $\Gamma(\tau)$ e $S(\nu)$ è maggiormente visibile nel caso in cui entrambi presentano una forma gaussiana.

Dal momento che, per la luce parzialmente coerente, $|\gamma(\tau)|$ decresce monotonicamente all'aumentare di τ , si definisce un valore (τ_c) che determini la larghezza dell'involuppo della funzione normalizzata di autocorrelazione:

$$(1.1.7) \quad \tau_c = \tau: \left[|\gamma(\tau)| = \frac{|\gamma(0)|}{2} \right]$$

Nel dettaglio, τ_c definisce la larghezza a metà altezza (FWHM - Full Width at Half Maximum) del grado di autocorrelazione e viene detto tempo di coerenza dell'onda luminosa. Per $\tau < \tau_c$, le fluttuazioni sono fortemente correlate e, quindi, entro questo tempo di propagazione il fronte d'onda mantiene le sue proprietà.

Ad esempio, un'onda perfettamente monocromatica è descrivibile come una perfetta sinusoide il cui tempo di coerenza risulta essere infinito ($\tau_c = \infty$). Tuttavia, siccome non esistono onde con tali caratteristiche, allora il tempo di coerenza è sempre uguale ad un valore finito.

Infine, il prodotto tra tempo di coerenza e velocità della luce viene definito lunghezza di coerenza, la quale è descritta dalla seguente legge:

$$(1.1.8) \quad L_c = v_p \tau_c$$

Questa può essere anche definita come la distanza che viene percorsa dall'onda mantenendo le sue proprietà di regolarità.

1.2. Interferenza tra onde elettromagnetiche

Quando due o più onde ottiche sono presenti nella stessa porzione di spazio, l'onda totale può essere ricavata mediante il principio di sovrapposizione degli effetti: le ampiezze complesse dei campi elettromagnetici si sommano tra loro. Tuttavia, l'intensità risultante non risponde a questa semplice legge di addizione, ma tiene in considerazione vari fattori quali lo sfasamento tra le due onde, la lunghezza di coerenza delle radiazioni e le rispettive frequenze. Pertanto, affinché si verifichi un'interferenza, è necessario che le due onde ricombinate abbiano lo stesso periodo di oscillazione, ovvero la stessa frequenza.

1.2.1. Caso onde monocromatiche ideali. Considerando i campi elettrici di due onde monocromatiche in un certo punto dello spazio \mathbf{r} , ciascuno di essi può essere descritto dalla formula (1.1.2), i quali presentano uguale frequenza ottica ν , ma ampiezza $E_i(\mathbf{r})$ e fase $\phi_i(\mathbf{r})$ diverse. Sovrapponendo le due radiazioni, l'onda totale risulta essere ancora un'onda monocromatica con la medesima frequenza:

$$(1.2.1) \quad E_{TOT}(\mathbf{r}, t) = E_1(\mathbf{r}, t) + E_2(\mathbf{r}, t)$$

L'intensità ottica dell'onda totale risulta essere proporzionale al quadrato del modulo del campo elettrico secondo la seguente relazione:

$$(1.2.2) \quad I_{TOT} \propto \frac{|E_{TOT}|^2}{2} = \frac{|E_1 + E_2|^2}{2}$$

dove vengono omesse per semplicità le dipendenze spaziali e temporali. Sostituendo le espressioni dei campi elettrici nella (1.2.2) si ottiene:

$$(1.2.3) \quad \begin{aligned} I_{TOT} &\propto \frac{|E_1|^2}{2} + \frac{|E_2|^2}{2} + E_1 E_2 \Re \{ e^{j(\phi_2 - \phi_1)} \} \\ &\quad \downarrow \\ I_{TOT} &\propto \frac{|E_1|^2}{2} + \frac{|E_2|^2}{2} + E_1 E_2 \cos(\phi_2 - \phi_1) = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos(\phi) \end{aligned}$$

dove $\phi = \phi_2 - \phi_1$.

Dall'equazione (1.2.3) è possibile notare che l'intensità della radiazione totale non risulta essere semplicemente la somma delle singole intensità, ma è presente anche un ulteriore termine. Quest'ultimo rappresenta il termine di interferenza, il quale può essere positivo o negativo a seconda che si tratti rispettivamente di interferenza costruttiva (aumento dell'intensità totale) o distruttiva (diminuzione dell'intensità totale). Nello specifico, nel caso in cui i segnali interferenti possiedono campi in concordanza di fase, il segnale risultante ha ampiezza pari alla somma delle ampiezze delle due onde e, quindi, si parla di interferenza costruttiva; al contrario, si ha interferenza distruttiva quando il segnale si annulla a causa dei campi in opposizione di fase.

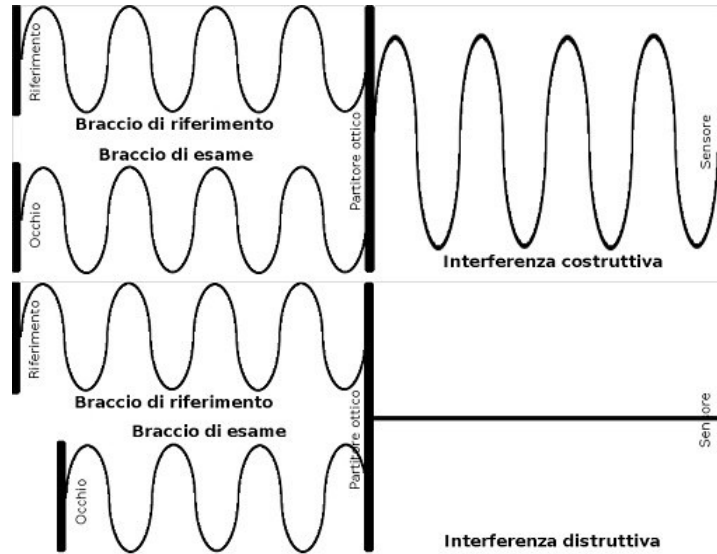


FIGURA 1.2.1. Interferenza costruttiva e distruttiva

In Figura 1.2.1 vengono riportati due esempi specifici in cui le intensità dei campi hanno la stessa ampiezza ($I_1 = I_2 = I$); pertanto, l'equazione (1.2.3) si semplifica diventando:

$$(1.2.4) \quad I_{TOT} = 2I [1 + \cos(\phi)] = 4I \cos^2\left(\frac{\phi}{2}\right)$$

In particolare, si ottengono i seguenti casi:

- $\phi = 0 \Rightarrow I_{TOT} = 4I$: concordanza di fase (interferenza costruttiva);
- $\phi = \pi \Rightarrow I_{TOT} = 0$: opposizione di fase (interferenza distruttiva).

In molti sistemi ottici viene utilizzata questa dipendenza dell'intensità ottica dalla fase, permettendo in tal modo di rilevare con precisione lo sfasamento tra due onde per mezzo della misura dell'intensità della loro sovrapposizione.

1.2.2. Caso onde monocromatiche reali. Nei casi reali, le onde sono soggette a fluttuazioni attorno ad un certo valore medio e possiedono una propria larghezza di banda ($\Delta\nu$). Queste fluttuazioni casuali delle fasi ϕ_1 e ϕ_2 causano uno sfasamento descrivibile tramite una variabile aleatoria con distribuzione uniforme in $[0, 2\pi]$ e valore medio $\mathbb{E}[\phi] = \pi$. La perturbazione risultante presenta una ampiezza e una fase che rimangono costanti solo per un certo intervallo di tempo pari al tempo di coerenza; pertanto, è possibile affermare che l'interferenza può avere luogo "localmente" anche per sorgenti ad ampio spettro, ma solo entro la lunghezza di coerenza associata all'onda luminosa. Di conseguenza, durante tale intervallo, la perturbazione si comporta approssimativamente come nel caso di radiazione monocromatica.

L'intensità media della loro somma risulta essere:

$$(1.2.5) \quad I_{TOT} \propto \frac{\langle |E_1 + E_2|^2 \rangle}{2} = \frac{1}{2} \left[\langle |E_1|^2 \rangle + \langle |E_2|^2 \rangle + \langle E_1^* E_2 \rangle + \langle E_1 E_2^* \rangle \right]$$

$$\downarrow$$

$$I_{TOT} \simeq I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} |\gamma_{12}| \cos(\phi_{12})$$

dove γ_{12} è la funzione di autocorrelazione normalizzata e ϕ_{12} è la fase del grado complesso di correlazione che definisce il termine di interferenza.

Dell'equazione (1.2.5) è possibile notare che si possono presentare tre casi particolari:

- $|\gamma_{12}| = 0$ (onde completamente incorrelate): l'intensità totale risulta essere pari alla somma delle singole intensità e il termine di interferenza si annulla;
- $|\gamma_{12}| = 1$ (onde completamente correlate): l'intensità totale risulta essere pari alla somma di due onde monocromatiche ideali data dalla formula (1.2.3);
- $0 < |\gamma_{12}| < 1$ (onde parzialmente correlate): l'intensità totale normalizzata risulta avere un andamento cosenoideale con ampiezza pari a:

$$(1.2.6) \quad V = \frac{I_{MAX} + I_{min}}{I_{MAX} - I_{min}} = \frac{2\sqrt{I_1 I_2}}{I_1 - I_2} |\gamma_{12}|$$

detta visibilità delle frange di interferenza, la quale, nel caso in cui $I_1 = I_2 = I$, corrisponde proprio al grado di coerenza $V = |\gamma_{12}|$.

1.2.3. Caso onde monocromatiche traslate nel tempo. Considerando l'interferenza risultante tra un'onda $E(t)$ e la sua versione traslata nel tempo $E(t + \tau)$ di un ritardo temporale τ , l'equazione (1.2.5) diventa:

$$(1.2.7) \quad I_{TOT} = 2I [1 + |\gamma(\tau)| \cos(\phi(\tau))]$$

dove $\phi(\tau) = \arg[\gamma(\tau)]$. Di conseguenza, il termine di interferenza è legato al grado di autocorrelazione $\gamma(\tau)$ e, quindi, al tempo di coerenza τ_c .

Supponendo di avere un'onda piana con frequenza ottica ν e fase iniziale nulla, espressa dalla formula:

$$(1.2.8) \quad E(\mathbf{r}, t) = E_a(t) e^{j2\pi\nu t}$$

con $E_a(t)$ una funzione aleatoria, la cui funzione di autocorrelazione risulta essere:

$$(1.2.9) \quad \Gamma(\tau) = \Gamma_a(\tau) e^{j2\pi\nu\tau}$$

dove $\Gamma_a(\tau) = \langle E_a^*(t) E_a(t + \tau) \rangle$, l'intensità del segnale di interferenza, calcolabile per mezzo della (1.2.7), diventa:

$$(1.2.10) \quad I_{TOT} = 2I [1 + |\gamma_a(\tau)| \cos(2\pi\nu\tau + \phi_a(\tau))]$$

Questa rappresenta il legame esistente tra il ritardo (τ) e l'intensità del cosiddetto interferogramma, il quale viene rappresentato in Figura 1.2.2; inoltre, la visibilità delle frange di interferenza risulta essere dipendente da τ e vale:

$$(1.2.11) \quad V = |\gamma_a(\tau)|$$

Ne consegue che la misura di questo parametro V al variare di τ permette di derivare la variazione del grado di coerenza temporale in funzione del ritardo e , quindi, di conoscere il tempo di coerenza (τ_c) della sorgente. In particolare, per $\tau = 0$ si ottiene il picco di visibilità (onde sincronizzate tra loro), mentre per $\tau > \tau_c$, questo parametro decade fino ad annullarsi; in aggiunta, il ritardo τ rappresenta la larghezza delle righe di interferenza, le quali portano informazioni riguardo lo spessore della struttura da analizzare.

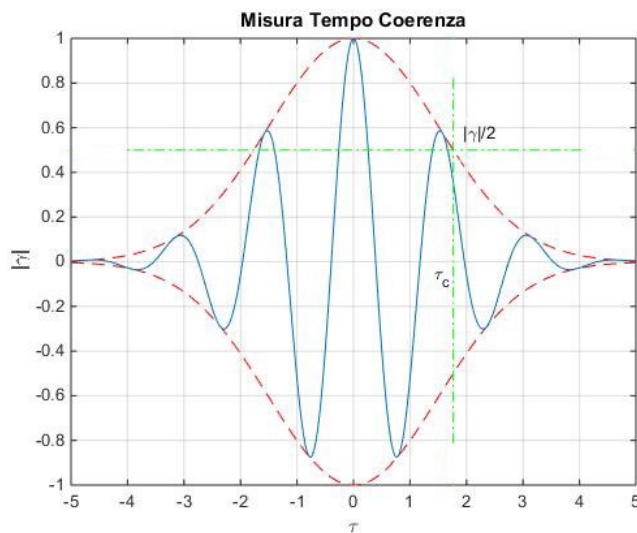


FIGURA 1.2.2. Andamento visibilità in funzione di τ

La legge con cui la funzione $|\gamma|$ varia con τ cambia da sorgente a sorgente, a seconda delle caratteristiche microscopiche del processo di emissione. Tuttavia, utilizzando un interferometro di Michelson, è possibile stimare τ_c come il valore di τ per cui la visibilità si dimezza partendo dalla condizione di uguali cammini ottici ($V = 1$). Nel dettaglio, il ritardo introdotto è causato dalla differenza spaziale dei percorsi effettuati dalle due versioni dell'onda e, pertanto, l'interferenza accade solo quando il ritardo tra le due onde risulta essere minore del tempo di coerenza, ossia quando le lunghezze dei percorsi coincidono entro la lunghezza di coerenza (L_c).

Per applicazioni in ambito medico si rende necessario misurare con precisione la posizione di una struttura in un tessuto e, di conseguenza, viene richiesta luce a bassa coerenza, ovvero con lunghezza di coerenza breve. Nella pratica OCT, la sorgente viene spesso implementata per mezzo di un diodo superluminescente, il quale, similmente ad un diodo laser, si basa sull'azionamento elettrico di una giunzione p-n che, quando polarizzata, diventa otticamente attiva e genera emissione spontanea amplificata in un ampio intervallo di lunghezze d'onda.

1.2.4. Caso onde con frequenze diverse. Nel caso in cui le frequenze delle due onde interferenti sono diverse ($\nu_1 \neq \nu_2$), la radiazione ottica ottenuta dalla loro sovrapposizione presenta una intensità pari a:

$$(1.2.12) \quad \begin{aligned} I_{TOT}(t) &\propto |E_1(t)|^2 + |E_2(t)|^2 + 2\Re\{E_1^*(t)E_2(t)\} \\ &\quad \downarrow \\ I_{TOT} &\simeq I_1(t) + I_2(t) + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos[2\pi(\nu_2 - \nu_1)t] \end{aligned}$$

dove viene trascurata per semplicità la dipendenza dallo spazio (\mathbf{r}) e si ipotizzano fasi iniziali nulle ($\phi_1 = \phi_2 = 0$).

L'intensità totale data dall'equazione (1.2.12) risulta essere variabile con andamento cosenoidale alla frequenza $\nu_B = \nu_2 - \nu_1$, detta frequenza di battimento. In Figura 1.2.3 viene rappresentato un esempio di battimento tra due segnali aventi una differenza di oscillazione pari al 10% (esagerata al fine di una maggiore chiarezza), in cui l'onda risultante presenta un inviluppo proprio alla frequenza ν_B .

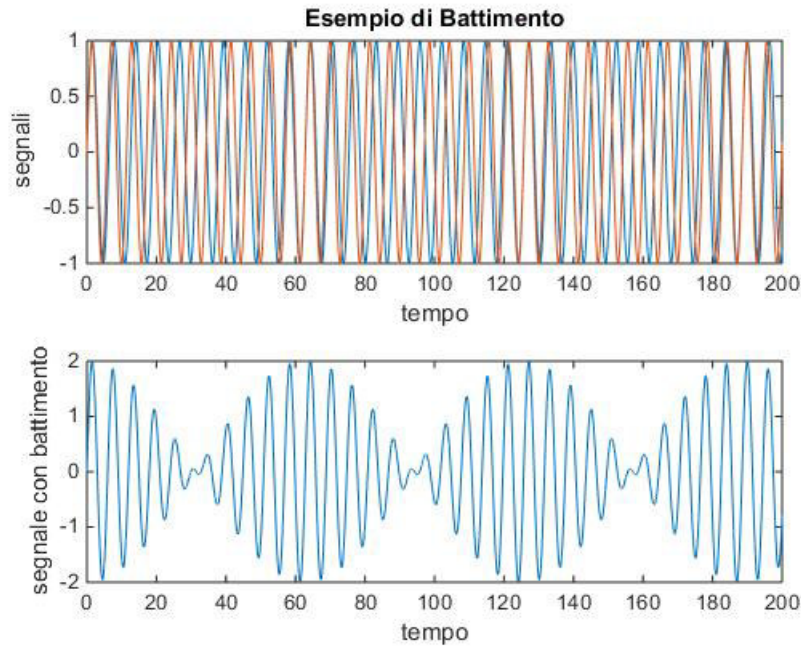


FIGURA 1.2.3. Esempio di battimento tra due onde

Il fotorivelatore è in grado di rilevare un segnale a tale frequenza di battimento poichè sensibile alla potenza ottica secondo la seguente relazione:

$$(1.2.13) \quad P(t) = \int_A I(\mathbf{r}, t) dA$$

dove A è l'area illuminata del sensore.

1.3. Interferometria

L'interferometria è un metodo semplice, ma potente, utile per la misura di distanze tra oggetti con elevata precisione; in particolare, viene considerata la luce riflessa da questi e la si confronta con un fascio luminoso che viaggia su un percorso di riferimento. Ciò può essere ottenuto attraverso un interferometro ottico, cioè un dispositivo che divide la radiazione entrante in due onde, introduce un ritardo relativo facendo percorrere loro due distanze diverse e fa sovrapporre o interferire le onde elettromagnetiche che compongono i due raggi luminosi.

A tal proposito, esistono varie implementazioni per realizzare un interferometro e le più comuni in ambito OCT sono l'interferometro di Mach-Zehnder e l'interferometro di Michelson:

- Interferometro di Mach-Zehnder: esso è un tipo di interferometro a divisione di ampiezza, costituito da due specchi e da due Beam Splitter (BS). Le onde all'interno del sistema percorrono due strade differenti e la differenza di cammino ottico può essere introdotta da una piccola asimmetria in uno dei Beam Splitter. Generalmente, lungo uno dei due percorsi viene inserito un oggetto (ad esempio uno specchio) in modo tale da produrre una differenza nel

cammino ottico; tuttavia, dal momento che i due percorsi sono separati, tale interferometro è difficile da allineare.

- Interferometro di Michelson: esso è la tipologia più comune di interferometro, ottenuto suddividendo e ricombinando un fascio di fotoni su percorsi diversi. I due tragitti devono avere lunghezze differenti o avvenire in materiali diversi in modo che si possa avere uno sfasamento nel cammino ottico dei due fasci. Se i percorsi differiscono per numeri interi di lunghezze d'onda, l'interferenza è costruttiva e genera un forte segnale in uscita; invece, se le differenze sono uguali a un numero dispari di mezze lunghezze d'onda, l'interferenza è distruttiva ed il segnale risulta essere prossimo a zero.

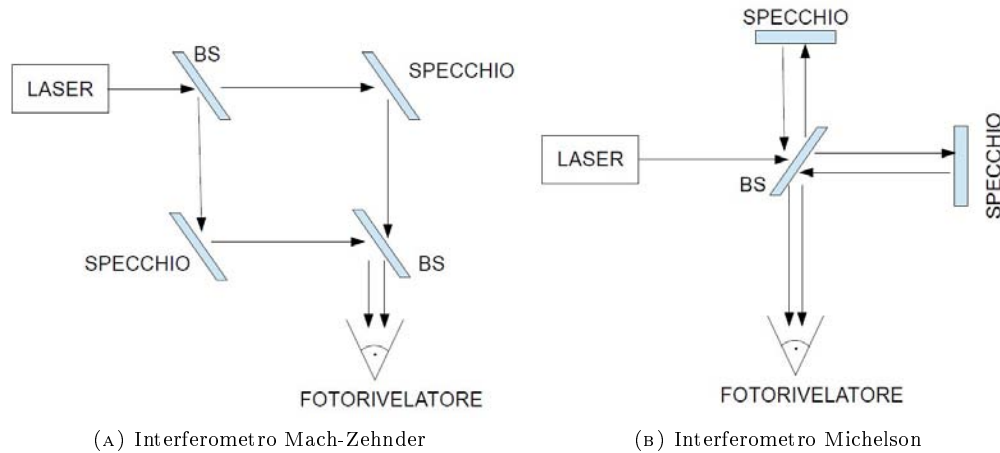


FIGURA 1.3.1. Schemi di implementazione per interferometri

L'intensità risultante dall'interferenza è proporzionale alla fase $\phi = \frac{2\pi d}{\lambda}$, per cui l'interferometro può essere utilizzato per misurare la differenza di percorso tra le due onde attraverso la misura della stessa fase. Ad esempio, una differenza di distanza tra i due percorsi pari a $d = \frac{\lambda}{2}$ produce uno sfasamento dell'intensità pari a π (sfasamento facilmente osservabile).

Considerando il caso di interferometro di Michelson, e assumendo il Beam Splitter ideale con rapporto 50:50, il segnale di uscita rilevato dal fotorivelatore risulta essere la somma delle due onde riflesse dagli specchi:

$$(1.3.1) \quad E_{OUT} = E_{ref} + E_{sig}$$

dove E_{ref} è il campo riflesso da uno specchio fisso (preso come riferimento) e E_{sig} è il campo riflesso dall'altro specchio mobile (da misurare). Facendo variare la posizione dello specchio mobile all'interno di un intervallo predefinito, è possibile rilevare le interferenze ottiche provenienti da diverse profondità. Come scritto in precedenza, affinché tale metodo di rilevazione degli echi ottici risulti efficace, è necessario che la differenza di ritardo temporale tra le onde retrodiffuse sia minore del tempo di coerenza (τ_c) della sorgente. Di conseguenza, l'errore che può essere introdotto nella misurazione della distanza è pari alla lunghezza di coerenza (L_c).

Uno svantaggio di questa configurazione con singolo fotorivelatore è che la componente continua del segnale e il rumore generato dalla luce nel braccio di riferimento si sommano al segnale utile dovuto all'interferenza. Tuttavia, tale problema è risolvibile per mezzo della configurazione con fotodiodi bilanciati, nella quale i rumori di fondo e le componenti continue vengono annullati tramite una sottrazione tra i due segnali misurati.

1.4. Produzione delle immagini

Lo scopo della Tomografia a Coerenza Ottica è quello di ottenere un profilo in profondità di un determinato campione preso in esame, ossia un'immagine bidimensionale o tridimensionale dello stesso. Per fare questo, sono presenti varie configurazioni possibili per l'implementazione di un sistema OCT e ciascuna di esse possiede differenti parametri che ne determinano le prestazioni in termini di velocità di analisi, qualità delle immagini, profondità e affidabilità.

Come nell'ecografia, con la tecnica OCT è possibile ottenere tre diversi tipi di immagini definite *A-scan*, *B-scan* e *C-scan*. I processi di elaborazione e visualizzazione delle immagini prodotte sono analoghi ad altre tecniche di imaging medico come, ad esempio, la Tomografia Computerizzata (TC) e la Risonanza Magnetica Nucleare (RMN).

In Figura 1.4.1 viene riportato uno schema semplificato riguardante le possibili direzioni di scansione di un occhio umano con i relativi piani immagine.

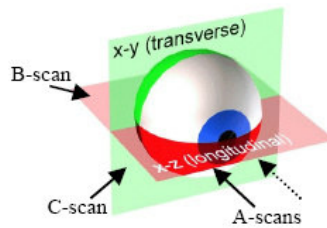
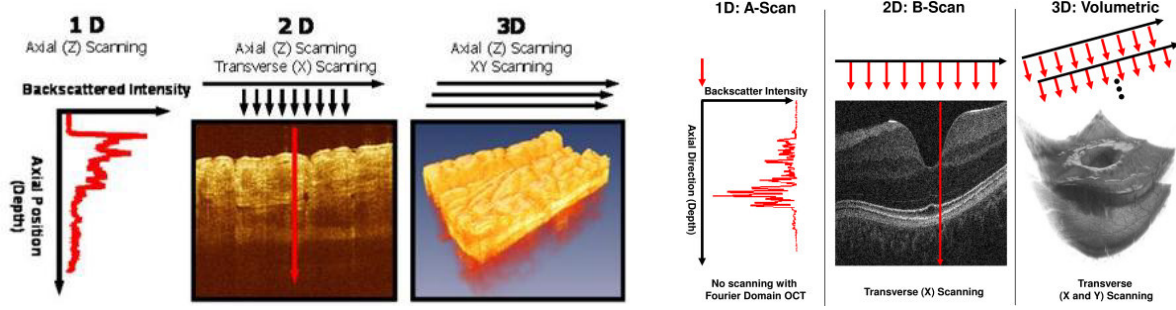


FIGURA 1.4.1. Esempio direzioni di scansione

1.4.1. Tracciati *A-scan* (o monodimensionali). Essi analizzano la riflettività delle strutture e la loro profondità lungo una singola direzione. Nella Tomografia a Coerenza Ottica sono utilizzate molto di rado e, comunemente, per misurare con precisione la lunghezza dell'occhio. La visualizzazione è banale e i dati per ogni punto possono essere rappresentati in un grafico profondità-ampiezza; inoltre, dal momento che i dati sono ricavati lungo una sola direzione, nessuna informazione può essere perduta e i cambiamenti significativi che subisce il segnale possono essere facilmente individuati.

1.4.2. Tracciati *B-scan* (o bidimensionali). Essi vengono ottenuti affiancando molteplici scansioni *A-scan* eseguite lungo una linea in senso trasversale. Sono le rappresentazioni più frequentemente utilizzate in oculistica e sono, inoltre, immagini molto simili alle sezioni istologiche dei tessuti. Questi consentono anche di valutare la struttura interna dei tessuti e di eseguire misure degli spessori. La visualizzazione dei dati raccolti non risulta difficile e spesso, per permettere un migliore contrasto, è possibile rappresentare i risultati in chiaro-scuro o con mappe di colori.

1.4.3. Tracciati *C-scan* (o tridimensionali). Essi vengono ottenuti affiancando diverse scansioni *B-scan* orizzontali e, indipendentemente da quale metodo di campionamento venga utilizzato, i dati raccolti vengono acquisiti e digitalizzati. Nel 3D-OCT, la visualizzazione è molto più complessa e spesso porta ad ottenere immagini poco chiare a livello di interpretazione. Per la ricostruzione sono quindi utilizzate tecniche impiegate in altre metodologie di imaging e le possibili alternative possono essere: rappresentazione di una sezione di immagine per tutti tre i piani che passano per un dato punto (ottenendo così l'immagine di una sezione 3D del campione), utilizzo di una qualche tecnica di modellazione dei dati tridimensionali che consideri i dati come una isosuperficie a profondità regolabile.

FIGURA 1.4.2. Esempi di scansioni *A-scan*, *B-scan* e *C-scan*

1.4.4. Formazione immagine. Sebbene le implementazioni di un sistema OCT possono essere diverse, due schemi generali sono riportati in Figura 1.4.3.

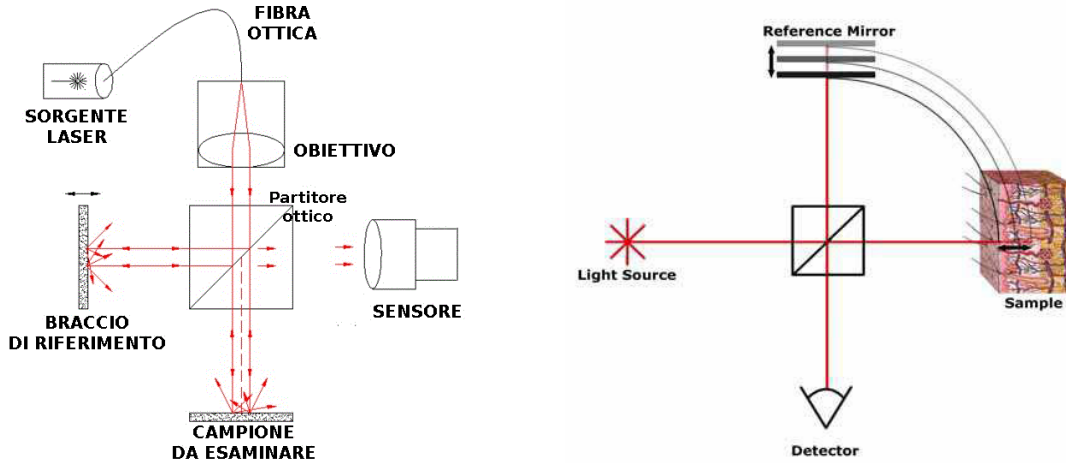


FIGURA 1.4.3. Schema generale Tomografo a Coerenza Ottica

Il componente principale del sistema è l'interferometro di Michelson, il quale può essere realizzato sia in spazio libero che in fibra per mezzo di accoppiatori direzionali. Il fascio proveniente dalla sorgente luminosa viene diviso in due parti dal partitore ottico: una percorre il braccio di riferimento, terminato con uno specchio, mentre l'altra viaggia nel ramo del campione, terminato con l'oggetto da esaminare. I campi E_{ref} (del riferimento) e E_{sig} (del campione), generati dalle riflessioni sui due rami, vengono ricombinati producendo un segnale di interferenza secondo la (1.3.1).

L'intensità misurata dal rivelatore segue la seguente relazione:

$$(1.4.1) \quad I_{TOT} \propto \frac{1}{2} \left[|E_{ref}|^2 + |E_{sig}|^2 + 2E_{ref}E_{sig} |\gamma_{sr}(\tau)| \cos(\phi_{ref} - \phi_{sig}) \right]$$

Questo segnale porta le informazioni riguardanti l'andamento della riflettività del campione lungo l'asse z , ottenendo in tal modo un profilo delle diverse interfacce presenti all'interno dell'oggetto in esame (scansione *A-scan*); inoltre, unendo i risultati di tale procedura ripetuta per diverse posizioni lungo l'asse trasversale x (o y), si ricava la scansione *B-scan*. Questa può essere ottenuta sia traslando il campione trasversalmente sia mediante l'utilizzo di specchi galvanometrici che permettono la deviazione del fascio in un punto specifico della superficie del campione. Unendo poi i diversi piani *B-scan* acquisiti deviando il fascio incidente, o traslando il campione lungo l'altra direzione trasversale, si ottiene la scansione 3D-OCT (o *C-scan*).

Una possibile alternativa per la formazione delle immagini tridimensionali può essere rappresentata dalla modalità *en-face*, detta anche *T-scan* (molto meno utilizzata), nella quale vengono acquisiti piani frontali del campione lungo le direzioni trasversali (x e y) a diverse profondità z ; in aggiunta, questa tecnica permette di ottenere una elevata risoluzione trasversale.

Nella produzione delle immagini possono essere introdotti degli artefatti dovuti al movimento dell'oggetto analizzato durante l'acquisizione dei dati. Questi rumori possono presentarsi in diverse forme e causati da movimenti assiali o trasversali. Per ovviare a tale inconveniente, può essere richiesta una elevata velocità di acquisizione, oppure possono essere sviluppati appositi algoritmi che monitorano le variazioni a cui è soggetto il campione e che adottano particolari soluzioni correttive nel post-processing.

1.5. Parametri fondamentali per immagini OCT

Al fine di poter confrontare le prestazioni delle varie configurazioni dei sistemi OCT tra loro, o rispetto a quelle di altre tecniche di imaging, è necessario conoscere i principali parametri su cui si caratterizza un Tomografo a Coerenza Ottica. Tra i più importanti vi sono: la lunghezza d'onda di lavoro, la sensibilità, il range dinamico, la risoluzione assiale, la risoluzione trasversale, la velocità di acquisizione e il roll-off di performance (rilevante però solo per FD-OCT).

1.5.1. Lunghezza d'onda di lavoro. L'interazione tra luce e materia può avvenire per fenomeni di scattering (diffusione casuale della luce in diverse direzioni) e/o di assorbimento (assimilazione dell'energia dei fotoni incidenti da parte del materiale). Questi due effetti, il primo maggiormente presente nella parte bassa dello spettro ottico e il secondo nella parte alta dello stesso, possono introdurre dei termini di attenuazione della potenza incidente in funzione della profondità, limitando così le prestazioni del sistema. Di conseguenza, la scelta delle lunghezze d'onda di lavoro utilizzabili, ovvero l'intervallo attorno alla lunghezza centrale λ_0 , dipende dalla natura del campione che si vuole analizzare ed è possibile individuare le seguenti finestre ottiche:

- $\lambda \in [750, 900]$ nm: la migliore finestra in ambito oftalmico in quanto l'assorbimento da parte dell'acqua (costituente principale dell'occhio) è ridotto al minimo. I sistemi OCT commercializzati presentano una lunghezza d'onda centrale attorno a 800 nm;
- $\lambda_0 = 1060$ nm: la finestra centrata a questa lunghezza d'onda presenta un basso assorbimento e, soprattutto, minor scattering rispetto all'intervallo precedente;
- $\lambda_0 = 1300$ nm: la finestra centrata a questa lunghezza d'onda viene utilizzata principalmente per l'imaging di pelle e pareti arteriose in quanto la quantità di acqua presente in questi tessuti risulta limitata; inoltre, anche il fenomeno di scattering rimane limitato, il quale è inversamente proporzionale alla lunghezza d'onda;
- $\lambda \in [1550, 1700]$ nm: tale finestra può essere utilizzata per ottenere maggiori profondità di analisi; tuttavia, le prestazioni in termini di assorbimento acquoso peggiorano.

1.5.2. Sensibilità. La sensibilità è un parametro da cui è possibile determinare la profondità alla quale il sistema è in grado di penetrare nel campione preso in esame. La luce incidente può essere dispersa o attenuata dall'assorbimento e sfruttando tecniche interferometriche è possibile raccogliere dati relativi ai deboli segnali che vengono retrodiffusi. Nel dettaglio, dato che il campo elettrico del braccio di riferimento può avere una ampiezza elevata, il segnale debole proveniente dal campione viene moltiplicato per esso, aumentando così l'ampiezza del segnale di interferenza totale ricevuto dal rivelatore. Grazie a questa peculiarità, i sistemi OCT presentano normalmente una sensibilità di circa $90 \div 100$ dB, ossia sono in grado di misurare segnali di potenza pari a $10^{-9} \div 10^{-10}$ volte la potenza ottica incidente. Ad esempio, per la produzione di immagini di strutture come quella oculare è richiesta una alta sensibilità poichè la retina è trasparente e l'intensità degli echi luminosi prodotti dai tessuti risultano essere molto bassi.

La sensibilità pertanto può essere definita come il rapporto tra la potenza del segnale generato da uno specchio perfettamente riflettente (con riflettività $R = 1$) e quella generata dalla minima riflettività (R_{s-min}) rilevabile del campione (ovvero la riflessione che genera un segnale di potenza pari alla potenza del rumore). Dato che i valori di tali potenze sono proporzionali alle corrispondenti riflettività, la sensibilità può essere espressa per mezzo della seguente relazione:

$$(1.5.1) \quad S = \frac{1}{R_{s-min}}$$

Questa dipende principalmente dall'efficienza di rivelazione e dalle sorgenti di rumore che possono essere presenti nel sistema. Di conseguenza, le specifiche tecniche riguardo la sensibilità possono essere rappresentate anche dal rapporto segnale-rumore (SNR) e, quindi, dalla formula:

$$(1.5.2) \quad SNR = 10 \log \left(\frac{\eta P}{2h\nu B_e} \right)$$

dove η è l'efficienza quantica del rivelatore ottico, $2h\nu$ è l'energia del fotone, P è la potenza del segnale ricevuto e B_e è la banda equivalente del rumore del sistema di rilevamento.

Come è possibile notare dall'equazione (1.5.2), la sensibilità di un Tomografo a Coerenza Ottica risulta essere direttamente proporzionale alla potenza del segnale ricevuto e inversamente proporzionale all'ampiezza di banda del rumore. Di conseguenza, un rapporto segnale-rumore elevato richiede una minore ampiezza di banda e ciò risulta essere in contrapposizione con la richiesta di avere un'acquisizione rapida di immagini con alta risoluzione, la quale necessita di segnale a banda larga. Per cui, al fine di ottenere dei risultati accettabili si rende necessario trovare un giusto compromesso.

Infine, lo shot noise nel rivelatore, causato dalla luce proveniente dal percorso ottico del segnale di riferimento, può ulteriormente limitare le prestazioni in termini di sensibilità. Infatti, specialmente per grandi velocità di imaging, sono richiesti Laser con piccola ampiezza relativa al rumore (RIN). Questo perchè i fotoricevitori ad alta velocità hanno un guadagno minore e, pertanto, per ottenere un guadagno totale sufficiente per il segnale campione, i livelli di energia nel braccio di riferimento devono essere elevati. Inoltre, al fine di evitare un rumore eccessivo possono essere utilizzati Laser FDML (Fourier Domain Mode Locking)¹, i quali presentano uno shot noise limitato.

1.5.3. Range dinamico. Si definisce range dinamico il rapporto tra il valore massimo e quello minimo (misurati allo stesso istante) della potenza del segnale riflesso dal campione durante una scansione *A-scan*. Valori tipici per un sistema OCT sono compresi nell'intervallo $40 \div 50$ dB; ad esempio, le immagini biomediche OCT presentano un range dinamico di circa 35 dB.

1.5.4. Risoluzione assiale. La risoluzione assiale rappresenta la precisione con cui può essere misurata una distanza, cioè determina la capacità di distinguere due diversi punti lungo la direzione longitudinale z . Questa dipende sostanzialmente dalla sorgente luminosa utilizzata e, in particolare, risulta essere inversamente proporzionale all'ampiezza di banda della lunghezza d'onda ($\Delta\lambda$). La risoluzione assiale è pertanto esprimibile dalla seguente formula:

$$(1.5.3) \quad \Delta z = \frac{2 \ln(2)}{\pi} \frac{\lambda_0^2}{n \Delta\lambda}$$

dove λ_0 è la lunghezza d'onda centrale e n è l'indice di rifrazione del mezzo considerato.

Dalla (1.5.3) risulta evidente che Δz è strettamente collegata alla lunghezza di coerenza della fonte luminosa, la quale è anche essa in relazione di proporzionalità inversa con l'ampiezza di banda; di conseguenza, l'utilizzo di sorgenti ad ampio spettro può portare un notevole miglioramento di questo parametro. Inoltre, la risoluzione assiale risulta essere indipendente dalle dimensioni del fascio emesso, ma può essere ulteriormente limitata da altri fattori introdotti dal campione analizzato quali la dispersione, l'assorbimento e la diffusione.

¹I Laser FDML sono delle particolari sorgenti luminose in cui lo spettro viene modulato in modo da eseguire una spazzolata in frequenza (molto utilizzati nei Tomografi a Coerenza Ottica).

Tipicamente, per la tecnica OCT vengono usate radiazioni elettromagnetiche con lunghezze d'onda centrate a $840 \div 880 \text{ nm}$ o 1300 nm e ampiezza di banda maggiore di circa 40 nm ; ciò permette di ottenere valori di risoluzione assiale compresi nell'intervallo $5 \div 10 \mu\text{m}$. Con apposite sorgenti speciali è possibile anche ottenere risoluzioni migliori fino a $1 \mu\text{m}$. In Figura 1.5.1 viene riportato l'andamento tipico della risoluzione assiale al variare della banda ottica considerata.

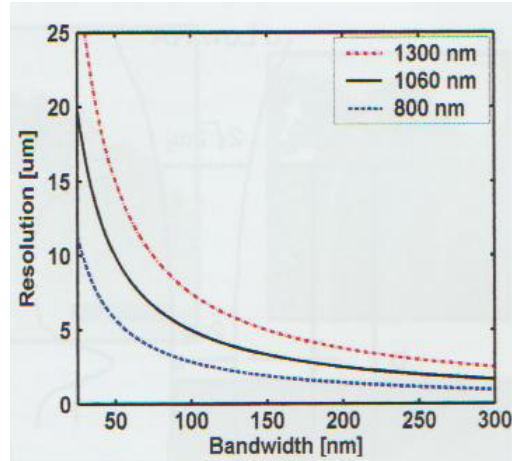


FIGURA 1.5.1. Risoluzione assiale nella tecnica OCT

Inoltre, risulta necessario specificare che esistono due tipologie di risoluzione assiale:

- Ottica: legata alle prestazioni del sistema ottico (sorgenti e lenti) utilizzato per produrre l'immagine;
- Digitale: dipendente dal tipo di ricostruzione digitale basata sulle diverse scansioni effettuate sul tessuto (le misure vengono sovrapposte e i risultati mediati).

In prima approssimazione si può assumere che la risoluzione assiale digitale è numericamente metà di quella ottica.

1.5.5. Risoluzione trasversale. La risoluzione trasversale dipende sostanzialmente dalle condizioni di focalizzazione del fascio luminoso sul campione e deriva dai principi della microscopia ottica convenzionale. In particolare, essa è definita come la minima distanza con cui si possono distinguere due punti giacenti sullo stesso piano trasversale; tale quantità coincide con il raggio del fascio nel massimo punto di focalizzazione e, quindi, all'ampiezza dello spot luminoso (Δx) risultante dalla focalizzazione della radiazione elettromagnetica incidente.

La risoluzione trasversale è pertanto esprimibile dalla seguente formula:

$$(1.5.4) \quad \Delta x = \frac{4\lambda f_l}{\pi d} \simeq \frac{\lambda}{\pi NA}$$

dove f_l/d è il rapporto tra la lunghezza focale della lente (f_l) e il diametro del raggio ottico incidente (d), NA è l'apertura numerica della lente focalizzatrice e λ è la lunghezza d'onda centrale della radiazione emessa. Di conseguenza, la larghezza dello spot può essere regolata facendo variare opportunamente il diametro del raggio e la lunghezza focale.

In aggiunta, esiste un parametro, detto confocale (b), il quale determina la profondità di campo alla quale il fascio mantiene inalterate le proprie dimensioni e si calcola seguendo la legge:

$$(1.5.5) \quad b = \pi \frac{\Delta x^2}{2\lambda}$$

Utilizzando una lente ad apertura numerica elevata, è quindi possibile focalizzare al massimo il fascio sul campione ed avere la migliore risoluzione trasversale; tuttavia, ciò implica una diminuzione della

profondità di fuoco, la quale risulta essenziale per ottenere immagini nitide lungo la direzione z . Viceversa, facendo uso di una lente a piccola apertura numerica, la profondità di fuoco aumenta e la risoluzione trasversale peggiora.

Nei casi di analisi *B-scan* e *C-scan* con sistema galvanometrico, questo parametro risulta essere limitato dalla risoluzione degli stessi motori, per cui si rende necessario trovare un compromesso e, generalmente, nelle applicazioni OCT è preferibile avere una grande profondità di campo (maggiore della lunghezza di coerenza) a discapito del grado di focalizzazione (garantendo in ogni caso una elevata risoluzione assiale). Valori tipici di risoluzione trasversale sono intorno alle decine di μm con profondità di campo di $1 \div 2$ mm. In Figura 1.5.2 viene presentata la relazione tra la dimensione del fascio luminoso e la profondità di campo nei due casi di bassa ed elevata apertura numerica.

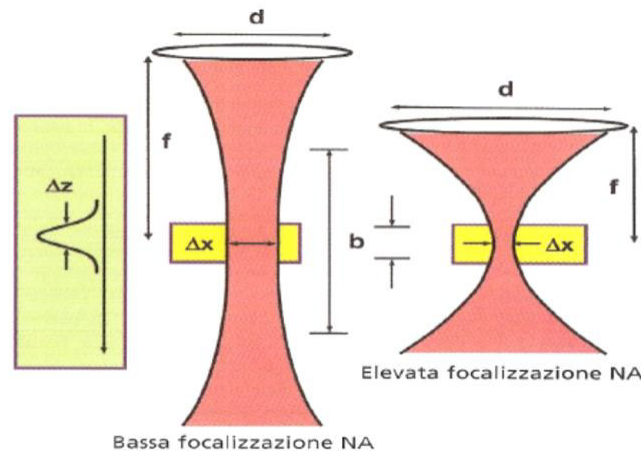


FIGURA 1.5.2. Risoluzione trasversale nella tecnica OCT

Sono state sviluppate ulteriori tecniche che possono ovviare a tale compromesso come, ad esempio, la focalizzazione al massimo dello spot del fascio per ottenere un'immagine nitida solo in un piccolo intervallo spaziale. Nel dettaglio, al fine di ricavare il profilo in profondità, il punto di fuoco viene fatto traslare longitudinalmente lungo il campione e, successivamente, le immagini acquisite vengono unite con opportuni algoritmi. Un'altra tecnica può essere l'utilizzo di opportuni specchi deformabili secondo l'ottica adattiva (già sperimentata in campo astronomico), i quali sono in grado di correggere i fronti d'onda distorti migliorando la nitidezza dell'immagine finale.

1.5.6. Velocità di acquisizione. La velocità di acquisizione può essere definita come il numero di scansioni in profondità (*A-scan*) al secondo, oppure il numero di frame (*B-scan*) al secondo, in dipendenza dal protocollo di scansione e dal setup considerati per la creazione delle immagini. Una velocità elevata è importante al fine di caratterizzare fenomeni tempo varianti e grandi volumi di tessuti; inoltre, permette di ridurre le imperfezioni presenti nelle immagini dovute a inevitabili vibrazioni.

Nel caso di utilizzo in ambito medicale "*in vivo*", il Tomografo a Coerenza Ottica deve presentare una velocità adeguata sia per ridurre al minimo la durata dell'esame sia per evitare che il campione (ad esempio l'occhio umano) si muova durante l'acquisizione. Una rapida acquisizione permette anche un aumento della massima potenza incidente sul campione, la quale è limitata da apposite normative internazionali e non deve superare un determinato valore dipendente da lunghezza d'onda e tempo di esposizione. Qualora questo tempo di analisi diminuisce, allora è possibile aumentare la potenza e, quindi, ottenere vantaggi in termini di sensibilità e profondità; tuttavia, aumentando l'ampiezza di banda equivalente del rumore (B_e), si provoca una forte diminuzione dell'SNR e, pertanto, si rende necessario un compromesso tra velocità e rapporto segnale-rumore.

Per i sistemi SS-OCT (Swept-Source OCT), la velocità di imaging è data dalla velocità di ripetizione dello spazzolamento, mentre per SD-OCT (Spectral-Domain OCT) essa dipende dalla velocità con cui il dispositivo di rivelazione acquisisce i dati. Inoltre, il segnale misurato può diminuire a causa delle limitazioni della larghezza di banda rilevabile dovute a: fotodiodo, amplificatore a transimpedenza e sistema di acquisizione dei dati.

Il tempo di acquisizione cresce all'aumentare del numero dei pixel trasversali, il quale valore è dato dal numero di scansioni assiali eseguite; nel dettaglio, dati N_x pixel trasversali ed una lunghezza di scansione L_x , l'acquisizione avviene con un passo pari a:

$$\frac{L_x}{N_x}$$

Per sfruttare al meglio la risoluzione dello strumento, occorre che tale dimensione sia inferiore alla risoluzione trasversale.

La misura in profondità di un pixel è invece legata alla velocità di acquisizione dell'immagine e, in particolare, data una profondità assiale L_z e un numero di pixel assiali pari a N_z , ciascuno di essi presenta una dimensione pari a:

$$\frac{L_z}{N_z}$$

Di conseguenza, se un sistema OCT effettua misure di profondità con N_x scansioni assiali ad una frequenza f_R , il tempo di acquisizione vale:

$$(1.5.6) \quad T_{acq} = \frac{N_x}{f_R}$$

La risoluzione spaziale di uno Tomografo a Coerenza Ottica è differente in base alla grandezza e alla densità dei pixel che costituiscono l'immagine prodotta. Questa deve possedere una sufficiente densità di pixel al fine di riuscire a visualizzare le disomogeneità di dimensioni ridotte con una data risoluzione. I dispositivi OCT commercializzati oggi possiedono una frequenza di decine di migliaia di scansioni assiali per secondo, consentendo in tal modo una acquisizione di immagini ad elevata densità di pixel in un tempo brevissimo.

1.5.7. Fall-off di performance. Il fall-off di performance determina il decremento della potenza del segnale all'aumentare della profondità di penetrazione, il quale calo può essere causato da: materiale analizzato, limitata lunghezza di coerenza istantanea della sorgente di luce applicata e risoluzione globale dello spettrometro. Sebbene dipenda dal campione, come regola empirica, un buon sistema OCT dovrebbe avere valori di roll-off inferiori a circa 20 dB a profondità superiori di 2 mm.

1.6. Confronto con altre tecnologie di imaging

Le immagini ottenute con un Tomografo a Coerenza Ottica sono simili a quelle fornite dall'ecografia detta *B-mode*, con la differenza che viene utilizzata la radiazione luminosa al posto del suono.

Per ottenere immagini tomografiche è innanzitutto necessario misurare le strutture interne dei materiali, o dei tessuti biologici, lungo una unica direzione: assiale o trasversale. Sebbene esistano diversi modi per implementare la tecnica OCT, la creazione delle immagini avviene in generale tramite la misura del ritardo temporale e dell'intensità della luce retrodiffusa dalle microstrutture interne del campione.

In ecografia, un suono ad alta frequenza viene inviato al tessuto da analizzare attraverso una sonda ad ultrasuoni; nel dettaglio, l'onda sonora viaggia nel materiale e viene riflessa dalle strutture interne, le quali presentano diverse proprietà acustiche. Le alte frequenze possono ridurre la profondità di scansione e, pertanto, l'onda sonora subisce una attenuazione durante la sua propagazione. In aggiunta, questa tecnica è stata sviluppata e ampiamente studiata per applicazioni cliniche e di laboratorio.

La principale differenza tra l'ecografia e la tecnica OCT è il fatto che la velocità di propagazione della luce risulta essere circa un milione di volte maggiore quella del suono e, dal momento che il tragitto percorso all'interno del campione viene determinato attraverso il ritardo temporale delle radiazioni elettromagnetiche retrodiffuse, ciò implica che nella Tomografia a Coerenza Ottica le misure di distanza richiedono una risoluzione temporale più elevata. Le immagini ad ultrasuoni possiedono il vantaggio che le onde sonore presentano frequenze comprese intorno a 10MHz; di conseguenza, esse vengono trasmesse rapidamente nella maggior parte dei tessuti biologici e, pertanto, è possibile ottenere immagini di strutture nel corpo che si trovano fino a decine di centimetri di profondità.

Infine, la risoluzione trasversale dell'ecografia è governata dalla capacità di focalizzare le onde sonore e, dal momento che la focalizzazione del suono è più difficile rispetto alla luce, con questa tecnica si ottengono prestazioni peggiori rispetto a quelle raggiungibili per mezzo di un Tomografo a Coerenza Ottica. In ogni caso, la risoluzione dell'immagine ottenuta migliora all'aumentare della frequenza dell'onda sonora impiegata.

Una variante nella tecnica OCT viene rappresentata dall'utilizzo di specchi MEMS (Micro Electro-Mechanical System), i quali possono essere impiegati all'interno di sonde endoscopiche grazie alle loro caratteristiche, quali le piccole dimensioni, la velocità di movimento e i bassi costi.

Tomografia a Coerenza Ottica

La velocità della luce assume un valore estremamente alto (circa $3 \cdot 10^8$ m/s) e, di conseguenza, la riflessione impiega un tempo non rilevabile direttamente da sistemi elettronici come avviene invece in ecografia. In particolare, da questi ritardi temporali è possibile derivare le distanze e le informazioni spaziali compiute dagli echi riflessi secondo la legge:

$$(2.0.1) \quad \Delta t = \frac{z}{v_p}$$

dove z è la distanza che compie l'onda e v_p è la sua velocità di propagazione.

Ad esempio, nel caso di ecografia, la risoluzione spaziale assume valori tipici dell'ordine dei $100 \mu\text{m}$, i quali corrispondono ad una risoluzione temporale di circa 100 ns ; mentre per i sistemi OCT, in cui la risoluzione si trova in un intorno di $10 \mu\text{m}$, è possibile ottenere una risoluzione temporale di circa 30 fs . Di conseguenza, per ovviare all'inconveniente della difficoltà nel misurare tali istanti temporali, è possibile utilizzare tecniche legate alla correlazione o all'interferometria¹.

2.1. Principio di funzionamento

La luce proveniente dalla sorgente luminosa viene separata in due repliche mediante un Beam Splitter: uno dei fasci incide sul campione da esaminare, mentre l'altro viaggia lungo il percorso di riferimento con lunghezza (e ritardo temporale) variabile. La luce retrodiffusa dal campione interferisce con la luce riflessa dal braccio di riferimento e, in seguito, rilevata con un fotorivelatore in uscita dall'interferometro. Il sistema di misura quantifica il ritardo temporale e l'intensità della luce retrodiffusa al variare della lunghezza del percorso di riferimento; in tal modo, si ottiene un profilo di diffusione assiale. Il fascio incidente viene inoltre scansionato anche lungo una direzione trasversale al fine di ottenere un insieme di dati bidimensionale; questo rappresenta la diffusione ottica attraverso sezioni trasversali del tessuto. I dati raccolti possono essere successivamente visualizzati in scala logaritmica di grigi o con immagini a colori.

Per applicazioni in campo di ricerca, solitamente vengono utilizzati Laser a brevi impulsi in quanto presentano una lunghezza di coerenza estremamente corta ed elevate potenze d'uscita, permettendo così un imaging veloce e ad alta risoluzione. Ad esempio, molti studi sono stati effettuati con dei Laser a brevi impulsi a Cr⁴⁺ Forsterite, il quale è in grado di emettere una potenza in uscita di 100 mW , generare impulsi molto brevi a lunghezze d'onda intorno ai 1300 nm e produrre una larghezza di banda sufficiente per ottenere una risoluzione assiale di circa $5 \div 10 \mu\text{m}$. Usando potenze incidenti nell'ordine di $1 \div 10 \text{ mW}$ è possibile inoltre ottenere velocità di acquisizione di alcuni frames al secondo con un rapporto segnale-rumore di circa 100 dB .

Per applicazioni cliniche, vengono usati diodi LED Superluminescenti che operano a 1310 nm , i quali riescono a raggiungere una risoluzione assiale pari a $15 \mu\text{m}$ con potenze in uscita di circa $5 \div 10 \text{ mW}$ (sufficienti per l'imaging OCT in tempo reale). Molti dispositivi OCT in commercio utilizzano queste sorgenti luminose grazie alle loro peculiarità poiché offrono una larghezza di banda confrontabile con i normali diodi LED e potenze dell'ordine di decine di milliwatt.

¹Come descritto nella Sezione 1.3 "Interferometria", le misure possono essere effettuate utilizzando un interferometro di Michelson.

Diverse caratteristiche fanno della Tomografia a Coerenza Ottica una tecnologia ideale per l'imaging biomedico, le quali vengono di seguito esposte:

- La tecnica OCT può ottenere immagini con risoluzioni assiali di $1 \div 15 \mu\text{m}$, ossia uno o due ordini di grandezza in più rispetto all'ecografia convenzionale. Questi valori si avvicinano a quelli dell'istopatologia, permettendo di risolvere morfologie particolari ed alcune caratteristiche cellulari. Diversamente dagli ultrasuoni, l'imaging può essere fatto direttamente attraverso l'aria senza richiedere un contatto diretto con il tessuto o un mezzo di trasduzione.
- L'analisi del campione può essere fatta in tempo reale, monitorando il decorso delle patologie direttamente su schermo e immagazzinando video ad alta risoluzione; ciò permette, ad esempio, che la tecnica OCT possa essere una guida per eventuali interventi chirurgici.
- L'imaging può essere fatto "*in situ*", cioè senza la necessità di sezionare il campione; questo permette di ottenere immagini di strutture per le quali la biopsia sarebbe azzardata o impossibile, riducendo gli errori di campionamento associati alla biopsia escissionale.
- Il Tomografo a Coerenza Ottica utilizza fibre ottiche e può interfacciarsi con vari strumenti clinici quali cateteri, endoscopi, laparoscopi e sonde chirurgiche, permettendo in questo modo un imaging minimamente invasivo all'interno del corpo; inoltre, può essere un sistema compatto e portatile, il che rappresenta una caratteristica importante per i dispositivi clinici.

2.2. Implementazione tecnica OCT

La tecnica OCT viene applicata in oftalmologia da più di quindici anni grazie alla sua abilità di visualizzare le strutture oculari in maniera accurata e con alta risoluzione. All'inizio fu utilizzata "*in vivo*" per ottenere sezioni ottiche trasversali del segmento anteriore dell'occhio umano e, in particolare, per analizzare malattie della retina (distacco e perforazione della macula e della membrana epiretinale, edema maculare e corioretinopatia centrale idiopatica seria). Inoltre, la Tomografia a Coerenza Ottica fu utilizzata anche per valutare il disco ottico e alcune sue strutture come, ad esempio, il fascio nervoso della retina (RNFL).

Il primo sistema clinico offriva una velocità di scansione limitata a 400 scansioni assiali (*A-scan*) al secondo a causa dell'ingombro fisico introdotto dallo specchio mobile di riferimento. Questo primo approccio viene chiamato Time-Domain (TD-OCT) poiché i segnali vengono ottenuti direttamente nel dominio del tempo. Dal primo sistema commercializzato, sono stati sviluppati diversi miglioramenti sia nell'hardware sia per quanto riguarda l'elaborazione dei dati raccolti, e i principali avanzamenti introdotti riguardano: migliore risoluzione assiale e aumento della velocità di scansione.

L'implementazione di una sorgente di luce a larga banda nella Tomografia a Coerenza Ottica ha portato vantaggi in termini di risoluzione assiale nel tessuto, la quale raggiunge valori di circa $2 \mu\text{m}$. Da alcuni studi eseguiti al fine di migliorare le prestazioni dei sistemi esistenti, si evince che lavorando nel dominio della frequenza, la velocità di acquisizione migliora considerevolmente senza la necessità di avere parti meccaniche in movimento. Per fare ciò, sono indispensabili: una sorgente di luce a larga banda, un fotorivelatore (ad esempio una camera con CCD - Charge Coupled Device) e uno spettrometro. Questo approccio viene chiamato Fourier-Domain (FD-OCT) poiché i profili di intensità (*A-scan*) vengono ottenuti utilizzando la trasformata di Fourier delle frequenze analizzate. In aggiunta al miglioramento della velocità di scansione, la tecnica OCT nel dominio della frequenza offre anche una maggiore sensibilità di ricezione e, grazie a questi miglioramenti in velocità e sensibilità, al giorno d'oggi è possibile ottenere scansioni volumetriche del tessuto (3D-OCT) in un periodo temporale molto breve, mentre nel passato il tempo richiesto diveniva proibitivo.

Ad esempio, sono state ottenute immagini tridimensionali della retina con sorgenti a larga banda utilizzando le tecniche: SD-OCT alla velocità di $312500 A - scan/s$ e SS-OCT a $249000 A - scan/s$. Ad oggi, la maggior parte dei sistemi utilizzati in clinica opera ad una velocità di acquisizione di circa $27000 A - scan/s$ con una risoluzione assiale di $5 \div 6 \mu\text{m}$.

Dalla nascita della tecnologia OCT ad oggi sono state sviluppate diverse configurazioni, tra le quali si individuano le principali:

- Time-Domain OCT (TD-OCT): la prima ad essere stata sviluppata, essa utilizza una sorgente luminosa ad ampio spettro e un riferimento mobile ed è in grado di ottenere un'interferenza a bassa coerenza al fine di rilevare le varie distanze tra gli strati interni del tessuto.
- Fourier-Domain OCT (FD-OCT): l'informazione viene ricavata a partire dallo spettro del segnale di interferenza con il riferimento fissato. A sua volta essa si suddivide in:
 - Spectral-Domain OCT (SD-OCT): la sorgente utilizzata emette a banda larga;
 - Swept-Source OCT (SS-OCT): la sorgente è un Laser la cui lunghezza d'onda di lavoro varia linearmente in un intervallo predefinito centrato in λ_0 ;
 - Optical Coherence Microscopy (OCM): variante delle tecniche FD-OCT in grado di ottenere maggiore risoluzione trasversale.
- Altre varianti:
 - Linear OCT (L-OCT): variante della tecnica TD-OCT che utilizza uno schema di rilevatori in parallelo;
 - Adaptive Optics OCT (AO-OCT): l'ottica adattiva è in grado di compensare le aberrazioni monocromatiche e migliorare la risoluzione;
 - Polarization-Sensitive OCT (PS-OCT): monitora i cambiamenti dello stato di polarizzazione nella luce polarizzata circolarmente.

Come scritto in precedenza, grazie a studi effettuati sulle varie configurazioni del Tomografo a Coerenza Ottica, la tecnica SD-OCT (nel dominio della frequenza) presenta una maggiore sensibilità rispetto al dominio del tempo; questo fenomeno può essere sfruttato per ottenere una maggiore velocità di acquisizione di scansioni, una maggiore penetrazione in profondità, o per aumentare la sensibilità dei vari metodi di OCT funzionali.

Nelle sezioni successive viene descritto il percorso effettuato per passare dai metodi OCT di analisi dell'interferenza nel dominio del tempo a quella nel dominio di Fourier, descrivendo i vantaggi portati dalla nuova tecnologia sulle immagini prodotte.

2.3. Sistemi OCT nel dominio del tempo

Come descritto all'inizio di questo capitolo, è possibile rilevare l'intensità degli echi luminosi retrodiffusi utilizzando un interferometro. Nel dettaglio, una sorgente luminosa a banda larga emette un raggio, il quale viene separato in due fasci da un Beam Splitter (BS): una parte si dirige verso il campione da analizzare, mentre l'altra viene fatta fluire verso uno specchio di riferimento. I tessuti del campione esaminato producono delle retrodiffusioni che si combinano con il fascio luminoso riflesso dallo specchio di riferimento e, infine, l'intensità del segnale in uscita viene rilevata da un fotorivelatore. Questo è il tipico funzionamento di un sistema TD-OCT (Time-Domain OCT), il cui schema di principio viene riportato in Figura 2.3.1 ed è composto da:

- Sorgente ad ampio spettro: normalmente un diodo LED Superluminescente a bassa coerenza;
- Interferometro di Michelson: divide in due la radiazione proveniente dalla sorgente per inviarla sia al riferimento che al campione e crea l'interferenza tra i due fasci di ritorno verso il rivelatore;
- Specchio di riferimento: riflette la radiazione della sorgente all'interno dell'interferometro per creare il termine di confronto per il fascio retrodiffuso dal campione. Esso definisce la lunghezza di riferimento (L_{ref}) in quanto viene traslato longitudinalmente per una distanza pari alla profondità di analisi interna al campione;

- Campione sotto esame: tessuto o materiale da analizzare. Al fine di ottenere immagini bidimensionali o tridimensionali, è possibile utilizzare specchi galvanometrici per deviare il fascio incidente, oppure far traslare il campione lungo una o entrambe le direzioni trasversali. La distanza del campione dall'interferometro definisce la lunghezza L_{sig} ;
- Rivelatore fotodiodo: converte la potenza ottica del fascio di uscita in un segnale elettrico ($i_{ph}(t)$) in modo tale che venga elaborato per ottenere le informazioni richieste.

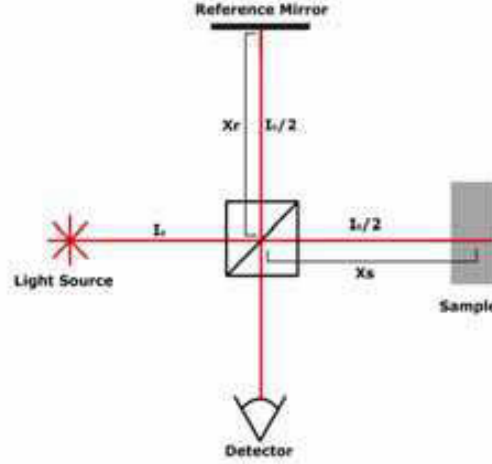


FIGURA 2.3.1. Schema di sistema Time-Domain OCT

Nel caso ideale di onda monocromatica perfettamente coerente alla frequenza ottica ν , l'interferometro divide in due versioni il fascio proveniente dalla sorgente, le quali vengono riflesse ottenendo le seguenti onde:

$$(2.3.1) \quad E_{ref}(\mathbf{r}, t) = E_r e^{j[2\pi\nu t + \phi_r(\mathbf{r})]} \quad E_{sig}(\mathbf{r}, t) = E_s e^{j[2\pi\nu t + \phi_s(\mathbf{r})]}$$

dove le fasi sono legate alla distanza percorsa dalla relativa onda luminosa:

$$(2.3.2) \quad \phi_r(\mathbf{r}) = 2\beta_r L_{ref} = 2\frac{2\pi}{\lambda_r} L_{ref} \quad \phi_s(\mathbf{r}) = 2\beta_s L_{sig} = 2\frac{2\pi}{\lambda_s} L_{sig}$$

con $\beta_{r,s}$ le costanti di propagazione relative al mezzo in cui la radiazione si propaga, $\lambda_{r,s}$ le lunghezze d'onda, $2 \cdot L_{r,s}$ le distanze dei percorsi di andata e ritorno dell'onda nei due rami.

Considerando la situazione in spazio libero, le costanti di propagazione risultano essere uguali tra loro ($\beta_r = \beta_s = \beta$), così come le lunghezze d'onda di lavoro ($\lambda_r = \lambda_s = \lambda$).

Il campo elettrico risultante all'uscita dell'interferometro è la somma dei campi riflessi e l'intensità ad essa associata è esprimibile sviluppando l'equazione (1.2.3) nel modo seguente:

$$(2.3.3) \quad \begin{aligned} I_{TOT} &\propto \frac{1}{2} \left(|E_{ref}|^2 + |E_{sig}|^2 + 2\Re \{ E_{ref} E_{sig}^* \} \right) \\ &\quad \downarrow \\ I_{TOT} &\propto \frac{1}{2} \left[|E_{ref}|^2 + |E_{sig}|^2 + 2E_{ref} E_{sig} \cos(\phi_r - \phi_s) \right] \\ &\quad \downarrow \\ I_{TOT} &\simeq I_{ref} + I_{sig} + 2\sqrt{I_{ref} I_{sig}} \cos\left(2\pi \frac{\Delta L}{\lambda/2}\right) \end{aligned}$$

dove ΔL è la differenza tra i percorsi compiuti dai due fasci.

Il fotodiodo converte questa intensità ottica in corrente fotogenerata, la cui media segue la relazione:

$$(2.3.4) \quad I_{ph} = \left\langle \frac{\eta e |E|^2}{h\nu 2\eta_0} \right\rangle$$

dove η è l'efficienza del fotodiodo, e è la carica dell'elettrone, $h\nu$ è l'energia del singolo fotone e η_0 è l'impedenza d'onda. Nel caso considerato di campi monocromatici la (2.3.4) diventa:

$$(2.3.5) \quad I_{ph} = \frac{\eta e}{h\nu 2\eta_0} \left[|E_{ref}|^2 + |E_{sig}|^2 + 2E_{ref}E_{sig} \cos\left(2\pi \frac{\Delta L}{\lambda/2}\right) \right]$$

da cui è possibile notare la dipendenza della fotocorrente dalla differenza ΔL tra i percorsi, la quale viene definita *OPD* (Optical Path Difference).

Il termine che descrive l'interferenza è periodico di periodo $\lambda/2$ e, ad ogni traslazione dello specchio di riferimento di tale quantità, il segnale presenta un massimo di intensità; pertanto, questo sistema ad una singola onda monocromatica non è sensibile alla profondità.

Nel caso di sorgente contenente diverse lunghezze d'onda, lo spettro presenta una larghezza non trascurabile e, di conseguenza, la configurazione può essere selettiva in profondità. Nel dettaglio, l'equazione (2.3.5) viene applicata ad ogni componente monocromatica, per cui presenta un periodo diverso a seconda della componente considerata. Tuttavia, per $\Delta L = 0$, ossia per distanza relativa nulla tra specchio di riferimento e campione, il termine coseno diventa ininfluenza ad ogni lunghezza d'onda e i segnali corrispondenti alle varie componenti spettrali si sommano costruttivamente. Questo fenomeno è dovuto alla cosiddetta "low coherence interference" ed è esprimibile con la seguente formula:

$$(2.3.6) \quad I_{TOT} = I_{ref} + I_{sig} + 2\sqrt{I_{ref}I_{sig}} |\gamma_{sr}| \cos\left(2\pi \frac{\Delta L}{\lambda/2}\right)$$

dove γ_{sr} è il grado di correlazione tra i campi del campione e quello di riferimento.

Il principio alla base della tecnica TD-OCT è proprio la rivelazione della riflessione avvenuta nel campione; in particolare, essa interferisce con il segnale di riferimento solo quando, nella traslazione longitudinale, lo specchio si trova ad una distanza pari alla profondità dello strato di tessuto che ha causato la retrodiffusione stessa. Tale distanza, minore della lunghezza di coerenza, determina quindi la posizione dell'onda all'interno del campione. Per distinguere due diverse riflessioni interne al campione si rende necessario individuare i due corrispondenti involucri tra i termini del segnale di interferenza (ognuno di larghezza L_c); di conseguenza, la lunghezza di coerenza è legata anche alla risoluzione assiale del sistema TD-OCT. Inoltre, la sorgente ricopre un ruolo fondamentale nelle prestazioni in termini di risoluzione poiché maggiore è la sua larghezza di banda, minore è la lunghezza L_c e migliore risulta essere la risoluzione assiale.

Una stima della sensibilità dei sistemi OCT nel dominio del tempo può essere calcolata confrontando il numero di fotoni utili del segnale con il numero di fotoni relativi al rumore (fuori dal piano focale). Il numero totale di fotoni utili del segnale di interferenza è dato dalla seguente equazione:

$$(2.3.7) \quad N_{sig} = 2\sqrt{P_{ref}P_{sig}} \frac{L_c T_{esp}}{x_d} \frac{\eta}{h\nu}$$

dove $P_{ref,sig}$ sono le potenze dei segnali retrodiffusi, x_d è la massima escursione dello specchio di riferimento e T_{esp} è il tempo di scansione totale.

Una valutazione quantitativa del rumore è dato invece dalla radice quadrata di tutti i fotoni rilevati dal fotorecettore durante lo stesso intervallo temporale. Dal momento che la potenza di riferimento (P_{ref}) tipicamente domina sugli altri termini, si ottiene un numero di fotoni pari a:

$$(2.3.8) \quad N_{noise} = \sqrt{P_{ref}} \frac{L_c T_{esp}}{x_d} \frac{\eta}{h\nu}$$

Il rapporto segnale-rumore di un sistema TD-OCT, considerando un rilevatore ideale, è esprimibile per mezzo della seguente relazione:

$$(2.3.9) \quad SNR_{TD-OCT} \simeq 10 \log \left(\frac{N_{sig}}{N_{noise}} \right)^2 = 10 \log \left(4P_{sig} \frac{L_c T_{esp}}{x_d} \frac{\eta}{h\nu} \right)$$

Nel caso di Tomografo a Coerenza Ottica nel dominio del tempo, questo SNR varia a seconda dei parametri di scansione di interesse; ad esempio, per imaging biologico viene richiesto un rapporto segnale-rumore superiore a 95 dB. Dall'equazione (2.3.9) è possibile notare che, idealmente, vengono tenuti in considerazione i fotoni retrodiffusi dall'interfaccia per l'intera durata dell'acquisizione T_{esp} ; in realtà, vengono selezionati attivamente solo i fotoni rilevati in un intervallo di tempo molto più breve e pari a $\frac{L_c}{x_d} T_{esp}$. Ciò comporta una diminuzione della sensibilità con una inevitabile perdita di informazioni e diminuzione del rapporto segnale-rumore.

La velocità di acquisizione dei sistemi TD-OCT risulta essere limitata a causa della sensibilità e della potenza massima ammissibile che può incidere sull'occhio umano.

2.4. Sistemi OCT nel dominio della frequenza

Un sistema in grado di fare pieno uso dei fotoni relativi al segnale utile durante l'intero tempo di acquisizione è il Fourier-Domain OCT (FD-OCT), in cui la trasformata di Fourier della misura dello spettro produce un profilo di scansione lineare, il quale risulta essere molto simile a quello ottenuto con la tecnica TD-OCT. Inoltre, in questo caso, il contributo del segnale fornito da due o più interfacce può essere recepito in modo simultaneo poiché queste contribuiscono a differenti componenti di oscillazione dello spettro. Come scritto in precedenza, questa tecnica si suddivide in tre metodi: Spectral-Domain OCT, Swept-Source OCT e Optical Coherence Microscopy.

2.4.1. Spectral-Domain OCT. Il Tomografo a Coerenza Ottica basato su spettrometro, conosciuto anche come radar spettrale oppure OCT nel dominio di Fourier, utilizza una sorgente di luce ad ampia banda e uno spettrometro a basse perdite per misurare le oscillazioni spettrali. Lo schema di principio sperimentale di un sistema SD-OCT è molto simile a quello di un TD-OCT, con la differenza che lo specchio di riferimento è fisso. Il fascio emesso dalla sorgente a banda larga viene diviso e inviato contemporaneamente sia al campione che allo specchio di riferimento, dove viene retrodiffuso. I segnali di riflessione così ottenuti interferiscono tra loro e l'uscita dell'interferometro viene mandata ad uno spettrometro, nel quale le diverse componenti spettrali vengono divise spazialmente per mezzo di un reticolo di diffrazione. Tali componenti sono di seguito rilevate da un array di sensori (ad esempio CCD) al fine di ricostruire lo spettro del segnale di interferenza. Solitamente, per ottenere delle immagini utilizzabili in tempo reale, vengono impiegate delle tecniche chiamate GPGPU (General-Purpose computing on Graphics Processing Unit) in grado di elaborare i dati ad alta velocità.

In Figura 2.4.1 viene rappresentata una possibile configurazione di questo sistema, nella quale la traslazione longitudinale dello specchio di riferimento viene eliminata in quanto l'informazione legata ad ogni riflessione viene acquisita simultaneamente. In tal modo si annullano i fattori di disturbo come le vibrazioni meccaniche o le incertezze spaziali presenti nella tecnica TD-OCT.

Nel caso in cui sia presente solo una riflessione alla profondità $\Delta L = |L_{sig} - L_{ref}|$, l'intensità rivelata dallo spettrometro all'uscita dall'interferometro, ad una specifica pulsazione ω , è data dalla seguente formula:

$$(2.4.1) \quad I_{TOT}(\omega) = I_{ref}(\omega) + I_{sig}(\omega) + 2\sqrt{I_{ref}(\omega)I_{sig}(\omega)} \cos[\phi_s(\omega) - \phi_r(\omega)]$$

$$\downarrow$$

$$I_{TOT}(\omega) = I_{ref}(\omega) + I_{sig}(\omega) + 2\sqrt{I_{ref}(\omega)I_{sig}(\omega)} \cos(\omega \frac{2\Delta L}{c})$$

dove i termini di fase delle due onde interferenti valgono:

$$\phi_{s,r}(\omega) = 2\beta_{s,r}(\omega)L_{sig,ref} = \omega \frac{2L_{sig,ref}}{c}$$

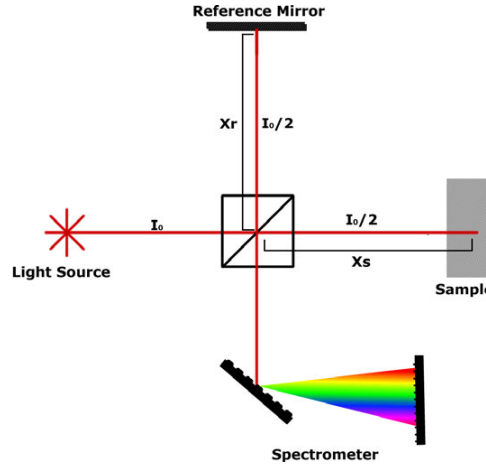


FIGURA 2.4.1. Schena sistema Spectral-Domain OCT

Il segnale nel dominio della frequenza, ottenuto con l'equazione (2.4.1), presenta una intensità con andamento sinusoidale modulato dallo spettro dell'onda emessa dalla sorgente. L'informazione della profondità è quindi contenuta nell'oscillazione data dal termine coseno, il quale possiede una frequenza pari a:

$$\frac{1}{\tau} = \frac{c}{2\Delta L}$$

Nel segnale di uscita totale, il termine $I_{ref}(\omega) + I_{sig}(\omega)$ corrisponde ad un picco centrato in $\tau = 0$ e ciò rappresenta l'autocorrelazione dello spettro della sorgente. Oltre a tale componente continua, il segnale finale si presenta in forma :

$$(2.4.2) \quad \mathcal{F}^{-1}[I_{TOT}(\omega)] \simeq G_{sr}(t - \tau) + G_{sr}(-t - \tau)$$

dove la funzione $G_{sr}(t)$ è il prodotto di correlazione tra il campo elettrico di riferimento e quello del campione preso in esame. Assumendo che quest'ultimo sia privo di particolari assorbimenti tali da indurre una sostanziale modifica del segnale nell'analisi spettrale, le componenti $I_{ref}(\omega)$ e $I_{sig}(\omega)$ si differenziano per il ritardo relativo τ , il quale è direttamente collegato alla differenza di cammino ottico ΔL , evidenziato dal prodotto di correlazione $G_{sr}(t)$.

Inoltre, dall'equazione (2.4.2) è possibile notare che l'informazione presenta dei ritardi negativi e, dal momento che $I_{TOT}(\omega)$ è un segnale reale, la sua elaborazione tramite trasformata di Fourier fornisce un segnale Hermitiano creando in tal modo un'immagine simmetrica del profilo di profondità. Ciò può portare ad una errata analisi della struttura in esame nel caso in cui lo specchio di riferimento sia troppo lontano dall'interferometro rispetto al campione. Altro fattore di degrado dell'analisi è costituito dal "coherence noise", ossia dalle diverse riflessioni non volute che avvengono all'interno degli strumenti di misura.

Nel caso generale di interferogrammi spettrali con più componenti riflesse, la trattazione matematica non cambia in quanto, tramite la trasformata di Fourier, è possibile rivelare ciascuna componente "temporale" e, di conseguenza, anche le singole posizioni delle riflessioni avvenute.

Analogamente al caso di tecnica OCT nel dominio del tempo, la risoluzione assiale è legata alla lunghezza di coerenza (L_c) della sorgente; in particolare, una elevata risoluzione spaziale (caratteristica desiderabile per un sistema OCT) richiede l'impiego di un emettitore di luce con larghezza spettrale ampia, cioè lunghezza di coerenza piccola. Ciò implica che un intervallo di profondità in scansione maggiore necessita di un numero elevato di pixel (N) e questo risultato può essere ottenuto diminuendone la dimensione e/o incrementandone la quantità nel sensore della camera.

Il numero di fotoni del segnale utile è dato dalla formula:

$$(2.4.3) \quad N_{sig} = 2T_{esp} \sqrt{P_{ref} P_{sig}} \frac{\eta}{h\nu}$$

dove T_{esp} è il tempo di scansione totale, $P_{ref, sig}$ sono le potenze dei segnali retrodiffusi, $h\nu$ è l'energia del singolo fotone e η è l'efficienza quantistica del dispositivo fotosensibile.

In questo caso, il numero totale di fotoni rumorosi è sempre dato dalla radice quadrata dei fotoni totali del segnale di riferimento:

$$(2.4.4) \quad N_{noise} = \sqrt{P_{ref} T_{esp}} \frac{\eta}{h\nu}$$

Di conseguenza, il rapporto segnale-rumore nel caso di sistema SD-OCT è calcolabile con la seguente relazione:

$$(2.4.5) \quad SNR_{SD-OCT} \simeq 10 \log \left(\frac{N_{sig}}{N_{noise}} \right)^2 = 10 \log \left(4P_{sig} T_{esp} \frac{\eta}{h\nu} \right)$$

Per un Tomografo a Coerenza Ottica nel dominio della frequenza, la profondità di scansione (x_d) rappresenta l'intero intervallo delle oscillazioni spettrali che lo spettrometro è in grado di rilevare.

Se tale valore viene superato, le oscillazioni possono portare lo strumento in saturazione e generare così il fenomeno di aliasing.

2.4.2. Swept-Source OCT. Nei sistemi Swept-Source OCT (o più comunemente SS-OCT), la sorgente ottica è un Laser a banda stretta con frequenza tunabile. Nel dettaglio, l'informazione in frequenza non viene estratta simultaneamente per mezzo di uno spettrometro, ma i dati di intensità vengono registrati sequenzialmente illuminando un singolo fotodiode. In passato, uno degli ostacoli nello sviluppo di tali sistemi OCT è stato la scarsa disponibilità di sorgenti stabili e rapidamente accordabili. Inizialmente, le fonti luminose erano costituite da Laser a cavità esterna, i quali contenevano prismi e reticoli in grado di sintonizzare la radiazione emessa; recentemente, sono state sviluppate configurazioni più affidabili in grado di sintonizzare rapidamente la lunghezza d'onda irradiata. L'onda elettromagnetica di uscita dalla sorgente è funzione del numero d'onda (inverso della lunghezza d'onda), il quale può essere espresso dalla seguente relazione:

$$(2.4.6) \quad k(t) = k_0 + \delta k \cdot t$$

dove $\delta k = \Delta k / \Delta t$ è il fattore di variazione lineare del numero d'onda. Idealmente, un sistema SS-OCT richiede M numeri d'onda equispaziati per ottenere l'intero intervallo di definizione, del tipo:

$$\Delta k = M \cdot \delta k$$

con Δk l'ampiezza della banda ottica entro cui può variare il segnale.

Assumendo che, in prima approssimazione la variazione della frequenza $\nu(t)$ venga mantenuta lineare nel tempo, il Laser tunabile è in grado di generare un segnale avente la seguente forma:

$$(2.4.7) \quad E_{in}(t) = E_{in} e^{j2\pi\nu(t)t}$$

Il flusso proveniente dalla sorgente ottica viene diviso nei due rami dell'interferometro: uno è connesso allo specchio di riferimento fissato, mentre l'altro è diretto verso il campione da esaminare. Le onde retrodiffuse dal riferimento e dal campione vengono di seguito ricombinate e inviate al rivelatore.

Dal momento che la lunghezza di coerenza della sorgente è molto maggiore rispetto la differenza di cammino ΔL , le due onde possono interferire costruttivamente e, dato che i tempi di propagazione nei due rami sono diversi, le radiazioni che giungono simultaneamente al fotorivelatore risultano ritardate l'una rispetto all'altra. Questo implica una specie di modulazione (supposta lineare) della lunghezza d'onda della sorgente e, siccome le frequenze differiscono di una quantità proporzionale alla differenza

di cammino ottico, il fotodiodo rileva un segnale avente una frequenza inferiore pari a quella di battimento². Analizzando lo spettro di questa onda risultante dall'interferenza, la posizione della singola riflessione avvenuta nel campione, rispetto al riferimento, può essere derivata dall'individuazione del picco corrispondente a tale frequenza di battimento.

Nel caso di singola riflessione, all'istante $t = t_i$ il Laser emette un'onda con frequenza istantanea $\nu(t_i)$, la quale viene inviata contemporaneamente al campione in esame e allo specchio di riferimento. Al tempo $t = t_i + 2t_{sig}$ i due segnali riflessi, dopo aver percorso un tragitto di andata e ritorno pari a $2L_{sig,ref}$, collidono creando interferenza. Dal momento che l'onda emessa è variabile nel tempo, le radiazioni assumono frequenze istantanee diverse:

$$(2.4.8) \quad \nu_{sig} = \nu(t_i) \quad \nu_{ref} = \nu(t_i + \tau)$$

dove τ è il tempo impiegato per percorrere la distanza ΔL , in andata e ritorno, alla velocità della luce. Questo ritardo è esprimibile con la relazione:

$$(2.4.9) \quad \tau = 2t_{sig} - 2t_{ref} = \frac{2\Delta L}{c}$$

Di conseguenza, all'istante $t = t_i + 2t_{sig}$ si genera il fenomeno del battimento e, secondo la (1.2.12), il segnale risultante presenta un andamento cosenoidale alla frequenza di battimento:

$$(2.4.10) \quad \nu_B = \nu_{ref} - \nu_{sig} = [\nu_{in} + \nu(t_i + \tau)] - [\nu_{in} + \nu(t_i)] \propto m \frac{2\Delta L}{c}$$

Questa frequenza risulta essere direttamente collegata alla differenza di cammino ottico (ΔL), la quale può essere derivata tramite la trasformata di Fourier del segnale elettrico generato dal fotorivelatore in quanto esso presenta una riga spettrale centrata proprio alla frequenza di battimento; inoltre, l'ampiezza di tale picco determina la potenza di ritorno della riflessione, ovvero il modulo del coefficiente di riflettività della struttura sotto esame.

Nel caso di molteplici riflessioni dal campione, il segnale di interferenza contiene diverse frequenze di battimento, ognuna delle quali è collegata alla relativa ΔL dell' i -esima interfaccia riflettente. Per mezzo della trasformata di Fourier è possibile quindi visualizzare nel dominio della frequenza i relativi picchi e per ognuno di essi determinarne posizione e ampiezza.

Il segnale di interferenza ottenuto grazie all'impiego dell'interferometro può essere rilevato da un fotorivelatore singolo oppure da due fotodiodi bilanciati al fine di compensare le eventuali distorsioni che la radiazione può subire.

2.4.3. Optical Coherence Microscopy. La risoluzione trasversale ottenuta con le tecniche precedentemente esposte risulta essere non adatta a rivelare strutture microscopiche cellulari o sub-cellulari a causa del compromesso risoluzione-profondità di campo. Una variante detta Optical Coherence Microscopy (OCM) prevede l'utilizzo della massima risoluzione trasversale ottenibile con un sistema di lenti a discapito della profondità di fuoco; in particolare, è possibile ottenere valori di risoluzione dell'ordine di $1 \div 2 \mu\text{m}$, comparabili con altre tecniche di microscopia.

L'acquisizione dei dati avviene per mezzo di immagini "*en-face*", ovvero immagini del piano frontale del campione; inoltre, traslando il campione lungo l'asse longitudinale z è possibile ottenere delle scansioni su diversi piani e, una volta uniti i diversi strati, è possibile creare una immagine tridimensionale di piccoli volumi. Tuttavia, la tecnica OCM richiede una scansione assiale per ogni pixel e, di conseguenza, al fine di produrre immagini ad alta risoluzione è necessario un sistema di scansione ad alta velocità.

²Come dimostrato nel Paragrafo 1.2.4 "Interferenza tra onde elettromagnetiche: Caso onde con frequenze diverse".

2.5. Altri tipi di sistemi OCT

Nel corso degli anni, le tecniche di implementazione per i Tomografi a Coerenza Ottica sono state sviluppate ed evolute al fine di migliorare le prestazioni in termini di qualità delle immagini e robustezza ai disturbi. Di seguito vengono presentate le varianti che hanno ottenuto i risultati migliori.

2.5.1. Linear OCT. Uno dei punti deboli dei sistemi TD-OCT è la velocità di acquisizione limitata da vari fattori, tra cui i ritardi causati dalle parti in movimento; di conseguenza, l'eliminazione di queste componenti mobili può rappresentare un grosso vantaggio soprattutto per i tomografi destinati al commercio.

I sistemi Linear OCT combinano i principi di misura nel dominio del tempo con uno schema di fotorivelatori disposti in parallelo; in particolare, il segnale uscente dall'interferometro viene esteso all'intero sensore in modo tale da non considerare la dipendenza temporale e creare una misura spaziale dell'intensità.

Alcuni importanti inconvenienti di tale tecnica sono: l'elevato numero di pixel richiesti per un singolo campione e la profondità di penetrazione limitata dai pixel disponibili. In ogni caso, l'avanzata tecnologia con cui vengono costruiti i rilevatori CCD e CMOS ha reso possibile la realizzazione di questi dispositivi L-OCT.

2.5.2. Adaptive Optics OCT. Il vantaggio introdotto dall'ottica adattiva nei sistemi oftalmici riguarda la possibilità di compensare le aberrazioni cromatiche che naturalmente avvengono nell'occhio.

I primi sistemi AO-OCT furono proposti e usati dagli astronomi per correggere le distorsioni della luce dovute al suo passaggio attraverso l'atmosfera. Nel 1997, questa tecnica fu impiegata da Liang nell'analisi dell'occhio umano; nel dettaglio, egli utilizzò un sensore a fronte d'onda Hartmann-Shack e uno specchio deformabile per correggere la sensibilità al contrasto e migliorare la qualità della visione nei soggetti umani. Nel 2003 si verificò una evoluzione grazie a Miller, il quale aumentò l'apertura numerica dei fasci per migliorare la risoluzione spettrale; nello specifico, incrementando il diametro di questi raggi (convenzionalmente pari a circa 1 mm), la dimensione dello spot incidente sulla retina diminuisce e la risoluzione trasversale migliora fino a $10 \div 15 \mu\text{m}$. Tuttavia, la diffrazione limita la massima risoluzione teorica, la quale non può essere raggiunta a causa di aberrazioni oculari dovute alla dilatazione della pupilla. Questi artefatti sono inoltre dipendenti dalla larghezza di banda della sorgente luminosa impiegata e ciò spiega l'importanza dell'impiego di lenti acromatiche.

In generale, un sistema oftalmico con elementi ottici adattivi consiste nei seguenti componenti fondamentali: sensore di fronte d'onda (misura le variazioni del fronte d'onda dovute alle aberrazioni), correttore di fronte d'onda (impartisce un determinato profilo al fronte d'onda incidente per correggere le aberrazioni) e sistema di controllo (converte rapidamente le informazioni provenienti dal sensore in impulsi di tensione che comandano il correttore).

Uno svantaggio dell'imaging ottenuto con questa tecnica consiste nel fatto che la profondità di campo è breve e, pertanto, la messa a fuoco a differenti profondità risulta essere complicata. Ad esempio, i fotorecettori posizionati in fondo alla retina e le cellule dei gangli retinali superficiali non possono essere messe a fuoco contemporaneamente con la stessa configurazione dello strumento, ma si rende necessario eseguire delle scansioni multiple variando il piano focale e, successivamente, unire i volumi analizzati. Un altro limite della tecnica AO-OCT è che il campo visivo risulta essere ristretto ad angoli compresi nell'intervallo $1^\circ \div 3^\circ$. Una possibile soluzione può essere l'impiego di un sistema "eye-tracking", il quale è in grado di acquisire una serie di scansioni contigue e di ricostruire gradualmente immagini di volumi più ampi.

Un potenziale vantaggio dato dal miglioramento della risoluzione laterale consiste nella maggior qualità generale delle immagini ottenute dall'occhio, le quali sono affette da aberrazione; ciò implica inoltre un miglioramento delle prestazioni degli algoritmi di segmentazione automatici e di assistenza nella diagnosi di malattie, con conseguente facilitazione nella comprensione di patologie "in vivo".

2.5.3. Polarization-Sensitive OCT. I campi elettrici che interferiscono per formare il segnale di correlazione misurato sono quantità vettoriali; di conseguenza, questo sistema OCT è in grado di rilevare i cambiamenti dello stato di polarizzazione delle onde luminose incidenti e riflesse dal campione e dallo specchio di riferimento.

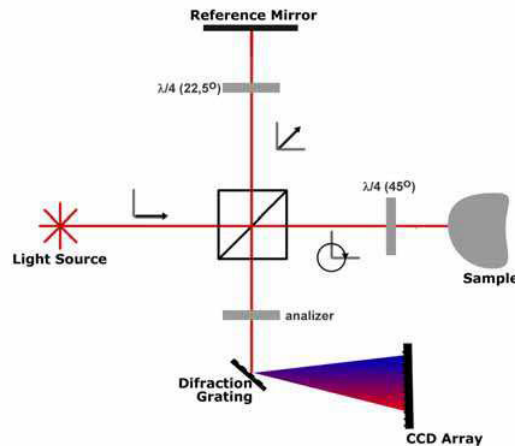


FIGURA 2.5.1. Schema di sistema Polarization-Sensitive OCT

In Figura 2.5.1 viene presentata una possibile configurazione dei sistemi Polarization-Sensitive OCT, detti anche PS-OCT, i quali sono in grado di riconoscere i cambiamenti di polarizzazione nella luce polarizzata circolarmente. Nel dettaglio, il polarizzatore a 45° viene posto prima del campione in modo tale che la luce non sia allineata con uno dei due assi ottici fondamentali. Quando il fascio luminoso retrodiffuso passa nuovamente attraverso il polarizzatore, esso possiede uno stato di polarizzazione lineare ruotato di 90° rispetto a quello originato dalla sorgente. Nel ramo di riferimento viene inserito invece un polarizzatore in grado di ruotare lo stato di polarizzazione di 22.5° al fine di creare interferenza tra una luce polarizzata in senso orizzontale e una polarizzata 45° ; in questo modo è possibile ottenere un termine di interferenza sovrapposto ad un termine di componente continua.

Questa tecnica PS-OCT fu inizialmente applicata per caratterizzare la birifrangenza della pelle, della cartilagine e dello smalto dei denti; in particolare, la birifrangenza cambia con l'avanzare di una malattia e, di conseguenza, il Tomografo a Coerenza Ottica può essere impiegato per individuare un probabile cambiamento di patologie come il glaucoma. Diversi studi indicano che la tecnica PS-OCT offre un approccio alternativo per valutare le variazioni delle proprietà ottiche dei tessuti; difatti, nel caso in cui un cambiamento nella birifrangenza avviene prima che il tessuto si assottigli o si ingrossi, ciò permette una investigazione precoce e l'opportunità di interventi tempestivi.

2.6. Confronto tra configurazioni

Nel corso degli anni, l'evoluzione dei sistemi OCT ha richiesto notevoli sforzi al fine di ottenere risultati sempre migliori; nello specifico, lo sviluppo di maggior importanza riguarda il passaggio di questa tecnica dal dominio del tempo a quello della frequenza.

In un sistema TD-OCT, l'aumento della larghezza di banda della sorgente implica un calo del rapporto segnale-rumore poiché si rende necessario aumentare anche la banda elettronica del dispositivo fotosensibile impiegato. Per mantenere lo stesso SNR esistono varie possibilità: diminuire la velocità delle acquisizioni *A-scan*, diminuire l'intervallo di scansione in profondità, oppure aumentare l'intensità di illuminazione del campione. Tuttavia, in molti casi legati all'imaging oftalmico, la potenza ottica incidente non può essere aumentata oltre i limiti previsti dall'American National Standards Institute

(ANSI) e, di conseguenza, per ovviare a tale inconveniente devono essere impiegate delle tecniche alternative più sensibili.

Nella configurazione nel dominio della frequenza, lo specchio rimane fisso e i segnali di interferenza corrispondenti alle varie profondità vengono acquisiti simultaneamente. Questo permette un pieno utilizzo di tutti i fotoni relativi alle singole interfacce con conseguente riduzione degli artefatti da movimento e aumento di sensibilità e velocità di acquisizione.

Il metodo SS-OCT cerca di unire la sensibilità ottenibile con la tecnica SD-OCT e la semplicità hardware di TD-OCT. Difatti, la complessità del sistema viene trasferita dal ricevitore alla sorgente Laser, la quale deve essere in grado di creare una spazzolata in un ampio intervallo di frequenze; inoltre, grazie all'utilizzo di tali sorgenti, esso risulta essere meno esposto all'effetto degradante introdotto da eventuali dispersioni. Per contro, dal momento che la radiazione emessa dipende dalla lunghezza d'onda, la costante di propagazione varia, e le varie componenti spettrali dell'onda si trasmettono con velocità differenti. Ciò comporta un allargamento dell'effettiva lunghezza di coerenza a discapito della risoluzione assiale, il che può essere compensato introducendo nel ramo di riferimento materiali come vetro BK7 o acqua, oppure applicando appositi algoritmi.

Se si confrontano i due metodi SS-OCT e SD-OCT, uno dei vantaggi del primo rispetto al secondo riguarda la possibilità di impiegare intervalli di lunghezza d'onda di [1000, 1300] nm e, quindi, ottenere una visualizzazione ad alta risoluzione di strutture situate molto in profondità. Ad esempio, in ambito oftalmico, a tali frequenze ottiche il fascio emesso dal tomografo risulta essere invisibile al paziente sottoposto ad analisi oculistica, per cui è possibile ridurre la durata dello stesso esame in quanto l'occhio non distoglie l'attenzione dal fissare un punto interno allo strumento. Un altro vantaggio dei sistemi Swept-Source OCT rispetto ai sistemi Spectral-Domain OCT è la possibilità di raggiungere velocità di scansione molto elevate (dell'ordine di $80000 \div 100000 A - scan/s$) e, grazie a questa specifica, è possibile acquisire una scansione *B-scan* in un tempo pari a 0.01 s.

Solitamente, nella configurazione SS-OCT viene impiegata una sorgente luminosa a banda stretta con un semplice fotorivelatore al posto di un CCD o di uno spettrometro in quanto la rivelazione con camera comporterebbe una diminuzione del segnale all'aumentare della profondità di scansione a causa della dimensione finita dei pixel del medesimo sensore. Inoltre, sebbene si possa rimediare a ciò riducendo la dimensione degli stessi pixel, il gravoso aumento di complessità e di costi di un array CCD spiega la preferenza del singolo fotorivelatore in tale tecnica.

Come scritto in precedenza, la maggior parte dei sistemi SS-OCT opera a lunghezze d'onda comprese tra 1000 nm e 1300 nm, il che limita la risoluzione assiale soprattutto in campioni ricchi di acqua in cui la finestra di assorbimento risulta essere più ampia in un intorno di $\lambda \simeq 850$ nm. Di conseguenza, per godere a pieno dei vantaggi della tecnica SS-OCT, è di fondamentale importanza realizzare sorgenti ad alta velocità e ampiamente regolabili in lunghezza d'onda.

Recentemente, R.Huber ha presentato una sorgente basata sull'utilizzo di una cavità tunabile Fabry-Perot in grado di emettere lunghezze d'onda comprese in una banda centrata a 1310 nm e larga circa 120 nm, la quale fornisce una potenza ottica in uscita di circa 45 mW ad una velocità di spazzolamento di 20 kHz.

I Tomografi a Coerenza Ottica nel dominio della frequenza sono diventati i metodi principali nell'analisi della retina umana grazie all'elevata velocità di acquisizione, all'alto rapporto segnale-rumore e all'elevata risoluzione. Tuttavia, la sensibilità di tale tecnica presenta un peggioramento di circa 6 dB per ogni mm di profondità e il rapporto segnale-rumore subisce una forte diminuzione limitando in tal modo l'intervallo di scansione a meno di 2 mm in profondità. Inoltre, il forte incremento della quantità dei dati in uscita e l'intenso sforzo computazionale richiesto per effettuare la trasformata di Fourier, rendono necessaria l'introduzione di opportuni moduli di elaborazione del segnale ad altissima velocità come, ad esempio, i Field Programmable Gate Arrays (FPGAs), i quali permettono di acquisire e processare il segnale OCT in tempo reale.

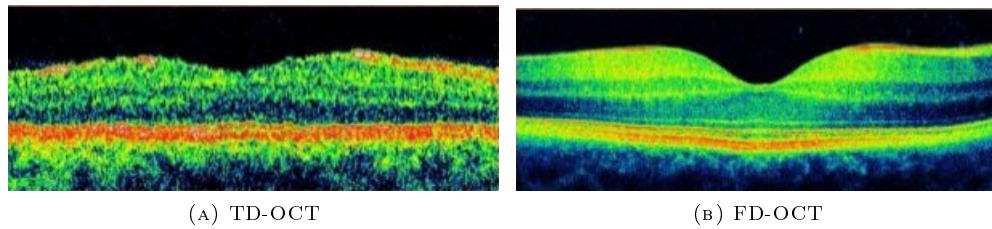


FIGURA 2.6.1. Esempio di analisi TD-OCT e FD-OCT

In Figura 2.6.1 viene riportato un esempio di analisi dell'occhio umano eseguita rispettivamente con sistema TD-OCT e tomografo FD-OCT; in particolare, è possibile notare che con la tecnica nel dominio della frequenza, i risultati ottenuti sono migliori in termini di prestazioni e qualità delle immagini.

2.7. Inconvenienti tecnica OCT

Nonostante i numerosi vantaggi discussi finora, di seguito vengono esposti alcuni problemi riguardanti l'implementazione di un Tomografo a Coerenza Ottica.

2.7.1. Indice di rifrazione e Dispersione. I rami dell'interferometro sono costituiti da vari materiali come, ad esempio, il vetro per le fibre ottiche, l'aria o i tessuti biologici; di conseguenza, la costante di propagazione varia con la frequenza a seconda del mezzo considerato e ciò implica una dispersione. Questo fenomeno diventa importante soprattutto nel caso di impiego di sorgenti a banda larga e degrada la qualità dell'immagine ricavata con la tecnica OCT. Nel dettaglio, la dispersione consiste nella scomposizione di un'onda elettromagnetica in un fascio di molteplici onde monocromatiche nel momento in cui passa attraverso un corpo con uno specifico indice di rifrazione. Siccome ciascuna onda monocromatica possiede una lunghezza d'onda differente, essa si propaga nel tessuto ad una velocità diversa e, in particolare, alcune componenti spettrali rallentano quando la luce attraversa il mezzo con conseguente allargamento dell'impulso in ingresso; ciò può essere compensato muovendo lo specchio in diverse posizioni a discapito della risoluzione assiale (effetto solitamente trascurabile). Altri metodi di compensazione possono essere: introduzione di un prisma di vetro con dimensioni variabili nel ramo di riferimento o elaborazione via software con digital processing.

Nel caso di immagini retiniche, la maggior parte della dispersione nasce dal vitreo che costituisce gran parte della lunghezza dell'occhio. Il metodo usato per la compensazione impiega degli specchi ricoperti da materiale dielettrico, i quali vengono progettati in modo tale da riflettere determinate lunghezze d'onda ed introdurre ritardi di gruppo differenti che compensano quelli prodotti dal mezzo attraversato.

Recentemente, due gruppi di ricerca indipendenti all'Harvard Medical School (Boston, MA) e al Massachusetts Institute of Technology (MIT; Cambridge, MA) hanno discusso numerosi metodi per compensare questa distorsione.

2.7.2. Diminuzione SNR. Il segnale utile può essere distorto a causa di movimenti del campione o della sonda con conseguente riduzione del rapporto segnale-rumore e, quindi, peggioramento delle risoluzioni assiale e trasversale. Questo fenomeno viene causato principalmente dal non perfetto mantenimento della monocromaticità dell'onda durante l'acquisizione dello stesso segnale.

Nel caso di sistemi TD-OCT, il movimento del campione o della sonda influenzano solo una parte dei pixel che formano l'immagine e, qualora il tempo di acquisizione del segnale per ogni pixel fosse molto breve, il peggioramento del SNR può essere trascurato.

Al contrario, nei sistemi SD-OCT il deterioramento dell'immagine dovuta al movimento può essere rilevante in quanto il rapporto segnale-rumore cala con l'aumentare della differenza di percorso tra braccio di riferimento e ramo campione diventando importante soprattutto quando l'intervallo di scansione eccede di circa 20 dB. Questo fenomeno è dovuto alla risoluzione finita di lunghezza d'onda durante l'acquisizione del segnale, il quale viene acquisito nel tempo e a diverse profondità. Ad ogni modo, l'inconveniente è riducibile diminuendo la dimensione dei pixel della camera CCD oppure muovendo la regione di interesse del campione vicino al punto in cui si ottiene l'uguaglianza di lunghezza tra i due rami.

Infine, nei sistemi SS-OCT la larghezza di linea associata a ciascun numero d'onda è piccola e, pertanto, questo fattore può essere trascurato. Inoltre, esso viene causato principalmente dalle non linearità nella scansione dei numeri d'onda, le quali non sono cospicue nelle sorgenti e, quindi, trascurabili nel caso in cui viene superato l'intervallo di scansione in profondità.

2.7.3. Segnale simmetrico. Lo spettro del segnale acquisito con la tecnica Spectral-Domain OCT è una funzione reale, per cui la sua trasformata di Fourier risulta essere simmetrica rispetto al punto in cui i cammini si eguagliano e ciò implica una riduzione della quantità di dati utili. In aggiunta, la natura simmetrica della stessa trasformata causa un'immagine speculare che limita l'intervallo di scansione complessivo. Per ovviare a tale inconveniente si rende necessario costruire un segnale complesso al fine di ricavare informazioni riguardo la fase del segnale, la quale può essere recuperata attraverso diverse alternative. Un approccio è il "five-frame method" nel quale si costruisce il segnale complesso acquisendo cinque misure consecutive degli spettri presi con una traslazione di fase incrementale pari a $\pi/2$; altri metodi includono: l'utilizzo di un accoppiatore a fibre ottiche 3x3 nell'interferometro, la traslazione dello specchio di riferimento con introduzione di uno sfasamento di $\pi/2$ oppure l'applicazione di un modulatore di fase elettro-ottico per l'acquisizione dello spettro complesso.

2.7.4. Rumore di coerenza. Nella tecnica OCT nel dominio della frequenza sono presenti due tipi di disturbi definiti rumori di coerenza (o coherence noise).

Il primo è causato dal termine legato all'interferenza mutua tra le onde riflessa e diffusa dai diversi punti contenuti nell'oggetto analizzato, mentre l'altra fonte di rumore viene rappresentata dall'interferenza tra le onde luminose diffuse dai componenti ottici costituenti il sistema.

Dal momento che ogni onda può interferire con le altre, il segnale utile può subire delle alterazioni e, quindi, le immagini possono essere prodotte anche nel caso in cui il ramo di riferimento dell'interferometro risulti essere bloccato. Per evitare questo inconveniente è possibile utilizzare un riferimento adattivo con specchio mobile, oppure con specchio multistrato in cui ogni strato riflette una componente differente. Al fine di eliminare alcuni termini di rumore di coerenza, è sufficiente misurare lo spettro in assenza del campione e sottrarlo a quello rilevato con la struttura da analizzare poichè si assume trascurabile l'interferenza mutua tra le onde diffuse dai componenti ottici e dal campione. Tuttavia, il sistema ottico può presentare delle instabilità casuali come vibrazioni meccaniche o espansioni termiche della fibra ottica, le quali possono essere compensate utilizzando una misura media dello spettro in assenza del campione.

2.7.5. Aberrazione cromatica. Le immagini con elevati contrasto e risoluzione richiedono l'utilizzo di sistemi di scanning in grado di mantenere il più costante possibile le dimensioni del fascio luminoso (spot).

In commercio sono presenti delle lenti di scanning con una apertura piccola e ciò implica che il diametro del raggio aumenta in prossimità dei bordi esterni a causa delle aberrazioni sferiche e cromatiche. Inoltre, solitamente le lenti hanno una lunghezza focale variante con la lunghezza d'onda della luce

incidente e questo porta ad una alterazione locale della risoluzione. Nei sistemi OCT questo fenomeno viene indicato come aberrazione cromatica, la quale è eliminabile per mezzo dell'utilizzo di lenti acromatiche e telecentriche³.

2.7.6. Macchie su immagini. Da alcune immagini prodotte con tecniche OCT, molti ricercatori hanno osservato che sono presenti delle macchioline, le cui origini non sono ancora comprese a pieno per la mancanza di abbastanza studi a riguardo. In Figura 2.7.1 viene riportato un esempio di immagine della pelle in cui si evidenzia questo inconveniente e i suoi effetti degradanti.

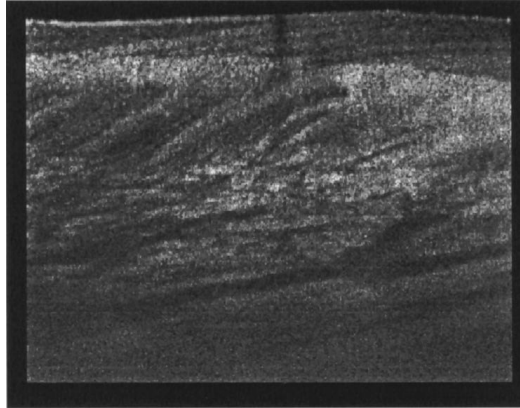


FIGURA 2.7.1. Esempio di macchie su immagini

Al fine di poter ridurre efficacemente tali effetti, si rende necessario ampliare la banda ottica di lavoro e la banda spaziale del tomografo, i quali sono limitati rispettivamente dalla larghezza di banda della fonte e dall'apertura numerica della lente. Un altro metodo di correzione viene rappresentato dal digital processing in fase di elaborazione delle immagini come, ad esempio, l'applicazione di un filtro Gaussiano sull'immagine *B-scan*.

2.8. Applicazioni

La tecnica OCT fu sviluppata per la prima volta al MIT da un gruppo di ricercatori guidato da Fujimoto nei primi anni '90 e, da allora, il metodo è stato sviluppato fino a divenire una delle più importanti modalità per l'imaging clinico; essa, infatti, permette di ottenere immagini ad alta risoluzione. Inoltre, le radiazioni emesse hanno potenze basse tali da poter utilizzare questa tecnica anche per la diagnosi in tessuti particolarmente sensibili come l'occhio. Uno degli sviluppi più sostanziali della Tomografia a Coerenza Ottica riguarda proprio la creazione di immagini e lo studio della morfologia dell'occhio umano; ad esempio, con tale tecnica è possibile eseguire analisi di cornea, iride e cristallino, ottenendo in tal modo immagini tridimensionali del segmento anteriore dell'occhio, oppure è possibile individuare patologie come il glaucoma.

L'utilizzo di fibre ottiche permette un ulteriore vantaggio di operare all'interno di apparati di piccole dimensioni come, ad esempio, nel tratto gastrointestinale e nei vasi sanguigni maggiori. In aggiunta, alcune strategie di imaging OCT più sofisticate possono fornire informazioni funzionali aggiuntive, come il flusso di sangue (attraverso l'OCT Doppler), l'organizzazione strutturale del tessuto (con OCT a birifrangenza) e la distribuzione spaziale di specifici agenti di contrasto (con OCT a contrasto molecolare).

³I sistemi ottici telecentrici sono caratterizzati da un piano immagine piatto. Si definisce lente telecentrica un sistema nel quale tutti i raggi sul lato immagine sono paralleli all'asse ottico e perpendicolari al piano immagine in modo tale da ridurre gli artefatti causati da possibili aberrazioni.

Le applicazioni dell'OCT per ottenere immagini di alcune parti del corpo umano includono l'imaging del tratto gastrointestinale per la scoperta di tumori, il monitoraggio e la valutazione dei rischi di placche vulnerabili di grasso nel sistema vascolare, e l'individuazione di debolezze strutturali connesse alla perdita dei denti. La Tomografia a Coerenza Ottica è inoltre una tecnologia emergente per la valutazione della struttura della pelle, del flusso sanguigno, dei cambiamenti morfologici legati a vesciche e delle alterazioni infiammatorie come la psoriasi. Ad esempio, l'OCT può essere utilizzato per monitorare la crescita e lo sviluppo delle cellule durante la rigenerazione di tessuti danneggiati, oppure per osservare lo sviluppo dei sistemi cardiovascolari di alcuni embrioni di pulcino e di topo (allo stadio di gastrula). Il tomografo può essere anche utilizzato in dermatologia per la diagnosi di malattie della pelle come il cancro, la dermatite e varie lesioni, per lo studio di anomalie dei capelli e delle cause di alopecia, oppure per l'analisi dei pigmenti della pelle a seguito di tatuaggi.

Una funzionalità interessante per la tecnica OCT è rappresentata dall'aiuto apportato al cardiologo nella diagnosi e nel trattamento della coronaropatia fornendo informazioni aggiuntive alla coronarografia e permettendo di ottimizzare il risultato dell'angioplastica coronarica. La sua caratteristica principale è di permettere una visualizzazione in tempo molto rapido dell'arteria dall'interno attraverso un normale catetere da angioplastica e una sonda. Grazie alla sua risoluzione di circa $10\ \mu\text{m}$ (rispetto ai $200 \div 600\ \mu\text{m}$ della coronarografia o della TAC coronarica), il sistema OCT permette di visualizzare le strutture che compongono la parete dell'arteria e la placca aterosclerotica con alta precisione. Inoltre, permette di osservare l'origine e l'evoluzione dell'aterosclerosi aiutando a comprendere i complessi meccanismi che ne stanno alla base.

Il Tomografo a Coerenza Ottica viene usato anche per la pianificazione e la realizzazione di determinati interventi chirurgici; ad esempio, un sistema a $1310\ \text{nm}$, accoppiato con un microscopio operatorio, è in grado di ottenere immagini della retina nei pazienti sottoposti a vitrectomia al fine di visualizzare meglio la patologia maculare.

La natura non invasiva dell'acquisizione delle immagini, assieme alla commercializzazione di sistemi ottimizzati per l'utilizzo in laboratorio, hanno portato ad un recente aumento del numero di animali studiati con il Tomografo a Coerenza Ottica in quanto lo scanning bidimensionale o tridimensionale degli stessi animali può essere eseguito "in vivo". Ciò risulta essere interessante dal punto di vista veterinario poiché rende possibile lo studio delle strutture ottiche senza il bisogno di uccidere cavie a diversi intervalli temporali per ottenere sezioni istologiche.

Gli occhi di piccoli modelli animali usati in biologia dello sviluppo (larve di *Xenopus laevis* ed embrioni di *Zebrafish*) sono già stati visualizzati con successo grazie alla tecnica OCT. Modelli di topo con degenerazione retinale sono stati investigati usando sistemi TD-OCT e SD-OCT. Recentemente, sono stati presentati metodi per ottenere misure automatiche da immagini OCT di topo, utili per lo studio dei cambiamenti strutturali nella retina e nel nervo ottico a seguito di danno o malattia. Sono stati analizzati anche polli, uccelli rapaci, maiali, gatti e conigli poiché tali animali presentano occhi con dimensioni paragonabili a quelli umani.

L'uso della tecnica OCT è stato introdotto anche in campi esterni alle applicazioni biomedicali come, ad esempio, negli studi artistici, nelle indagini su oggetti d'arte e dipinti ad olio, nelle analisi di vernici, smalti, immagini su tela e monete antiche, oppure nelle analisi delle proprietà del legno negli strumenti musicali. Ad esempio, il Tomografo a Coerenza Ottica può essere usato per esaminare alcuni materiali "impermeabili alla luce visibile" quali l'arenaria, oppure per analizzare e preservare i diversi strati di colore nei dipinti. Inoltre, la tomografia può essere utilizzata anche nell'analisi di antichi oggetti in vetro (materiale generalmente trasparente e poroso) poiché composto da diversi strati aventi differenti proprietà ottiche.

Gli studi della tecnica OCT hanno portato alla possibilità di analizzare vari materiali parzialmente naturali come, ad esempio, alcuni strati sottili di polimeri, fogli di carta, legno, papiro e frutta, semiconduttori, vetro colorato o ceramica smaltata.

Inizialmente, la Tomografia a Coerenza Ottica era limitata alla ricerca accademica e supportata da fondi governativi o da finanziamenti da parte di grosse istituzioni e industrie; in seguito, grazie ai risultati ottenuti, questa tecnica fu introdotta sul mercato per la prima volta da Zeiss Meditec, Inc. con i dispositivi noti come OCT1, OCT2 e Stratus.

Molte sono le compagnie industriali che hanno deciso di commercializzare i propri prodotti come, ad esempio, Colibri Technologies (sistemi OCT cardiovascolari), Diagnostic Photonics (sistemi OCT per guida chirurgica), MedLumics (sistemi OCT integrati per cardiologia e medicina orale), PhotoniCare (sistemi OCT per otorinolaringoiatria), Optovue (sistemi OCT oftalmici) o Thorlabs (ricerca e vendita componenti)⁴. Nel 2010 in Italia erano presenti sul mercato pochi sistemi FD-OCT, uno tra i quali conosciuto con il nome commerciale di C7XR prodotto dalla LightLab Imaging Inc. e commercializzato in Italia da Settembre 2009 dalla EndoTech S.p.A (162000\$)⁵. Tale sistema è costituito da una console per l'acquisizione, l'elaborazione e la visualizzazione delle immagini e un catetere monouso il cui nome commerciale è C7 Dragonfly. Questo tomografo C7XR rappresenta un'evoluzione rispetto ai sistemi precedenti TD-OCT prodotti anch'essi da LightLab e disponibili in commercio, i quali sono noti come M2x e M3x (117000 \$).

Un dato interessante dello sviluppo dell'OCT è che dal 1991 al 2013 furono pubblicati più di 9905 articoli accademici riguardanti solo il campo oftalmico (ambito dominante nelle pubblicazioni ufficiali).

⁴Dati ricavati da [14] (Tabella 84.1, pagine 2544-2547).

⁵Dati ricavati da Age.n.a.s. [29].

Sistema di Scanning Galvanometrico

Il sistema galvanometrico è la componente meccanica che permette la deviazione del raggio ottico sull'intera superficie da analizzare. In particolare, la scelta ricade sullo Scanning Galvo/Mirror System GVS002 (Thorlabs Inc.), il quale consiste di due componenti fondamentali: due motori che ruotano gli specchi e, per ciascuno di essi, un sensore che restituisce la posizione del rispettivo specchio al sistema di controllo. Questa configurazione permette di ottenere risposte veloci e alte prestazioni in frequenza. In Figura 3.0.1 è possibile vedere il sistema galvanometrico GVS002 utilizzato per la realizzazione del setup dell'esperimento.



FIGURA 3.0.1. GVS002 Dual Axis Galvo/Mirror

3.1. Caratteristiche principali di motori e specchi

Il motore compie percorsi limitati (solitamente molto meno di 360 gradi) e presenta una accelerazione direttamente proporzionale alla corrente ad esso fornita. Quando questa viene applicata, il motore inizia a ruotare, mentre arresta la sua corsa invertendo la polarità della stessa corrente. Se l'alimentazione viene rimossa, il motore continua il proprio movimento sotto l'azione della forza d'inerzia acquisita.

Le informazioni riguardanti la posizione assunta dagli specchi vengono fornite da sensori ottici di posizione, i quali sono composti essenzialmente da due paia di sorgenti luminose e di fotodiodi. Tali segnali provenienti dal sensore di posizione vengono interpretati dal sistema di controllo, il quale consiste in schede driver fornite da Thorlabs Inc. (ciascuna associata ad un singolo motore). Inoltre, ognuna di queste utilizza l'errore di posizionamento, la velocità e l'integrale della corrente per gestire la tensione da applicare all'attuatore del motore ad essa connesso.

Dal momento che il calore prodotto nei circuiti elettronici di controllo può danneggiare il corretto funzionamento dei motori, Thorlabs Inc. fornisce in aggiunta due dissipatori con lo scopo di mantenere il sistema ad una temperatura inferiore a 50 °C. L'elettronica di questi driver richiede una tensione continua compresa nell'intervallo $[\pm 15, \pm 18]$ V e una corrente media non superiore a 1.2 Arms (per prestazioni ottimali l'alimentatore deve essere in grado di fornire corrente massima di 5 A). Di conseguenza, l'alimentazione per le schede driver è fornita da un alimentatore costruito appositamente per tali circuiti e, in particolare, Thorlabs Inc. raccomanda l'utilizzo del GPS011 Linear Power Supply da essi prodotto e in grado di provvedere a entrambi i circuiti di controllo.

3.2. Connessioni elettriche

La scheda di controllo è in grado di svolgere molteplici funzioni, tra cui: gestire il pilotaggio dei motori, monitorare il posizionamento degli specchi, interfacciarsi con gli strumenti di diagnosi o acquisire i segnali di ingresso per pilotaggio da esterno. Tutti questi compiti vengono eseguiti per mezzo di connettori specializzati; nel dettaglio, su entrambe le schede driver sono presenti quattro connettori, le cui funzionalità sono di seguito descritti:

- J10 - Connettore alimentazione: usato per la connessione con l'alimentatore GPS011;
- J9 - Connettore controllo motore: ogni pin ha una funzione specifica, finalizzata al monitoraggio della posizione degli specchi e al pilotaggio dei motori;
- J7 - Connettore segnale comando: usato principalmente per il pilotaggio dei motori da driver esterno;
- J6 - Connettore diagnostica: ogni pin fornisce informazioni riguardanti posizione, corrente e tensione, con lo scopo di eseguire il monitoraggio completo del sistema.

J10 - Connettore alimentazione. Il connettore J10 possiede la funzione di collegare la scheda di controllo di ciascun motore con l'alimentatore GPS011 forniti da Thorlabs Inc. Tale connessione avviene per mezzo di connettori Molex serie 2139; in particolare, i tre pin presentano la seguente configurazione:

- (1) Tensione continua positiva di alimentazione (+15 V);
- (2) GND (o massa);
- (3) Tensione continua negativa di alimentazione (-15 V).

Come scritto in precedenza, la corrente fornita alle schede driver assume valore medio di 1.2 Arms e valore di corrente massima di 5 A.

J9 - Connettore controllo motore. Il connettore J9 presenta il compito di connettere la scheda di controllo con il motore ad essa associato. Tale collegamento avviene per mezzo di connettori Molex famiglia Micro-Fit 3.0 (serie 43025); in particolare, gli otto pin presentano la seguente configurazione:

- (1) Segnale di corrente dal sensore A posizione motore;
- (2) Massa (GND) per i sensori A e B posizione motore;
- (3) Schermatura per i segnali dei sensori A e B posizione motore;
- (4) Schermatura per i segnali di comando motore;
- (5) Segnale di corrente dal sensore B posizione motore;
- (6) Segnale di potenza dai sensori A e B posizione motore;
- (7) Segnale di comando motore (tensione positiva);
- (8) Segnale di comando motore (tensione negativa).

I motori comunicano con la corrispondente scheda driver per mezzo di connettori Hirose serie DF11, i quali possiedono dieci pin con la seguente impostazione:

- (1) Segnale di comando motore (tensione positiva);
- (2) Segnale di comando motore (tensione negativa);
- (3) Non utilizzato;
- (4) Non utilizzato;
- (5) Segnale di corrente dal sensore B posizione motore;
- (6) Massa (GND) per i sensori A e B posizione motore;
- (7) Segnale di corrente dal sensore A posizione motore;
- (8) Segnale di potenza dai sensori A e B posizione motore;
- (9) Schermatura per i segnali dei sensori A e B posizione motore;
- (10) Non utilizzato.

J7 - Connettore segnale comando. Il connettore J7 è predisposto per acquisire in ingresso segnali di comando dall'esterno, ad esempio forniti da generatori di funzioni, e per generare segnali in uscita utili al monitoraggio del corretto funzionamento del sistema. Tale connettore appartiene alla famiglia MicroClasp della Molex; in particolare, gli otto pin presentano la seguente configurazione:

- (1) Segnale di comando analogico di ingresso (tensione positiva);
- (2) Segnale di comando analogico di ingresso (tensione negativa);
- (3) Segnale di controllo di uscita Driver OK;
- (4) Segnale di ingresso per abilitazione pilotaggio esterno;
- (5) Segnale di uscita tensione costante (-12 V);
- (6) Segnale di uscita tensione costante ($+12\text{ V}$);
- (7) GND (o massa);
- (8) GND (o massa).

Il segnale di comando di ingresso può assumere valori di tensione compresi nell'intervallo $[-10, +10]\text{ V}$ e forme d'onda sinusoidale, quadra o a dente di sega; nel dettaglio, i limiti in frequenza di questi segnali sono: onda sinusoidale deve avere una frequenza inferiore a circa 250 Hz , onda quadra inferiore a circa 100 Hz e dente di sega sotto i 175 Hz .

Se i pin (7) e (8) vengono connessi solamente a massa, il segnale di pilotaggio esterno è considerato in configurazione differenziale O/P; mentre, se i medesimi pin vengono connessi anche al pin (2), esso risulta essere in modalità standard O/P.

Il pin (3) Driver OK presenta una configurazione open collector e, pertanto, assume un livello logico basso quando la scheda lavora normalmente, mentre è floatante quando avviene un malfunzionamento. Inoltre, esiste la possibilità di connettere tale uscita ad una resistenza di pull-up in maniera tale da generare un segnale a livello logico alto qualora avvenga un errore. Il segnale in uscita è limitato in tensione a 30 V e in corrente a 30 mA .

Il pin (4) accetta un segnale digitale con valori di tensione TTL; in particolare, se un livello logico alto ($+5\text{ V}$) viene applicato ad esso, il driver esterno è abilitato, altrimenti con un livello logico basso, rimane disabilitato. In aggiunta, su ciascuna scheda driver dei motori è presente il Jumper JP4 per mezzo del quale, cortocircuitando i pin (2) e (3), è possibile abilitare il pilotaggio da esterno.

J6 - Connettore diagnostica. Il connettore J6 presenta il compito di fornire informazioni finalizzate alla gestione dei motori e al monitoraggio del corretto funzionamento del sistema. I segnali generati possono essere acquisiti da scheda di acquisizioni (Data Acquisition - DAQ) o visualizzati su oscilloscopio. Tale connettore appartiene alla famiglia MicroClasp della Molex; in particolare, gli otto pin presentano la seguente configurazione:

- (1) Segnale di posizione specchio;
- (2) Segnale di comando interno;
- (3) Segnale di errore posizione;
- (4) Segnale di corrente fornita al motore;
- (5) Non utilizzato;
- (6) Segnale di test input (non utilizzato);
- (7) Segnale di tensione positiva fornita al motore;
- (8) GND (o massa).

Tutti i segnali di diagnostica generati dal connettore J6 presentano una impedenza di uscita di $1\text{ k}\Omega$, eccetto per il pin (7) che assume valore di $5\text{ k}\Omega$.

Il pin (1) fornisce un segnale proporzionale alla posizione dello specchio con fattore di scala 0.5 V per ogni grado di movimento effettuato.

Il segnale generato dal pin (2) rappresenta l'amplificazione interna applicata al segnale di comando con fattore di scala 0.5 V per ogni grado di orientamento dello specchio.

Il segnale di errore di posizione è proporzionale alla differenza tra la posizione richiesta e quella attuale; in pratica, risulta essere la differenza dei due segnali presenti sui pin (1) e (2) e, successivamente, moltiplicata per cinque.

Il pin (4) genera un segnale di tensione proporzionale alla corrente di pilotaggio del motore con fattore di scala 2V per ogni Ampere; in particolare, questa corrente determina l'accelerazione di posizionamento dello specchio.

Il segnale fornito dal pin (7) rappresenta la tensione applicata al morsetto positivo del motore e scalata di un fattore due. Nel caso in cui viene richiesto solo il monitoraggio della posizione dello specchio, questo segnale può anche non essere preso in considerazione.

Come scritto in precedenza, è possibile utilizzare una scheda di acquisizione (DAQ) per la gestione dei segnali di diagnostica. Al fine di poter utilizzare questi strumenti di misura con il sistema di motori e specchi sopra descritto, la scheda DAQ deve avere delle uscite analogiche in maniera tale da fornire i segnali di pilotaggio da esterno e degli ingressi analogici per acquisire i segnali di controllo.

Nel dettaglio, le specifiche richieste sono le seguenti:

- Convertitore Digitale/Analogico (DAC) sui canali di uscita per tensione duale bipolare con valori compresi nell'intervallo $[-10, +10]$ V;
- Clock con frequenza maggiore di 20 kS/s (kiloSamples/sec);
- Frequenza di campionamento superiore a 100 kS/s ;
- Risoluzione del convertitore DAC di almeno 16 bit;
- Impedenza di uscita bassa ($\leq 50 \Omega$).

3.3. Caratterizzazione sistema galvanometrico

Il sistema di scanning galvanometrico gestisce la deviazione del fascio luminoso in ingresso in modo da analizzare l'intera superficie del campione. Per svolgere tale compito, come scritto in precedenza, necessita di specifici segnali di pilotaggio e genera particolari segnali di controllo. Di conseguenza, per mezzo della sua caratterizzazione è possibile identificare quali informazioni sono maggiormente importanti per la realizzazione della tecnica OCT e quali devono essere gli stimoli da fornire in ingresso affinché vi sia un corretto funzionamento. I risultati possono essere ottenuti utilizzando una scheda di acquisizione dati (DAQ) NI 6211 di National Instruments, la quale presenta le seguenti proprietà:

- Ingressi analogici: 16 canali con tensione unipolare $[0, +10]$ V (“ai0” - “ai15”) o 8 canali con tensione differenziale $[-10, +10]$ V (“ai0” - “ai7”);
- Uscite analogiche: 2 canali con tensione differenziale $[-10, +10]$ V (“ao0” - “ao1”);
- Ingressi digitali: 4 canali programmabili (“p0.0” - “p0.3”);
- Uscite digitali: 4 canali programmabili (“p1.0” - “p1.3”);
- Ingressi/uscite per contatore: 2 canali programmabili (“ctr0” - “ctr1”);
- Velocità di campionamento ingressi/uscite analogiche: $[0.1, 250000]$ scan/sec;
- Velocità di campionamento ingressi/uscite digitali: $[0.1, 80000000]$ scan/sec.

La gestione di questo strumento può avvenire grazie all'ausilio del software MATLAB® con il quale è possibile generare e acquisire tutti i segnali presi in considerazione dalle schede di controllo dei motori. Nel dettaglio, con appositi comandi e righe di codice, tale software è in grado di attivare specifici canali di ingresso e uscita della scheda di acquisizione.

Come descritto in precedenza, il pilotaggio può avvenire da driver esterno fornendo al pin (4) del connettore J7 un livello logico alto (+5 V) abilitando in tal modo questa modalità. L'uscita analogica “ao0” viene predisposta per erogare la parte positiva del segnale, mentre l'uscita “ao1” genera quella negativa poichè i segnali di comando da inviare alla scheda di controllo presentano valori di tensione duali (± 10 V). Il fattore di scala utilizzato per eseguire la maggior parte delle prove è impostato al valore di 1 V/° per mezzo dell'apposito Jumper (JP7). In aggiunta, al fine di avere un comportamento qualitativo completo di tale dispositivo, alcuni test vengono ripetuti anche per gli altri fattori di scala quali: 0.8 V/° e 0.5 V/°.

Per quanto riguarda le informazioni per la diagnostica, vengono presi in considerazione tutti i segnali utili uscenti dal connettore J6 e analizzati singolarmente al fine di raccogliere le caratteristiche principali di ciascuno di essi.

Le prove finalizzate alla caratterizzazione del sistema galvanometrico vengono eseguite impiegando lo schema riportato in Figura 3.3.1 e, dal momento che la risposta alla medesima sollecitazione in ingresso risulta essere diversa per ciascun motore, ne viene preso in considerazione solo uno alla volta in modo tale da averne il pieno controllo.

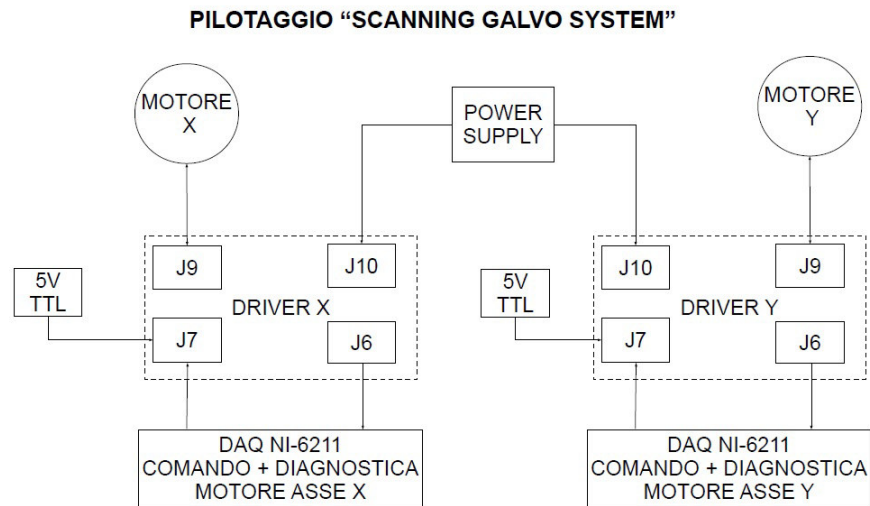


FIGURA 3.3.1. Schema di pilotaggio motori sistema galvanometrico

I segnali di comando utilizzati per la caratterizzazione dei due motori presentano le seguenti caratteristiche:

- Onda sinusoidale con frequenza variabile compresa nell'intervallo $[1, 260]$ Hz e ampiezza con valori di tensione picco-picco $\pm 1 V_{pp}$, $\pm 2 V_{pp}$, $\pm 5 V_{pp}$, $\pm 8 V_{pp}$, $\pm 10 V_{pp}$;
- Onda quadra con frequenza variabile compresa nell'intervallo $[1, 110]$ Hz e ampiezza con valori di tensione picco-picco $\pm 1 V_{pp}$, $\pm 2 V_{pp}$, $\pm 5 V_{pp}$, $\pm 8 V_{pp}$, $\pm 10 V_{pp}$;
- Onda a "scalino"¹ con frequenza variabile compresa nell'intervallo $[1, 100]$ Hz e ampiezza con valori di tensione picco-picco $\pm 1 V_{pp}$, $\pm 5 V_{pp}$, $\pm 10 V_{pp}$.

Il segnale di posizionamento dello specchio risulta essere proporzionale alla posizione dello stesso con fattore di scala $0.5 V$ per ogni grado di movimento effettuato; di conseguenza, è possibile dedurre la sua rotazione effettiva (in gradi) analizzando tale segnale.

Analogamente al precedente, anche il segnale di amplificazione interna segue l'andamento degli specchi con la differenza che presenta valori di tensione di segno opposto a quello di posizione. Inoltre, questo viene utilizzato dal sistema galvanometrico per impostare la rotazione e calcolare l'errore di posizionamento assunto dal motore stesso.

Il segnale di errore di posizione assume un andamento ondulatorio con ampiezza dipendente dal segnale di comando e dalla sua forma d'onda. In particolare, al variare di parametri come frequenza ed ampiezza dei segnali di comando, l'errore cambia il proprio andamento.

Infine, i segnali corrispondenti alla corrente di pilotaggio e alla tensione applicata al morsetto positivo del motore presentano una frequenza doppia rispetto a quella di comando. Ciò è conseguenza del fatto che lo specchio viene fermato per mezzo di una corrente uguale e contraria nell'istante in cui raggiunge il corretto posizionamento.

¹Segnale sinusoidale quantizzato con livelli di tensione costanti equispaziati nell'intervallo di tensione picco-picco.

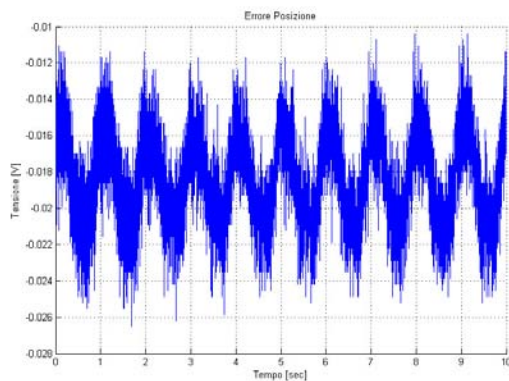
Dalle prove effettuate è possibile notare che i segnali di maggior importanza sono quelli legati alla posizione degli specchi e all'errore di posizionamento; in particolare, i risultati evidenziano che quest'ultimo aumenta con la frequenza e con l'ampiezza del segnale di comando.

Aumentando la frequenza, le prestazioni e i tempi di risposta dei circuiti elettronici peggiorano in quanto non riescono a seguire in maniera ottimale la velocità di variazione della posizione e, di conseguenza, questo implica che l'errore cresce di molto soprattutto alle alte frequenze.

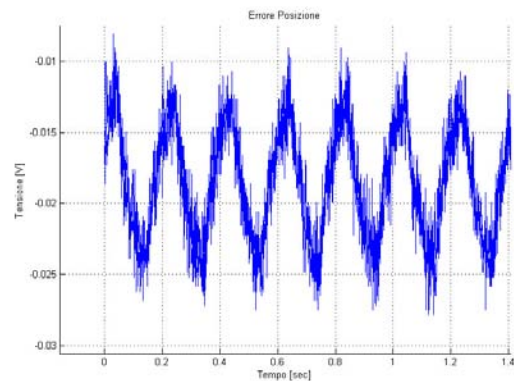
Aumentando l'ampiezza del segnale, l'errore inizia a divenire critico a frequenze di molto inferiori al limite indicato sul Datasheet poiché, siccome gli specchi percorrono uno spazio maggiore (coprendo angoli più larghi) a partire da frequenza di pilotaggio, la velocità di posizionamento deve essere maggiore. Ciò implica quindi che la risposta del sistema arriva in ritardo rispetto allo stimolo causando in tal modo un errore crescente.

Di seguito vengono presentati alcuni risultati ottenuti dai test effettuati sui singoli motori.

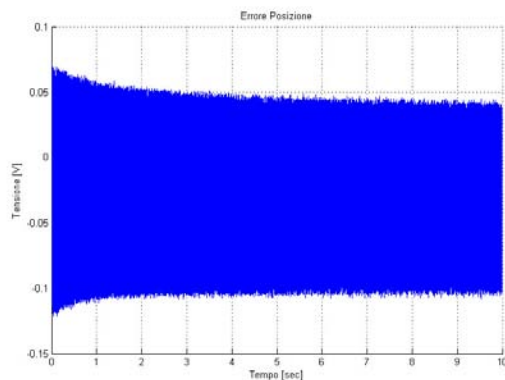
Motore asse X. In Figura 3.3.2 vengono riportati alcuni esempi del segnale di errore di posizionamento quando il sistema viene sollecitato con un segnale di comando sinusoidale. Come scritto in precedenza, è possibile osservare che questo errore presenta un andamento simile al segnale di ingresso; pertanto, l'errore introdotto nella valutazione della posizione dei motori diventa importante al crescere della frequenza e, soprattutto, per valori di tensione picco-picco elevati, i quali corrispondono alle massime escursioni di rotazione.



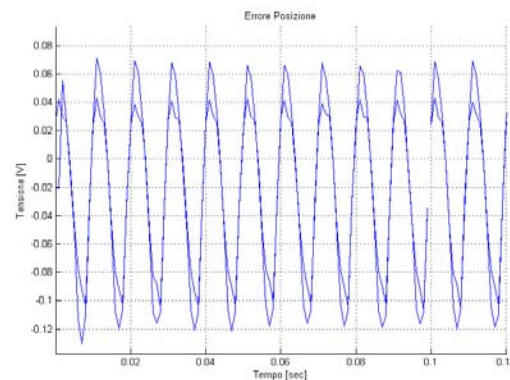
(A) $f = 1 \text{ Hz}$, $V = \pm 1 V_{pp}$



(B) $f = 5 \text{ Hz}$, $V = \pm 5 V_{pp}$



(C) $f = 100 \text{ Hz}$, $V = \pm 8 V_{pp}$



(D) $f = 100 \text{ Hz}$, $V = \pm 8 V_{pp}$ (zoom)

FIGURA 3.3.2. Errore posizione - onda sinusoidale

In Figura 3.3.3 vengono presentati due esempi di errore di posizione in risposta a segnali di pilotaggio ad onda quadra. In particolare, l'errore evidenzia dei picchi in corrispondenza del movimento e posizionamento degli specchi, mentre risulta essere quasi stabile per il resto del tempo. Ciò viene causato dalla rapida rotazione che lo specchio percorre al fine di raggiungere la precisa angolazione. Analogamente al caso di onda sinusoidale, aumentando la frequenza di pilotaggio, l'errore di posizionamento aumenta sia durante la rotazione che nel periodo di tempo in cui gli specchi stanno fermi. Questo fenomeno è spiegabile per la presenza di una lieve inerzia nei movimenti che si propaga lungo l'intero periodo del segnale ad onda quadra.

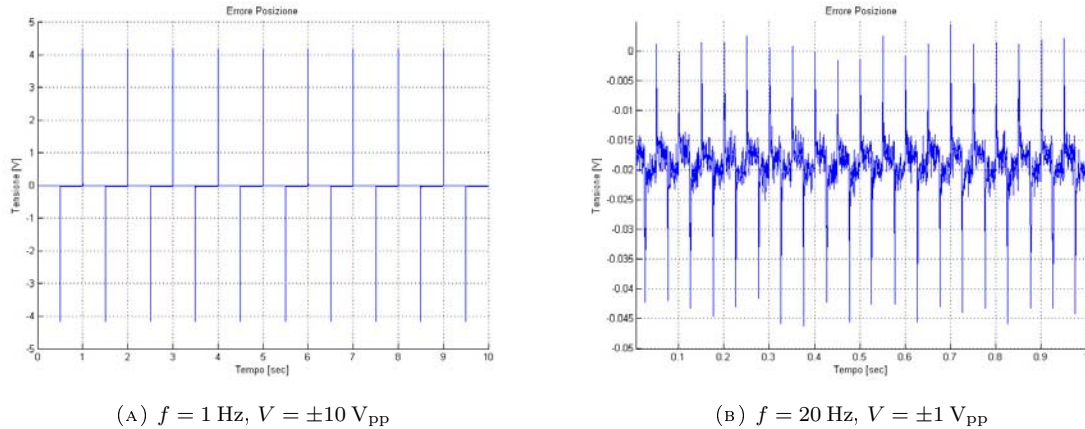


FIGURA 3.3.3. Errore posizione - onda quadra

In Figura 3.3.4 è possibile osservare due esempi di errore nel caso in cui il segnale di comando presenta una forma d'onda a "scalino" con 10 livelli di tensione. Nel dettaglio, l'errore presenta dei piccoli picchi in relazione al salto da un livello di tensione al successivo e ciò può essere approssimato ai picchi di errore di piccole onde quadre con ampiezza crescente (o decrescente).

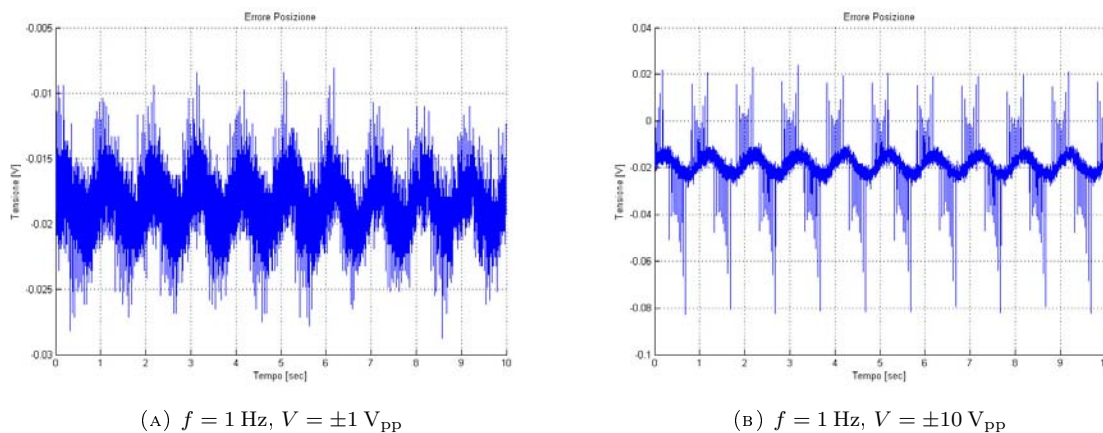


FIGURA 3.3.4. Errore posizione - onda "scalino" 10 livelli

In Figura 3.3.5 viene graficato l'errore di posizione del motore asse X in funzione della frequenza dell'onda sinusoidale e dell'angolo meccanico di rotazione dello specchio. In particolare, è possibile notare che l'errore rimane confinato a qualche decimo di grado per frequenze inferiori a 70 Hz o per angoli compresi tra $\pm 5^\circ$. Nei casi in cui la frequenza aumenta o vengono richiesti movimenti degli specchi di $\pm 10^\circ$, l'errore di posizionamento può raggiungere valori di $1^\circ \div 1.4^\circ$.

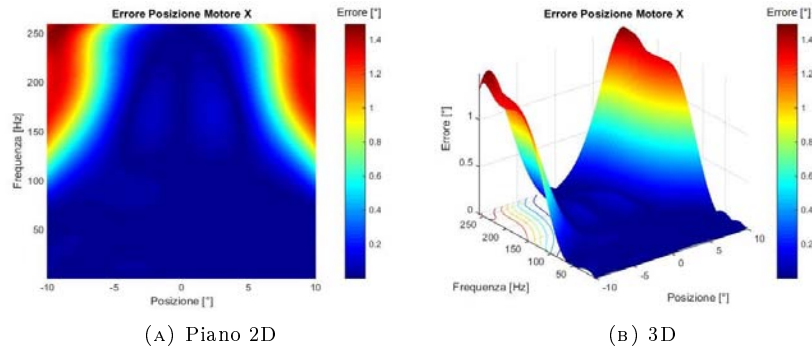


FIGURA 3.3.5. Errore posizione - onda sinusoidale

In Figura 3.3.6 e Figura 3.3.7 vengono graficati gli errori di posizione del motore asse X in funzione della frequenza dell'onda quadra e dell'angolo di spazzolata dello specchio. Nel dettaglio, sono rappresentati rispettivamente l'errore presente nell'intervallo costante dell'onda quadra e i picchi di errore dovuti ai fronti di salita e discesa. In particolare, è possibile notare che quando il segnale di ingresso rimane costante, l'errore rimane confinato a qualche centesimo di grado ($\leq 0.03^\circ$). I picchi, invece, presentano un'andamento quasi lineare con l'aumentare dell'ampiezza della rotazione e, pertanto, l'errore di posizionamento può raggiungere valori di 1.6° . Questo risultato tuttavia è da considerarsi poco significativo in quanto tale errore è presente a causa della repentina variazione della posizione e, quindi, impulsivo. Al contrario, di maggior importanza risulta essere il basso errore che si ottiene per la parte costante dell'onda quadra.

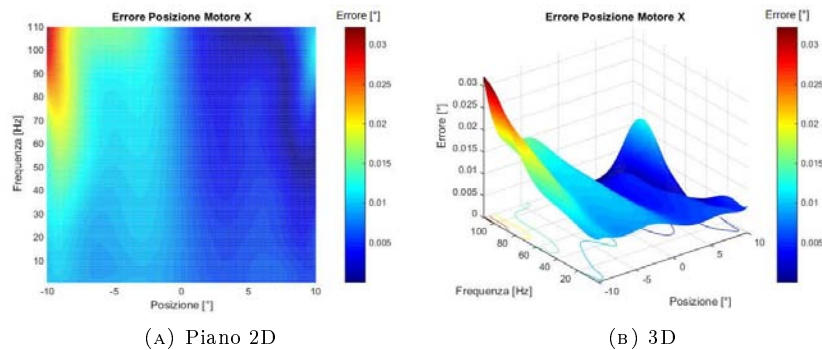


FIGURA 3.3.6. Errore posizione - onda quadra

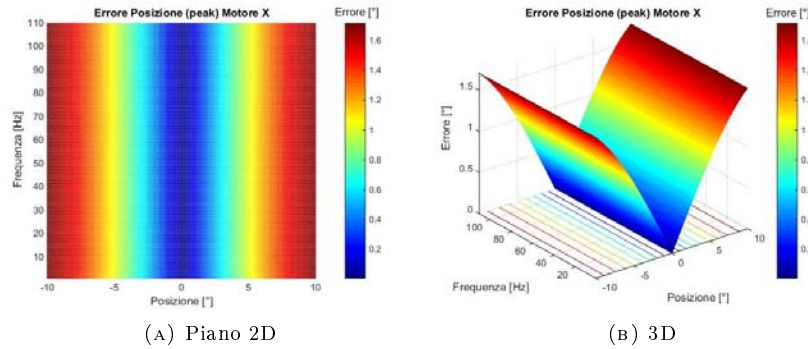


FIGURA 3.3.7. Errore posizione - onda quadra (peak)

Motore asse Y. In Figura 3.3.8 vengono riportati alcuni esempi del segnale di errore di posizionamento quando il sistema viene sollecitato con segnale di comando sinusoidale.

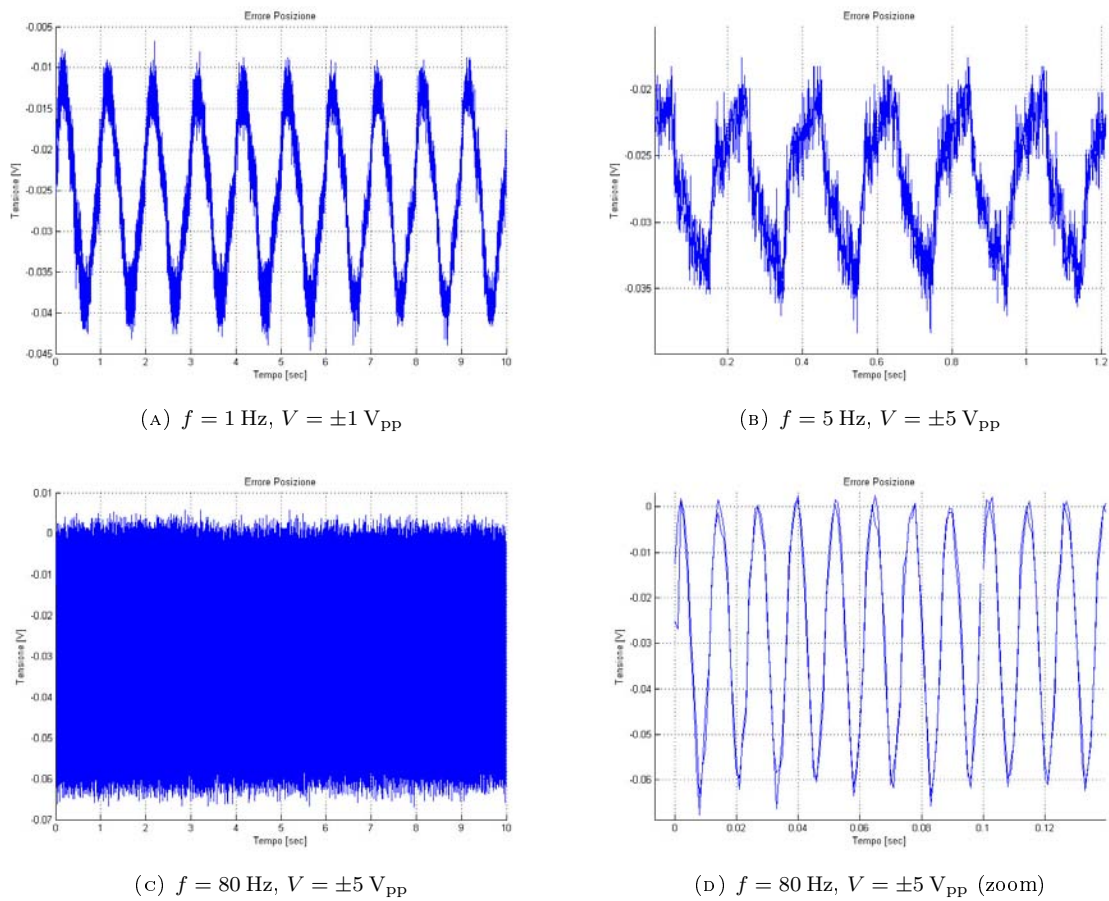


FIGURA 3.3.8. Errore posizione - onda sinusoidale

Analogamente al caso del motore asse X è possibile osservare il medesimo andamento del precedente, con la differenza che l'ampiezza dell'errore risulta essere lievemente diversa a causa della non idealità e della non perfetta uguaglianza degli stessi motori.

In Figura 3.3.9 vengono rappresentati due esempi di errore di posizione in risposta a segnali di pilotaggio ad onda quadra; nel dettaglio, sono presenti dei picchi in corrispondenza del movimento degli specchi e un errore quasi stabile per il resto del tempo e questo risultato è abbastanza simile a quello ottenuto con il motore X .

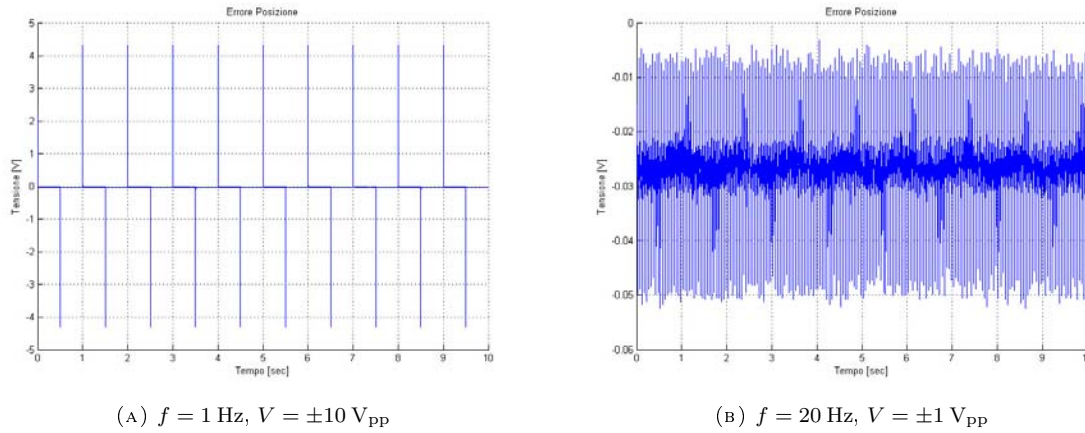


FIGURA 3.3.9. Errore posizione - onda quadra

In Figura 3.3.10 è possibile osservare due esempi di errore nel caso in cui il segnale di comando presenta una forma d'onda a "scalino" con 10 livelli di tensione; anche questo risultato è simile a quello del caso precedente.

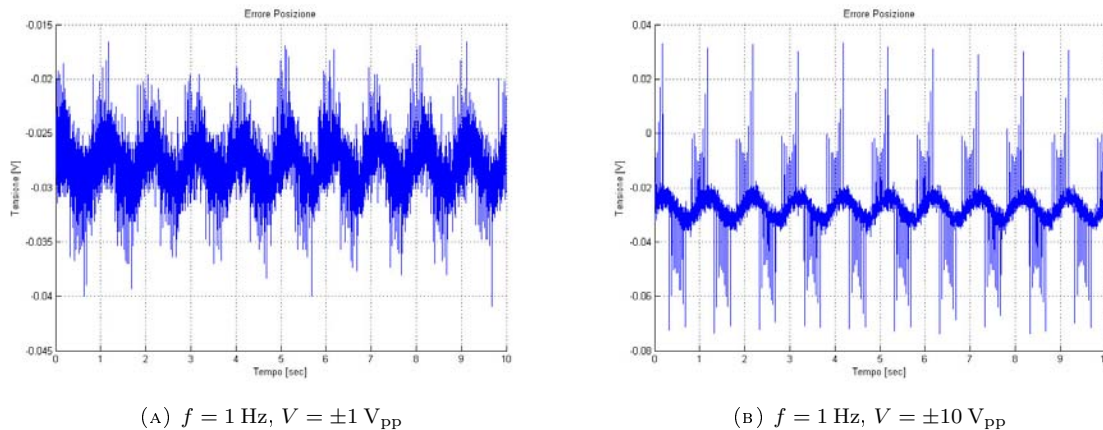


FIGURA 3.3.10. Errore posizione - onda "scalino" 10 livelli

In Figura 3.3.11 viene graficato l'errore di posizione del motore asse Y in funzione dell'angolo di rotazione dello specchio e della frequenza dell'onda sinusoidale. In particolare, è possibile notare che l'errore rimane confinato a qualche decimo di grado per frequenze inferiori a 60Hz o per angoli compresi tra $\pm 2^\circ$. Nei casi in cui la frequenza aumenta o si desiderano movimenti degli specchi di $\pm 10^\circ$, l'errore di posizionamento può raggiungere valori di $1^\circ \div 1.5^\circ$.

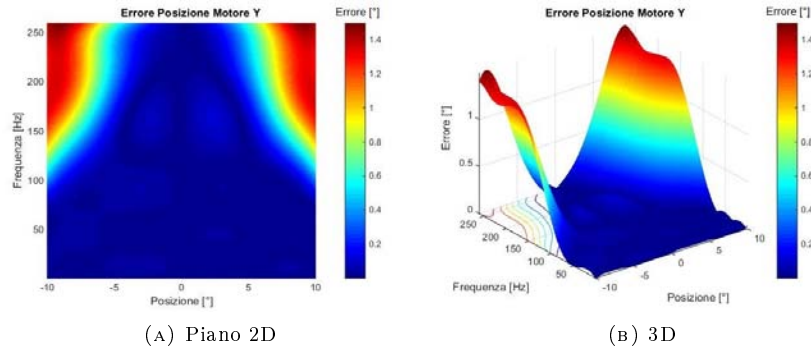


FIGURA 3.3.11. Errore posizione - onda sinusoidale

In Figura 3.3.12 e Figura 3.3.13 vengono graficati gli errori di posizione del motore asse Y in funzione dell'angolo di spazzolata dello specchio e della frequenza dell'onda quadra. Come il caso del motore asse X, sono rappresentati rispettivamente l'errore presente nell'intervallo costante dell'onda quadra e i picchi di errore dovuti ai fronti di salita e discesa. In particolare, è possibile notare che quando il segnale di ingresso rimane costante, l'errore rimane confinato a qualche centesimo di grado. I picchi, invece, presentano un'andamento quasi lineare con l'aumentare dell'ampiezza del movimento e l'errore di posizionamento può raggiungere valori di 1.7° .

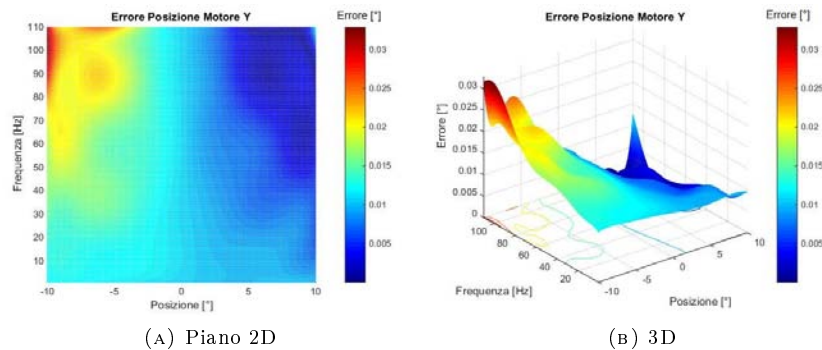


FIGURA 3.3.12. Errore posizione - onda quadra

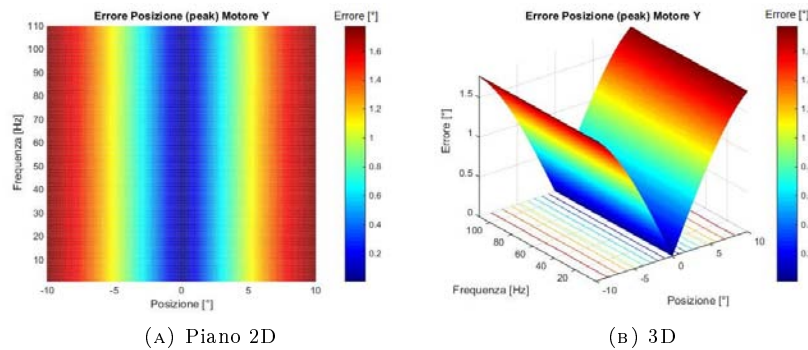


FIGURA 3.3.13. Errore posizione - onda quadra (peak)

In generale, nel caso di onda sinusoidale con valori di frequenza superiori a 250 Hz, i motori creano un lieve disturbo acustico anomalo, la cui probabile causa sta nel fatto che la scheda di controllo non riesce a rispondere in maniera adeguata e tempestiva al segnale di comando.

Per quanto riguarda l'onda quadra, è possibile notare che, per frequenze superiori a 10 Hz, l'errore misurato torna ad un livello medio in maniera graduale e non istantanea; inoltre, è anche presente un lievissimo ritardo tra i segnali relativi alla posizione e all'amplificazione e ciò può rappresentare la causa dei picchi nel segnale di errore. Questo può essere dovuto al fatto che l'elettronica e la propagazione dei segnali nella scheda di pilotaggio non sono istantanei ma impiegano un certo tempo di risposta.

Per entrambi i motori vengono considerati gli angoli meccanici di rotazione degli specchi. Al fine di ottenere gli angoli ottici corrispondenti a tali valori, è necessario eseguire una moltiplicazione per un fattore due.

3.4. Gestione motori tramite MATLAB®

La gestione del sistema galvanometrico può avvenire grazie all'ausilio del software MATLAB®, con il quale è possibile generare e acquisire tutti i segnali presi in considerazione sulle schede di controllo dei motori. In particolare, con appositi comandi e righe di codice vi è l'opportunità di attivare ingressi e/o uscite specifici della scheda di acquisizione dati NI 6211 (National Instruments).

Di seguito vengono riportati i principali comandi e il rispettivo funzionamento.

daq.createSession('ni'). Funzione che crea una sessione di acquisizione dati; nel dettaglio, è in grado di interagire con le schede DAQ fornite dalla National Instruments ('ni').

addAnalogOutputChannel(deviceID,channelID,measurementType). Funzione che prende in considerazione il dispositivo individuato con nome **deviceID** e aggiunge il canale di uscita specificato con **channelID** eseguendo una misura decisa da **measurementType**.

Per esempio il comando

```
addAnalogOutputChannel(d.ID, 'ao0', 'Voltage')
```

aggiunge il canale di uscita in tensione "ao0" della scheda NI 6211.

addAnalogInputChannel(deviceID,channelID,measurementType). Funzione che prende in considerazione il dispositivo individuato con nome **deviceID** e aggiunge il canale di ingresso specificato con **channelID** eseguendo una misura decisa da **measurementType**.

Per esempio il comando

```
addAnalogInputChannel(d.ID, 'ai1', 'Voltage')
```

aggiunge il canale di ingresso in tensione “ai1” della scheda NI 6211.

outputSingleScan(data). Funzione che genera in uscita un singolo segnale dati emesso su uno o più canali di uscita analogici. I dati possono essere valori di tensione solitamente rappresentati con una matrice 1xn, dove n è il numero di canali di uscita definiti nella sessione.

addlistener(eventName, @(src, event) expr). Funzione che crea un “ascoltatore” di eventi, ai quali vengono associate delle particolari operazioni specificate in **expr** ed eseguite al verificarsi degli stessi. In particolare, sono presenti due particolari eventi da considerare:

- “DataRequired”: evento che aspetta una richiesta di uscita di dati;
- “DataAvailable”: evento che legge i dati in ingresso appena disponibili.

Per esempio il comando

```
addlistener(mydaq, 'DataRequired', @(src, event) src.queueOutputData([pos, neg]))
```

ad ogni richiesta di uscita dati, fornisce il segnale di pilotaggio alla scheda di controllo dei motori. Nel dettaglio, nelle variabili **pos** e **neg** sono salvati rispettivamente la semionda positiva e quella negativa del segnale di comando (definite su un periodo). Nel momento in cui l’ultimo campione di **neg** viene inviato, l’evento di richiesta di uscita dati viene generato e, di conseguenza, viene erogato un nuovo periodo del segnale; in tal modo si ottiene un segnale di controllo continuo nel tempo.

Con il comando

```
addlistener(mydaq, 'DataAvailable', @(src, event) plot(event.TimeStamps, event.Data))
```

è possibile rilevare e visualizzare gli ingressi analogici in tempo reale e continuo.

queueOutputData(s,data). Funzione che prende la sessione **s** e inserisce i dati nella coda di uscita. Per inviare i dati verso l’esterno, devono essere richiamate le funzioni **startForeground(s)** oppure **startBackground(s)**. I dati possono essere valori di tensione solitamente rappresentati con una matrice 1xn, dove n è il numero di canali di uscita definiti nella sessione.

startBackground(s). Funzione che prende la sessione **s** e ne esegue tutte le operazioni di scrittura e lettura dei dati in ingresso e in uscita. La peculiarità di tale funzione, a differenza di **startForeground(s)**, è che non viene bloccata nessuna altra esecuzione di MATLAB®.

Il campo **IsContinuous** dell’oggetto sessione è preimpostato sul valore logico “false” e le operazioni vengono terminate automaticamente dopo il primo ciclo. Se viene impostato su “true”, allora l’esecuzione delle operazioni in background non si fermano fino ad esplicito comando (**mydaq.stop**), il quale termina la sessione.

Sorgente Luminosa

La tecnica OCT si basa sull'analisi delle caratteristiche possedute dalla luce retrodiffusa dal campione preso in esame e, recentemente, molti vantaggi nel campo dell'imaging biomedicale sono stati introdotti dall'impiego di Laser in grado di emettere un fascio con lunghezza d'onda variabile (SS-OCT). Inoltre, la lunghezza d'onda di lavoro maggiormente utilizzata è di circa 1310 nm. La scelta della sorgente luminosa capace di effettuare una spazzolata in frequenza, ricade sul Laser OCT Swept Source AXP50125-6 (Axsun Technologies), il quale permette una analisi in real time con alta risoluzione e a basso costo e viene riportato in Figura 4.0.1.



FIGURA 4.0.1. OCT Swept Source AXP50125-6

4.1. Caratteristiche principali

Axsun Technologies offre diversi modelli di sorgenti luminose appartenenti alla famiglia OCT Swept Source e questi apparati sono distinguibili tra loro in base alla lunghezza d'onda della radiazione emessa. Nel dettaglio, la scelta ricade sul dispositivo SSOTC-1310, il quale è in grado di generare lunghezze d'onda nell'intervallo [1250, 1360] nm; esso è un Laser di classe 3R con le seguenti caratteristiche principali:

- Potenza uscita media: > 18 mW;
- Divergenza: > 0.12 rad;
- Lunghezza d'onda centrale: 1305.1 nm;
- Intervallo lunghezze d'onda tunabili¹: 140.38 nm;
- Lunghezza di coerenza: > 10 mm;
- Frequenza di spazzolata: 100 kHz;
- Numero campioni: 1286 Samples;
- Duty Cycle: 77.3%;
- Duty Cycle campioni utili: 50.5%;
- Frequenza di clock esterno: [183, 332] MHz.

¹Intervallo di lunghezze d'onda centrato a 1310 nm, nel quale la sorgente riesce ad emettere radiazione luminosa con potenza di uscita circa pari al valore medio.

Questo componente viene fornito con un alimentatore e un CD drive per l'utilizzo dello stesso tramite ausilio di un personal computer. Inoltre, la temperatura di lavoro consigliata è compresa nell'intervallo $[10, 35]$ °C.

4.2. Caratterizzazione sorgente luminosa

La sorgente Laser genera un fascio luminoso assumendo diverse lunghezze d'onda comprese in un intervallo finito e ciò significa che è in grado di eseguire una "spazzolata" nello spettro ottico intorno ad una data frequenza. Di conseguenza, per mezzo della sua caratterizzazione è possibile identificare l'intervallo di lunghezze d'onda emesse (spettro di emissione), misurare la frequenza di spazzolata, calcolare la lunghezza e il tempo di coerenza del Laser stesso.

Al fine di ottenere tutte queste informazioni, vengono eseguite differenti prove e utilizzati diversi setup e strumenti di misura di seguito esposti.

4.2.1. Spettro ottico di emissione. Come scritto in precedenza, la sorgente ottica emette radiazione in un intervallo di lunghezze d'onda definito, il quale è misurabile grazie l'ausilio di un analizzatore di spettro ottico (OSA - Optical Spectrum Analyzer).

Questo strumento è in grado di misurare la potenza ottica in funzione della lunghezza d'onda (λ) ed è composto principalmente da un filtro passabanda tunabile e un power meter². La luce incidente attraversa il filtro ottico tunabile che divide le varie componenti spettrali individuali le une dalle altre. Di seguito, un fotorivelatore converte il segnale ottico in corrente elettrica proporzionale alla potenza ottica incidente, il quale segnale in tensione viene digitalizzato e reso disponibile per la lettura da parte dell'operatore; inoltre, un generatore di rampa determina la posizione orizzontale della traccia effettuando così il tuning del filtro ottico.

Nella maggior parte dei casi, tale filtro ottico viene realizzato per mezzo di un reticolo di diffrazione, il quale è costituito da uno specchio con linee spaziate e corrugate finemente sulla superficie. Ciò equivale ad un array di riflettori equidistanti (circa 10^3 riflettori/mm) con spaziatura tra i riflettori dell'ordine della lunghezza d'onda considerata. La luce diffratta con angoli proporzionali a λ crea in tal modo interferenza costruttiva solo in direzioni specifiche, ottenendo come risultato una serapazione spaziale tra le differenti lunghezze d'onda.

Infine, tramite la rotazione dello stesso reticolo, è possibile focalizzare sull'unica apertura di uscita le diverse componenti spettrali della luce incidente.

La misura dell'andamento della potenza ottica emessa in funzione della lunghezza d'onda viene effettuata collegando direttamente la sorgente ottica sotto test all'analizzatore di spettro ottico.

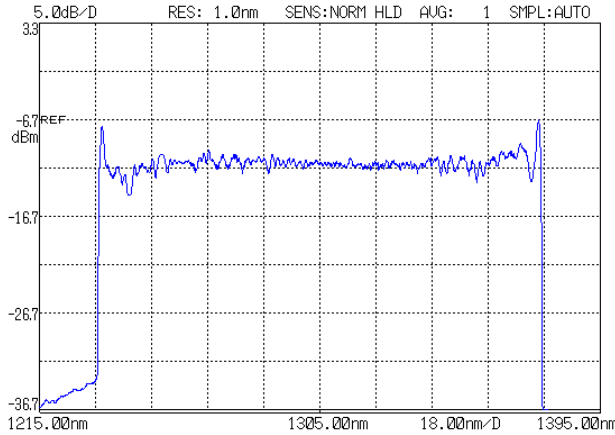
In Figura 4.2.1 viene riportata la potenza di uscita del Laser misurata con l'OSA AQ6371B (Ando Electronic Co.), dalla quale è possibile notare che la misura viene eseguita considerando una risoluzione dello strumento di 1 nm e graficata con un fattore di scala pari a 5 dB/div. Inoltre, è possibile evidenziare la presenza di due picchi di potenza massima alle lunghezze d'onda 1234.8 nm e 1375.3 nm, la cui ampiezza misura circa -8.53 dBm. In particolare, all'interno dell'intervallo $\lambda \in [1237, 1371]$ nm l'emissione assume un andamento pressochè costante e si mantiene ad un valore di potenza emessa di circa -11 dBm. Ciò implica che la larghezza di banda a 3 dB, definita come la differenza tra le due lunghezze d'onda alle quali la potenza emessa è metà di quella massima, misura circa:

$$\Delta\lambda \simeq 134 \text{ nm}$$

In aggiunta, in termini di frequenza tale valore corrisponde ad una banda di circa $\Delta\nu \simeq 23.7$ THz.

La larghezza a 3 dB misurata risulta essere centrata alla lunghezza d'onda di circa 1305 nm (come riportato nelle specifiche da Datasheet del Laser OCT Swept Source [2]).

²Strumento in grado di misurare la potenza ottica di un fascio luminoso.

FIGURA 4.2.1. Potenza ottica emessa in funzione di λ

4.2.2. Variazione di frequenza. La sorgente ottica presa in considerazione per il progetto è in grado di emettere radiazione con lunghezza d'onda variabile all'interno di un intervallo e tale fenomeno, in termini di frequenza, può essere descritto con la seguente legge:

$$(4.2.1) \quad \nu(t) = \nu_0 + \nu_1 t + \eta(t)$$

dove $\eta(t)$ raccoglie tutti i termini di errore legati alla non linearità della variazione della frequenza (supposta in prima approssimazione lineare).

Prendendo in considerazione la larghezza di banda trovata nella sezione precedente ($\Delta\nu \simeq 23.7\text{THz}$), e nota la frequenza di spazzolata³ di 100 kHz, è possibile derivare il termine moltiplicativo ν_1 presente all'interno della formula (4.2.1). Nel dettaglio, la variazione della frequenza viene assunta lineare all'interno dell'intervallo [1237, 1371] nm e, di conseguenza, conoscendo il periodo di spazzolata di circa 10 μs , è possibile dedurre che il termine ν_1 vale circa 2.37 THz/ μs . Inoltre, dal momento che il duty cycle dichiarato è del 50.5%, tale valore diventa:

$$\nu_1 \simeq 4.7 \text{ THz}/\mu\text{s}$$

Lo studio della variazione della frequenza viene eseguito utilizzando lo schema mostrato in Figura 4.2.2, il quale è costituito da due accoppiatori direzionali 50:50⁴, un elemento di ritardo (τ) e due fotodiodi bilanciati.

Lo scopo è quello di creare un battimento del segnale in maniera tale da permettere ai fotodiodi la rilevazione dello stesso; in particolare, la frequenza del segnale uscente dall'interferometro deve rientrare nella banda elettronica di strumenti come gli oscilloscopi al fine di poterli visualizzare con essi.

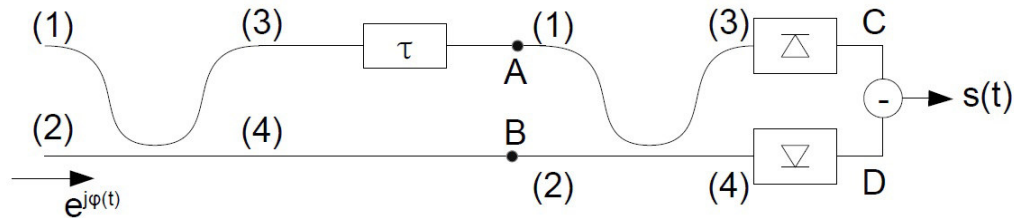


FIGURA 4.2.2. Setup interferometro per battimento

³Dato ricavato dal Datasheet del Laser OCT Swept Source [2].

⁴La descrizione degli accoppiatori direzionali viene rimandata al Capitolo 5 "Setup Esperimento".

L'oscilloscopio utilizzato per la visualizzazione dei vari segnali descritti è il Digital Storage Oscilloscope della serie DSO7054A di Agilent Technologies, il quale presenta:

- Quattro ingressi accoppiabili in AC/DC;
- Impedenze di ingresso di 50 Ω o 1 M Ω ;
- Banda elettronica in ingresso di 500 MHz;
- Velocità di campionamento fino a 4 GSa/s;
- Porta USB per salvataggio dati su supporto di archiviazione pen drive.

L'onda proveniente dal laser, in ingresso allo schema proposto in Figura 4.2.2, presenta la forma:

$$(4.2.2) \quad e^{j\varphi(t)}$$

dove $\varphi(t)$ è la fase del segnale dipendente dalla frequenza ottica secondo la seguente legge:

$$(4.2.3) \quad \varphi(t) = 2\pi\nu(t)t$$

con $\nu(t)$ la frequenza variabile erogata della sorgente ottica ed espressa con la (4.2.1).

Tale radiazione viene divisa in due versioni uguali per mezzo dell'accoppiatore direzionale, per cui i segnali ottenuti in uscita da quest'ultimo sono:

$$(4.2.4) \quad \begin{aligned} (3) \quad & \frac{j}{\sqrt{2}} e^{j\varphi(t)} \\ (4) \quad & \frac{1}{\sqrt{2}} e^{j\varphi(t)} \end{aligned}$$

Il segnale sul primo ramo (3) viene ritardato di τ in modo tale che l'interferenza tra le onde crei un battimento del segnale in ingresso e, di conseguenza, sulle porte (1) e (2) del secondo accoppiatore direzionale 50:50 sono presenti le due onde:

$$(4.2.5) \quad \begin{aligned} (A) \quad & \frac{j}{\sqrt{2}} e^{j\varphi(t-\tau)} \\ (B) \quad & \frac{1}{\sqrt{2}} e^{j\varphi(t)} \end{aligned}$$

I segnali presenti sui rami di uscita del secondo accoppiatore risultano essere la somma delle due onde entranti (A) + (B). Dal momento che queste uscite non sono a media nulla e presentano delle possibili componenti di rumore, si rende necessaria la rivelazione di entrambe le onde risultanti per mezzo di due fotodiodi bilanciati in maniera tale da ottenere un segnale migliore da analizzare.

Nello specifico, i fotorivelatori vengono illuminati dalle seguenti onde:

$$(4.2.6) \quad \begin{aligned} (3) \quad & \frac{j}{2} (e^{j\varphi(t)} + e^{j\varphi(t-\tau)}) \\ (4) \quad & \frac{1}{2} (e^{j\varphi(t)} - e^{j\varphi(t-\tau)}) \end{aligned}$$

Infine, il segnale in uscita viene riportato in Figura 4.2.3 e prende la forma:

$$(4.2.7) \quad s(t) = |(3)|^2 - |(4)|^2 = \cos[\varphi(t - \tau) - \varphi(t)]$$

In Figura 4.2.4 viene mostrata l'analisi spettrale di $s(t)$ ottenuto con la (4.2.7), dalla quale è possibile notare che il termine di battimento possiede una frequenza stimata di circa $\nu_B \simeq 86.5$ MHz. Inoltre, analizzando tali andamenti è possibile evidenziare che lo spettro presenta alcuni picchi spuri e ciò implica che sono presenti anche delle componenti rumorose oltre al battimento.

Al fine di stimare la variazione della frequenza e soprattutto l'errore legato alla non linearità $\eta(t)$, il segnale $s(t)$ viene demodulato in frequenza; nel dettaglio, vengono costruite le due versioni:

$$(4.2.8) \quad \begin{aligned} x(t) &= s(t) \cos(2\pi\nu_B t) \\ y(t) &= s(t) \sin(2\pi\nu_B t) \end{aligned}$$

Dopo aver eseguito l'analisi spettrale di $x(t)$ e $y(t)$ e filtrato i due segnali con un filtro passa basso in modo tale da mantenere solo la componente in banda base, viene calcolato lo scostamento che intercorre tra la frequenza di battimento stimata e quella reale; in particolare, si rende necessario individuare la ν_B da inserire nella (4.2.8) tale per cui tale errore di stima viene minimizzato. La frequenza di battimento che rende minimo questo sfasamento risulta essere circa:

$$\hat{\nu}_B \simeq 87.558 \text{ MHz}$$

Di conseguenza, l'andamento lineare teorico subisce in media una alterazione di alcune centinaia di GHz, la quale risulta essere circa tre ordini di grandezza inferiore se rapportata con le frequenze ottiche emesse dal laser (dell'ordine di centinaia di THz).

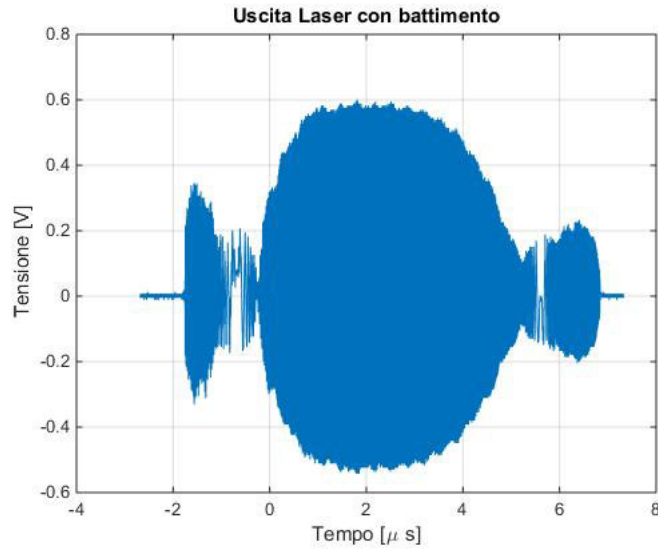


FIGURA 4.2.3. Segnale uscita con battimento $\nu_B \simeq 86$ MHz

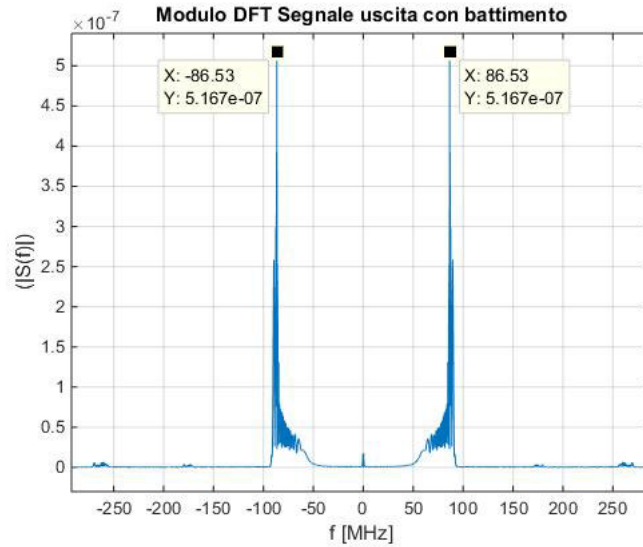


FIGURA 4.2.4. Segnale uscita con battimento nel dominio della frequenza

La base dei tempi sulla quale viene analizzato il segnale è lineare e, di conseguenza, la variazione di frequenza viene anch'essa supposta tale. In realtà, come scritto in precedenza, sono presenti dei termini di errore legati alla non linearità della stessa e ciò implica vari effetti tra cui un eccessivo allargamento dello spettro, la presenza di molte componenti di rumore e la degradazione della risoluzione assiale del sistema OCT.

Per ovviare a questi inconvenienti, la sorgente luminosa fornisce un segnale di clock, il quale può essere impiegato per ridefinire gli istanti temporali in cui eseguire la rilevazione dell'onda emessa al fine di ottenere una variazione della frequenza la più lineare possibile. Questo segnale di clock varia in base alla radiazione propagata dalla sorgente in modo tale da creare una base dei tempi distorta e non lineare; in particolare, gli istanti di campionamento corrispondono al passaggio dei fronti di salita per il suo punto medio e, di conseguenza, la frequenza di campionamento medio risulta essere pari a circa $f_C \simeq 305.5$ MHz. L'andamento nel dominio del tempo e lo spettro in frequenza del segnale di uscita così campionato vengono riportati rispettivamente in Figura 4.2.5 e Figura 4.2.6, dalle quali è possibile notare che lo spettro risulta essere più pulito e senza grossi picchi legati alle componenti rumorose e, inoltre, solamente la componente spettrale centrata in $\nu_B \simeq 84$ MHz viene considerata rilevante.

La stima dell'errore legato alla non linearità della variazione della frequenza viene eseguita seguendo lo stesso procedimento impiegato per il caso senza l'utilizzo del segnale di clock e la frequenza di battimento che minimizza tale errore $\eta(t)$ vale circa:

$$\hat{\nu}_B \simeq 84.552 \text{ MHz}$$

In questo caso, l'andamento lineare teorico subisce in media una alterazione di alcune unità di GHz, la quale risulta essere minore rispetto al precedente risultato e molto bassa se rapportata con le frequenze ottiche emesse dal laser.

Al fine di ottenere dei risultati robusti e riproducibili, vengono sviluppati due algoritmi (funzioni) in MATLAB®; in particolare, il primo prende in ingresso il segnale di clock con la sua base temporale, la soglia di attraversamento alla quale prendere l'istante di campionamento e l'istante di trigger in cui inizia la spazzolata utile, e fornisce in uscita la base dei tempi con la quale campionare il segnale utile. Il secondo, invece, considera in ingresso il segnale utile con la sua base temporale, gli istanti di campionamento (ricavati con la prima funzione) e l'istante di trigger in cui inizia la spazzolata utile, e fornisce in uscita il segnale campionato.

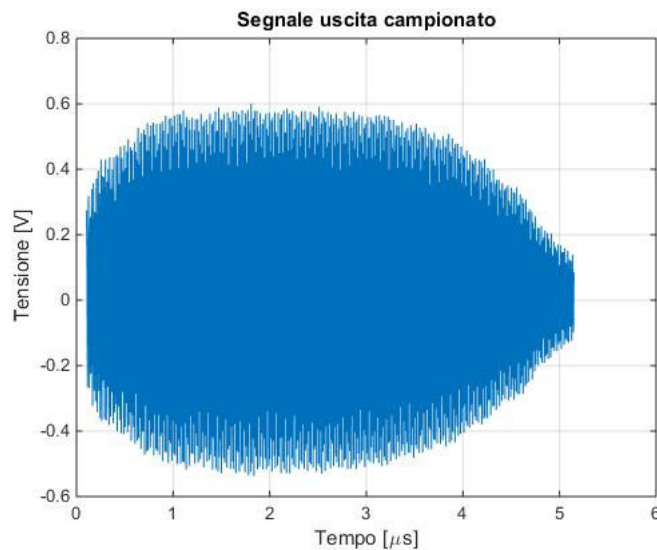


FIGURA 4.2.5. Segnale uscita campionato con il clock

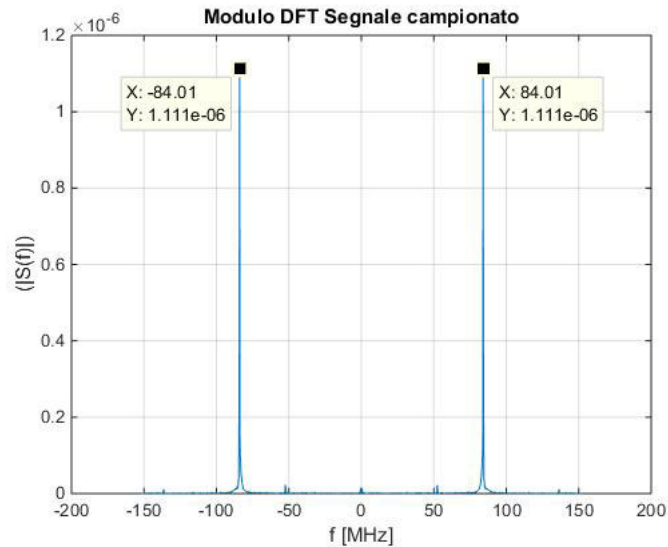


FIGURA 4.2.6. Segnale uscita campionato nel dominio della frequenza

4.2.3. Segnali di Clock, Trigger e Potenza emessa. Come scritto in precedenza, la sorgente ottica fornisce in uscita un segnale di clock, il quale viene utilizzato con lo scopo di ottenere una variazione della frequenza la più lineare possibile. Tale segnale di clock può essere visualizzato per mezzo di un oscilloscopio e viene riportato in Figura 4.2.7, dalla quale è possibile verificare che esso presenta una frequenza media di circa 310 MHz con punto medio non nullo; difatti, questo valore misura circa 466 mV.

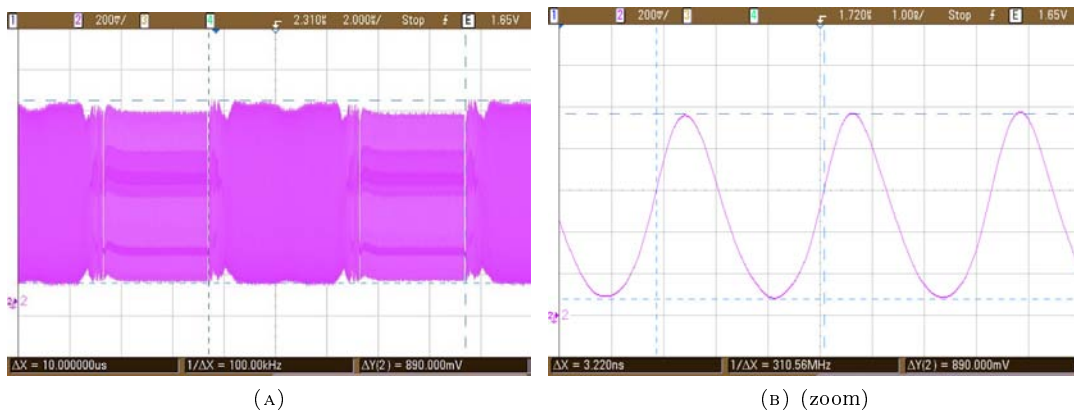


FIGURA 4.2.7. Segnale clock

Il periodo dell'intera spazzolata viene definito e scandito da un segnale di trigger avente forma di onda quadra di duty cycle del 96%, il quale viene riportato in Figura 4.2.8. In particolare, al verificarsi dell'evento "fronte di salita", il laser inizia la sua spazzolata ed il clock comincia a scandire gli istanti temporali in cui acquisire il segnale utile. Inoltre, dopo un intervallo di tempo di circa $5.05\mu s$, il segnale di clock presenta un andamento non sinusoidale e, pertanto, introduce importanti errori nella ricerca del suo passaggio per il punto medio; ciò implica che sia il clock sia il segnale di uscita possiedono un duty cycle utile di circa 50.5%.

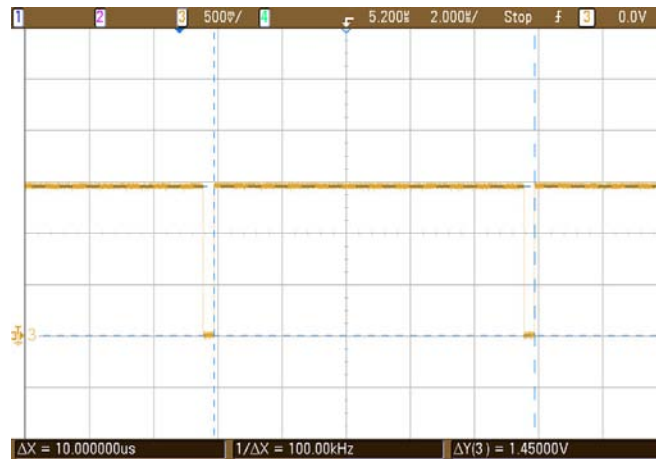


FIGURA 4.2.8. Segnale trigger

La sorgente ottica emette un fascio luminoso, il quale presenta una potenza ottica misurabile per mezzo di un fotodiiodo e visualizzabile sullo schermo di un oscilloscopio; nel dettaglio, il segnale così prodotto è rappresentato in Figura 4.2.9, dalla quale è possibile notare che il periodo dell'intera spazzolata è di $10 \mu s$ e l'intervallo temporale in cui il segnale presenta un andamento "pulito", senza grosse componenti rumorose, risulta essere limitato a circa $5.05 \mu s$.

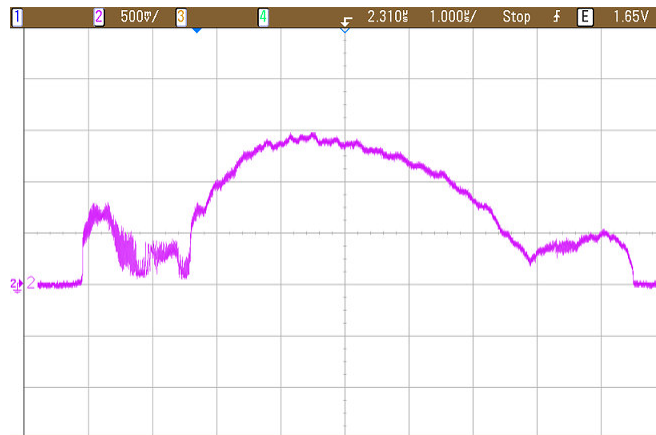


FIGURA 4.2.9. Potenza emessa

Durante le misure e la caratterizzazione della sorgente luminosa è emerso che la potenza ottica emessa dal Laser, letta per mezzo di un power meter, risulta essere dipendente da vari fattori; nello specifico, gli effetti osservabili sono i seguenti:

- al crescere della temperatura interna della sorgente SSOTC-1310, la potenza erogata aumenta;
- muovendo le bretelle di collegamento tra gli strumenti, la potenza ricevuta varia;
- alimentando i motori del sistema di scanning galvanometrico, la potenza subisce una diminuzione di circa 0.3 dB.

4.2.4. Lunghezza di coerenza. Come scritto nella Sezione 1.2 "Interferenza tra onde elettromagnetiche", è possibile misurare la lunghezza di coerenza di una sorgente luminosa utilizzando un interferometro di Michelson. In particolare, stimando il tempo di coerenza entro il quale la visibilità

si dimezza, è deducibile la lunghezza di coerenza (L_c) del Laser. Al fine di ottenere tale misura, viene utilizzato lo schema rappresentato in Figura 4.2.10, in cui si adopera il setup del sistema di scanning completo (descritto nel capitolo successivo).

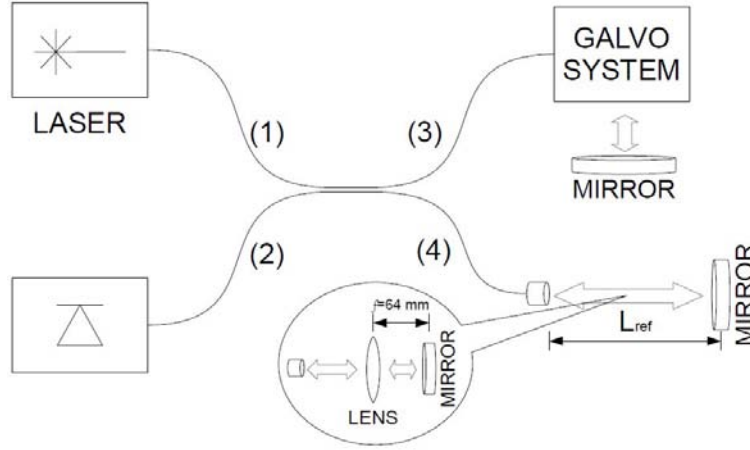


FIGURA 4.2.10. Schema di misura per lunghezza di coerenza

Nel dettaglio, il ramo del campione rimane fisso, mentre il ramo di riferimento mobile deve essere in grado di eseguire traslazioni superiori al valore L_c teorico lungo l'asse di propagazione del fascio. Il tragitto percorso dalla luce all'interno del sistema di scanning (dal collimatore al piano focale della lente di Scan) misura circa:

$$L_{sig} \simeq 127 \text{ mm}$$

Considerando in ingresso allo schema proposto il segnale descritto dall'equazione (4.2.2) proveniente dal laser, sui rami di uscita dell'accoppiatore direzionale 50:50 si ottengono:

$$(4.2.9) \quad \begin{aligned} (3) \quad & \frac{1}{\sqrt{2}} e^{j\varphi(t)} \\ (4) \quad & \frac{j}{\sqrt{2}} e^{j\varphi(t)} \end{aligned}$$

Sul ramo di riferimento si introduce un ritardo τ dipendente dalla differenza di cammino ottico (ΔL) percorso dalle due onde, e definibile con la seguente formula:

$$(4.2.10) \quad \tau = \frac{2\Delta L}{v_p}$$

dove v_p è la velocità di propagazione nel mezzo (ad esempio aria).

Di conseguenza, sulle porte (3) e (4) si ripropongono i segnali riflessi:

$$(4.2.11) \quad \begin{aligned} (3) \quad & \frac{1}{\sqrt{2}} e^{j\varphi(t)} \\ (4) \quad & \frac{j}{\sqrt{2}} e^{j\varphi(t-\tau)} \end{aligned}$$

In uscita dalla porta (2) dell'accoppiatore direzionale si presenta la somma dei due segnali interferenti e, pertanto, l'onda da analizzare prende la forma:

$$(4.2.12) \quad (2) \quad \frac{j}{2} (e^{j\varphi(t)} + e^{j\varphi(t-\tau)})$$

Infine, quest'ultima viene rilevata per mezzo di un singolo fotodiodo, il quale restituisce il seguente segnale in tensione:

$$(4.2.13) \quad s(t) = |(2)|^2 = \frac{1}{2} \{1 + \cos [\varphi(t) - \varphi(t - \tau)]\}$$

Dall'equazione (4.2.13) è possibile notare che, al variare del ritardo introdotto, la frequenza del termine cosenoidale cambia; quindi, la misura della lunghezza di coerenza può essere ottenuta analizzando il segnale di interferenza nel dominio della frequenza per mezzo della trasformata di Fourier.

Per quanto riguarda il ramo mobile di riferimento vengono considerate varie configurazioni di seguito descritte.

Collimatore-aria-specchio. Questo setup è il più semplice e si articola in soli due componenti ottici: collimatore per focalizzare il fascio e specchio riflettente, i quali vengono montati su un apposito supporto con la funzione di garantire il corretto allineamento tra gli stessi dispositivi. Tale richiesta è conseguenza del fatto che il fascio riflesso dallo specchio deve rientrare nel collimatore al fine di interferire con l'onda proveniente dal ramo del campione.

Da una analisi preliminare di questa configurazione si evince che la potenza che ritorna alla porta (4) dell'accoppiatore direzionale assume valori inferiori a -30 dBm per tutta l'escursione possibile lungo l'asse del fascio. Pertanto, dal momento che questa è di molto inferiore alla potenza retrodiffusa dal ramo campione (6 dBm), non è visibile nessun tipo di interferenza e, quindi, la misura della lunghezza di coerenza non è realizzabile.

Lente-lente-specchio. Questo setup è presentato e realizzato in un lavoro di tesi precedente⁵, il quale comprende due lenti acromatiche e uno specchio riflettente.

Con tale configurazione, il fascio luminoso viene focalizzato sullo specchio dalle lenti e il valore di potenza riflessa, nel caso in cui questo si trova sul piano focale della seconda lente, misura circa 5.8 dBm. Traslando lo specchio, l'onda retrodiffusa presenta una ampiezza decrescente in quanto il raggio incidente esce dalla messa a fuoco e il fascio riflesso disperde la propria potenza in tutte le direzioni. Uno svantaggio di ciò è che, visualizzando l'uscita della porta (2) dell'accoppiatore 50:50 per mezzo di un analizzatore di spettro elettrico, la diminuzione del segnale risultante non è direttamente associabile né al termine di interferenza presente nell'equazione (1.2.7) né al calo del segnale proveniente dal ramo mobile di riferimento; pertanto, anche questo setup risulta essere inutilizzabile al fine della misura della lunghezza di coerenza.

Collimatore-lente-specchio. Questo setup è il risultato di una fusione tra le due configurazioni sopra esposte; in particolare, il raggio viene convogliato dal collimatore alla lente, la quale lo indirizza verso lo specchio per ottenere la giusta riflessione.

Il posizionamento della lente viene stabilito in modo tale da avere il piano immagine all'infinito; nel dettaglio, viene utilizzata la teoria delle lenti sottili e, nello specifico, la formula di Gauss:

$$(4.2.14) \quad \frac{1}{s_i} - \frac{1}{s_o} = \frac{1}{f_l}$$

dove s_i è la distanza tra lente e piano immagine, s_o è la distanza tra lente e piano oggetto e f_l è la lunghezza focale della lente.

Dalla formula (4.2.14) è possibile notare che se il collimatore (oggetto) viene posto ad una distanza dalla lente pari alla lunghezza focale, la sua immagine viene proiettata all'infinito. Di conseguenza, il raggio incidente sullo specchio e il fascio riflesso dallo stesso presentano dimensioni molto prossime tra loro e senza grosse dispersioni.

La scelta della lente impiegata per eseguire la misura della lunghezza di coerenza ricade sulla AC254-060-C-ML fornita da Thorlabs Inc., la quale presenta una focale nominale di $f_l = 60$ mm in un intervallo di lunghezze d'onda $\lambda \in [1050, 1620]$ nm. Da una analisi preliminare di questa configurazione si evince che la distanza tra lente e collimatore si discosta leggermente dalla lunghezza focale dichiarata e, in particolare, essa vale circa 64 mm. Inoltre, traslando lo specchio lungo la direzione longitudinale all'asse del fascio, la potenza riflessa presenta una ampiezza circa costante e pari a 5.5 dBm.

⁵Il setup sperimentale è stato sviluppato per un Tomografo a Coerenza Ottica operante intorno a $\lambda = 1550$ nm [6].

La misura della lunghezza di coerenza viene effettuata adoperando l'ultimo setup descritto (collimatore-lente-specchio) in quanto risulta essere l'unico in grado di creare la giusta interferenza con il segnale proveniente dal sistema galvanometrico; inoltre, ad ogni traslazione dello specchio mobile lungo l'asse di propagazione del fascio luminoso viene eseguita una acquisizione del segnale generato dal fotoregistratore. Nel dettaglio, questo spostamento avviene in un intorno di L_{sig} con passo di 1 mm e, di conseguenza, il percorso ottico compiuto dalla luce sul ramo di riferimento risulta essere compreso nell'intervallo:

$$L_{ref} \in [90.6, 168.6] \text{ mm}$$

Dalla trasformata di Fourier del segnale fotogenerato, espresso dall'equazione (4.2.13), è possibile individuare le variazioni in termini di frequenza e ampiezza della riga spettrale dovute alla traslazione dello specchio di riferimento. In particolare, come descritto precedentemente, fintanto che la differenza spaziale dei percorsi effettuati dalle due versioni dell'onda rimane confinata entro la lunghezza di coerenza, l'interferenza produce una componente spettrale con frequenza e intensità variabili nell'analisi nel dominio della frequenza; al contrario, nel caso in cui $\Delta L > L_c$, i due segnali non creano interferenza e, pertanto, tale riga non è misurabile.

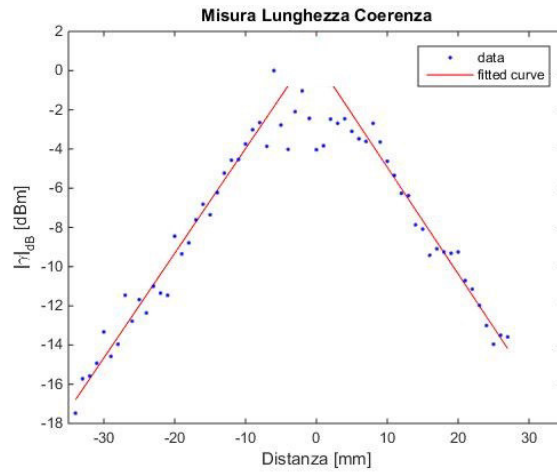


FIGURA 4.2.11. Misura lunghezza di coerenza

In Figura 4.2.11 viene riportata la funzione di correlazione normalizzata $|\gamma|$ in scala logaritmica, dalla quale è possibile notare che l'evoluzione delle ampiezze del termine di interferenza lungo la traslazione dello specchio mobile può essere approssimata per mezzo di una retta, la quale corrisponde a una funzione esponenziale in scala lineare. Nello specifico, quando la differenza tra i due percorsi ottici (ΔL) risulta essere maggiore di circa $4 \div 5$ mm, i dati assumono un andamento avente la forma:

$$(4.2.15) \quad e^{-\alpha|\Delta L|}$$

Di conseguenza, la lunghezza di coerenza, definita come differenza di percorso ottico a metà ampiezza massima, può essere derivata uguagliando la (4.2.15) al valore $\frac{1}{2}$, ottenendo in tal modo:

$$L_c = 2 \cdot \frac{\ln 2}{\alpha} \simeq 12.3 \text{ mm}$$

Il valore massimo viene ottenuto quando il ramo di riferimento è lungo circa 137 mm, la quale distanza si discosta leggermente dal tragitto percorso dalla luce all'interno del sistema di scanning e ciò può essere ricondotto al fatto che i mezzi in cui le due onde si propagano sono diversi; nel dettaglio, il ramo di riferimento è costituito principalmente da aria, mentre il ramo del campione è composto dal sistema galvanometrico e dalla lente di Scan e, pertanto, l'attraversamento di quest'ultimo componente ottico può portare ad una variazione nell'indice di rifrazione e ad un rallentamento nel viaggio dell'onda.

Setup Esperimento

Al fine di indirizzare al meglio la radiazione luminosa sul campione da analizzare, si rende necessario l'utilizzo di componenti ottici come collimatore, lenti e accoppiatori direzionali. In particolare, risulta di fondamentale importanza che tutti gli apparati siano progettati e realizzati per operare alle lunghezze d'onda di interesse e che sussista un perfetto accoppiamento tra le varie parti del setup dell'esperimento.

In questo capitolo vengono descritti i dettagli e le proprietà di tutti gli elementi impiegati nella progettazione e nello sviluppo del sistema di scanning completo, specificando inoltre i principali parametri che esso è in grado di ottenere.

5.1. Collimatore

La radiazione luminosa proveniente dalla sorgente e centrata ad una lunghezza d'onda di circa 1310 nm viene trasmessa lungo una fibra ottica monomodale e, affinché si riducano al minimo le perdite e i disturbi, vengono utilizzati dei connettori ottici con terminale angolato (FC/APC).

Queste caratteristiche implicano che la scelta del collimatore ricada sul F280APC-C fornito da Thorlabs Inc., il quale viene mostrato in Figura 5.1.1.



FIGURA 5.1.1. Collimatore F280APC-C

Nel dettaglio, le lenti interne sono fabbricate ed allineate in modo tale da convogliare la specifica lunghezza d'onda del segnale proveniente dalla fibra monomodale collegata allo stesso collimatore. Inoltre, sulle lenti viene applicato un rivestimento anti-riflesso (AR) finalizzato alla minimizzazione delle retroriflessioni superficiali.

Il collimatore può introdurre un angolo di divergenza approssimabile teoricamente con la seguente formula:

$$(5.1.1) \quad \theta \simeq \left(\frac{D}{f_l}\right) \left(\frac{180}{\pi}\right)$$

dove θ è l'angolo di divergenza, D è il diametro della fibra ottica a singolo modo e f_l è la lunghezza focale del collimatore.

Questa approssimazione vale solo per le fibre monomodali in quanto la luce assume un profilo di intensità gaussiana; invece, nelle fibre multimodali, essa rappresenta una sottostima per quanto riguarda l'angolo di divergenza poiché la luce presenta un profilo di intensità non gaussiano.

In Figura 5.1.2 viene illustrato l'angolo di divergenza teorico introdotto dal collimatore F280APC preso in considerazione¹, dalla quale è possibile notare che tale divergenza presenta un picco inferiore centrato alla lunghezza d'onda per la quale viene dimensionato e costruito tale dispositivo. Di conseguenza, se il segnale di ingresso assume proprietà diverse da quelle di progetto, esso può subire alterazioni e distorsioni importanti.

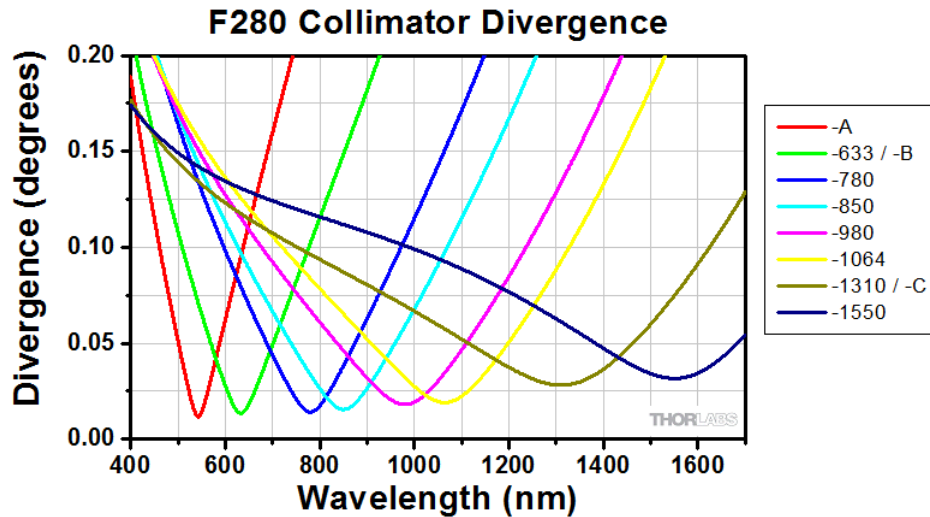


FIGURA 5.1.2. Angolo divergenza teorico F280APC-C

Le caratteristiche tecniche principali di questo componente ottico sono:

- Lunghezza d'onda centrale $\lambda = 1310 \text{ nm}$;
- Lunghezza focale $f_l = 18.67 \text{ mm}$;
- Apertura Numerica $NA = 0.15$;
- Diametro del fascio collimato² $d = 3.4 \text{ mm}$;
- Angolo di divergenza teorico³ $\theta \simeq 0.028^\circ$;
- Intervallo di temperature di operazione $T \in [-40, 93] \text{ }^\circ\text{C}$.

5.2. Lente di Scan

Il fascio luminoso deviato dagli specchi del sistema galvanometrico deve essere focalizzato sul campione da esaminare al fine di produrre delle analisi corrette e ad alta risoluzione; quindi, si rende necessario l'impiego di una lente telecentrica di Scan (ideale per l'utilizzo in sistemi di imaging quali l'OCT). Queste tipologie di lenti sono in grado di produrre un piano immagine piatto e presentano il vantaggio che la dimensione del fascio luminoso risente in minima parte dell'angolo di incidenza. Ciò implica che le distorsioni geometriche introdotte nell'immagine acquisita siano di piccola entità e, pertanto, non viene richiesto un processo di correzione complicato. Inoltre, se la dimensione del fascio rimane pressochè costante sull'intero campo visivo, la risoluzione dell'immagine varia minimamente all'interno dell'area analizzata.

Queste lenti di Scan sono dimensionate per lavorare al meglio per lunghezze d'onda tra il visibile e l'infrarosso (450 nm ÷ 1400 nm) e sono tipicamente provviste di rivestimento anti-riflesso (AR).

¹Dati ricavati da alcune prove effettuate da Thorlabs [42].

²Diametro teorico $1/e^2$ a distanza pari alla lunghezza focale dalla lente.

³Calcolo eseguito con radiazione luminosa centrata a $\lambda = 1310 \text{ nm}$.

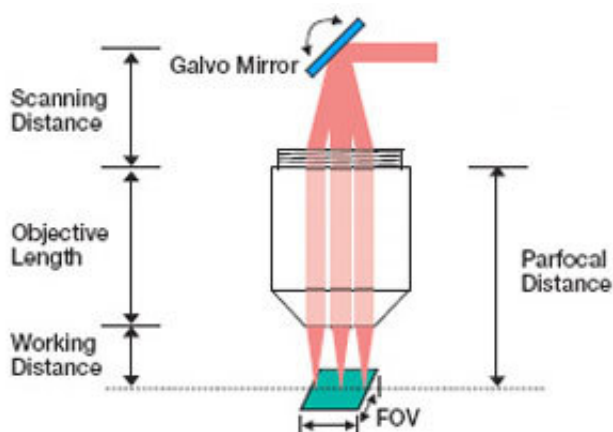


FIGURA 5.2.1. Parametri principali lente di Scan

In Figura 5.2.1 vengono illustrati i parametri principali per un corretto utilizzo, i quali vengono di seguito definiti:

- Dimensione pupilla di entrata (EP - Entrance Pupil): nel caso in cui venga usato un sistema di specchi a singolo asse⁴, il parametro EP (noto anche come “apertura posteriore”) è localizzato sul punto attorno al quale avviene la rotazione dello specchio, mentre per un sistema con due specchi, questo viene posizionato tra di essi. Inoltre, la dimensione della pupilla di entrata specifica il diametro del fascio collimato che massimizza la risoluzione dell’immagine acquisita.
- Scanning Distance (SD): viene definita come la distanza tra il piano di apertura e il piano di montaggio della lente (dove è presente la filettatura); nel caso di sistema con due specchi, il piano apertura è localizzato nel punto medio tra di essi, mentre con un sistema a singolo specchio, questo coincide con il fulcro.
- Scan Angle (SA): è definito come l’angolo compreso tra l’asse ottico della lente e il raggio incidente proveniente dal sistema galvanometrico. Questo indica anche l’angolo massimo di incidenza oltre il quale le prestazioni peggiorano.
- Parfocal Distance (PD): viene definita come la distanza tra il piano di montaggio (prima lente) e il piano focale della seconda lente (campione da analizzare)⁵.
- Working Distance (WD): è definita come la distanza tra il fondo (lente finale) e il piano focale del dispositivo.
- Campo Visivo (FOV - Field Of View): viene definito come l’area di dimensione massima del campione che può essere acquisita con la risoluzione teorica dichiarata dal costruttore. Questo identifica l’area nella quale il fascio luminoso può muoversi senza subire attenuazioni.
- Profondità di Vista (DOV - Depth Of View): è definita come la distanza tra i piani paralleli ai lati del piano focale dove la dimensione del fascio aumenta di $\sqrt{2}$ volte rispetto al diametro di uscita dalla lente finale. Questo parametro è interessante quando il campione si trova sul piano focale (come avviene nel caso della tecnica OCT).
- Spot Size Data: corrisponde alla dimensione del fascio formato sul piano immagine e, nel caso della tecnica OCT, esso ha una rilevanza importante in quanto quest’ultimo coincide con il piano su cui è posizionato il campione da analizzare. In Figura 5.2.2(B) è possibile vedere una simulazione di tale parametro calcolato per un sistema di scanning a due assi con fascio in ingresso di diametro 4 mm in cui si ricavano informazioni riguardanti le variazioni della dimensione del fascio e della posizione sul campo visivo. La simulazione eseguita da

⁴Variante del sistema galvanometrico con un motore ed uno specchio per l’analisi lungo un solo asse.

⁵Per avere le migliori prestazioni in termini di qualità e risoluzione delle immagini acquisite, è consigliato il posizionamento del campione sul piano focale, cioè ad una distanza dalla lente pari alla focal length (*EFL*).

Thorlabs Inc. prende in considerazione una singola lunghezza d'onda per la quale la lente è stata dimensionata; in particolare, dalla simulazione risulta che il fascio aumenta le sue dimensioni verso gli estremi del campo visivo e, pertanto, la misura sarà poco accurata e con probabili disturbi.

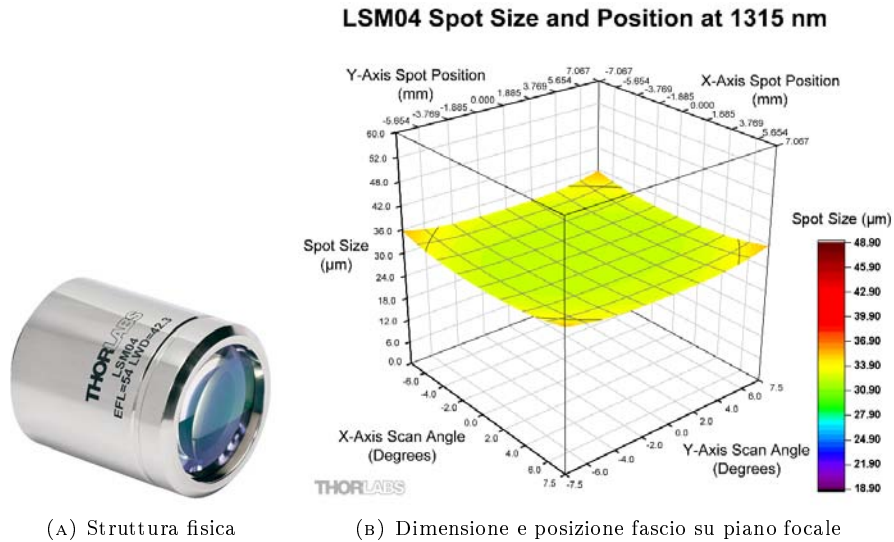


FIGURA 5.2.2. Lente LSM04: componente fisico + simulazione spot size

Considerando tutti i parametri appena definiti e le condizioni di lavoro, la scelta ricade sulla lente LSM04 (Thorlabs Inc.), la quale è costruita per lavorare in un intervallo di lunghezze d'onda compreso tra 1250 nm e 1380 nm (Figura 5.2.2(A)).

Le caratteristiche tecniche principali di questo componente ottico sono:

- Lunghezza focale $EFL = 54$ mm;
- Pupilla di entrata $EP = 4$ mm;
- Perfocal Distance $PD = 80.8$ mm;
- Working Distance $WD = 42.3$ mm;
- Scan Distance $SD = 18.9$ mm;
- Scan Angle⁶ $SA = \pm 7.5^\circ \times \pm 7.5^\circ$;
- Campo visivo $FOV = 14.1 \times 14.1$ mm²;
- Profondità di vista $DOV = 0.61$ mm;
- Distorsione $< 1.1\%$;
- Curvatura di campo < 0.2 mm.

5.3. Target per risoluzione e distorsione

Al fine di misurare la risoluzione di un sistema di imaging si rende necessario l'utilizzo di specifici modelli di riferimento; in particolare, tali modelli presentano linee con spessore e distanza, l'una dall'altra, ben definiti e, di conseguenza, la risoluzione del sistema sotto esame si ottiene analizzando la capacità del medesimo nel distinguere queste linee. La scelta ricade sul Negative Combined Resolution and Distortion Test Target (R1L1S1N) di Thorlabs Inc., il quale include: un modello 1951 USAF, un settore a stella, dei cerchi concentrici, delle griglie con passi di $100 \mu\text{m}$, $50 \mu\text{m}$ e $10 \mu\text{m}$, e delle righe di Ronchi ($30 \div 150$ lp/mm).

⁶Calcolata in riferimento all'asse ottico della lente nel caso di sistema a due assi.

In Figura 5.3.1 è possibile osservare il dispositivo R1L1S1N fornito da Thorlabs Inc.

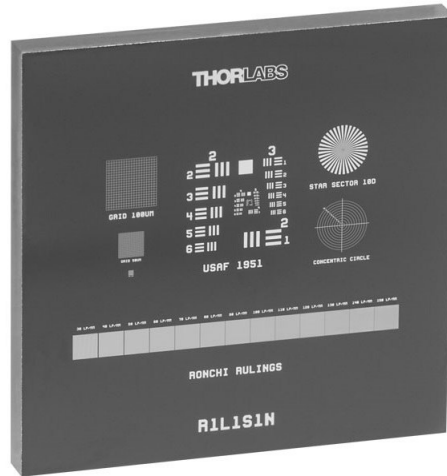


FIGURA 5.3.1. Target R1L1S1N

Questi modelli sono utili per varie misure come, ad esempio, la risoluzione, la distorsione, l'errore di messa a fuoco e l'astigmatismo. Nel dettaglio, i maggiori utilizzi sono:

- Target USAF 1951 per la misura della risoluzione del sistema di imaging;
- Griglie per la misura della distorsione nelle immagini;
- Cerchi concentrici sono ideali per l'identificazione di errori di messa a fuoco, astigmatismo e altre aberrazioni;
- Righe di Ronchi sono eccellenti per la valutazione di risoluzione, distorsione e stabilità del fuoco.

In aggiunta, il target R1L1S1 viene offerto in due versioni: positivo (-P, le linee consistono in un piano cromato su un substrato trasparente) e negativo (-N, il substrato è interamente ricoperto da una superficie cromata riflettente tranne le linee).

5.3.1. Target 1951 USAF. Il modello di maggior interesse al fine della misura della risoluzione è il 1951 USAF Target, il quale solitamente presenta dieci gruppi da sei elementi con tre linee orizzontali e tre verticali ciascuno. Se un gruppo di linee risulta essere sufficientemente sfocato, tale per cui appare una sovrapposizione, allora avviene il fenomeno detto risoluzione spuria. La particolarità di avere tre linee intervallate rende questo modello vantaggioso in quanto l'abilità di misura della risoluzione spuria aumenta e l'errore di stima della risoluzione del sistema ottico diminuisce. Inoltre, per ogni elemento, lo spessore delle linee e lo spazio tra due di esse coincidono e, dal momento che la distanza tra tre linee è maggiormente visibile rispetto ad altri valori, l'identificazione della risoluzione spuria risulta essere più semplice.

Quando il modello viene illuminato, la risoluzione del sistema ottico può essere determinato osservando la chiarezza delle linee orizzontali e verticali; in particolare, dal numero del gruppo in cui queste non sono distinguibili è possibile ricavare la potenza risolutiva del sistema sotto esame.

Nel dettaglio, il target R1L1S1N presenta sei gruppi numerati da +2 a +7 e una risoluzione determinabile attraverso la seguente formula:

$$(5.3.1) \quad \text{Risoluzione} = 2^{N_{Gruppo} + \left(\frac{N_{Elemento} - 1}{6}\right)}$$

dove N_{Gruppo} è il numero del gruppo e $N_{Elemento}$ è il numero dell'elemento.

L'unità di misura della risoluzione ottenuta per mezzo dell'equazione (5.3.1) è lp/mm (line-pairs per mm) e alcuni valori tipici sono riportati in Tabella 5.3.1.

$N_{Elemento}$	N_{Gruppo}									
	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7
1	0.250	0.500	1.00	2.00	4.00	8.00	16.00	32.00	64.00	128.0
2	0.280	0.561	1.12	2.24	4.49	8.98	17.95	36.00	71.8	144.0
3	0.315	0.630	1.26	2.52	5.04	10.10	20.16	40.30	80.60	161.0
4	0.353	0.707	1.41	2.83	5.66	11.30	22.62	45.30	90.50	181.0
5	0.397	0.793	1.59	3.17	6.35	12.70	25.39	50.80	102.00	203.0
6	0.445	0.891	1.78	3.56	7.13	14.30	28.50	57.00	114.00	228.0

TABELLA 5.3.1. Valori tipici risoluzione [lp/mm] 1951 USAF

5.3.2. Grid Patterns. Le griglie sono finalizzate principalmente per la determinazione della distorsione introdotta dai componenti ottici; in particolare, esse presentano delle linee orizzontali e verticali perfettamente parallele le une alle altre. Nel caso di immagine distorta, queste linee risultano curvate e le informazioni ricavate possono essere usate nell'elaborazione delle immagini per la correzione di tali distorsioni. Le griglie sono formate da tre modelli:

- (1) Griglia da 20×20 linee di spessore $1.5 \mu\text{m}$ distanziate di $10 \mu\text{m}$ lungo le direzioni x e y ;
- (2) Griglia da 20×20 linee di spessore $5 \mu\text{m}$ distanziate di $50 \mu\text{m}$ lungo le direzioni x e y ;
- (3) Griglia da 20×20 linee di spessore $5 \mu\text{m}$ distanziate di $100 \mu\text{m}$ lungo le direzioni x e y .

5.3.3. Star Sector. Il settore a stella, conosciuto anche come modello a stella di Siemens, consiste in una serie di barre inscritte in un cerchio, le quali presentano uno spessore crescente dal centro verso l'esterno. Misurando la distanza tra queste linee è possibile determinare la risoluzione del sistema ottico impiegato.

Nel dettaglio, il target R1S1L1N presenta una stella di 2 mm di diametro con trentasei barre equispaziate di un angolo pari a 10° . Sono presenti inoltre dieci cerchi concentrici riflettenti con raggi di $50 \mu\text{m}$, $100 \mu\text{m}$, $150 \mu\text{m}$, $200 \mu\text{m}$, $250 \mu\text{m}$, $300 \mu\text{m}$, $350 \mu\text{m}$, $400 \mu\text{m}$, $450 \mu\text{m}$ e $500 \mu\text{m}$; il centro di diametro $20 \mu\text{m}$ risulta essere pienamente riflettente.

La risoluzione viene calcolata prendendo in considerazione la distanza dal centro e lo spessore delle barre distinguibili; in particolare, è possibile utilizzare la seguente formula:

$$(5.3.2) \quad c = 2r \cdot \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \implies \text{Risoluzione} = \frac{1}{c}$$

dove c è definito spessore delle coppie di linee, r è il raggio (distanza dal centro) delle linee distinguibili e θ è l'angolo tra le coppie di linee chiaro-scure ed equivale a 360° diviso il numero di elementi (nel caso considerato vale $\theta = 10^\circ$).

5.3.4. Concentric Circles. Il modello dei cerchi concentrici consiste in dieci cerchi di spessore $5 \mu\text{m}$ e con raggi di $100 \mu\text{m}$, $200 \mu\text{m}$, $300 \mu\text{m}$, $400 \mu\text{m}$, $500 \mu\text{m}$, $600 \mu\text{m}$, $700 \mu\text{m}$, $800 \mu\text{m}$, $900 \mu\text{m}$ e $1000 \mu\text{m}$. Queste circonferenze, come il settore a stella, sono utili per individuare errori di messa a fuoco, astigmatismo e aberrazioni introdotte dal sistema ottico.

5.3.5. Ronchi Rulings. Le righe di Ronchi consistono in coppie di linee chiaro-scuro parallele, le quali presentano spessore equivalente alla distanza tra esse. In particolare, il target R1S1L1N presenta tredici gruppi di dimensioni $1 \times 1 \text{ mm}^2$ ciascuno e permette la misura della risoluzione da 30 lp/mm a 150 lp/mm con intervallo di 10 lp/mm tra un reticolo e il successivo.

5.4. Accoppiatori direzionali

Un accoppiatore direzionale è un dispositivo passivo a quattro porte, reciproco, privo di perdite, con tutte le porte adattate, e con le coppie di porte isolate: 1 e 2, 3 e 4, la cui matrice di diffusione ideale viene di seguito riportata.

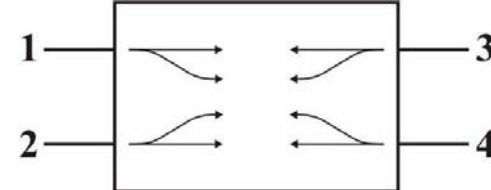
$$S = \begin{bmatrix} 0 & 0 & \rho & j\sqrt{1-\rho^2} \\ 0 & 0 & j\sqrt{1-\rho^2} & \rho \\ j\sqrt{1-\rho^2} & \rho & 0 & 0 \\ \rho & j\sqrt{1-\rho^2} & 0 & 0 \end{bmatrix}$$


FIGURA 5.4.1. Accoppiatore direzionale

Il fattore ρ viene scelto in fase di progetto e si osserva che, qualunque sia il suo valore, i percorsi “diagonali” introducono uno sfasamento di $\frac{\pi}{2}$ indipendentemente dalla tecnologia usata per la realizzazione del dispositivo medesimo.

Lo studio del funzionamento degli accoppiatori direzionali può essere eseguito pensando che nella struttura si propagano due supermodi ottenuti dalla sovrapposizione dei modi fondamentali di ciascuna guida (per ragioni di simmetria sono presenti un supermodo pari ed uno dispari). Analizzando i campi di questi supermodi, è possibile ottenere la potenza che fluisce in ciascuna fibra, la quale è proporzionale a:

$$(5.4.1) \quad P(z) = \begin{cases} \frac{1}{2} [1 + \cos(2\Delta\beta z)] & \text{guida 1} \\ \frac{1}{2} [1 - \cos(2\Delta\beta z)] & \text{guida 2} \end{cases}$$

dove z è la coordinata spaziale e $\Delta\beta = \frac{1}{2}(\beta_P - \beta_D)$ è la semidifferenza tra le costanti di propagazione dei due supermodi (in generale $\beta_P \neq \beta_D$).

Di conseguenza, la potenza passa da una guida all'altra con periodicità pari alla lunghezza di accoppiamento $L_A = \frac{\pi}{2\Delta\beta}$; ad esempio, se dopo un tratto di lunghezza $\frac{L_A}{2}$ le guide vengono disaccoppiate (separate), metà della potenza resta nella *guida* 1, mentre l'altra metà viene trasferita alla *guida* 2, ottenendo in tal modo un accoppiatore 50:50.

Al fine di creare un interferometro in fibra ottica è possibile impiegare due accoppiatori direzionali 50:50 come i dispositivi TW1300R5A2 forniti da Thorlabs Inc., i quali sono progettati per lavorare con lunghezze d'onda comprese in un intorno di 1300 nm.

Dalla misura del modulo delle potenze uscenti dalle varie porte è possibile costruire la tabella di diffusione del componente sotto esame; nello specifico, la loro caratterizzazione viene eseguita utilizzando un laser tunabile (Tunics - Plus O) di Anritsu, il quale è in grado di emettere una radiazione luminosa compresa nell'intervallo $\lambda \in [1330, 1450]$ nm, mentre le potenze sulle varie porte sono rilevate con multimetro serie 81635A di Agilent Technologies. In aggiunta, le prove vengono effettuate alla lunghezza d'onda di 1330 nm con una potenza trasmessa di riferimento⁷ di 0 dBm.

Tramite il colore della guaina protettiva, le porte sono identificate come segue:

- (1) Porta 1: bianco (input);
- (2) Porta 2: blu;
- (3) Porta 3: bianco (signal output);
- (4) Porta 4: rosso (tap output).

⁷Potenza erogata dalla sorgente laser senza alcun dispositivo da caratterizzare.

I valori di attenuazione ottenuti per gli accoppiatori 50:50 sono riportati in Tabella 5.4.1, dalla quale è possibile notare che i coefficienti di accoppiamento tra le porte di IN/OUT non sono perfettamente 50%, ma bensì circa il 47% e il 53% della potenza in ingresso; ciò è dovuto alla non idealità dei dispositivi. In ogni caso, le misure inferiori a -30 dB rispetto la potenza immessa possono essere considerate attenuazioni introdotte fra due porte isolate e, pertanto, viene verificato che i componenti esaminati presentano tutte le caratteristiche tipiche di un accoppiatore direzionale 50:50.

Att [dB]	IN 1	IN 2	IN 3	IN 4	Att [dB]	IN 1	IN 2	IN 3	IN 4
OUT 1	–	-66.60	-3.25	-2.61	OUT 1	–	-64.20	-3.23	-2.59
OUT 2	-67.20	–	-2.67	-3.27	OUT 2	-63.80	–	-2.60	-3.45
OUT 3	-3.37	-2.84	–	-67.30	OUT 3	-3.30	-2.49	–	-57.73
OUT 4	-2.65	-3.66	-65.20	–	OUT 4	-2.68	-3.23	-55.61	–

TABELLA 5.4.1. Tabelle di diffusione accoppiatore 50:50

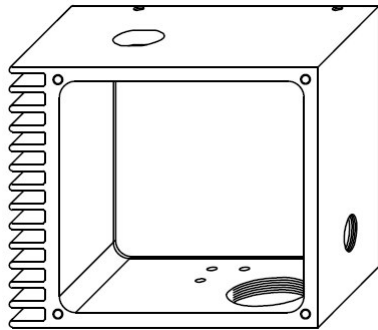
5.5. Testa ottica OCT

Il sistema di scanning galvanometrico, come descritto in precedenza, è la componente meccanica composta da due motori e due specchi con la funzione di deviare il fascio luminoso lungo le direzioni spaziali x e y . Pertanto, si rende necessario predisporre un contenitore che preservi l'integrità di questo dispositivo e che permetta il perfetto allineamento e l'accoppiamento ottico tra collimatore, lente e specchi. Di conseguenza, viene disegnata e dimensionata una struttura in alluminio (Testa dell'OCT), la quale è in grado di fornire protezione a tutte le parti meccaniche ed elettriche del sistema Galvo/Mirror GVS002.

Nel dettaglio, questa scatola è composta da tre elementi fondamentali:

- Schienale posteriore per il fissaggio alla struttura mobile LNR25D (Thorlabs Inc.);
- Pareti laterali per il montaggio e l'allineamento di collimatore, specchi e lente;
- Coperchio anteriore.

La motivazione della realizzazione di tre componenti per creare la testa dell'OCT si basa sul fatto che, nel caso in cui la lavorazione fosse originata da un pezzo unico, le operazioni di taglio e fresatura non avrebbero fornito risultati ottimali in termini di linearità delle pareti e ciò avrebbe compromesso il corretto allineamento dei dispositivi ottici. Inoltre, questa struttura divisa in tre pezzi permette il montaggio del sistema di scanning non direttamente sul supporto mobile LNR25D, ma in sede protetta e fissa; per cui, si ottiene maggior controllo e protezione di parti delicate quali specchi e connessioni elettriche.



(A) Disegno con AutoCAD®



(B) Foto struttura realizzata

FIGURA 5.5.1. Alloggiamento testa ottica OCT

La progettazione di questo apparato è stata sviluppata con l'ausilio del software AutoCAD®, mentre la sua realizzazione è avvenuta nell'officina del Dipartimento di Meccanica dell'Università degli Studi di Padova. In Figura 5.5.1 vengono presentati il disegno e la struttura fisica realizzata, dalla quale è possibile notare che il dispositivo galvanometrico viene installato con tre apposite viti (a testa svasata piana con cava esagonale) alla parete di base. Inoltre, tra di essi viene applicato uno strato di pasta conduttrice finalizzata al passaggio del calore dai motori alla struttura di alluminio, il quale viene dissipato adeguatamente da appropriate alette situate su una parete laterale della scatola. Una volta installato il motore, i fianchi vengono fissati allo schienale per mezzo di quattro viti a testa cilindrica bassa con cava esagonale.

Il foro filettato presente sulla base della struttura ha la funzione di fissaggio per la lente LSM04 in modo tale che l'asse ottico di quest'ultima coincida con quello di uscita degli specchi e, pertanto, che avvenga il giusto indirizzamento del fascio luminoso sul campione da analizzare. Nel caso in cui l'allineamento e la posizione tra i due apparati risultano non corretti, le prestazioni dell'intero sistema in termini di precisione, messa a fuoco e risoluzione peggiorano.

Il collimatore viene agganciato alla scatola tramite il foro filettato presente sulla parete destra in maniera tale da avere un accoppiamento ottimale tra questo e l'asse di ingresso degli specchi.

Infine, il foro presente sulla parete superiore viene predisposto per l'alloggiamento di un connettore elettrico, il quale porta ai motori i segnali di pilotaggio provenienti dalle schede di controllo. La comunicazione elettrica tra l'interno e l'esterno della struttura avviene tramite sedici pin, otto per il motore dell'asse X e otto per il motore dell'asse Y ⁸. Una possibile scelta del connettore ricade su due prodotti forniti da LEMO® Connectors:

- EGG.2B.316.CYM: presa elettrica fissa da 16 pin della serie B e con contatti saldati;
- FGG.2B.316.CYCD92: spina elettrica dritta da 16 pin della serie B con contatti saldati e alloggiamento per cavo di diametro 9.2 mm.

I connettori LEMO, appartenenti alla serie B, presentano le seguenti caratteristiche principali: sistema sicuro di fissaggio Push-Pull, contatti da saldare resistenti con diametro di 0.7 mm, sistema di allineamento con sistema detto "G key" standard e corrente massima supportata per contatto di 6 A. Durante le prove svolte e descritte di seguito, questi connettori non sono stati utilizzati a causa di scelte errate per i collegamenti elettrici e per inconvenienti legati a distorsioni e interferenze tra i cavi portanti i segnali di pilotaggio verso i motori. Tale problema risulta tuttavia risolvibile impiegando una diversa configurazione elettrica, la quale è ancora in fase di sviluppo. Ad ogni modo, al momento è possibile eseguire le verifiche dei vari parametri utilizzando le connessioni elettriche fornite da Thorlabs Inc.

Dimensionamento Dissipatore. Come scritto in precedenza, il dispositivo galvanometrico produce del calore dovuto alla rotazione dei motori; di conseguenza, si prevede un apparato di dissipazione riprodotto con apposite alette sulla parete laterale della struttura.

Nel dettaglio, la potenza generata dai motori, e da dissipare, può essere stimata misurando la corrente media e usando la seguente formula:

$$(5.5.1) \quad P_{mot} = R_{mot} \left[\frac{I_{rms+} + I_{rms-} - I_{q+} - I_{q-}}{2} \right]^2$$

dove R_{mot} è la resistenza della bobina del motore (2.2 Ω), I_{rms+} è la corrente media sul morsetto positivo, I_{rms-} è la corrente media sul morsetto negativo, I_{q+} è la corrente di quiescenza per segnale di comando positivo (0.15 A) e I_{q-} è la corrente di quiescenza per segnale di comando negativo (0.10 A).

L'abilità del dissipatore di scambiare il calore con l'ambiente circostante è rappresentata dai parametri: "Conducibilità Termica" (k) e "Resistenza Termica" (\emptyset), i quali sono uno l'inverso dell'altro. In particolare, se questa resistenza \emptyset presenta un valore basso, il dissipatore è in grado di trasferire molto calore prevenendo in tal modo possibili danni agli apparati elettrici e meccanici.

⁸Le funzioni dei vari pin sono precedentemente descritte nella Sezione 3.2 "Connessioni elettriche".

La resistenza termica viene calcolata con la seguente equazione:

$$(5.5.2) \quad \Theta = \frac{1}{k} = \frac{T_{hs} - T_a}{P_{max}}$$

dove T_{hs} è la massima temperatura permessa, T_a è la temperatura ambiente e P_{max} è la potenza massima da dissipare. Thorlabs Inc. consiglia di mantenere i motori ad una temperatura inferiore a 45 °C e, di conseguenza, il dissipatore deve possedere una resistenza termica di circa:

$$\Theta \simeq 0.5 \text{ °C/W}$$

5.6. Sistema di scanning completo

La realizzazione della struttura di testa è finalizzata all'alloggiamento del sistema galvanometrico e al corretto allineamento tra quest'ultimo con collimatore e lente di Scan. Tale accoppiamento ricopre un importante ruolo riguardo l'attenuazione introdotta dall'intero sistema ottico in quanto pochi millimetri di disallineamento possono causare delle diffusioni incontrollate del fascio luminoso. Un altro fattore da tenere in considerazione nell'assemblaggio del sistema di scanning è rappresentato dalla distanza focale della lente di Scan poichè, nel caso in cui il campione si trovasse fuori dal piano focale, la misura potrebbe risultare poco chiara e con presenza di rumore.

In Figura 5.6.1 viene presentato l'assemblaggio del sistema di scanning completo impiegato, dalla cui immagine è possibile notare che la progettazione della struttura metallica di testa è stata sviluppata al fine di ottimizzare le prestazioni dell'intero sistema e di costruire un apparato il più compatto possibile. In particolare, l'asse del motore X coincide con quello del collimatore, mentre l'asse del motore Y coincide con quello della lente di Scan; inoltre, il secondo specchio deve essere posizionato ad una distanza pari alla Scanning Distance della medesima lente.

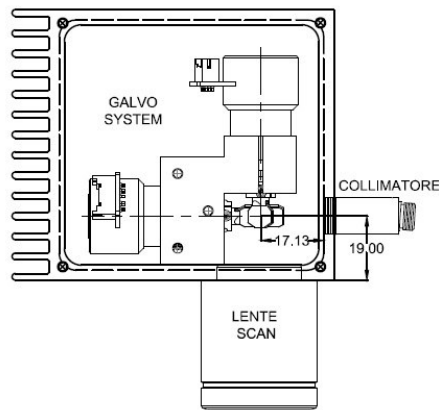


FIGURA 5.6.1. Assemblaggio sistema scanning

In Figura 5.6.2 viene raffigurato il circuito ottico utilizzato per eseguire le varie misure di seguito riportate; nel dettaglio, il fascio luminoso emesso dal Laser viene inviato al sistema di scanning, e al campione, per mezzo delle porte (1) → (3) di un accoppiatore 50:50. La potenza del segnale riflesso dal test passa attraverso le porte (3) → (2) e viene infine rilevata e misurata con l'ausilio di un power meter. In aggiunta, la porta (4) non viene adoperata e, pertanto, il connettore di uscita rimane chiuso con apposito tappino.

Per la misura del campo visivo, il campione è uno specchio in quanto, riflettendo tutta la potenza incidente, esso permette di valutare le zone "buie", le perdite e l'attenuazione che l'intero percorso ottico del sistema di scanning completo può introdurre.

Per la misura della risoluzione trasversale, il campione è il target R1L1S1N (Thorlabs Inc.) poichè, tramite le sue componenti, è possibile ottenere una caratterizzazione dettagliata del sistema.

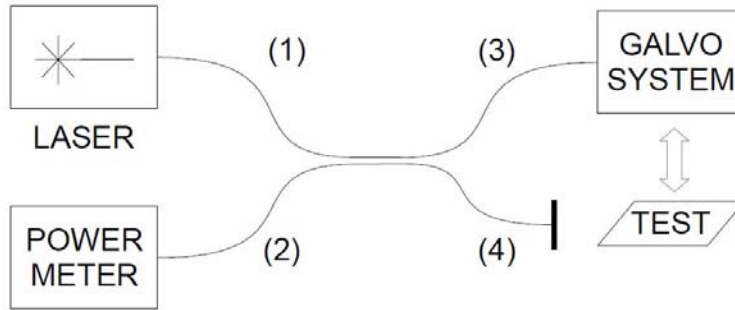


FIGURA 5.6.2. Circuito ottico misure

5.6.1. Campo visivo. Il diametro del fascio convogliato dal collimatore F280APC-C (Thorlabs Inc.) misura $d = 3.4 \text{ mm}$ e, dal momento che il tragitto percorso della luce prima di essere deviata dal primo specchio è di circa 17.13 mm , esso subisce una divergenza di un angolo pari a $\theta \simeq 0.028^\circ$ (calcolato con l'equazione (5.1.1)). Di conseguenza, il raggio luminoso incidente sul sistema galvanometrico risulta avere un diametro di circa:

$$d \simeq 3.42 \text{ mm}$$

Questo fascio viene deviato dal dispositivo GVS002 (Thorlabs Inc.) entro un intervallo di angolazioni definito dal diametro dello stesso raggio incidente; in particolare, gli angoli che è possibile ottenere sono riportati nella seguente Tabella 5.6.1⁹.

Diametro fascio ingresso	Angolo meccanico asse X	Angolo ottico asse X	Angolo meccanico asse Y	Angolo ottico asse Y
1 mm	+11° - 12.5°	+22° - 25°	±12.5°	±25°
2 mm	+10° - 11.5°	+20° - 23°	±12.5°	±25°
3 mm	+9.5° - 10°	+19° - 20°	±12.5°	±25°
4 mm	±8.5°	±17°	±12.5°	±25°
5 mm	±8°	±16°	+12.5° - 3°	+25° - 6°

TABELLA 5.6.1. Angoli deviazione del fascio ingresso con sistema GVS002

Dalla Tabella 5.6.1 è possibile notare che, con un fascio luminoso di diametro compreso tra 3 mm e 4 mm, gli angoli ottici ottenibili con questo sistema galvanometrico risultano essere maggiori dello Scan Angle dichiarato della lente di Scan¹⁰. Di conseguenza, il sistema di scanning è in grado di eseguire scansioni sull'intero campo visivo della lente, la quale teoricamente riesce ad esaminare in maniera ottimale superfici di dimensioni pari a:

$$FOV = 14.1 \times 14.1 \text{ mm}^2$$

A tal fine, i motori del sistema galvanometrico devono compiere delle rotazioni meccaniche di almeno 7.5° lungo i due assi X e Y ; pertanto, impostando il fattore di scala $1 \text{ V}/^\circ$, il pilotaggio deve avvenire con valori di tensione compresi nell'intervallo $[-3.75, +3.75] \text{ V}$. Tali limiti per gli angoli meccanici corrispondono al parametro Scan Angle ottico ($SA = \pm 7.5^\circ \times \pm 7.5^\circ$) accettato in ingresso alla lente.

⁹Dati ricavati dal Datasheet del Galvo Scanning System [47].

¹⁰Lo scan angle della lente è l'angolo massimo entro il quale questo componente ottico è in grado di garantire buoni risultati (dato riportato nella Sezione 5.2 "Lente di Scan").

In aggiunta, la conversione tra rotazioni meccaniche compiute dai motori, misurate in gradi, e spazio percorso misurato in metri, viene ottenuta per mezzo della seguente relazione:

$$(5.6.1) \quad l_{x,y} = EFL \cdot \tan(2\phi_{x,y})$$

dove $l_{x,y}$ è la coordinata spaziale lungo x o y , $EFL = 54$ mm è la lunghezza focale della lente e $\phi_{x,y}$ è l'angolo meccanico assunto dai motori asse X o asse Y .

A causa di alcuni inconvenienti meccanici e strutturali del sistema galvanometrico fornito da Thorlabs Inc., la distanza tra specchio di uscita e lente risulta essere circa 19mm e, pertanto, essa è maggiore rispetto la Scanning Distance della lente consigliata; quindi, in fase di collaudo e di misura vi è la possibilità che i dati raccolti risultino essere affetti da errori in quanto non vengono rispettate le richieste di perfetto allineamento ottico tra i vari componenti.

5.6.2. Risoluzione assiale e risoluzione trasversale. Come descritto precedentemente, la Tomografia a Coerenza Ottica presenta alcuni parametri importanti, i quali determinano l'accuratezza nella creazione delle immagini e le prestazioni di un generico dispositivo OCT.

Uno di questi è la risoluzione assiale, la quale risulta essere dipendente dalla sorgente luminosa utilizzata ed è calcolabile tramite l'equazione (1.5.3). Nel dettaglio, considerando il Laser SSOCT-1310 (Axsun Technologies) con lunghezza d'onda centrale di $\lambda_0 = 1305$ nm e larghezza di banda di $\Delta\lambda = 140$ nm, la risoluzione assiale teorica in aria risulta essere uguale a circa:

$$\Delta z \simeq 5.37 \mu\text{m}$$

Nel caso in cui l'onda si propaga in un mezzo, tale valore va diviso per l'indice di rifrazione (n) del materiale preso in esame.

Un altro parametro usato nella caratterizzazione di un sistema OCT è la risoluzione trasversale, la quale è calcolabile per mezzo dell'equazione (1.5.4). In particolare, considerando un diametro del fascio in ingresso alla lente di circa $d = 3.42$ mm, una lunghezza focale di $EFL = 54$ mm e il laser SSOCT-1310 (Axsun Technologies), la risoluzione trasversale teorica risulta essere uguale a circa:

$$\Delta x \simeq 26.5 \mu\text{m}$$

Inoltre, dalla definizione di risoluzione trasversale, tale valore corrisponde alle dimensioni sul piano focale del fascio luminoso uscente dalla lente di Scan.

Sostituendo il valore di Δx nell'equazione (1.5.5), la profondità di campo (confocale) risulta essere uguale a:

$$b \simeq 845.28 \mu\text{m}$$

Di conseguenza, entro tale intervallo intorno al piano focale, il diametro del raggio uscente dalla lente rimane pressochè costante; al contrario, nel caso di profondità maggiori, lo spot size aumenta con conseguente peggioramento di prestazioni in termini di risoluzione trasversale e nitidezza dell'immagine. In aggiunta, da questo valore è possibile dedurre anche che l'analisi all'interno del campione è limitata a profondità inferiori alla confocale e, pertanto, i risultati rimangono accettabili entro uno spessore dell'ordine di centinaia di micrometri.

In fase di misura della risoluzione trasversale vengono presi in considerazione tutti i modelli contenuti nel target R1L1S1N. La motivazione di ciò riguarda il fatto che ciascuno di essi è in grado di evidenziare le caratteristiche del sistema a diversi livelli di dettaglio:

- Il modello 1951 USAF e il settore a stella possono essere adoperati per la misura della risoluzione trasversale: il primo fornisce informazioni più robuste e riesce ad eseguire analisi di risoluzioni dell'ordine di unità di micrometri, mentre il secondo è in grado di restituire valori minimi dell'ordine di decine di micrometri;
- Le griglie offrono la possibilità di verificare la presenza di distorsioni introdotte dal sistema ottico in esame soprattutto sui contorni del campo visivo;
- I cerchi concentrici acquisiti a diverse distanze lente-campione permettono di individuare gli errori legati alla non corretta messa a fuoco (test fuori dal piano focale).

5.6.3. Velocità di acquisizione. Le prestazioni di un tomografo ad alta velocità sono dipendenti, come descritto precedentemente, anche dalla velocità di acquisizione alla quale il dispositivo è in grado di lavorare. In particolare, nei sistemi SS-OCT, essa viene influenzata sia dalla frequenza di spazzolata in lunghezza d'onda della sorgente luminosa sia dalla velocità angolare di rotazione dei motori durante la deviazione del fascio lungo le direzioni x e y .

Dalle specifiche tecniche, il laser emette la radiazione luminosa per un tempo scandito dal segnale di trigger, il quale presenta una frequenza pari a 100 kHz; dal momento che il duty cycle utile dichiarato è del 50.5%, al fine della stima della velocità di acquisizione viene preso in considerazione solo un intervallo temporale di circa $\tau \simeq 5 \mu\text{s}$. Nel dettaglio, viene richiesto che in tale periodo lo spostamento sul piano focale eseguito da uno dei due motori (asse X o Y) sia di molto inferiore rispetto alla risoluzione trasversale:

$$(5.6.2) \quad x(t + \tau) - x(t) \ll \Delta x$$

Tramite lo sviluppo in serie di Taylor (fino al primo ordine), il termine ritardato dell'equazione (5.6.2) si può riscrivere nel modo seguente:

$$(5.6.3) \quad x(t + \tau) \simeq x(t) + \frac{\partial x}{\partial t} \tau + o(\tau^2)$$

Di conseguenza, inserendo questo nella formula (5.6.2), lo spostamento sul piano focale desiderato deve soddisfare la condizione:

$$(5.6.4) \quad \frac{\partial x}{\partial t} \ll \frac{\Delta x}{\tau}$$

Nel caso di pilotaggio del motore tramite onda sinusoidale, la posizione in gradi ($^\circ$) assunta da esso risulta seguire l'andamento:

$$(5.6.5) \quad \theta(t) = A \sin(2\pi ft)$$

dove A è l'ampiezza e f è la frequenza del segnale di comando. Nello specifico, il valore di A dipende dalle dimensioni dell'area da esaminare e dal fattore di scala impostato; ad esempio, con fattore $1 \text{ V}/^\circ$ l'ampiezza per coprire l'intero campo visivo deve essere compresa nell'intervallo $A \in [0, 3.75] \text{ V}$.

Per mezzo dell'equazione (5.6.1) è possibile effettuare la conversione tra rotazioni meccaniche compiute dai motori, misurate in gradi, e spazio percorso misurato in metri; pertanto, la condizione espressa dalla (5.6.4) diventa:

$$(5.6.6) \quad \frac{\partial x}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial t} \left[EFL \tan \left(2\theta(t) \frac{\pi}{180} \right) \right] \ll \frac{\Delta x}{\tau}$$

dove EFL è la lunghezza focale della lente di Scan e il fattore $\frac{\pi}{180}$ all'interno della tangente è necessario al fine di ottenere gli angoli in radianti ([rad]).

Sostituendo la (5.6.5) nella derivata temporale di $x(t)$, questa risulta essere uguale a:

$$(5.6.7) \quad \frac{\partial x}{\partial t} = EFL \frac{2\pi}{180} \frac{1}{\cos^2 \left(2\theta(t) \frac{\pi}{180} \right)} \frac{\partial \theta}{\partial t} = EFL \frac{2\pi}{180} 2A\pi f \frac{\cos(2\pi ft)}{\cos^2 \left(2\theta(t) \frac{\pi}{180} \right)}$$

Dal momento che il segnale cosenoidale soddisfa le seguenti considerazioni:

$$|\cos(2\pi ft)| \leq 1$$

$$0 < \cos^2 \left(2\theta(t) \frac{\pi}{180} \right) < 1$$

è possibile dedurre che la derivata dello spostamento risulta essere limitata superiormente come segue:

$$(5.6.8) \quad \left| \frac{\partial x}{\partial t} \right| = \left| EFL \frac{2\pi}{180} 2A\pi f \frac{\cos(2\pi ft)}{\cos^2 \left(2\theta(t) \frac{\pi}{180} \right)} \right| \leq EFL \frac{2\pi}{180} 2A\pi f$$

Di conseguenza, fondendo le equazioni (5.6.6) e (5.6.8) si ottiene la condizione:

$$(5.6.9) \quad EFL \frac{2\pi}{180} 2A\pi f \ll \frac{\Delta x}{\tau}$$

Infine, grazie alla proprietà di transizione, se la (5.6.9) viene soddisfatta, lo è anche la (5.6.6) e ciò implica che il prodotto ampiezza-frequenza del segnale sinusoidale di pilotaggio deve sottostare alla seguente limitazione:

$$Af \ll 445.64 \text{ }^\circ/\text{s}$$

Inoltre, siccome l'escursione $\theta(t)$ effettuata dal motore avviene in un intervallo temporale pari a $T/2$, allora la precedente limitazione diventa:

$$Af \ll 891.28 \text{ }^\circ/\text{s}$$

Ad esempio, per eseguire una scansione di una intera riga del campo visivo (14.1mm), si rende necessario impostare il valore $A = 3.75 \text{ V}$ con conseguente velocità di spazzolata limitata ad essere molto minore di circa 237.67 fps (frame per second, o righe al secondo). Al contrario, se si desidera eseguire una analisi di 100 fps, il segnale sinusoidale di pilotaggio deve assumere una ampiezza molto inferiore a 8.91 V.

Dalla caratterizzazione del sistema galvanometrico è possibile evidenziare che la risposta dei motori al segnale di pilotaggio impiega qualche millesimo di secondo. Pertanto, nel caso di comando con onda cosenoidale, l'inizio della spazzolata risulta essere ritardata e distorta; al contrario, con un segnale sinusoidale è possibile ottenere una rotazione pulita a patto di non considerare la parte iniziale in cui $\theta(t)$ passa dal valore nullo a quello massimo.

Nel caso di pilotaggio del motore tramite un segnale lineare nel tempo, la posizione in gradi ($^\circ$) assunta da esso risulta essere:

$$(5.6.10) \quad \theta(t) = \frac{A}{\Delta t} \cdot t - \frac{A}{2}$$

dove $A \in [0, 7.5] \text{ V}$ è l'ampiezza dell'intera spazzolata effettuata dal motore e Δt è l'intervallo temporale impiegato per compiere il movimento da $-\frac{A}{2}$ a $+\frac{A}{2}$.

Sostituendo tale equazione nella condizione espressa dalla (5.6.6), quest'ultima diventa:

$$(5.6.11) \quad \frac{\partial x}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial t} \left[EFL \tan \left(2\theta(t) \frac{\pi}{180} \right) \right] = \frac{\partial}{\partial t} \left\{ EFL \tan \left[2 \left(Af \cdot t - \frac{A}{2} \right) \frac{\pi}{180} \right] \right\} \ll \frac{\Delta x}{\tau}$$

dove $f = \frac{1}{\Delta t}$ è l'inverso dell'intervallo temporale.

Dal momento che lo spostamento effettuato dal motore interessa un intervallo di angoli limitato e ristretto, senza perdita di generalità è possibile approssimare la tangente contenuta nella derivata con un andamento lineare:

$$\tan \left[2 \left(Af \cdot t - \frac{A}{2} \right) \frac{\pi}{180} \right] \simeq 2 \left(Af \cdot t - \frac{A}{2} \right) \frac{\pi}{180}$$

Di conseguenza, analogamente al caso precedente, eseguendo la derivata temporale di $x(t)$, dalla (5.6.11) si ottiene la condizione:

$$(5.6.12) \quad EFL \frac{2\pi}{180} Af \ll \frac{\Delta x}{\tau}$$

Ciò implica che il prodotto ampiezza-quanto temporale di pilotaggio deve sottostare alla seguente limitazione:

$$Af \ll 2784 \text{ }^\circ/\text{s}$$

Ad esempio, per eseguire una scansione di una intera riga del campo visivo (14.1mm), si rende necessario impostare il valore $A = 7.5 \text{ V}$ con conseguente velocità di spazzolata limitata ad essere molto minore di circa 371.15 fps (frame per second, o righe al secondo). Al contrario, se si desidera eseguire una analisi di 100 fps, il segnale di comando deve assumere una ampiezza molto inferiore a 27.81 V.

Queste stime riguardanti le possibili velocità di acquisizione sono frutto di calcoli eseguiti con valori teorici. In questo lavoro di tesi non è stato possibile verificarne i risultati con prove adeguate per mancanza di tempo e di strumentazione appropriata per portare a compimento tale progetto.

CAPITOLO 6

Risultati

In questo capitolo vengono riportati i principali risultati ottenuti utilizzando il setup descritto nella Sezione 5.6 “Sistema di scanning completo”. In particolare, i dati riportati e contenuti in questo lavoro di tesi sono limitati alla verifica dei parametri fondamentali di un Tomografo a Coerenza Ottica in quanto lo svolgimento delle varie prove e caratterizzazioni ha richiesto uno studio approfondito di tutte le componenti impiegate per portare a compimento la realizzazione di tale progetto.

Durante le prove di seguito esposte, i valori di potenza retrodiffusi vengono rilevati per mezzo di un power meter serie 81635A di Agilent Technologies, il quale viene gestito da remoto tramite una connessione GPIB-USB. Nel dettaglio, attraverso particolari comandi implementati con il software MATLAB[®], è possibile memorizzare e graficare i dati provenienti dallo strumento di misura.

I parametri impostati per eseguire le misure di campo visivo e risoluzione trasversale sono i seguenti:

- Lunghezza d’onda centrale: $\lambda_0 = 1305$ nm;
- Tempo di media: 100 ms;
- Numero campioni: 2000;
- Numero di bit: 4;
- Unità di misura: dBm.

Con tali condizioni, ogni punto (pixel) dell’immagine viene acquisito in un tempo medio di circa 200ms, il quale dipende fortemente dal tempo di media impostato e dal tempo di risposta dello strumento alle variazioni del segnale da esso rilevato. In aggiunta, questo intervallo temporale di misura può essere diminuito considerando un tempo di media inferiore, ma ciò implicherebbe un peggioramento della precisione e del contrasto chiaro-scuro nell’immagine risultante.

6.1. Misura campo visivo

Utilizzando lo schema riportato in Figura 5.6.2, è possibile ricostruire il campo visivo che il sistema è in grado di analizzare; in particolare, illuminando uno specchio posizionato sul piano focale, vengono definiti i contorni della superficie entro la quale è possibile eseguire le varie acquisizioni. Tale tecnica di analisi lungo le direzioni x e y sul piano focale risulta essere una applicazione del metodo *en-face* impiegato per la sola coordinata spaziale $z = 0$. Nel dettaglio, come è possibile vedere dalla Figura 5.6.2, l’accoppiatore 50:50 suddivide l’onda luminosa in ingresso proveniente dal Laser nei due rami di uscita, mentre il power meter (81635A) collegato alla porta (2) dello stesso accoppiatore misura la potenza riflessa dallo specchio inserito al posto del test.

Con tale configurazione è possibile eseguire una misura preliminare riguardo l’attenuazione introdotta dai dispositivi ottici che compongono il sistema di scanning completo; nello specifico, il sistema galvanometrico riceve una potenza ottica di circa 9.95 dBm \cong 9.89 mW, pari a metà di quella erogata dalla sorgente, mentre il valore di potenza retrodiffusa dallo specchio, e letta sul multimetro, risulta essere circa 3.01 dBm \cong 1.99 mW. Di conseguenza, considerando la perdita di inserzione di 3 dB introdotta tra i rami dell’accoppiatore direzionale 50:50, l’attenuazione totale vale:

$$Att \simeq 1.95 \text{ dB}$$

Come scritto in precedenza, utilizzando lo stesso schema è possibile scansionare l'intero campo visivo e ciò è reso possibile grazie alla deviazione del fascio luminoso per mezzo dei motori galvanometrici, i quali sono in grado di assumere angolazioni maggiori rispetto allo Scan Angle dichiarato della lente di Scan. In particolare, la misura avviene considerando, per entrambi gli assi, angoli meccanici compresi nell'intervallo $\pm 8^\circ$ in modo tale da esaminare le potenzialità della lente impiegata; inoltre, al fine di ottenere il campo visivo, la potenza retrodiffusa dallo specchio viene rilevata lungo le due direzioni x e y con passo di $0.016^\circ \cong 30 \mu\text{m}$ tra un punto e il successivo.

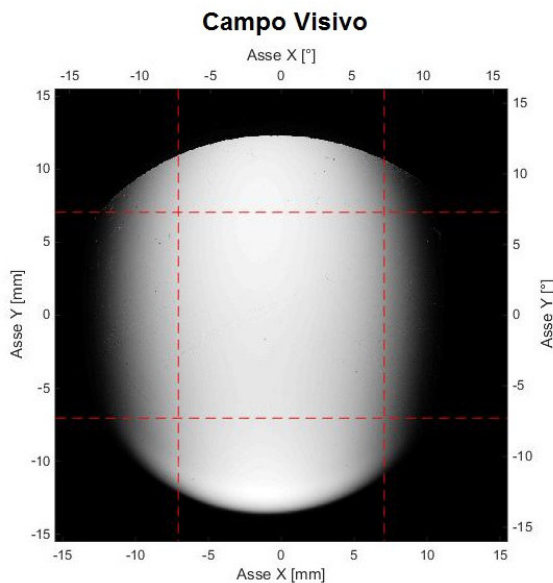


FIGURA 6.1.1. Campo visivo misurato

In Figura 6.1.1 viene raffigurato il risultato di questa acquisizione, dalla quale è possibile notare che il campo visivo misurato corrisponde a circa quello teorico; nel dettaglio, i dati raccolti vengono rappresentati mediante due scale di riferimento in quanto possono essere interpretati in funzione della distanza percorsa ($\pm 15.5 \text{ mm}$) o dell'angolo ottico introdotto dagli specchi ($\pm 16^\circ$). Inoltre, è possibile evidenziare anche che l'analisi potrebbe avvenire su un'area maggiore rispetto a quella racchiusa all'interno delle linee tratteggiate, la quale è la rappresentazione grafica del campo visivo dichiarato dai dati tecnici della lente di Scan LSM04. Tuttavia, dalla Figura 6.1.2 riportante la potenza retrodiffusa dallo specchio, è possibile vedere che, nel caso in cui il fascio esce dalla superficie di campo visivo dichiarato, essa subisce una forte attenuazione. In particolare, l'andamento della potenza riflessa viene alterato e attenuato soprattutto lungo l'asse X , mentre nell'altra direzione rimane costante per quasi tutto il diametro della lente. Questi effetti vengono introdotti durante la deviazione del fascio luminoso tramite i due motori galvanometrici, i quali possono indurre tre fenomeni principali:

- Distorsione del campo visivo, soprattutto sui bordi, dovuta al fatto che la distanza tra il primo specchio e il piano immagine dipende dall'angolo meccanico compreso tra gli stessi specchi;
- Distanze sul piano immagine non proporzionali alla rotazione dello specchio, ma alla tangente dello stesso angolo con conseguente velocità di percorrenza del fascio sul piano non proporzionale alla velocità di rotazione del sistema galvanometrico;
- Variazione del fuoco della lente utilizzata per focalizzare il fascio con conseguente cambiamento della dimensione del raggio uscente.

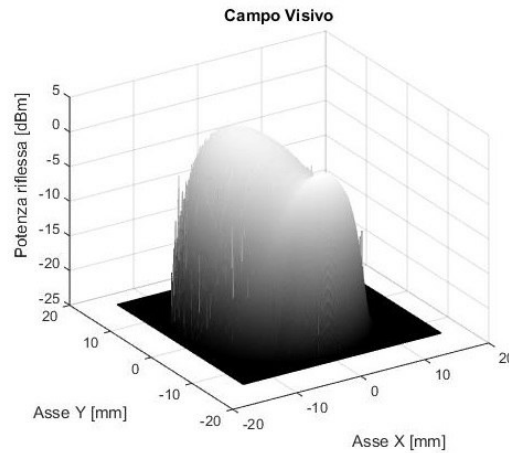


FIGURA 6.1.2. Potenza retrodiffusa

6.2. Misura risoluzione assiale e risoluzione trasversale

Dai risultati ottenuti durante la caratterizzazione della sorgente luminosa, è possibile calcolare la risoluzione assiale che il sistema OCT realizzato è in grado di offrire; in particolare, sostituendo nell'equazione (1.5.3) i valori misurati di lunghezza d'onda e larghezza di banda, la risoluzione assiale in aria risulta essere pari a circa:

$$\Delta z \simeq 5.61 \mu\text{m}$$

Utilizzando lo schema riportato in Figura 5.6.2, è possibile eseguire anche la misura della risoluzione trasversale; nello specifico, il target viene posizionato sul piano focale e vengono effettuate varie acquisizioni dei modelli presenti su di esso. Analogamente al caso precedente del campo visivo, viene impiegato il metodo *en-face* per la sola coordinata $z = 0$ e viene esaminata la potenza retrodiffusa lungo le due direzioni x e y con passo di $0.008^\circ \cong 15 \mu\text{m}$ tra un punto e il successivo.

La misura avviene in riflessione in quanto il target utilizzato presenta un rivestimento facciale cromato altamente riflettente, mentre i modelli sono vuoti e altamente trasmissivi; pertanto, attraverso una rappresentazione in scala di grigi, un valore di potenza retrodiffusa elevato corrisponde a una gradazione tendente al bianco e, viceversa, una bassa potenza tende al nero.

I principali risultati riguardanti la misura della risoluzione trasversale vengono di seguito descritti:

Figura 6.2.1. Viene riportato il target USAF 1951, sia nella versione completa che uno zoom della parte centrale del medesimo. Da questo ingrandimento è possibile distinguere senza incertezze le linee appartenenti al gruppo 4; in particolare, si considerano gli elementi 5 e 6, ai quali, tramite la formula (5.3.1), corrisponde una risoluzione trasversale di circa:

$$(5) \rightarrow \text{Risoluzione} \simeq 25.39 \text{ lp/mm} \implies \Delta x \simeq 19.7 \mu\text{m}$$

$$(6) \rightarrow \text{Risoluzione} \simeq 28.5 \text{ lp/mm} \implies \Delta x \simeq 17.5 \mu\text{m}$$

Figura 6.2.2. Vengono raffigurate le righe di Ronchi, da cui è possibile dedurre che, in riferimento a questo modello, il valore di risoluzione ottenibile con il sistema di scanning risulta essere uguale a:

$$\text{Risoluzione} \simeq 30 \text{ lp/mm} \implies \Delta x \simeq 16.7 \mu\text{m}$$

Figura 6.2.3. Viene rappresentato il settore a stella, dal quale è possibile distinguere senza incertezze le linee appartenenti alle circonferenze fino ad un raggio di $250\ \mu\text{m}$ e, pertanto, per mezzo dell'equazione (5.3.2) la risoluzione trasversale vale circa:

$$\Delta x \simeq 17.4\ \mu\text{m}$$

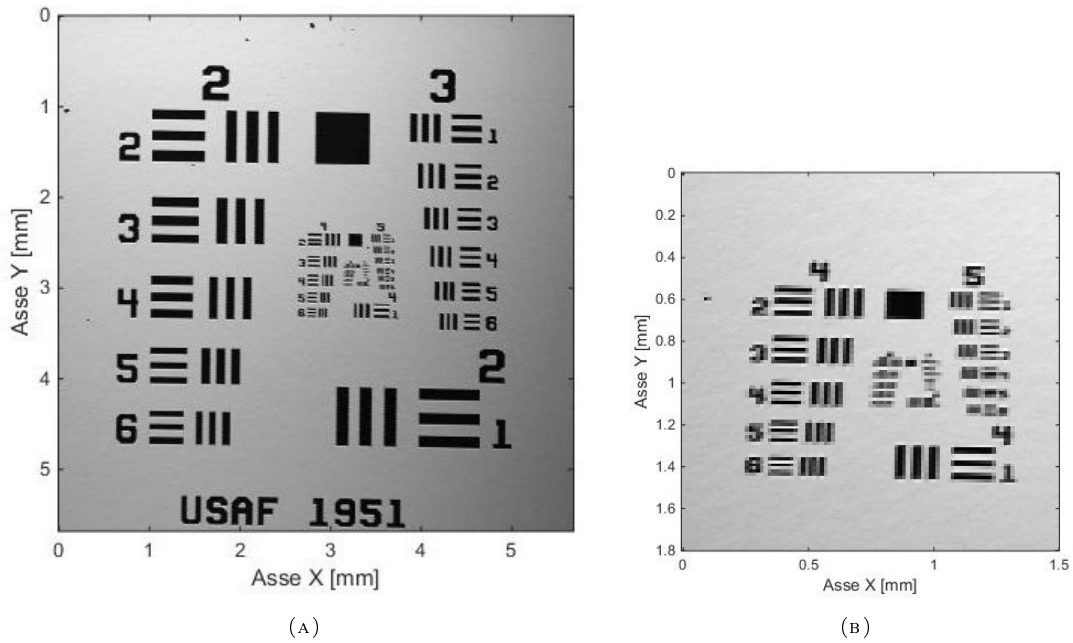


FIGURA 6.2.1. Target 1951 USAF

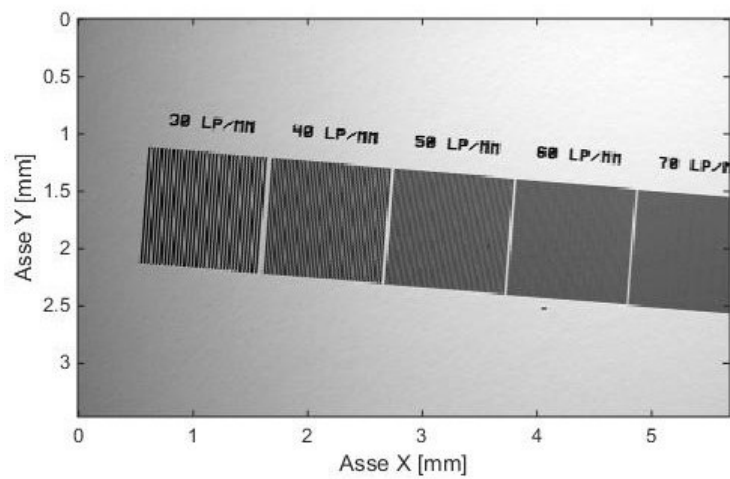


FIGURA 6.2.2. Ronchi Rulings

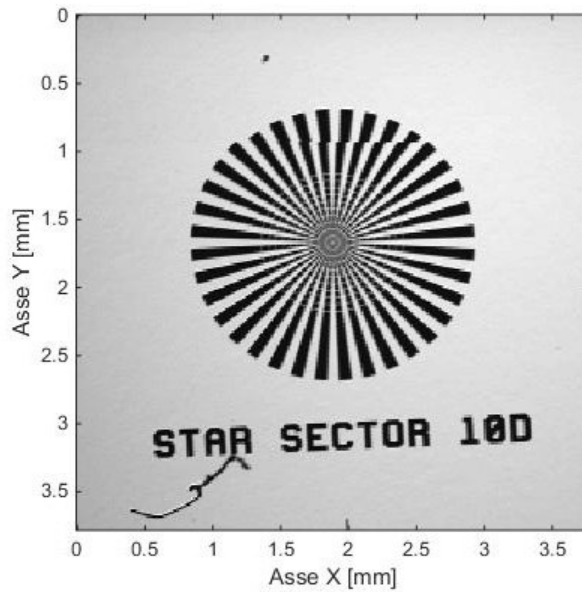


FIGURA 6.2.3. Star Sector

Questi valori di risoluzione trasversale sperimentale risultano essere inferiori rispetto a quello teorico poichè gli specchi introducono distorsione ed allargamento del diametro del fascio luminoso durante la sua deviazione sull'intero piano focale; inoltre, allargando tale dimensione del raggio, la profondità di campo diminuisce e ciò implica che, dopo uno spessore di soli $b \simeq 0.399$ mm fuori dal piano focale, la risoluzione peggiora.

Di conseguenza, considerando i dati forniti dai vari modelli, la risoluzione trasversale misurata risulta essere circa:

$$\Delta x \simeq 17.8 \mu\text{m}$$

Questo implica che il parametro confocale assuma un valore pari a:

$$b \simeq 0.382 \text{ mm}$$

Sfruttando le acquisizioni dei vari modelli presenti sul target, è possibile eseguire ulteriori verifiche riguardanti le analisi di campioni posizionati fuori dal piano focale o vicino ai bordi del campo visivo.

Nel dettaglio, la profondità di campo indica l'intervallo spaziale entro il quale la risoluzione non subisce grosse alterazioni; di conseguenza, fintantochè la struttura da esaminare si trova ad una distanza dalla lente prossima alla lunghezza focale, il sistema è in grado di garantire buone prestazioni in termini di risoluzione trasversale. Al contrario, se il campione è molto distante (o troppo vicino) rispetto la lente di Scan, il dispositivo non riesce ad effettuare la messa a fuoco del test.

In Figura 6.2.4 vengono riportate due acquisizioni del target fuori fuoco; in particolare, in Figura 6.2.4(A) vengono presi in considerazione il settore a stella e i cerchi concentrici posizionati a 1 cm di distanza dal piano focale, mentre in Figura 6.2.4(B) vengono riportati il settore a stella e una porzione del target USAF 1951 posti a 1 mm di distanza dallo stesso. Da tali Figure è possibile notare che, nel caso (A), la lente non è in grado di mettere a fuoco i modelli e, di conseguenza, la risoluzione è impossibile da determinare; invece, nel caso (B), i modelli sono ancora distinguibili e, pertanto, il sistema è in grado di offrire una risoluzione trasversale di circa:

$$\Delta x \simeq 26.1 \mu\text{m}$$

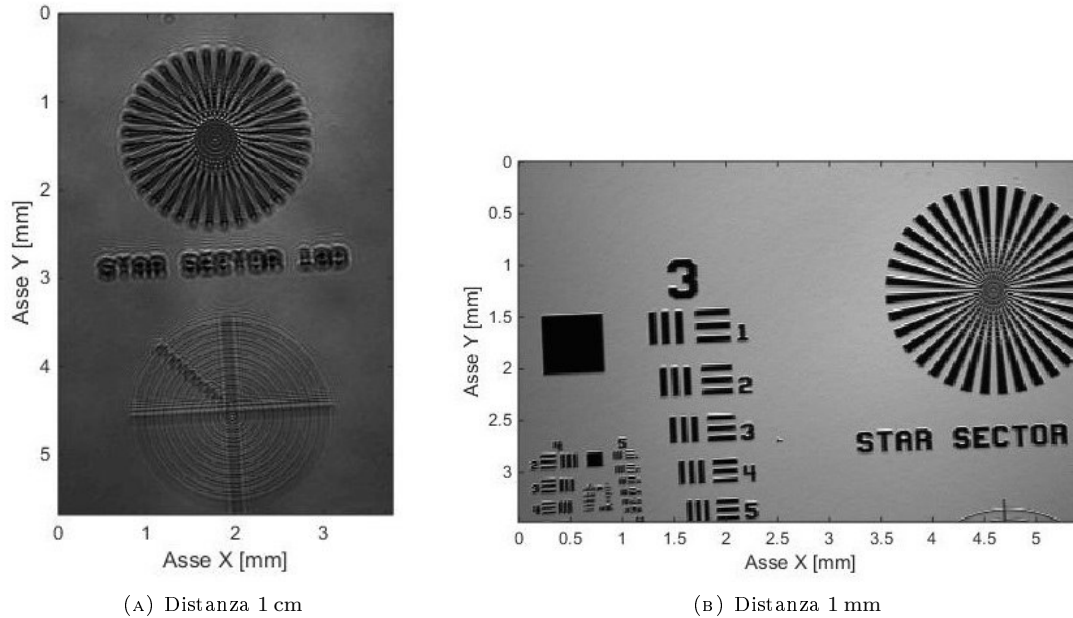


FIGURA 6.2.4. Acquisizione fuori fuoco

Un risultato interessante ricavabile da questi studi sui modelli fuori fuoco è che la potenza riflessa risulta essere inferiore rispetto a quella misurata nel caso di target giacente sul piano focale; nello specifico, essa risulta essere attenuata di $3 \div 4$ dB nel caso 1 mm di distanza e circa 20 dB per 1 cm di distanza (misure in aria).

Come descritto precedentemente, la lente e gli specchi possono introdurre delle aberrazioni che comportano una attenuazione e una lieve distorsione del campo visivo (soprattutto lungo il contorno). Questi effetti sono ben visibili in Figura 6.2.5, dalla quale è possibile notare che la potenza riflessa subisce un forte calo quando la radiazione si allontana dal centro del campo visivo nominale.

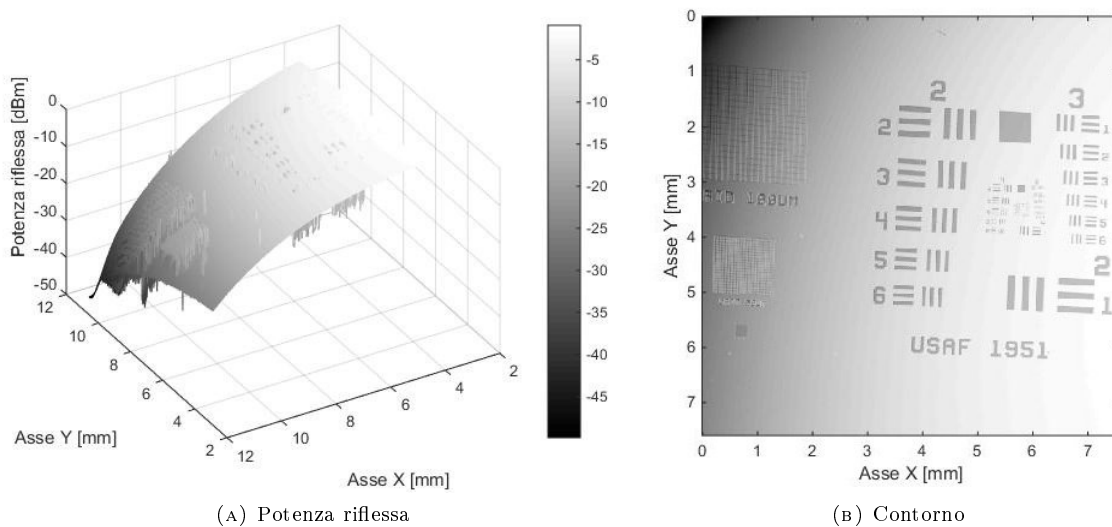


FIGURA 6.2.5. Acquisizione contorno campo visivo

In aggiunta, come è possibile osservare dai risultati riportati in Figura 6.2.6, le linee non sono perfettamente parallele ma presentano una divergenza di circa 0.97° lungo l'asse X e 0.41° lungo l'asse Y e ciò deriva dal fatto che esse subiscono delle leggere deviazioni durante l'acquisizione dovute ai componenti ottici utilizzati. Per mezzo di questa misura e di algoritmi sviluppati appositamente, vi è inoltre la possibilità di ridurre ed eliminare questo problema (lo sviluppo di tali algoritmi esula da questo lavoro di tesi).

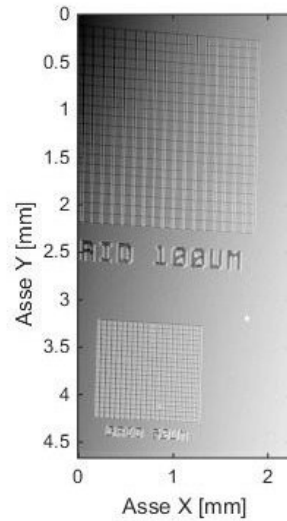


FIGURA 6.2.6. Distorsione contorno campo visivo

A causa di alcuni inconvenienti strutturali del sistema galvanometrico, i dati raccolti risultano essere affetti da piccoli errori in quanto non vengono rispettate le richieste di perfetto allineamento ottico tra i vari componenti. Questo effetto, soprattutto riguardante la corretta distanza focale, è visibile tramite l'acquisizione dei cerchi concentrici riportati in Figura 6.2.7, dalle cui linee verticale ed orizzontale è possibile notare che esse risultano essere non nitide, ma presentano una lieve distorsione. Ciò viene causato dall'impossibilità della perfetta messa a fuoco del sistema di scanning, il quale tuttavia è in grado di eseguire acquisizioni con risoluzione accettabile.

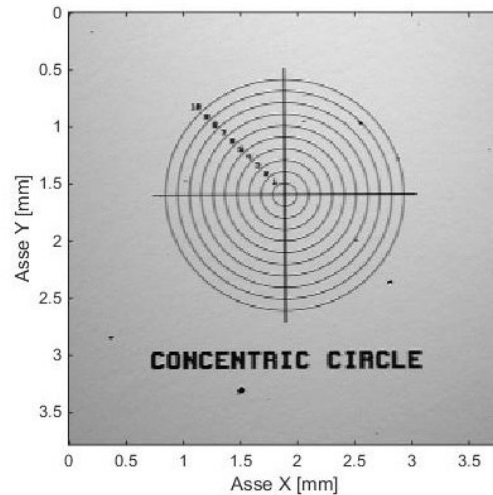


FIGURA 6.2.7. Concentric Circle

Conclusioni

La Tomografia a Coerenza Ottica attira l'attenzione di ingegneri e scienziati che operano nel campo della fotonica in quanto rappresenta una potente tecnologia di imaging sviluppata nelle ricerche biomedicali. Inoltre, essa permette una visualizzazione locale di strutture e patologie senza la necessità di entrare a contatto con il campione da analizzare (come avviene nella biopsia e nella istopatologia classica), oppure permette di visualizzare la morfologia del campione sotto esame in tempo reale sotto la guida di un utente esterno.

La tecnica OCT è in grado di creare immagini dibimensionali e tridimensionali ad alta risoluzione con vantaggi in campo economico, scientifico-tecnologico e medicale. Ad esempio, le applicazioni hanno un importante impatto clinico in vari campi quali l'oftalmologia, la diagnosi di patologie retinali e la cardiologia intravascolare.

Le misure eseguite con questi sistemi devono essere affidabili, precise e confrontabili con le informazioni cliniche note in modo tale da poter formulare delle diagnosi corrette. Di conseguenza, la qualità dei componenti con cui viene progettato un Tomografo a Coerenza Ottica risulta essere di fondamentale importanza in quanto hanno una significativa influenza sulle prestazioni del sistema stesso. In aggiunta, al fine di eliminare gli artefatti introducibili attraverso le parti in movimento, si rende necessario realizzare sistemi di scanning ad alta velocità e, nel caso in cui la tecnica venisse utilizzata per la guida in tempo reale in interventi chirurgici, l'elaborazione e la visualizzazione dei dati devono possedere alta efficienza e prestazioni elevate.

Questo lavoro di tesi può rappresentare una valida base per il proseguimento della realizzazione di un Tomografo a Coerenza Ottica in quanto il setup progettato risulta essere adatto all'analisi spettrale di campioni biologici. In particolare, vi sono alcune fasi cruciali da tenere in considerazione al fine di ottenere uno studio corretto tramite la tecnica OCT come, ad esempio, il posizionamento dei motori e degli specchi, la velocità di spazzolamento del Laser e quella di acquisizione, oppure le prestazioni del sistema in termini di risoluzione e campo visivo.

In Figura 7.0.1 viene riportato il tomografo realizzato e testato in laboratorio.

Dalla caratterizzazione del sistema galvanometrico è possibile evidenziare che il dispositivo progettato può essere in grado di indirizzare il fascio luminoso con una precisione elevata sulla superficie del campione da esaminare (entro il campo visivo della lente di Scan).

Le misure eseguite sulla sorgente luminosa portano ad affermare che il tomografo può essere in grado di operare con una lunghezza d'onda variabile realizzando in tal modo la tecnica SS-OCT ad alta velocità.

Infine, dalle prove effettuate con il sistema completo è possibile evincere che il dispositivo sviluppato può essere in grado di produrre immagini ad alta risoluzione soprattutto di campioni posizionati sul piano focale della lente di Scan, da cui è possibile ricavare informazioni sulla struttura interna degli stessi.

Tuttavia, la strumentazione utilizzata per ricavare i dati fin qui esposti non è ottimizzata per le applicazioni ad alta velocità e, pertanto, con il presente lavoro si propone di dare delle indicazioni sulla realizzazione di un Tomografo a Coerenza Ottica ad alta velocità. Sviluppi futuri prevedono l'ottimizzazione del setup sperimentale per l'implementazione di un vero sistema OCT in grado di acquisire dati su campioni biologici reali.

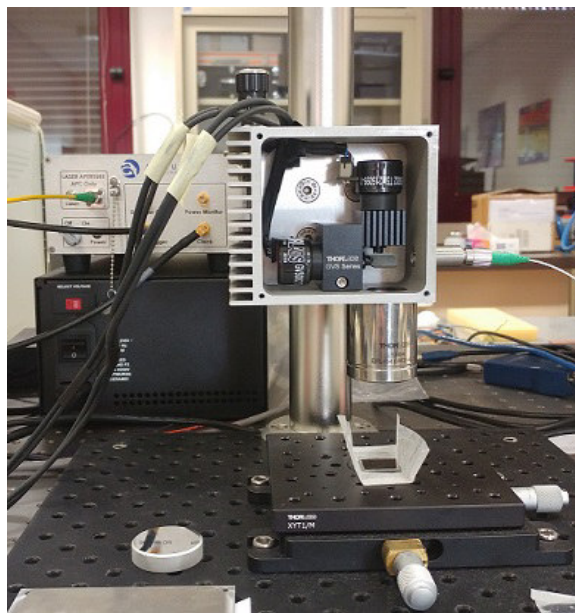


FIGURA 7.0.1. Tomografo a Coerenza Ottica realizzato in laboratorio

Lo sviluppo futuro della tecnica OCT è ancora un tema aperto e delicato e spinto soprattutto da fattori quali:

- Economico: il campo della medicina richiede sistemi con elevate prestazioni e costi non elevati;
- Tecnologico: i sistemi devono essere multimediali, automatizzati ed integrabili con altri strumenti.

In aggiunta, oltre alla necessità di utilizzare sistemi di misura composti da un'elettronica veloce, affidabile ed economica, un altro punto da tenere in considerazione nello sviluppo dei sistemi futuri riguarda la parte software in quanto si rende necessario impiegare algoritmi efficienti in grado di gestire una grossa mole di dati e di visualizzare immagini tridimensionali, anche di ampie porzioni del campione, in un tempo estremamente piccolo eliminando tutti i possibili artefatti e distorsioni.

Bibliografia

- [1] Aum, Jaehong, Kim J., Jeong J. 2015. *Live Acquisition of Internal Fingerprint With Automated Detection of Subsurface Layers Using OCT*. Korea University: Department of Computer and Radio Communication Engineering. [disponibile all'indirizzo <http://ieeexplore.ieee.org>]
- [2] Axsun Technologies, Inc. 2014. *Axsun OCT Swept Source Engine. Operators' Manual*. United State of America: Axsun Technologies, Inc. [testo disponibile in Laboratorio di Fotonica (UNIPD)]
- [3] Badini, Federico, Bodini Stefano. 2014. *Analisi dei codici matlab presentati nel corso del semestre. Segnali per le Telecomunicazioni*. Italia: Politecnico di Milano [disponibile all'indirizzo <http://home.deib.polimi.it/prati/PwPoint/analisiMatlab.pdf>]
- [4] Barbieri, Davide. 2005. *Seminari Operativi sull'Analisi di Serie Temporali*. Italia: Università di Bologna [disponibile all'indirizzo <http://www.dm.unibo.it/~barbier/files/sem05.pdf>]
- [5] Beardo, Matteo. 2013. *Dispense di Comunicazioni Elettriche*. Italia: Politecnico di Torino [disponibile all'indirizzo http://www.tlc.polito.it/~gaudino/com_elt/dispense_matteo_beardo/2013_Dispense_Comunicazioni_Elettriche_Matteo_Beardo.pdf]
- [6] Bernardello, Matteo. 2013. *Sviluppo sperimentale di un tomografo a coerenza ottica*. Italia: Università degli Studi di Padova [disponibile all'indirizzo http://tesi.cab.unipd.it/44267/1/Sviluppo_sperimentale_di_un_tomografo_a_coerenza_optica.pdf]
- [7] Braaf, Boy, Vermeer K. A., de Groot M., Vienola K. V., de Boer J. F. 2014. *Fiber-based polarization-sensitive OCT of the human retina with correction of system polarization distortions*. Optical Society of America [disponibile all'indirizzo <https://www.osapublishing.org/boe/home.cfm>]
- [8] Cheuk, Ming L., Anderson A. J., Han J., Lippok N., Vanholsbeeck F., Ruddy B. P., Loiselle D. S., Nielsen P. M. F., Taberner A. J. 2016. *4D imaging of cardiac trabeculae contracting in vitro using gated OCT*. New Zealand [disponibile all'indirizzo <http://ieeexplore.ieee.org>]
- [9] Choma, Michael A., Hsu K., Izatt J. A. 2005. *Swept source optical coherence tomography using an all-fiber 1300-nm ring laser source*. Journal of Biomedical Optics [disponibile all'indirizzo <http://www.micronoptics.com/wp-content/uploads/2016/07/SSOCT1300.pdf>]
- [10] D'Elia, Gianluca. 2011. *Tecniche di Analisi del Segnale: Implementazione in ambiente MATLAB*. Italia: Università degli Studi di Ferrara [disponibile all'indirizzo http://m.docente.unife.it/dleglc/a-a-2010-2011-dmsm/notes_on_signal_process_in_mat.pdf]
- [11] de Freitas, Anderson Zanardi, Amaral M. M., Raelen M. P. 2010. *Optical Coherence Tomography: Development and Applications*. Brazil: Nuclear and Energy Research Institute [disponibile all'indirizzo <https://www.ipen.br/biblioteca/2010/17331.pdf>]

- [12] Discovery Semiconductors, Inc. 2012. *Datasheet: LAB BUDDY DSC50 - High Optical Power Handling Photodiodes to 20 GHz*. New York (USA): Discovery Semiconductors, Inc. [testo disponibile in Laboratorio di Fotonica (UNIPD)]
- [13] Discovery Semiconductors, Inc. 2008. *User Manual: LAB BUDDY DSC720 - Balanced Photodiodes to 20GHz Bandwidth*. New York (USA): Discovery Semiconductors, Inc. [testo disponibile in Laboratorio di Fotonica (UNIPD)]
- [14] Drexler, Wolfgang, Fujimoto James G. 2015. *Optical Coherence Tomography. Technology and Applications. (Second Edition - Volume 1-2-3)* Switzerland: Springer International [testo disponibile in Biblioteca del Dipartimento DEI (UNIPD)]
- [15] Duan, Can, Zhang X., Wang D., Zhou Z., Liang P., Pozzi A., Xie H. 2014. *An endoscopic forward-viewing OCT imaging probe based on two-axis scanning mems mirror*. United State of America: Univeristy of Florida [disponibile all'indirizzo <http://ieeexplore.ieee.org>]
- [16] Dukre, Jagdish. 2014. *Slides on Principles of optical coherence tomography*. Health & Medicine [disponibile all'indirizzo <http://www.slideshare.net/JagdishDukre/principles-of-optical-coherence-tomography>]
- [17] Ferruccio, Fazio, Valli Guido. 1999. *Tecnologie e metodologie per le immagini funzionali*. Bologna: Pàtron Editore [testo disponibile in Biblioteca del Dipartimento DEI (UNIPD)]
- [18] Ficco, Giuseppe. 2014. *Misura della larghezza di riga di un laser a cascata quantica tramite interferometria ad auto-miscelazione*. Italia: Università degli Studi di Bari "Aldo Moro" [disponibile all'indirizzo <http://cdlfbari.cloud.ba.infn.it/wp-content/uploads/file-manager/CIF/Magistrale/Tesi%20di%20laurea/13-14-FICCO%20Giuseppe.pdf>]
- [19] Fondazione A. De Gasperis. *OCT: Optical Coherence Tomography*. Milano (Italia): Fondazione centro cardiologia e cardiocirurgia A. De Gasperis [disponibile all'indirizzo http://www.degasperis.it/download/BrochureOCT_FondazioneDeGasperis.pdf]
- [20] Fujimoto, James G., Pitris C., Boppart S. A., Brezinski M. E. 2000. *Optical Coherence Tomography: An emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy*. Nature America, Inc. [disponibile all'indirizzo <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1531864/>]
- [21] Giovannini, Filippo. 2012. *Tomografia a Coerenza Ottica: principi di funzionamento, studio della tecnologia ed applicazioni nel settore clinico*. Italia: Università di Bologna [disponibile all'indirizzo http://amslaurea.unibo.it/4307/1/TESI_PDF.pdf]
- [22] Halvorsen, Hans-Petter. 2016. *Data Acquisition in MATLAB*. Norvegia: University College of Southeast Norway [disponibile all'indirizzo <http://home.hit.no/~hansha/documents/matlab/training/Data%20Acquisition%20in%20MATLAB/Data%20Acquisition%20in%20MATLAB.pdf>]
- [23] Lemo Connectors. 2010. *Unipole & Multipole Connectors Catalog*. Switzerland: Lemo SA [disponibile all'indirizzo https://www.lemo.com/catalog/ROW/UK_English/unipole_multipole.pdf#page=12]
- [24] Martellucci, S., Chester A. N. 1985. *Laser Photobiology and Photomedicine*. New York (USA): Plenum Press [testo disponibile in Biblioteca del Dipartimento DEI (UNIPD)]
- [25] Martinelli, Mario. 2007. *Appunti di Comunicazioni Ottiche*. Italia: Politecnico di Milano [disponibile all'indirizzo <Data%20Acquisition%20in%20MATLAB/Data%20Acquisition%20in%20MATLAB.pdf>]

- [26] Mataloni, Paolo. 2011. *Esperienza n. 1: Interferometro di Michelson. Laboratorio di ottica ed elettromagnetismo*. Italia: Università degli Studi di Roma "La Sapienza" [disponibile all'indirizzo http://server2.phys.uniroma1.it/doc/mataloni/Materiale/ESPERIENZAN_1.pdf]
- [27] Mazzoldi, Paolo, Nigro M., Voci C. 2008. *Elementi di fisica. Vol. 2: Elettromagnetismo e onde*. Napoli: EdiSES srl [testo posseduto dal laureando]
- [28] National Instruments, Co. 2009. *User Manual: DAQ M Series NI USB-621x*. [disponibile all'indirizzo <http://www.ni.com/pdf/manuals/371931f.pdf>]
- [29] Paone S., Corio M., Ferroni E., Chiarolla E., Jefferson T., Cerbo M. 2010. *Tomografia a Coerenza Ottica (OCT) per lo studio della microstruttura delle placche aterosclerotiche vulnerabili*. Roma (Italia): Age.na.s. - Agenzia nazionale per i servizi sanitari regionali [disponibile all'indirizzo http://www.salute.gov.it/imgs/c_17_paginearee_1394_listafila_itemname_7_file.pdf]
- [30] Premachandran, C. S., Khairyanto A., Sheng K. C. W., Singh J., Teo J., Yingshun X., Nanguang C., Sheppard C., Olivo M. 2009. *Design, Fabrication, and Assembly of an Optical Biosensor Probe Package for OCT (Optical Coherence Tomography) Application*. Singapore [disponibile all'indirizzo <http://ieeexplore.ieee.org>]
- [31] Rawat, Chandan Singh, Gaikwad V. S. 2014. *Signal Analysis and Image Simulation for Optical Coherence Tomography (OCT) Systems*. India: Mumbai [disponibile all'indirizzo <http://ieeexplore.ieee.org>]
- [32] Rorro, M., Sagona M. 2006. *Laboratorio di Visualizzazione. Grafica in MATLAB*. Italia: Università degli Studi di Roma "La Sapienza" [disponibile all'indirizzo <http://www.mat.uniroma1.it/sites/default/import-files/centro-calcolo/manuali/RorroSagona-matlab.pdf>]
- [33] Sarunic, Marinko V. 2010. *Slides prof. Glenn H. Chapman: Fourier Domain Optical Coherence Tomography (FD OCT)*. Canada: School of Engineering Science "Simon Fraser" University [disponibile all'indirizzo <http://www2.ensc.sfu.ca/~glennc/e376/e376115a.pdf>]
- [34] Schmitt, Joseph M. 1999. *Optical Coherence Tomography (OCT): A Review*. Hong Kong: University of Science and Technology [disponibile all'indirizzo <http://ieeexplore.ieee.org>]
- [35] Silva, Susana F., Domingues J. P., Agnelo J., Oliveira J., Morgado M., Bernardes R. 2013. *Development of an Optical Coherence Tomograph (OCT) for Small Animal Retinal Imaging*. Portugal: University of Coimbra [disponibile all'indirizzo <http://ieeexplore.ieee.org>]
- [36] Suter, Melissa Jane, Tearney G. J., Oh W., Bouma B. E. 2010. *Progress in Intracoronary Optical Coherence Tomography*. Boston (USA): National Institutes of Health [disponibile all'indirizzo <http://ieeexplore.ieee.org>]
- [37] The Mathworks, Inc. 2016. *Acquire Continuous and Background Data Using NI Devices*. [disponibile all'indirizzo <https://it.mathworks.com/help/daq/examples/acquire-continuous-and-background-data-using-ni-devices.html>]
- [38] The Mathworks, Inc. 2016. *Acquire Data Using NI Devices*. [disponibile all'indirizzo <https://it.mathworks.com/help/daq/examples/acquire-data-using-ni-devices.html>]
- [39] The Mathworks, Inc. 2016. *Control Stepper Motor using Digital Outputs*. [disponibile all'indirizzo <http://it.mathworks.com/help/daq/control-stepper-motor-using-digital-outputs.html>]

- [40] The Mathworks, Inc. 2016. *Generate Continuous and Background Signals Using NI Devices*. [disponibile all'indirizzo <https://it.mathworks.com/help/daq/examples/generate-continuous-and-background-signals-using-ni-devices.html>]
- [41] The Mathworks, Inc. 2016. *Start a Multi-Trigger Acquisition on an External Event*. [disponibile all'indirizzo <https://it.mathworks.com/help/daq/examples/start-a-multi-trigger-acquisition-on-an-external-event.html>]
- [42] Thorlabs. 2009. *Datasheet AutoCAD: F280APC-C - 1310nm, f=18.67mm, NA=0.15, FC/APC Fiber Collimation*. [disponibile all'indirizzo <https://www.thorlabs.com/drawings/56c4069e6e0ef33-4282AAC-5056-0103-79C3E9EE4D84A178/F280APC-C-AutoCADPDF.pdf>]
- [43] Thorlabs. 2009. *Datasheet AutoCAD: GVS002 - 2D Galvo System, Silver-Coated Mirrors*. [disponibile all'indirizzo <https://www.thorlabs.com/drawings/56c4069e6e0ef33-4282AAC-5056-0103-79C3E9EE4D84A178/GVS002-AutoCADPDF.pdf>]
- [44] Thorlabs. 2007. *Datasheet AutoCAD: LSM04- Scan Lens, 1250 to 1380 nm, EFL=54mm*. [disponibile all'indirizzo <https://www.thorlabs.com/drawings/56c4069e6e0ef33-4282AAC-5056-0103-79C3E9EE4D84A178/LSM04-AutoCADPDF.pdf>]
- [45] Thorlabs. 2009. *Specifiche Tecniche: FC/APC Fiber Collimation*. [disponibile all'indirizzo https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup_id=1696&pn=F280APC-C#5982]
- [46] Thorlabs. 2007. *Specifiche Tecniche: Scan Lenses for Laser Scanning Microscopy*. [disponibile all'indirizzo https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup_id=2910]
- [47] Thorlabs. 2016. *User Guide: Scanning Galvo Systems*. [disponibile all'indirizzo <https://www.thorlabs.com/drawings/56c4069e6e0ef33-4282AAC-5056-0103-79C3E9EE4D84A178/GVS002-Manual.pdf>]
- [48] Trentin, Sara. 2013. *OCT per studi su Zebrafish: risultati preliminari*. Italia: Università degli Studi di Padova [disponibile all'indirizzo http://fair.dei.unipd.it/wp-content/uploads/2015/07/Trentin_Sara_626142.pdf]
- [49] Tsai, Tsung-Han, Zhoua C., Adlera D., Fujimoto J. G. 2010. *Frequency Comb Swept Lasers for Optical Coherence Tomography*. Cambridge (USA): Massachusetts Institute of Technology [scaricabile all'indirizzo <http://dspace.mit.edu/handle/1721.1/58570>]
- [50] Wanderlingh, Ulderico. 2005. *Coerenza ed Interferenza*. Italia: Università degli Studi di Messina [disponibile all'indirizzo http://ww2.unime.it/wonderlink/Site_docs/Fisica-magis_files/Coerenza.pdf]
- [51] Yun, S. H., Tearney G. J., de Boer J. F., Iftimia N., Bouma B. E. 2003. *High-speed optical frequency-domain imaging*. Boston (USA): Massachusetts General Hospital [scaricabile all'indirizzo <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-11-22-2953>]