



لیفن  
نوری  
پرتو

بیستمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک ایران  
و ششمین کنفرانس مهندسی و فناوری فوتونیک ایران  
۸ تا ۱۰ بهمن ماه ۱۳۹۲ - دانشگاه صنعتی شیراز



## درجه‌بندی تله‌ی نوری با استفاده از یک دوربین پرسرعت با پهنای باند محدود

سمیرا ابراهیمی<sup>۱</sup>, علیرضا مرادی<sup>۱,۲</sup> و احمد درودی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه فیزیک، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

<sup>۲</sup> پژوهشکده اپتیک، دانشگاه تحصیلات تکمیلی در علوم پایه زنجان، زنجان، ایران

چکیده - تله‌ی نوری یکی از مؤثرترین روش‌ها برای دستکاری نمونه‌های میکرونی و زیرمیکرونی هستند. با این روش می‌توان نمونه‌های زنده را به صورت غیرمخرب و بدون تماس کنترل کرد و نیروهایی در حد پیکونیوتون به آن‌ها وارد کرد. در این مقاله چیدمان انبرک نوری با استفاده از فیبر نوری با انتهای مخروطی شکل راهاندازی و از یک دوربین پرسرعت CMOS با نرخ ثبت ۵۰۰ fps برای محاسبه میزان جابه‌جایی از مرکز تله استفاده شده است. روش درجه‌بندی مورد استفاده در این مقاله استفاده از تحلیل طیف توانی است. برای نشان دادن کارکرد تله فیبر نوری، با استفاده از چیدمان تله‌ی فیبر نوری، کشیدگی‌هایی در غشاء چندلایه‌ای‌های لیپیدی انجام گردیده و نشان داده شده است.

کلید واژه- تله‌های نوری، فیبر نوری، درجه‌بندی، تحلیل طیف توانی، چندلایه‌ای‌های لیپیدی.

## Fiber optical trap calibration using a high- speed camera with limited bandwidth

Samira Ebrahimi<sup>1</sup>, Ali-Reza moradi<sup>1,2</sup> and Ahmad Daroudi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Physics, University of Zanjan, PO Box 45195-313, Zanjan, Iran

<sup>2</sup> Optics Research Center, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences, PO Box 45137-66731, Zanjan, Iran

**Abstract-** Optical tweezers is one of the most effective methods for manipulating micron and sub-micron sized particles non-destructively. In this paper a tapered fiber optical tweezers is calibrated using power spectrum analysis of the trapped particle motions. We utilized a high- speed CMOS camera with 500 frames per second for particle position detection. As validation experiment, using this setup, stretching of a multilamellar lipid bilayer is demonstrated.

**Keywords:** Optical tweezers, tapered optical fiber, power spectrum analysis, multilamellar lipid bilayers.

تله افتاده و دارای حرکت براونی قابل محاسبه است و با تبدیل فوریه گرفتن از داده ها بر حسب فرکانس و محاسبات جزئی بدست می آید:

$$p(f_x) = \frac{k_B T}{\pi^2 \gamma} \frac{1}{f_x^2 + f_{cx}^2} \quad (1)$$

$$p(f_y) = \frac{k_B T}{\pi^2 \gamma} \frac{1}{f_y^2 + f_{cy}^2} \quad (2)$$

در اینتابع که شکل لورنتسی دارد،  $K_B$  ثابت بولتزمن،  $T$  دما، و  $\gamma$  ضریب پسار است.  $f_{cx}$  و  $f_{cy}$  فرکانس در راستای  $x$  و  $y$  هستند. با برآش یک تابع لورنتسی بر طیف بدست آمده فرکانس گوشه در راستای  $x$  و  $y$  قابل محاسبه است:

$$f_x = \frac{k_x}{2\pi\gamma}, \quad f_y = \frac{k_y}{2\pi\gamma} \quad (3)$$

$k_x$  و  $k_y$  ضرایب سختی تله هستند. فرکانس گوشه نقطه ای است که فرکانس های بالا و پایین را از یکدیگر جدا می کند و با ضریب سختی تله متناسب است [۷].

### ۳- چیدمان و روش انجام آزمایش

در این مقاله چیدمان تله نوری را با استفاده از تک فیبر نوری که انتهای آن به صورت مخروطی شکل در آمده است، ایجاد کردیم. مزیت استفاده از فیبر نوری نسبت به عدسی شیئی میکروسکوپ این است که محل تله در آن مستقل از محل نمونه مورد بررسی است و از یک عدسی شیئی مشترک برای هر دو هدف تله اندازی و تصویرگیری استفاده نمی شود. به این ترتیب می توان مسیر تله اندازی و میکروسکوپی را از یکدیگر تفکیک نمود. چیدمان تله فیبر نوری بر روی یک میکروسکوپ سوار شده است تا بتوان علاوه بر تله اندازی نوری، از نمونه های تحت آزمایش فیلم و عکس تهیه کرد. از یک لیزر (85 GCA; Melles Griot) با طول موج ۵۳۲ نانومتر و حداقل توان خروجی ۳ وات برای تله اندازی استفاده شد. از یک فیبر نوری که یک انتهای آن با حرارت و دور زیاد در پژوهشگاه نیروی تهران به شکل مخروطی درآمد استفاده کردیم. زاویه بخش مخروطی فیبر ۰/۴۵ به دست آمد. گشودگی عددی فیبر نوری در بخش مخروطی ۱/۰۴ به دست آمد. انتهای دیگر فیبر با استفاده از قیچی مخصوص فیبر بریده و محافظ آن خارج شد تا مانع برای هدایت نور داخل فیبر و خروج حداقل توان

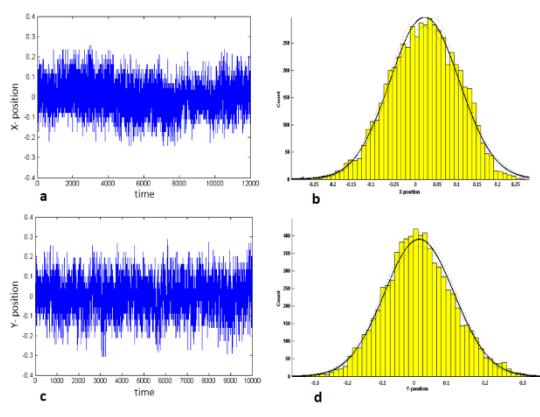
### ۱- مقدمه

انبرک نوری یک تله نوری گرادیانی سه بعدی است. با این روش می توان نمونه های زنده را بدون تماس و به صورت غیر مخرب کنترل کرد و نیروهایی در حد پیکونیوتون به آن ها وارد کرد. انبرک نوری را اولین بار آرتور اشکین معرفی و استفاده کرد [۲، ۱]. این روش کاربردهای وسیعی در حوزه های زیست شناسی، فیزیک، و شیمی دارد. نیروهای تله از تبادل تکانه بین فوتون ها و ذرات به تله افتاده به وجود می آید.

حقیقین از تله های نوری برای کشیدگی در یک رشته DNA و مطالعه روی خواص ارجاعی آن و بسیاری ویژگی های دیگر استفاده می کنند. شیمیدان ها از تله های نوری برای کنترل ذرات طلا در سوسپانسیون ها استفاده می کنند. همچنین در حوزه فیزیک، برای مطالعه حرکت براونی ذرات در ابعاد میکرون، برهمنش های میکرو ذرات باردار، و حرکت میکرو ذرات تحت میدان مغناطیسی و مانند این ها از تله های نوری استفاده می کنند [۳]. تله های نوری از فشار تابندگی یک پرتوی لیزر که با استفاده از یک عدسی شیئی با گشودگی عددی بالا کانونی شده است، برای به دام انداختن نمونه های میکرو نوی استفاده می کنند [۴]. بر خلاف فاصله های کاری محدود عدسی های شیئی، با استفاده از فیبر های نوری می توان نمونه ها را در عمق های بیشتر به تله انداخت. برای افزایش گشودگی عددی فیبر های نوری، انتهای فیبر را با حرارت دادن و ایجاد کشیدگی به صورت مخروطی در می آورند [۵]. روش های متفاوتی برای درجه بندی انبرک های نوری وجود دارد. در این مقاله از روش تحلیل طیف توانی [۶] استفاده شده است. همچنین برای محاسبه میزان جابه جایی ذره از مرکز تله روش های مختلفی وجود دارد. روش مورد استفاده در این مقاله، استفاده از یک دوربین پرسورت CMOS (DCC1545M; Thorlabs) برای اندازه گیری میزان جابه جایی ذره ب تله افتاده بر حسب زمان است.

### ۲- تئوری

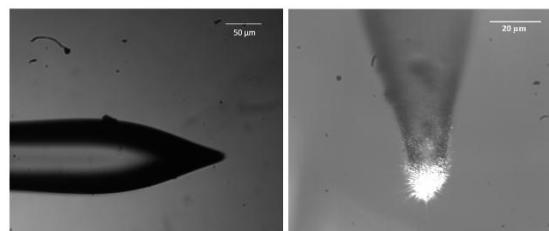
توزيع مکان یک ذره ب تله افتاده با استفاده از یک فوتودیود چهار تایی و یا یک دوربین پرسورت قابل محاسبه است. معادله حرکت یک ذره ب تله افتاده به صورت معادله لانژوین است. طیف توانی برای ذره ب به



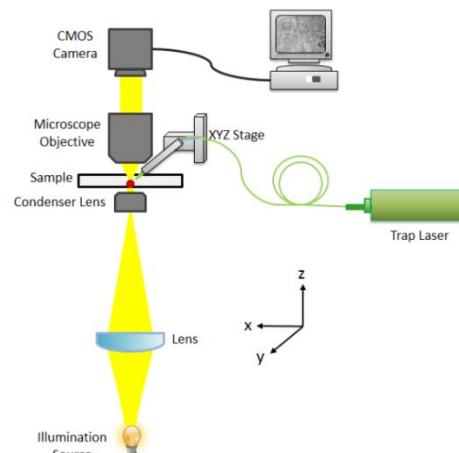
شکل ۳: نمودارهای جابه‌جایی و مکان ذره در راستای X و Y.

است. با انتخاب منطقه‌ی مورد نظر (ROI)، می‌توان بیش از ۷۰۰ فریم بر ثانیه را ثبت کرد. از پلی‌استایرن ۱/۶۵ میکرون به عنوان نمونه‌ی مورد استفاده جهت درجه‌بندی استفاده شد. با توجه به ابعاد محدود نمونه‌ی تحت آزمایش، می‌توان محدوده‌ی مورد نظر را به  $75 \times 65$  پیکسل محدود کرد. در این صورت با توجه به اندازه‌ی هر پیکسل، محدوده‌ی  $7 \times 6$  میکرون قابل مشاهده است که محدوده‌ی حرکت ذره را به طور کامل در بر می‌گیرد. در این صورت نرخ ثبت تصاویر تا ۱۰۰۰ fps افزایش می‌یابد. محدودیتی که در بالا بردن نرخ ثبت تصاویر وجود دارد کاهش یافتن توان تفکیک است. پس از تبدیل فیلم‌ها به تصویر، میزان جابه‌جایی ذره از مرکز تله بر حسب زمان با دنبال کردن نقطه‌ی پرشدت مرکزی با استفاده از کد نوشته شده در برنامه‌ی Matlab اندازه‌گیری شد. شکل ۳ نمودارهای جابه‌جایی ذره بر حسب زمان را در دو راستای X و Y نشان می‌دهد. هیستوگرام نرمال بر حسب تعداد برای X و Y نیز نشان داده شده اند. با تبدیل فوریه گرفتن از جابه‌جایی و جایگذاری در معادله لانژوین و انجام محاسبات جزئی، به یکتابع لورنتسی می‌رسیم که طیف توانی حرکت براونی ذرهی به تله افتاده است. با برآش یکتابعی لورنتسی به نمودار بهدست آمده فرکانس گوشه قابل محاسبه است (شکل ۴). از آن جایی که فرکانس گوشه با سختی تله رابطه مستقیم دارد بهدست آوردن آن بسیار حائز اهمیت است. با نیروی تله انداخت و آها را جابجا کرد، نیز می‌توان ذرات را به تله انداخت و آها را جابجا کرد، نیز می‌توان با نیروی کم لیزر بر آنها کشیدگی‌هایی را نیز وارد نمود. اولین بار گاک و همکارانش چنین کاری را بر روی غشاء‌ها انجام

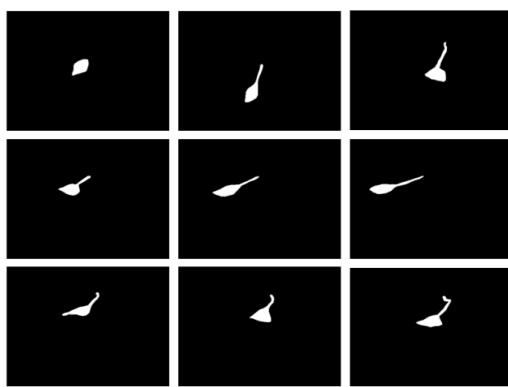
ممکن از آن وجود نداشته باشد. نور لیزر داخل فیبر هدایت شد و در بخش مخروطی فیبر کانونی شد. شکل ۱ کانون پرشدت نور لیزر را نزدیک به بخش مخروطی فیبر نشان می‌دهد. از یک میزچه‌ی میکروسکوپ سه محوره‌ی (x,y,z) با زاویه‌ی قابل تنظیم در محل نمونه استفاده شد. با استفاده از میکروسکوپ نوری و یک دوربین CMOS که در قسمت چشمی میکروسکوپ قرار گرفته است می‌توان نمونه‌ی مورد آزمایش را مطالعه نمود. شکل ۲ چیدمان تله‌ی فیبر نوری تک باریکه‌ای را نمایش می‌دهد. پس از راهاندازی چیدمان، لازم است تله‌ی نوری را درجه‌بندی کنیم. منظور از درجه‌بندی تله، اندازه‌گیری میزان جابه‌جایی از مرکز تله نسبت به نیرویی است که تله به ذره وارد می‌کند. از آن جایی که ذرهی به تله افتاده نیرویی مانند نیروی فنر ثابت فنر است که به آن سختی تله می‌گویند. روش درجه‌بندی مورد استفاده در این مقاله استفاده از طیف توانی است. برای محاسبه میزان جابه‌جایی ذره از مرکز تله، یک دوربین پرسرعت CMOS (DCC1545M;Thorlabs) با اندازه‌ی پیکسل  $5/2$  میکرومتر استفاده شد. تعداد پیکسل‌های دوربین  $1280 \times 1024$  بود. در این حالت نرخ ثبت ۲۵ fps



شکل ۱: انتهای مخروطی فیبر نوری.



شکل ۲: چیدمان تله‌ی فیبر نوری تک باریکه‌ای.



شکل ۶: تصاویر سیاه و سفید برای بررسی میزان کشیدگی.

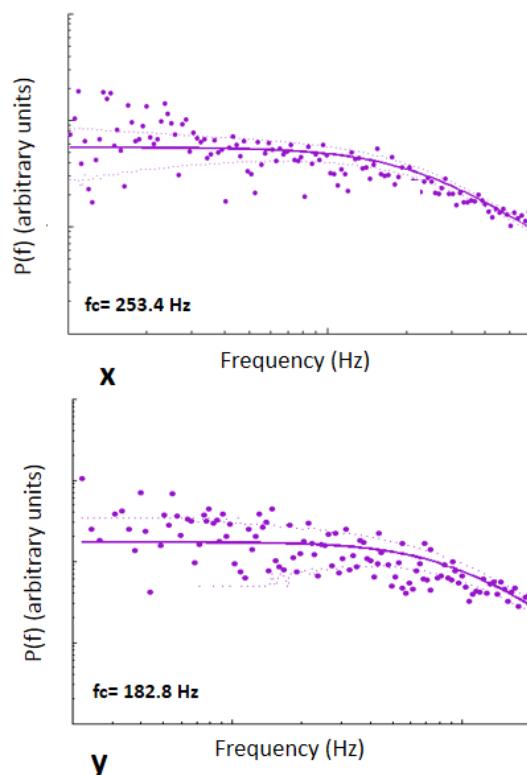
#### ۴-نتیجه‌گیری

در این مقاله ابتدا چیدمان انبرک نوری با استفاده از فیبر نوری راهاندازی شد. چیدمان مورد نظر با استفاده از روش تحلیل طیف توانی درجه‌بندی شد. برای محاسبه‌ی میزان جابه‌جایی از مرکز تله از یک دوربین پرسرعت CMOS با نرخ ثابت ۵۰۰ فریم بر ثانیه استفاده شد. فرکانس‌های گوشه در نمودارهای طیف توانی در دو راستای x و y به دست آمدند. با توجه به شکل ۴، از آن جایی که فرکانس گوشه در راستای x نسبت به راستای y مقدار بزرگتری به دست آمد، سختی تله در راستای x نسبت به راستای y بیشتر است. با توجه به محدود بودن ثبت داده در این روش، فرکانس‌های بیش از ۱۰۰۰ Hz قابل اندازه‌گیری نیستند. پس از درجه‌بندی چیدمان، برای نشان دادن کارکرد چیدمان، کشیدگی‌هایی در غشای لیپیدی توسط تله‌ی فیبر نوری انجام گردید.

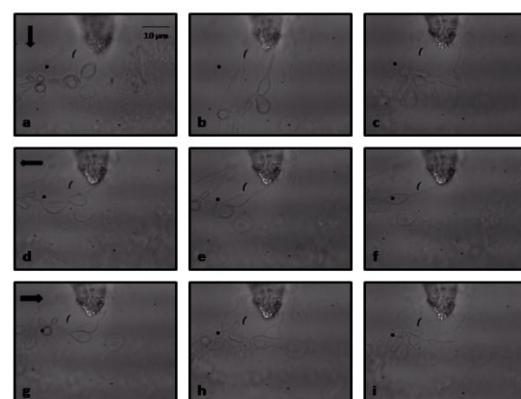
#### مراجع

- [1] Ashkin, A, Dziedic, J.M, Bjorkholm, J.E, etal, *Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles*, *Opt. Lett.*, 11(5): 288-290, 1986.
- [2] Ashkin, A, Dziedic, J. M, *Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria*, *Science*, 235: 1517-1520, 1987.
- [3] Simmons, R. M, Finer, J. T, Steven, C, et al, *Quantitative measurement of force and displacement using an optical trap*, *Biophysics Journal*, 70: 1813-1822, 1996.
- [4] Moradi, A. R, Anand, A, Ali, M. K, and Javidi, B, *Digital holographic microscopy of optically trapped three-dimensional microstructures*, *SPIE*, Vol. 8043, 2011.
- [5] Sillger, w, Frick, M, Haller, T, Dietl, P, Bemet, S, and Ritsch-Marte M, *Combined optical tweezers and optical stretcher in microscopy*, *SPIE*, Vol. 4434: 227-232, 2001.
- [6] Hansen, P.M, Tolic-Norrelykke, I.M, Flyvbjerg, H, and Berg-Sorensen, K, *Tweezer calib2.0: Faster version of matlab package for precise calibration of optical tweezers*, *Computer Physics Communications*, 174(6): 518-520, 2006.
- [7] Horst, A, and Forde, N. R, *Power spectral analysis for optical trap stiffness calibration from high-speed camera position detection with limited bandwidth*, *OSA*, 18 (8): 7670-7677, 2010.
- [8] Guck, J, Ananthakrishnan, R, Moon, T. J, Cunningham, C, C. J, *Phys. Rev. Lett*, 84, 5451, 2000.

دادند و آن را کشندی اپتیکی نامیدند [۸]. چنین



شکل ۴: برآش نمودارهای لورنتسی بر طیف توانی در راستای x و y.



شکل ۵: ایجاد کشیدگی در چندلایه‌های لیپیدی با استفاده از تله‌ی فیبر نوری. پیکان‌ها جهت جابه‌جایی نمونه را نشان می‌دهند.

کشیدگی‌هایی را می‌توان با استفاده از تله‌ی فیبر نوری با سادگی بیشتر بر روی نمونه‌های مختلف اعمال کرد. شکل ۵ کشیدگی در غشای بخشی از توده‌ی چربی را نشان می‌دهد. نمونه‌ی مورد استفاده فسفولیپید POPC است که از ترکیب‌های مهم در آزمایشگاه‌های زیستی است. تصاویر سیاه و سفید برای مشخص شدن میزان کشیدگی در شکل ۶ آمده است.