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

کاربرد پراش فرنل از تیغه‌ی شفاف در میکروسکوپی نمونه‌های فازی

سمیرا ابراهیمی، معصومه دشتدار

دانشکده فیزیک، دانشگاه شهید بهشتی، اوین، تهران

چکیده – در این مقاله روشی بر پایه‌ی پراش فرنل از تیغه‌ی فازی برای بررسی فاز نمونه‌های شفاف در ابعاد میکرون ارائه شده است. اگر یک تیغه‌ی شفاف در مسیر نور تکفام لیزر قرار گیرد به علت تغییر ناگهانی اختلاف راه نوری میان نور عبوری از تیغه و بخشی از نور که از هوا عبور کرده، فریزهای پراش تشکیل می‌شوند. حال اگر جسم فازی دیگری در مسیر نور فرودی بر تیغه قرار بگیرد نقش فریزهای پراش را دچار تغییر می‌کند. با استفاده از روش‌های تحلیل فریز می‌توان اطلاعات فازی مربوط به نمونه را در محدوده‌ی فریزها استخراج کرد. چیدمان مورد استفاده در این مقاله در مقایسه با روش‌های پیچیده‌ی تداخل‌سنجی بسیار ساده است و فریزهای پراش هیچ‌گونه حساسیتی در برابر ارتعاشات مکانیکی و اپتیکی ندارند. همچنین دقت اندازه‌گیری فاز در آن قابل مقایسه با روش‌های متداول دیگر است که برای اندازه‌گیری معمولاً میز اپتیکی ضد ارتعاش و قطعات اپتیکی با دقت بالایی نیاز است. با استفاده از این روش اندازه‌گیری‌هایی بر روی گلبول‌های قرمز خون (*RBC*) انجام شده و نتایج حاصل از آن با روش میکروسکوپی تمام‌نگاری دیجیتالی (*DHM*) مورد مقایسه قرار گرفته است. نتایج نشان دهنده‌ی قابلیت بالای تکنیک در مطالعه‌ی نمونه‌های میکروسکوپی و تغییرات نانومتری غشاء سلول‌های زیستی است.

کلید واژه- پراش فرنل، تحلیل فریز ، تیغه‌ی فازی، نمونه‌های زیستی.

Application of Fresnel diffraction from a transparent plate in microscopy of phase samples

Samira Ebrahimi, Masoomeh Dashtdar

Department of Physics, Shahid Beheshti University, Evin, Tehran

Abstract- In this paper, a method based on Fresnel diffraction from a parallel phase plate is presented for the phase study of micron- sized transparent samples. If a transparent plate is located in the path of a monochromatic beam of laser light, the diffraction fringes appear due to an abrupt change in the optical path length (OPL) difference between the part of the incoming light passing through the plate and the other propagating in the air. Now, if another phase sample is located in the path of the incoming light to the plate, the diffraction fringe pattern changes. the phase information of the sample can be extracted within the fringes by different fringe analysis methods. The presented setup is simple in comparison with complex interferometry techniques and the fringe pattern is stable against any mechanical and optical vibrations. Also, the accuracy of phase measurement is comparable with other common methods in which anti-vibration tables and high precision optical elements are required. By using this method, some measurements are performed on Red Blood Cells (RBC) and the results are compared with digital holographic microscopy (DHM) technique. The results indicate the high efficiency of technique in study of microscopic samples and nanometric variations in the membrane of living cells.

Keywords: Fresnel diffraction, fringe analysis, living cell, phase plate.

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

[Downloaded from opsi.ir on 2024-03-29]

۱- مقدمه

در صورتی که مانع شفافی بر سر راه یک پرتوی تکفام و همدوس نور لیزر قرار گیرد به علت تغییر ناگهانی در فاز پرتوی فرودی پراش از لبه اتفاق می‌افتد و فریزهای پراش فرنل ظاهر می شوند. در سال‌های اخیر با استفاده از این تکنیک مطالعاتی برای اندازه‌گیری‌های مختلف انجام شده است که از جمله آن‌ها می‌توان به اندازه‌گیری ضخامت فیلم-های نازک، جابه‌جایی‌های نانومتری، ضریب شکست، آهنگ تغییر ضخامت نمونه‌ی شفاف، و فاصله‌ی کانونی عدسی‌ها اشاره کرد [1-5].

اندازه‌گیری تغییرات فاز جبهه موج نور در اپتیک اهمیت زیادی دارد زیرا شامل اطلاعاتی از تغییرات ضریب شکست و ضخامت است. اکثر نمونه‌های زیستی در ناحیه‌ی مرئی امواج الکترومغناطیسی شفاف هستند و میکروسکوپی معمولی برای تصویربرداری از آن‌ها مناسب نیست. از این رو برای مطالعه‌ی آن‌ها از روش‌های تباین فازی مانند تداخل‌سنجی استفاده می‌شود [6,7]. یکی از چالش‌های بیشتر چیدمان‌های تداخل‌سنجی وجود دو بازوی مجزا و استفاده از قطعات اپتیکی زیاد در مسیر دو بازو است که خود باعث ایجاد ارتعاش و حساسیت بالای چیدمان می‌شود. همچنین دقت بالای آینه‌ها و باریکه‌شکن‌های مورد استفاده هزینه‌ی بالایی را می‌طلبد. اخیراً برای رفع این مشکلات استفاده از چیدمان‌های هم‌مسیر مانند تداخل‌سنج‌های چینشی افزایش یافته است. مشکل عمده‌ی این روش‌ها این است که فرکانس فضایی فریزها به علت ثابت بودن زاویه‌ی میان دو موج مرجع و شیء قابل تنظیم نیست و از طرفی نیز قابلیت تصویربرداری از نمونه‌های غلیظ را ندارند [8,9].

در این مقاله از چیدمانی ساده بر پایه‌ی پراش فرنل از لبه‌ی تیغه‌ی فازی برای اندازه‌گیری فاز گلبول‌های قرمز خون استفاده شده است. روش مورد استفاده در مقایسه با روش-های متداول اندازه‌گیری فاز ساده‌تر است و به علت کوچک بودن برای اندازه‌گیری‌های آنلاین در بسیاری از دستگاه‌ها قابل استفاده است. استحکام بالای فریزهای پراش در مقایسه با چیدمان‌های تداخل‌سنجی باعث شده است بتوان از آن در بسیاری از اندازه‌گیری‌های دقیق استفاده کرد.

۲- تئوری

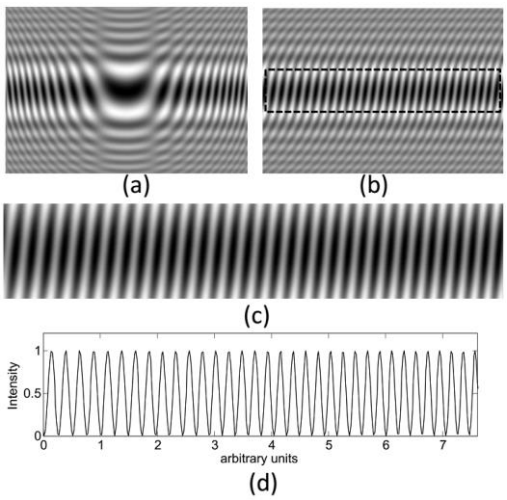
تابع توزیع نقش پراش فرنل از لبه‌ی تیغه از رابطه‌ی زیر بدست می‌آید [1]،

$$I_n = \cos^2\left(\varphi/2\right) + 2\left(C_0^2 + S_0^2\right)\sin^2\left(\varphi/2\right) \mp \left(C_0 - S_0\right)\sin(\varphi), \qquad (۱)$$

که C_0 و S_0 انتگرال‌های فرنل هستند و φ اختلاف فاز میان دو پرتوی مشابه عبوری از هوا و تیغه است. اگر زاویه‌ی فرود در امتداد تیغه متغیر باشد مقدار اختلاف فاز از رابطه‌ی زیر محاسبه می‌شود [10]،

$$\varphi = 2\pi l/\lambda\left[\sqrt{n'^2 - n^2\sin^2\theta} - n\cos\theta\right], \qquad (۲)$$

در اینجا λ طول موج نور فرودی، l ضخامت تیغه، θ زاویه‌ی نور فرودی بر تیغه و n و n' به ترتیب ضرایب شکست هوا و تیغه هستند. با جایگذاری رابطه‌ی (۲) در رابطه‌ی (۱) و فرض واگرایی نور هنگام فرود بر تیغه ($-\frac{\pi}{60}<\theta<\frac{\pi}{60}$) فریزهای نقش پراش به صورت متقارن حول یک فریز مرکزی تشکیل می‌شوند. شکل (a)۱ تصویر شبیه-سازی شده از این نوع نقش پراش را به ازای $l=7.752mm$، $n=1$ و $n'=1.51$ نشان می‌دهد. اگر تیغه را عمود بر محور نوری به اندازه‌ی زاویه‌ی $\alpha=\frac{\pi}{30}$ بچرخانیم فریزهای پراش با فرکانس فضایی بالاتر و نزدیک به فریزهای خطی تشکیل می شوند، شکل (b) 1.



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

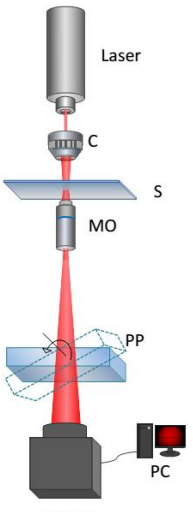
[Downloaded from opsi.ir on 2024-03-29]

شکل ۱: شبیه‌سازی نقش پراش فرنل جبهه موج کروی از لبه‌ی تیغه‌ی شفاف. (a) $-\pi/60<\theta<\pi/60$، (b) $\alpha-\pi/60<\theta<\alpha+\pi/60$، (c) مستطیل مشخص‌شده در (b)، و (d) توزیع شدت در لبه‌ی تیغه.

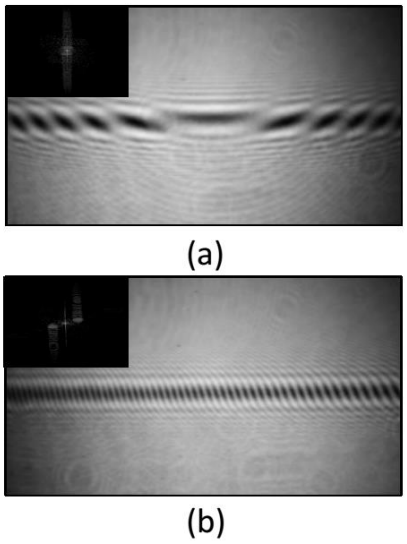
می‌توان از این فریزهای خطی در اندازه‌گیری هر شیء فازی شفاف که در مسیر نور فرودی به لبه‌ی تیغه قرار گرفته باشد، استفاده کرد. همچنین از آنجایی که C_0 و S_0 قبل از بیشینه‌ی اول تغییرات شدید ندارند امکان اندازه‌گیری فاز در راستای عمود بر لبه‌ی تیغه و در محدوده‌ی فریز مرکزی وجود دارد، شکل 1(c) و 1(d).

۳- چیدمان و روش انجام آزمایش

شکل ۲ چیدمان مورد استفاده در این مقاله را نشان می‌دهد. نور لیزر (هلیوم-نئون، ۶۳۲٫۸ نانومتر) پس از عبور از عدسی چگالنده (*C, NA*=0/25)، نمونه (*S*) و عدسی شیئی میکروسکوپ (*OM, 40X, NA*=0/65) به لبه‌ی تیغه‌ی شفاف (*PP, BK7, l*=7/752*mm*) برخورد می‌کند و نقش پراش حاصل با استفاده از یک دوربین *CMOS* (*Canon D* 450) با اندازه‌ی پیکسل 5/19 میکرومتر ثبت می‌شود. با تنظیم متغیرهای رابطه‌ی (۲) می توان محدوده‌ی فریزها و با چرخاندن تیغه می‌توان فرکانس فضایی آن‌ها را مطابق با ابعاد نمونه‌ی مورد استفاده تغییر داد. از *RBC* آغشته در پلاسمای خون بر روی یک اسلاید میکروسکوپ به عنوان نمونه‌ی فازی استفاده شده است. روش مورد استفاده برای تحلیل فریزهای پراش روش تبدیل فوریه و فیلتر در فضای فوریه است [11]. در صورتی که علامت گرادیان فریزها متغیر باشد جداسازی یکی از طیف‌های فرکانسی مثبت و منفی در فضای فوریه



شکل ۲: چیدمان آزمایش.



شکل ۳: نقش پراش فرنل ثبت شده. (a) $-\pi/60<\theta<\pi/60$، (b) $\pi/60<\theta<\pi/20$.

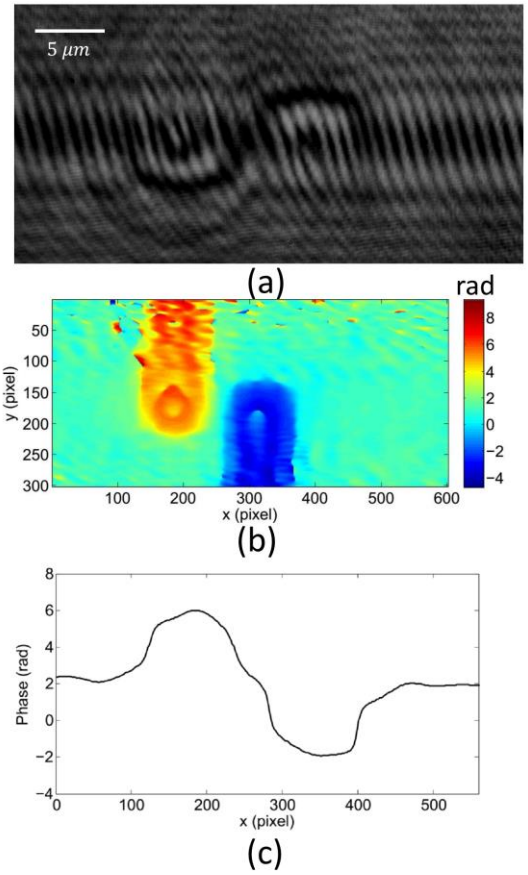
به علت برهم‌نهی آن‌ها کار سختی است که این کار با تغییر زاویه‌ی نور فرودی یا چرخاندن تیغه حول محور عمود بر محور نوری امکان‌پذیر است. شکل ۳ فریزهای پراش ثبت شده توسط چیدمان آزمایش را نشان می‌دهد. مربع سیاه رنگ داخل هر تصویر، طیف فوریه‌ی مربوط به فریزهای پراش را نمایش می‌دهد.

شکل ۴ بازسازی فاز *RBC* را نشان می‌دهد. با چرخاندن تیغه زاویه‌ی فرود پرتوها بر تیغه افزایش یافته و شکست نور باعث می‌شود پرتوهای عبوری از تیغه نسبت به پرتوهای عبوری از هوا جابه‌جا شوند. همان‌طور که در نقش پراش 4(a) مشخص است قسمتی از *RBC* که از هوا عبور کرده از قسمت دیگر که از شیشه عبور کرده جدا شده‌اند. بنابراین فاز بدست آمده در 4(b) حاصل برهم‌نهی آن‌ها نیست و فاز خالص مربوط به هر قسمت که تنها در علامت با یکدیگر متفاوت هستند با استفاده از یک نقش پراش مرجع بدون حضور نمونه بدست می‌آید. با میانگین‌گیری از توزیع شدت رابطه‌ی (۱) در راستای خطوط موازی با لبه‌ی تیغه، یک کمینه حاصل می‌شود که نشان‌دهنده‌ی لبه تیغه است [5]. با تشخیص لبه، فاز بدست آمده از هر دو قسمت از نمونه را می‌توان در یک نمودار رسم کرد. شکل ۵ نمایه‌ی نهایی فاز *RBC* را نشان می‌دهد. به منظور مقایسه‌ی روش، از تکنیک میکروسکوپی

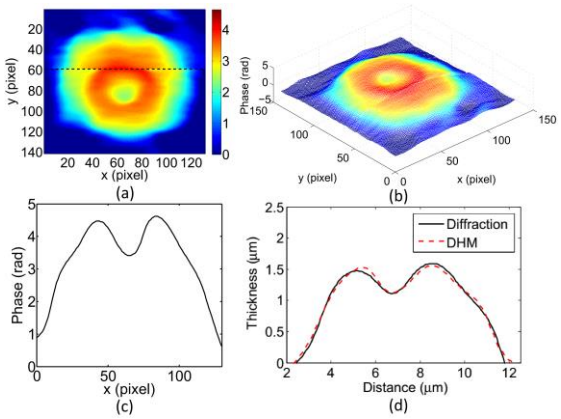
این مقاله به شرط در دسترس بودن در وبگاه www.opsi.ir معتبر است.

[Downloaded from opsi.ir on 2024-03-29]

تمام‌نگاری دیجیتالی (*DHM*) استفاده شد.



شکل 4: بازسازی فاز از الگوی پراش، (a) نقش فریزها در حضور *RBC*، (b) نمایه‌ی فاز بازسازی شده، (c) تغییرات فاز در لبه‌ی تیغه.



شکل ۵: نمایه‌ی فاز: (a) دوبعدی *RBC*، لبه‌ی تیغه با خط‌چین مشخص شده است، (b) سه بعدی *RBC* و (c) یک بعدی قسمت مرکزی *RBC*، (d) مقایسه‌ی تغییرات ضخامت با روش *DHM*.

شکل 5(d) نمایه‌ی یک‌بعدی فاز قسمت مرکزی *RBC* را با استفاده از دو تکنیک نشان می‌دهد که کاملاً بر هم منطبق هستند.

۴- نتیجه‌گیری

در این مقاله با استفاده از پراش فرنل از لبه‌ی یک تیغه‌ی فازی شفاف اندازه‌گیری‌هایی بر روی تغییرات فاز *RBC* انجام شد. چیدمان مورد استفاده برای این منظور بسیار ساده و در عین حال دارای استحکام بسیار خوبی در برابر ارتعاشات محیطی بود. همچنین دقت اندازه‌گیری فاز در آن قابل مقایسه با روش‌های متداول مانند *DHM* است. وجود قطعات اپتیکی ناچیز در چیدمان علاوه بر افزایش دقت اندازه‌گیری و عدم نیاز به منبع نور با شدت بالا باعث می‌شود بتوان از این روش به عنوان ابزاری برای اندازه‌گیری در بسیاری از دستگاه‌ها به صورت آنلاین استفاده کرد. نتایج، نشان‌دهنده‌ی قابلیت خوب تکنیک در مطالعه‌ی نمونه‌های میکرونی و همچنین اندازه‌گیری تغییرات مورفولوژیکی نمونه‌های زیستی با دقت نانومتر برای بسیاری از تشخیص-های پزشکی است.

مراجع

[1] M. T. Tavassoly, M. Amiri, A. Darudi, R. Aalipour, A. Saber, and A.-R. Moradi, “Optical diffractometry”, J. Opt. Soc. Am. A., Vol. 26, No. 3, pp. 540–547, 2009.

[2] M. T. Tavassoly, I. M. Haghighi, and K. Hassani, “Application of Fresnel diffraction from a phase step to the measurement of film thickness”, Appl. Opt. Vol. 48, No. 29, pp. 5497–5501, 2009.

[3] M. T. Tavassoly, and A. Saber, “Optical refractometry based on Fresnel diffraction from a phase wedge”, Opt. Lett., Vol. 35, No. 21, pp. 3679-3681, 2010.

[4] A. Mahmoodi, “Application of Fresnel diffraction from phase steps to measurement of etching rate of transparent materials”, Appl. Opt. Vol. 54, No. 26, pp. 7993-7996, 2015.

[5] M. Dashtdar, and S. M. A. H. Saber, “Focal length measurement based on Fresnel diffraction from a phase plate”, App. Opt., Vol. 55, No. 26, pp. 7434-7437, 2016.

[6] G. Popescu, L. P. Deflores, j. C. Vaughan, K. Badizadegan, H. Iwai, R. R. Dasari, and M. S. Feld, “Fourier phase microscopy for investigation of biological structures and dynamics”, Opt. Lett. Vol. 29, No. 21, pp. 2503-2505, 2004.

[7] C. Zuo, Q. Chen, W. Qu, and A. Asundi, “High-speed transport-of-intensity phase microscopy with an electrically tunable lens”, Opt. Exp. Vol. 21, No. 20, pp. 24060, 2013.

[8] D. Roitshtain, N. A. Turko, B. Javidi, and N. T. Shaked, “Flipping interferometry and its application for quantitative phase microscopy in a micro-channel”, Vol. 41, No. 10, pp. 2354-2357, 2016.

[9] P. Bon, G. Maucort, B. Wattellier, and S. Monneret, “Quadriwave lateral shearing interferometry for quantitative phase microscopy of living cells “, Opt. Exp. Vol. 17, No. 15, pp. 13080-13094, 2009.

[10] M. Amiri and M. T. Tavassoly,“Fresnel diffraction from 1D and 2D phase steps in reflection and transmission modes,” Opt. Commun. Vol. 272, pp. 349–361, 2007.

[11] G. Paez, M. Strojnik, “Fringe analysis and phase reconstruction from modulated intensity patterns “, Opt. Lett., Vol. 22, No. 22, pp. 1669-1671, 1997.

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

[Downloaded from opsi.ir on 2024-03-29]