بیستمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران
و ششمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران
۸ تا ۱۰ بهمن ماه۱۳۹۲ - دانشگاه صنعتی شیراز

بهبود دقت زمانی روش درجه‌بندی تصویر-پایه انبرک‌نوری

لیلا آزادی[۱] و سیدنادر سیدریحانی[۲]

[۱] گروه فیزیک، دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم‌پایه، جاده گاوازنگ، زنجان

[۲] دانشکده فیزیک، دانشگاه صنعتی شریف، تهران

چکیده - انبرک‌نوری ابزاری مفید جهت تله‌اندازی ذراتی در مقیاس نانومتر تا میکرومتر است. این وسیله می‌تواند نیروهایی از مرتبه‌ی فمتونیوتون تا نانونیوتون به ذره‌ی به تله افتاده وارد کند. برای استفاده از انبرک‌نوری باید آن را قبل از استفاده درجه‌بندی کرد. آشکارسازی با فوتودیود، معمول‌ترین روش درجه‌بندی است، پاسخ غیرخطی آشکارساز برای جابجایی‌های بزرگ ذره درون تله مشکل اصلی این روش است. روش ویدئومیکروسکوپی یک روش دیگر درجه‌بندی است که در آن از تصویر ذره‌ی به تله افتاده برای درجه‌بندی استفاده می‌شود. مشکل اصلی این روش، محدودیت تفکیک‌زمانی دوربین مورد استفاده برای تصویربرداری است. در این مقاله، نشان داده شده است که ثبت فقط نوار باریکی از تصویر ذره توسط دوربین سریع می‌تواند تا حدود قابل توجهی به این مسئله فائق آید.

کلید واژه- انبرک‌نوری، درجه‌بندی، دوربین‌سریع، فوتودیود، ویدئومیکروسکوپی.

Improving temporal resolution of image-based calibration of Optical Tweezers

Leila Azadi[1], Seyed Nader Seyed Reihani[2]

[1] Department of Physics, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences, Zanjan

[2] Department of Physics, Sharif University of Technology, Tehran

Abstract- Optical Tweezers are useful tools for trapping particles with sizes from nanometer to micrometer. This tool can exert forces in the range of femto to nano Newtons to the trapped object. Optical Tweezers have to be calibrated prior to use. Photo-diode detection scheme is the most common calibration method of optical tweezers. This method suffers from nonlinear response for large displacements of the trapped bead. Video-Microscopy is known as another calibration method in which the image of the trapped particle is used for calibration. The main disadvantage of the current method is the limited temporal resolution of the recording camera. In this paper it is shown that recording only a narrow strip of the particle's image recorded by a fast camera could significantly overcome this limitation of the current calibration method.

Keywords: Optical Tweezers, Calibration, high speed Camera, Photo-Diode, Video-Microscopy

[Downloaded from opsi.ir on 2024-04-25]

۱. مقدمه

آرتور اشکین در سال ۱۹۷۰ در مقاله‌ای با عنوان شتاب و به دام انداختن ذرات به وسیله‌ی فشارتابشی، نشان داد که تکانه‌ی فوتون می‌تواند به ذرات منتقل شود، و با انتقال تکانه یا فشارتابشی می‌توان ذرات را به دام انداخت[۱]. امروزه تله‌اندازی ذرات توسط انبرک‌نوری انجام می‌گیرد. انبرک‌نوری، باریکه‌ی لیزر با نمایه‌ی گاوسی TEM_{00} است که توسط یک عدسی شیئی کانونی می‌شود. انتقال تکانه به ذره در دو جهت محوری و عمود بر راستای محور اتفاق می‌افتد، که منجر به وارد شدن دو نوع نیرو به ذره می‌شود که به ترتیب به نیروی پراکندگی و نیروی گرادیانی شهرت پیدا کرده‌اند. نیروی تله کاملا شبیه به نیروی فنر است و رابطه‌ی حاکم بر آن طبق قانون هوک برابر است با:

$$F = -Kx \qquad (۱)$$

که در آن x موقعیت ذره نسبت به محل تعادل $(x=0)$ و K سختی تله است[۲].

۲. ابزار آشکارسازی در انبرک‌نوری

اندازه‌گیری دقیق مکان ذرات در انبرک‌نوری نیازمند ابزار آشکارسازی مکان است که عبارتند از:

۲-۱ آشکارسازی با فوتودیود چهارتایی

پرکاربردترین ابزار آشکارسازی در انبرک‌نوری فوتودیود است. فوتودیود چهارتایی، چهار کاتد است که روی یک آند سوار شده است. نور عبوری از ذره پس از جمع شدن توسط چگالنده به فوتودیود می‌رسد. بعد از برخورد نور به فوتودیود، هریک از چهار قسمت به طور مجزا، یک جریان الکتریکی تولید می‌کنند. با جابه‌جایی ذره درون تله، توزیع شدت بر روی چهار قسمت تغییر می‌کند. با ثبت تغییرات ولتاژ مربوط به تغییرات توزیع شدت می‌توان جابه‌جایی ذره درون تله را آشکارسازی کرد[۳][۴].

۲-۲ آشکارسازی به روش ویدئومیکروسکوپی

در این روش آشکارسازی با قرار دادن یک دوربین در درگاه دوربین میکروسکوپ، و با استفاده از یک عدسی شیئی تصویر ذره‌ی درون تله ثبت می‌شود. در این روش با آنالیز تصاویر گرفته شده می‌توان به موقعیت ذره درون تله دسترسی داشت.

۳. درجه‌بندی انبرک‌نوری

هر اندازه‌گیری در فیزیک نیاز به ابزار اندازه‌گیری دارد و هر ابزار اندازه‌گیری نیز نیازمند درجه‌بندی است. معنی و مفهوم درجه‌بندی انبرک‌نوری چیزی جز به دست‌آوردن سختی تله نیست، با به دست آوردن سختی تله به راحتی می توان به اندازه‌ی نیروی تله دسترسی داشت.

۳-۱ درجه‌بندی به روش طیف توانی

درجه‌بندی به کار رفته در این مقاله، درجه‌بندی به روش طیف توانی می‌باشد. نیروی اعمال شده بر یک ذره‌ی در انبرک‌نوری، با برازش یک نمودار لورنتس بر روی نمودار طیف‌توانی مکان ذره درون تله به دست می‌آید[۵].

نظریه‌ی افت و خیز

طبق این نظریه نیروی اعمالی بر یک ذره درون تله با رابطه‌ی زیر به دست می‌آید:

$$m\ddot{x} = -\gamma\dot{x} - Kx + \eta(x,t) \qquad (۲)$$

در این معادله که به معادله‌ی لانژون معروف است، $\gamma\dot{x}$ نیروی مقاومت سیال و γ ضریب مقاومت استوکس، Kx نیروی تله و $\eta(x,t)$ نیروی تصادفی است. روش حل این معادله در نظریه‌ی افت و خیز به این ترتیب است که ابتدا به فضای فوریه‌ی زمانی رفته و با حل معادله‌ی لانژون در فضای فوریه و سپس با به دست آوردن قدرمطلق جواب به طیف توانی (رابطه‌ی زیر) می‌رسیم.

$$P(f) = \frac{K_B T}{\gamma\pi^2 (f^2 + f_c^2)} \qquad (۳)$$

در این رابطه، $P(f)$ طیف توانی، K_B ثابت بولتزمن T دما و f_c فرکانس گوشه می‌باشد، با توجه به رابطه:

$$f_c = \frac{K}{2\pi\gamma} \qquad (۴)$$

در صورت دسترسی به فرکانس گوشه به K (سختی تله) نیز خواهیم رسید.

۴. دوربین سریع

مشکل اصلی فوتودیود باعث گزینش روش ویدئو میکروسکوپی در این مقاله، جهت آشکارسازی شده است.

[Downloaded from opsi.ir on 2024-04-25]

در روش ویدئو میکروسکوپی نیز، از دوربین‌سریع برای حل مشکل پایین بودن سرعت عکس‌برداری استفاده شده است. دوربین‌های سریع به علت اشغال حجم زیادی از حافظه‌ی کامپیوتر جهت ذخیره‌سازی داده‌ها، مناسب نیستند، مشخصات فیلم ثبت شده توسط دوربین‌سریع در جدول زیر (جدول۱) اثباتی بر این گفته است.

جدول ۱: مشخصات فیلم ثبت شده توسط دوربین سریع

آهنگ فریم	۷۱ فریم در یک ثانیه
اندازه‌ی هرفریم	۷۵۲×۴۸۰ پیکسل
حجم	۱ گیگابایت
مدت زمان فیلم	1 4 ثانیه

۴-۱ کاهش ناحیه‌ی تصویربرداری دوربین‌سریع

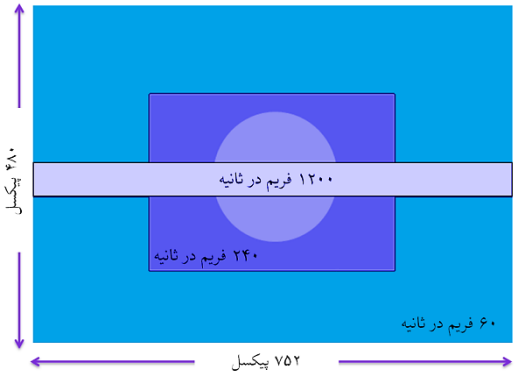
با وجود محدودیت‌های روش ویدئومیکروسکوپی، در این مقاله به دنبال راه حلی بوده و روش کاهش ناحیه‌ی تصویربرداری دوربین‌سریع را پیشنهاد کرده‌ایم. در این روش با کاهش دادن اندازه‌ی مربوط به هر فریم، طوری که فقط محدوده‌ای که ذره در آن وجود دارد قابل دید باشد(شکل ۱)، می‌توان هم شاهد کاهش حجم و هم افزایش نرخ فریم بود.

۵. مراحل آزمایش

۵-۱ چیدمان آزمایش

لیزر، نمونه‌ی مورد استفاده، میکروسکوپ

لیزر با طول موج ۱۰۶۴ نانومتر با نمایه‌ی گوسی TEM_{00} برای تله‌اندازی ذرات استفاده شده است.



شکل ۱: طرحواره‌ای از کاهش ناحیه‌ی تصویربرداری دوربین سریع

نمونه‌ی مورد استفاده میکروکره پلی‌استایرین با قطر۳/۰۹ میکرومتر در محلول آب بوده است و میکروسکوپ مورد استفاده در آزمایشگاه انبرک‌نوری ، میکروسکوپ وارون است.

فیلم‌برداری با کاهش ناحیه‌ی تصویربرداری دوربین

در این مرحله، ناحیه‌ی تصویربرداری دوربین سریع را توسط نرم‌افزار مربوطه کاهش دادیم. مشخصات فیلم ثبت شده بعد از کاهش ناحیه در جدول ۲ موجود است.

جدول ۲: مشخصات فیلم ثبت شده توسط دوربین سریع بعد از کاهش ناحیه‌ی تصویربرداری دوربین سریع.

آهنگ فریم	۲۳۴۰ فریم در ثانیه
اندازه‌ی هرفریم	۷۵۲×۱۰ پیکسل
حجم	۳۹۸ مگابایت
مدت زمان فیلم	۱۴ ثانیه

۵-۲ تحلیل داده‌ها

در این مقاله از نرم‌افزار MATLAB برای تحلیل داده‌ها استفاده شد، شرح برنامه دارای مراحل زیر است:

بارگذاری فیلم

چون حجم فیلم کاهش داده شد، بارگذاری سریع بوده و زمان زیادی را به خود اختصاص نداد.

پالایش تصویر

تبدیل فوریه، حذف فرکانس‌های بالا مربوط به ذرات کوچک (کثیفی‌های موجود در اتاقک نمونه)، و سپس تبدیل فوریه معکوس (شکل ۲). با این کار درواقع از فیلتر پایین‌گذر استفاده شده تا تصویری واضح داشته باشیم.

شکل ۲: از بالا، شکل اول: تصویر ذره درون تله، شکل دوم: تصویر ذره بعد از تبدیل فوریه معکوس.

دو مقداری کردن

در نرم‌افزار مورد استفاده، هر عکس یک ماتریس سه

[Downloaded from opsi.ir on 2024-04-25]

بعدی است و مفهوم دومقداری کردن عکس در این مرحله، صفر و یک کردن اعداد ماتریس مربوطه است. با این کار مرز بین ذره و محیط اطراف به خوبی قابل تشخیص خواهد بود(شکل ۳).

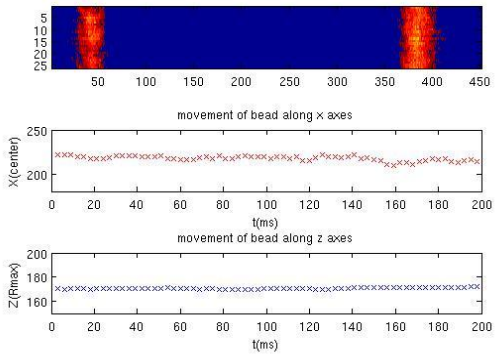
شکل ۳: تصویر ذره بعد از دومقداری کردن.

اندازه‌گیری شعاع و مرکز جرم ذره

با فراخوانی سطری ماتریس فریم اول تا نصف طول فریم، پیدا کردن شدت کمینه، میانگین‌گیری و تکرار همین کار برای نصف دیگر فریم، می توان فاصله‌ی دو شدت در سطر اول را پیدا کرد و با تکرار برای سطرهای بعدی و میانگین گیری می‌توان شعاع ذره و مرکز آن را پیدا کرد. با تغییر شعاع در فریم‌های بعدی سری زمانی تغییرات در راستای z و با تغییر مرکز جرم، سری زمانی مربوط به تغییرات در راستای x را به دست می‌آید (شکل ۴).

محاسبه‌ی سختی تله

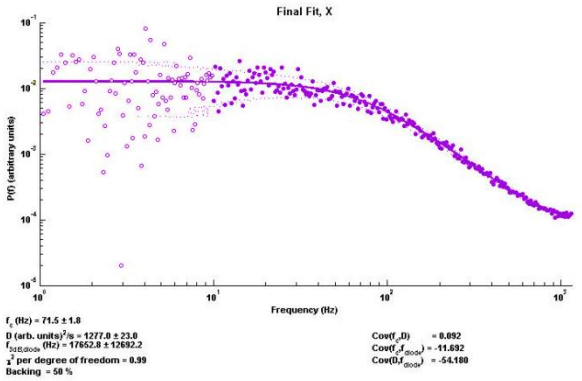
با اطلاعات مربوط به سری زمانی ثبت شده توانستیم به نمودار طیف توانی ذره برحسب فرکانس برسیم(شکل ۵)، با به دست آوردن فرکانس گوشه از روی نمودار و با توجه به رابطه‌ی (۴) توانستیم ضریب سختی تله را به دست آوریم.



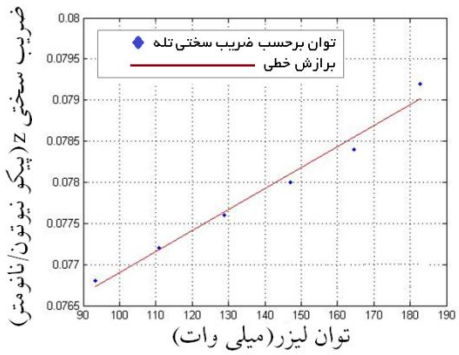
شکل ۴: سری‌زمانی مربوط به جابه‌جایی ذره درون تله

۶. مقایسه‌ی روش پیشنهادی با فوتودیود

برای مقایسه‌ی روش پیشنهادی خود با روش آشکارسازی فوتودیود، نمودار سختی‌تله بر حسب توان لیزر را رسم کردیم. این نمودار با روش فوتودیود چهارتایی خطی بوده است، لذا انتظار می‌رود با این روش آشکارسازی نیز به همان نمودار برسیم(شکل۶).



شکل ۵: نمودار طیف توانی بر حسب فرکانس مربوط به پلی استایرین با قطر ۳/۰۹ میکرومتر، در این آزمایش فرکانس گوشه ۷۱/۵ هرتز و ضریب سختی تله ۱۱ fN/nm به‌دست آمد.



شکل ۶: نمودار توان لیزر برحسب سختی تله مربوط به پلی استایرین با قطر ۳/۰۹ میکرومتر.

۷. نتیجه‌گیری

در این مقاله سعی شد با کاهش ناحیه‌ی تصویربرداری دوربین‌سریع، نرخ فریم را افزایش داده و موازی با آن حجم داده‌ها را نیز کاهش دهیم. با انجام این کار در واقع می‌توان شاهد به روی کار آمدن دوباره‌ی روش ویدئو میکروسکوپی در آشکارسازی انبرک نوری بود.

مراجع

[1] A.Ashkin, **Phys. Rev. Lett**, Volume24, Issue4 (1970).

[2] S. N. S. Reihani, H. R. Khalesifard, R. Golestanian, **Opt. Comm**. 259 204-211, (2006).

[3] F. Gittes, Ch. F. Schmidt: **Opt. Lett**. 231, (1998).

[۴] الهه،یگانگی دستگردی، سیدنادر، سیدریحانی، دانشگاه تحصیلات‌تکمیلی علوم‌پایه زنجان،کنفرانس فیزیک ، ۱۳۸۸

[5] Kirstian Berg-S \ ø rensen and Henrik Flyvbjerg: **Rev. Sci. Instrum.**

[Downloaded from opsi.ir on 2024-04-25]