بیست و سومین کنفرانس اپتیک و فوتونیک و نهمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران
دانشگاه تربیت مدرس
۱۲-۱۴ بهمن ۱۳۹۵
23rd Iranian Conference on Optics and Photonics and 9th Conference on Photonics Engineering and Technology
Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
January 31- February 2, 2017

تصویرگیری فازی کمی بر پایه‌ی چیدمان دو منشور فرنل

سمیرا ابراهیمی، معصومه دشتدار

دانشکده فیزیک، دانشگاه شهید بهشتی، اوین، تهران

چکیده –میکروسکوپ‌های تداخلی روش‌های موثری برای مطالعه‌ی فازی نمونه‌های میکرونی و زیرمیکرونی از جمله نمونه‌های زیستی به شمار می‌روند. در میان روش‌های مختلف تداخل‌سنجی، میکروسکوپی تمام‌نگاری دیجیتالی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا با استفاده از آن می‌توان به مطالعه‌ی دینامیکی نمونه‌های در حال حرکت پرداخت. از آنجایی‌که بررسی افت و خیزهای سلولی نیاز به استفاده از روش‌هایی با پایداری بالا و اختلاف راه نوری کم دارد، اخیراً استفاده از چیدمان‌های هم‌مسیر متداول شده است. در این مقاله به معرفی چیدمانی ساده، کارا و مقاوم در برابر ارتعاشات مکانیکی و اپتیکی بر پایه‌ی تداخل‌سنجی دو منشور فرنل پرداخته‌ایم. به علت اختلاف راه نوری بسیار کم میان دو موج تداخل‌کننده از یک لیزر دیودی با طول همدوسی کم به عنوان منبع استفاده شد. با استفاده از تحلیل فریزهای تداخلی اطلاعات مربوط به دامنه و فاز نمونه‌ی مورد آزمایش قابل بازیابی است. تغییرات راه نوری بر حسب زمان با استفاده از این چیدمان بررسی شد و نتایج آن با چیدمان متداول تمام‌نگاری دیجیتالی بر پایه‌ی تداخل‌سنج ماخ- زندر مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان‌دهنده‌ی بازدهی بالای چیدمان مورد استفاده و دقت نانومتری آن در مطالعه‌ی تغییرات مورفولوژیکی نمونه‌های زیستی است.

کلید واژه- اختلاف راه نوری، افت و خیزهای سلولی، تداخل سنج ماخ- زندر ، دومنشور فرنل، میکروسکوپی تمام‌نگاری دیجیتالی.

Quantitative phase imaging based on Fresnel biprism interferometer

Samira Ebrahimi, Masoomeh Dashtdar

Department of Physics, Shahid Beheshti University, Evin, Tehran

Abstract- Interferometric microscopes are one of the most effective methods in study of micron and sub-micron sized samples including biological cells. Among the different interferometric methods, digital holographic microscopy (DHM) has a significant importance in studying the dynamics of moving samples. Recently the utilization of common-path geometries has been popular for studying the cell fluctuations because of high temporal stability and low optical path difference (OPD) difference. In this paper, we present a compact, efficient and highly stable setup during each kind of mechanical, optical and environmental vibrations based on Fresnel biprism interferometry. A Diode Laser module with low coherence length was used as the source. Reconstructing the intensity and phase information is possible by using fringe analysis methods. We measured OPD variations vs. time by this configuration and compared the results with an off-axis DHM setup based on Mach-Zehnder interferometer geometry. The results illustrated the great performance and nanometer accuracy of our setup in studying the morphological changes of living cells.

Keywords: optical path difference, cell fluctuations, Mach-Zehnder Interferometer, Fresnel biprism, digital holographic microscopy.

این مقاله به شرط در دسترس بودن در وبگاه www.opsi.ir معتبر است.

[Downloaded from opsi.ir on 2025-12-08]

۱- مقدمه

تصویرگیری کمی از نمونه‌های میکرونی شفاف کاربردهای گسترده‌ای در پزشکی و زیست‌شناسی دارد و یکی از چالش های میکروسکوپ‌های نوری به شمار می‌رود. برای مطالعه‌ی فازی نمونه‌های زیستی که در ناحیه‌ی مرئی میدان الکترومغناطیسی شفاف هستند از تکنیک‌های تباین فازی مانند روش‌های تداخل‌سنجی استفاده می‌شود. در میان روش‌های تداخل‌سنجی، تکنیک تمام‌نگاری دیجیتالی ابزاری قدرتمند برای مطالعه‌ی تغییرات ضخامت و ضریب شکست نمونه‌ها به حساب می‌آید. با این روش می‌توان از نمونه‌های میکرونی به صورت غیرمخرب تمام‌نگاشت تهیه کرد و بازسازی تمام‌نگاشت‌ها را به صورت عددی انجام داد. تکنیک‌های مختلفی برای محاسبه‌ی عددی میدان پراش وجود دارد. در این مقاله از روش انتشار طیف زاویه‌ای استفاده شده است [1].

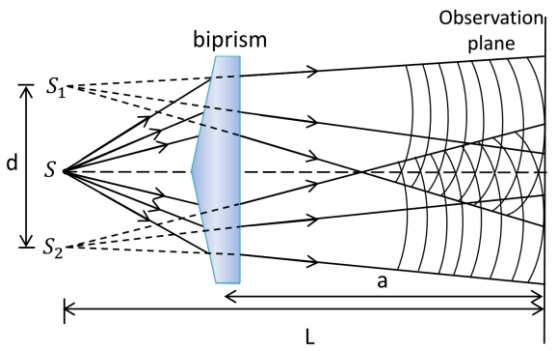
چیدمان‌های متداول تمام‌نگاری دیجیتالی معمولاً بر پایه‌ی تداخل‌سنج‌های ماخ- زندر هستند که در آن از یک بازوی مرجع علاوه بر بازوی شیء استفاده می‌شود که قطعات اپتیکی بسیاری در آن استفاده شده است. این قطعات اپتیکی اضافی منجر به مخدوش شدن تمام‌نگاشت، ایجاد نوفه و حساسیت بالای فریزهای تداخلی نسبت به ارتعاشات محیطی می‌شود. از طرفی به علت استفاده از دو باریکه‌شکن در چیدمان و اختلاف راه نوری زیاد در دو بازوی تداخل‌سنج لازم است از چشمه‌ی نور با همدوسی و توان بالا مخصوصاً در نمونه هایی که عبور کمی دارند، استفاده شود. در سال های اخیر برای رفع این مشکل تمایل به استفاده از چیدمان های هم‌مسیر افزایش یافته است که از جمله‌ی آن‌ها می‌توان به چیدمان‌های چینشی [2,3]، دو آینه لوید [4]، و ساگناک [5,6] اشاره کرد. در این مقاله یک چیدمان تمام‌نگاری هم مسیر و ساده بر پایه‌ی استفاده از دومنشور فرنل در مسیر یک میکروسکوپ نوری باز، معرفی شده است. چیدمان مورد استفاده بسیار ساده، ارزان و به علت کوچک بودن برای اندازه گیری‌های آنلاین مناسب است.فریزهای تداخلی دارای نمایانی بسیار خوبی هستند و اختلاف راه نوری نزدیک به صفر میان دو موج تداخل کننده نیاز به استفاده از منبع نور با همدوسی زمانی بالا را از بین می‌برد. استحکام بالای چیدمان و حساسیت پایین آن نسبت به ارتعاشات محیطی باعث می‌شود بتوان از این چیدمان برای اندازه‌گیری افت و خیزهای نانومتری غشاء سلول‌های زنده استفاده کرد. تنها مشکلی که در استفاده از چیدمان‌های هم‌مسیر بر پایه‌ی تداخل‌سنج‌های چینشی وجود دارد این است که اطلاعات شیء در هر دو بازوی تداخل‌سنج وجود دارد و برای تصویرگیری از نمونه‌هایی با غلظت بالا این اطلاعات باید از یکی از بازوها حذف گردند. چنین مشکلی در تصویرگیری از نمونه‌های رقیق ایجاد نمی‌شود.

۲- تئوری

دومنشور فرنل منشوری است که از اتصال دو منشور با زاویه رأس کوچک ساخته می‌شود. اگر یک جبهه موج استوانه ای S به دومنشور برخورد کند بخش بالایی جبهه موج به سمت پایین و بخش پایینی آن به سمت بالا شکسته می‌شود و در ناحیه‌ی برهم‌نهی دو جبهه موج که در واقع از یک جبهه موج تشکیل شده‌اند، فریزهای تداخلی تشکیل می شوند. می‌توان گفت فریزهای تداخلی حاصل برهم‌نهی دو منبع فرضی s_1 و s_2 است که در فاصله‌ی d نسبت به هم قرار دارند. فاصله‌ی جدایی دو منبع به زاویه رأس منشور وابسته است. با فرض $L >> d$ فاصله‌ی بین فریزها از رابطه‌ی زیر بدست می‌آید،

$$\Delta y \approx \frac{L}{d}\lambda . \qquad (۱)$$

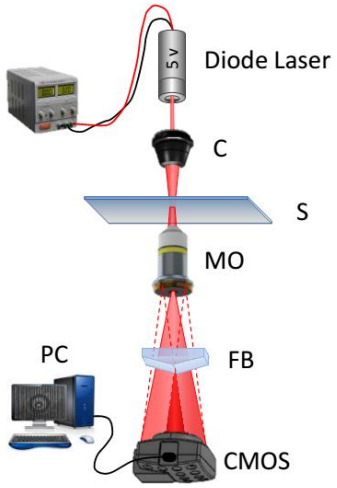
در این رابطه L فاصله‌ی s_1 و s_2 از صفحه‌ی مشاهده، و λ طول موج نور فرودی است [7]. شکل ۱ تشکیل فریزهای تداخلی در دومنشور فرنل را نشان می‌دهد.



شکل ۱: هندسه‌ی تشکیل فریزهای تداخلی در دومنشور فرنل.

این مقاله به شرط در دسترس بودن در وبگاه www.opsi.ir معتبر است.

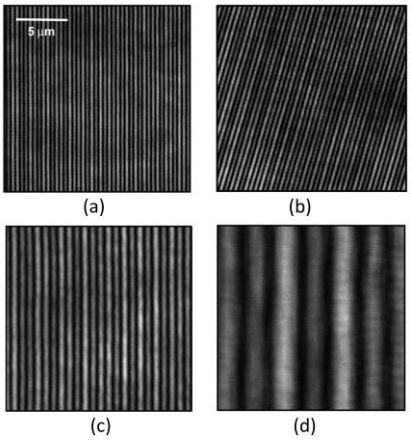
[Downloaded from opsi.ir on 2025-12-08]



شکل ۲: چیدمان آزمایش. C چگانده، MO عدسی شیئی میکروسکوپ، S نمونه، و FB دومنشور فرنل هستند.

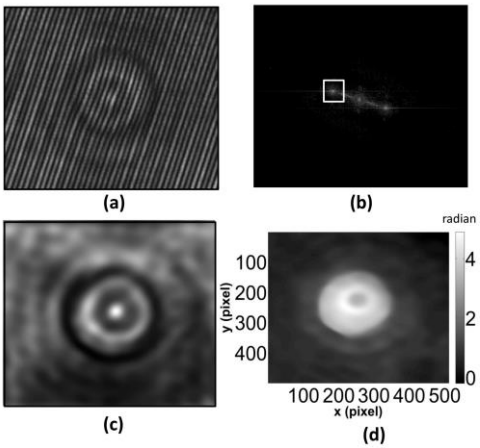
۳- چیدمان و روش انجام آزمایش

شکل ۲ چیدمان آزمایش را نشان می‌دهد. از یک لیزر دیودی با طول موج ۶۰۵ نانومتر به عنوان منبع استفاده شد که طول همدوسی زمانی آن با استفاده از تداخل‌سنج مایکلسون ۴ میلیمتر اندازه‌گیری شد. نور لیزر پس از عبور از عدسی چگالنده (C)، نمونه (S) و عدسی شیئ میکروسکوپ (MO، ۴۰ X با گشودگی عددی ۰٫۶۵) به دومنشور فرنل برخورد می‌کند و فریزهای تداخلی به‌وسیله‌ی یک دوربین *CMOS* (*BFLY-U3-23S6M-C*) با اندازه پیکسل ۵٫۸۶ میکرومتر) ثبت می‌شوند. در این تکنیک از موج مرجع جداگانه استفاده نشده است و هر دو موج مرجع و شیئی در واقع از یک جبهه موج با راه نوری یکسان تشکیل شده‌اند با این وجود به علت زاویه‌ی میان دو جبهه موج تداخل‌کننده هندسه‌ی تمام‌نگاری برپایه‌ی تمام‌نگاری خارج محوری است. مشکل عمده‌ی تداخل‌سنج‌های چینشی این است که زاویه‌ی میان دو بازوی تداخل‌سنج قابل تنظیم نیست [6]. یکی از مزیت های این چیدمان در مقایسه با چیدمان‌های چینشی امکان تغییر فرکانس فضایی فریزها با جابه‌جایی مکان دومنشور در راستای محور نوری است که در نمونه‌برداری حائز اهمیت است. همچنین برای جداسازی زاویه‌ای بهتر پراش‌های مرتبه‌ی ۱ و ۱- از پراش مرتبه صفر (شدت یکنواخت) با چرخاندن دومنشور حول محور اپتیکی می‌توان فریزهای مورب با زاویه‌ی دلخواه تشکیل داد. شکل ۳ تصاویری از تداخل‌نگاشت‌های ثبت شده در فواصل مختلف دومنشور



شکل ۳: تمام‌نگاشت‌های ثبت شده در فواصل متفاوت دومنشور نسبت به دوربین، (a) a=8 cm، (b) a به ازای چرخش 25 درجه دومنشور حول محور z، (c) a=12cm، (d) a=16 cm.

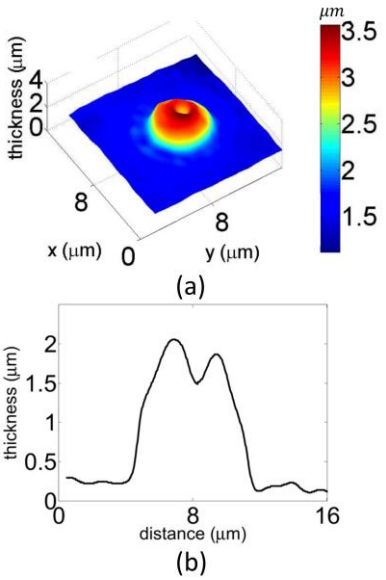
نسبت به دوربین نشان می‌دهد. یک لایه‌ی نازک از گلبول-های قرمز خون (*RBC*) آغشته در پلاسما به عنوان نمونه مورد استفاده قرار گرفت. شکل ۴(a) تمام‌نگاشت ثبت شده از *RBC* و شکل ۴(b) طیف فوریه‌ی ۴(a) را نشان می‌دهد. با استفاده از یک فیلتر مستطیلی در فضای فوریه یکی از مرتبه‌های پراش انتخاب شده است. با ثبت نمایه‌ی فازی در غیاب نمونه و محاسبه ی اختلاف فاز ($\Delta\phi$) اطلاعات از فاز نمونه بدست می‌آید. شکل‌های ۴(c) و ۴(d) شدت و فاز بازسازی شده‌ی *RBC* را نشان می‌دهند. حال با استفاده از رابطه‌ی $\Delta\phi = (2\pi/\lambda)\Delta n.\Delta l$ با داشتن تغییرات ضریب شکست (Δn) تغییرات ضخامت (Δl) نمونه محاسبه می‌شود. در این مقاله از



شکل ۴: بازسازی عددی تمام‌نگاشت. (a) تمام‌نگاشت ثبت شده از RBC، (b) طیف فوریه‌ی (a)، و (c) و (d) به ترتیب شدت و فاز بازسازی شده می‌باشند.

این مقاله به شرط در دسترس بودن در وبگاه www.opsi.ir معتبر است.

[Downloaded from opsi.ir on 2025-12-08]

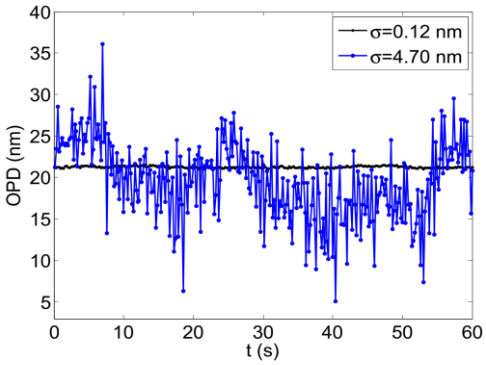


شکل ۵: (a) نمایه‌ی سه‌بعدی، و (b) یک‌بعدی از تمام‌نگاشت شکل ۴.

$\Delta n = 0.08$ استفاده شده است که تغییرات ضریب شکست *RBC* و پلاسمای خون است [4]. شکل ۵(a) و ۵(b) به ترتیب نمایه‌های سه‌بعدی و یک‌بعدی *RBC* را نشان می‌دهند. برای نشان دادن کارایی بالای چیدمان نسبت به چیدمان‌های مرسوم *DHM* تغییرات راه نوری یک نقطه از یک اسلاید میکروسکوپ در مدت زمان ۶۰ ثانیه با نرخ ثبت ۲۰ فریم بر ثانیه (*fps*) اندازه‌گیری شد و با چیدمان *DHM* خارج محوری مورد مقایسه قرار گرفت، شکل ۶. انحراف معیار تغییرات زمانی اختلاف راه نوری با استفاده از این چیدمان ۰٫۱۴ nm بدست آمد که در مقایسه با روش DHM برپایه‌ی چیدمان ماخ- زندر (۴٫۷۰ nm) اختلاف قابل توجهی دارد. هر دو آزمایش بر روی یک میز اپتیکی و در شرایط یکسان انجام شده است. مقایسه‌ی نتایج قدرتمند بودن روش را برای اندازه‌گیری تغییرات نانومتری نمونه‌های فازی تأیید می‌کند.

۴- نتیجه‌گیری

در این مقاله یک چیدمان هم‌مسیر و ساده بر پایه‌ی تداخل-سنجی با استفاده از دومنشور فرنل برای تصویرگیری فازی در ابعاد میکرون معرفی شد. چیدمان مورد نظر فاقد هرگونه قطعات اپتیکی اضافی است که در اندازه‌گیری‌های دقیق نیازمند کیفیت بالا و در نتیجه هزینه‌های اضافی هستند و از طرف دیگر منجر به حساسیت بالای چیدمان در برابر ارتعاشات محیطی می‌شوند. با استفاده از این چیدمان تمام‌نگاشت‌هایی از



شکل ۶: تغییرات اختلاف راه نوری بر حسب زمان. رنگ آبی مربوط به DHM خارج محوری و رنگ مشکی مربوط به روش مورد استفاده در این مقاله است. σ انحراف معیار اختلاف راه نوری است.

گلبول‌های قرمز خون تهیه شد و بازسازی عددی به روش انتشار طیف زاویه‌ای در محیط Matlab انجام شد. تغییرات زمانی راه نوری در یک نقطه مشخص بدون حضور نمونه اندازه‌گیری شد و نتایج بدست آمده با روش *DHM* خارج محوری مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان دادند که انحراف معیار تغییرات راه نوری در این تکنیک با اختلاف قابل ملاحظه‌ای نسبت به روش دیگر کمتر است. در نتیجه می‌توان از این چیدمان ساده برای مطالعه‌ی تغییرات دینامیکی سلول‌های زیستی استفاده کرد که روشی برای تشخیص سلول‌های بیمار می‌باشد.

مراجع

[1] A. Anand, V. K. Chhaniwal, and B. Javidi, "Real-time digital holographic microscopy for phase contrast D imaging of dynamic phenomena," J. Disp. Technol. Vol. 6, No. 10, pp. 500–505, 2010.

[2] J. Di, Y. Li, M. Xie, J. Zhang, Ch. Ma, T. Xi, E. Li, and J. Zhao, "Dual-wavelength common-path digital holographic microscopy for quantitative phase imaging based on lateral shearing interferometry", Appl. Opt., Vol. 55, No. 26, pp. 7287-7293, 2016.

[3] S. ebrahimi, AR. Moradi, A. Anand, B. Javidi, "Digital holographic microscopy with coupled optical fiber trap for cell measurement and manipulation", Opt. Lett., Vol. 39, No. 10, pp. 2916-2919, 2014.

[4] V. Chhaniwal, A. S. Singh, R. A. Leitgeb, B. Javidi, and A. Anand, "Quantitative phase contrast imaging with compact digital holographic microscope employing Lloyd's mirror", Opt. Lett. Vol. 37, No. 24, pp. 5127-5129, 2012.

[5] S. Mahajan, V. Trivedi, P. Vora, V. Chhaniwal, B. Javidi, and A. Anand, "Highly stable digital holographic microscope using Sagnac interferometer", Opt. Lett., Vol. 40, No. 16, pp. 3743-3746, 2015.

[6] D. Roitshtain, N. A. Turko, B. Javidi, and N. T. Shaked, "Flipping interferometry and its application for uantitative phase microscopy in a micro-channel", Opt. Lett., Vol. 41, No. 10, pp. 2354-2457, 2016.

[7] E. Hecht, *Optics*, p. 4, San Francisco: Addison Wesley, 2002.

این مقاله به شرط در دسترس بودن در وبگاه www.opsi.ir معتبر است.

[Downloaded from opsi.ir on 2025-12-08]