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

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

سمیرا ابراهیمی[۱]، علیرضا مرادی[۲،۱] و احمد درودی[۱]

[۱] گروه فیزیک، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

[۲] 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 مخروطی‌شکل راه‌اندازی و از یک دوربین پر سرعت CMOS با نرخ ثبت ۵۰۰ fps برای محاسبه‌ی 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 غشای چندلایه ای های لیپیدی انجام گردیده و نشان داده شده است.

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

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

Samira Ebrahimi[1], Ali-Reza moradi[1,2] and Ahmad Daroudi[1]

[1] Department of Physics, University of Zanjan, PO Box 45195-313, Zanjan, Iran
[2] 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.

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

۱-مقدمه

انبرک نوری یک تله‌ی نوری گرادیانی سه‌بعدی است. با این روش می‌توان نمونه‌های زنده را بدون تماس و به صورت غیرمخرب کنترل کرد و نیروهایی در حد پیکونیوتون به آن‌ها وارد کرد. انبرک نوری را اولین بار آرتور اشکین معرفی و استفاده کرد [۲,۱]. این روش کاربردهای وسیعی در حوزه‌های زیست‌شناسی، فیزیک، و شیمی دارد. نیروهای تله از تبادل تکانه بین فوتون‌ها و ذرات به‌تله افتاده به‌وجود می‌آید.

محققین از تله‌های نوری برای کشیدگی در یک رشته DNA و مطالعه روی خواص ارتجاعی آن و بسیاری ویژگی‌های دیگر استفاده می‌کنند. شیمیدان‌ها از تله‌های نوری برای کنترل ذرات طلا در سوسپانسیون‌ها استفاده می‌کنند. هم‌چنین در حوزه‌ی فیزیک، برای مطالعه‌ی حرکت براونی ذرات در ابعاد میکرون، برهم‌کنش‌های میان میکروذرات باردار، و حرکت میکروذرات تحت میدان مغناطیسی و مانند این‌ها از تله‌های نوری استفاده می‌کنند [۳]. تله‌های 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 نمونه‌های میکرونی استفاده می‌کنند [۴]. بر خلاف فاصله‌ی کاری محدود عدسی‌های شیئی، با استفاده از فیبرهای نوری می‌توان نمونه‌ها را در عمق‌های بیشتر به تله انداخت. برای افزایش گشودگی عددی فیبرهای نوری، انتهای فیبر را با حرارت دادن و ایجاد کشیدگی به صورت مخروطی در می‌آورند [۵]. روش‌های متفاوتی برای درجه‌بندی انبرک‌های نوری وجود دارد. در این مقاله از روش تحلیل طیف توانی [۶]، استفاده شده است. هم‌چنین برای محاسبه‌ی میزان جابه‌جایی ذره از مرکز تله روش‌های مختلفی وجود دارد. روش مورد استفاده در این مقاله، استفاده از یک دوربین پرسرعت CMOS (DCC1545M;Thorlabs) برای اندازه‌گیری میزان جابه‌جایی ذره‌ی به تله افتاده بر حسب زمان است.

۲-تئوری

توزیع مکان یک ذره‌ی به تله افتاده با استفاده از یک فوتودیود چهارتایی و یا یک دوربین پرسرعت قابل محاسبه است. معادله حرکت یک ذره‌ی به تله افتاده به صورت معادله‌ی لانژوین است. طیف توانی برای ذره‌ی به تله افتاده و دارای حرکت براونی قابل محاسبه است و با تبدیل فوریه گرفتن از داده ها بر حسب فرکانس و محاسبات جزئی به‌دست می‌آید:

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

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

در این تابع که شکل لورنتسی دارد، K_B ثابت بولتزمن، T دما، و γ ضریب پسار است. f_{cx} و f_{cy} فرکانس در راستای x و y هستند. با برازش یک تابع لورنتسی بر طیف به‌دست آمده فرکانس گوشه در راستای x و y قابل محاسبه است:

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

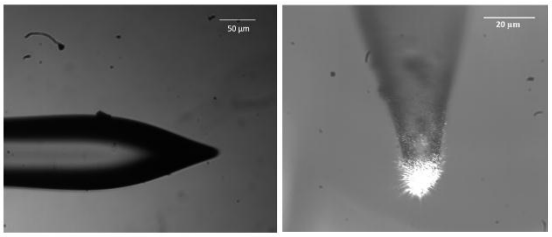
k_x و k_y ضرایب سختی تله هستند. فرکانس گوشه نقطه‌ای است که فرکانس‌های بالا و پایین را از یکدیگر جدا می‌کند و با ضریب سختی تله متناسب است [۷].

۳-چیدمان و روش انجام آزمایش

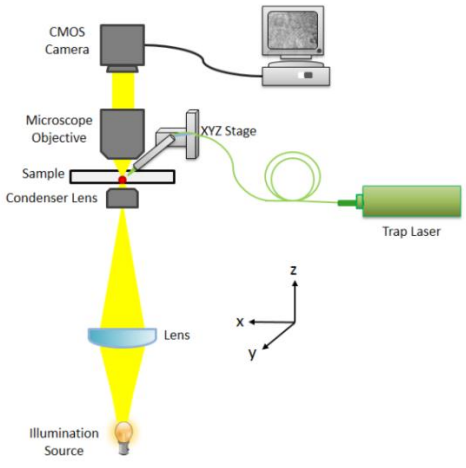
در این مقاله چیدمان تله‌ی نوری را با استفاده از تک فیبر نوری که انتهای آن به صورت مخروطی شکل در آمده است، ایجاد کردیم. مزیت استفاده از فیبر نوری نسبت به عدسی شیئی میکروسکوپ این است که محل تله در آن مستقل از محل نمونه‌ی مورد بررسی است و از یک عدسی شیئی مشترک برای هر دو هدف تله‌اندازی و تصویرگیری استفاده نمی‌شود. به این ترتیب می‌توان مسیر تله‌اندازی و میکروسکوپی را از یکدیگر تفکیک نمود. چیدمان تله‌ی فیبر نوری بر روی یک میکروسکوپ سوار شده است تا بتوان علاوه بر تله‌اندازی نوری، از نمونه‌های تحت آزمایش فیلم و عکس تهیه کرد. از یک لیزر (85 GCA; Melles Griot) با طول موج ۵۳۲ نانومتر و حداکثر توان خروجی ۳ وات برای تله‌اندازی 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. زاویه‌ی بخش مخروطی فیبر ۰/۴۵ به‌دست آمد. گشودگی عددی فیبر نوری در بخش مخروطی ۱/۰۴ به‌دست آمد. انتهای دیگر فیبر با استفاده از قیچی مخصوص فیبر بریده و محافظ آن خارج شد تا مانعی برای هدایت نور داخل فیبر و خروج حداکثر توان

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

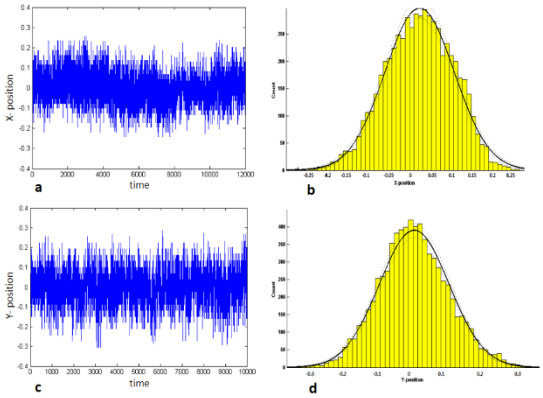
ممکن از آن وجود نداشته باشد. نور لیزر داخل فیبر هدایت شد و در بخش مخروطی فیبر کانونی شد. شکل ۱ کانون پرشدت نور لیزر را نزدیک به بخش مخروطی فیبر نشان می‌دهد. از یک میزچه‌ی میکروسکوپ سه محوره‌ی (x,y,z) با زاویه‌ی قابل تنظیم در محل نمونه استفاده شد. با استفاده از میکروسکوپ نوری و یک دوربین CMOS که در قسمت 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 آن‌جایی‌که ذره‌ی به تله افتاده نیرویی مانند نیروی فنر را احساس می‌کند، درجه‌بندی تله به معنی به‌دست آوردن ثابت فنر است که به آن سختی تله می‌گویند. روش درجه‌بندی مورد استفاده در این مقاله استفاده از طیف توانی است. برای محاسبه‌ی میزان جابه‌جایی ذره از مرکز تله، یک دوربین پرسرعت CMOS (DCC1545M;Thorlabs) با اندازه‌ی پیکسل ۵/۲ میکرومتر استفاده شد. تعداد پیکسل‌های دوربین ۱۲۸۰×۱۰۲۴ بود. در این حالت نرخ ثبت ۲۵ fps



شکل ۱: انتهای مخروطی فیبر نوری.



شکل ۲: چیدمان تله‌ی فیبر نوری تک باریکه‌ای.



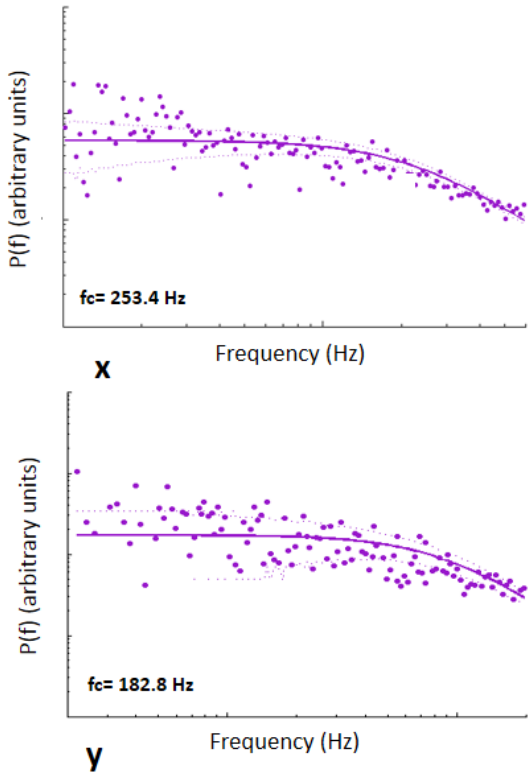
شکل ۳: نمودارهای جابه‌جایی و مکان ذره در راستای x و y.

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 ۷۵×۶۵ پیکسل محدود کرد. در این صورت با توجه به اندازه‌ی هر پیکسل، محدوده‌ی ۶×۷ 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 معادله‌ی لانژوین و انجام محاسبات جزئی، به یک تابع لورنتسی می‌رسیم که طیف توانی حرکت براونی ذره‌ی به تله افتاده است. با برازش یک تابعی لورنتسی به نمودار به‌دست آمده فرکانس گوشه قابل محاسبه است (شکل ۴). از آن‌جایی که فرکانس گوشه با سختی تله رابطه‌ی مستقیم دارد به‌دست آوردن آن بسیار حائز اهمیت است.

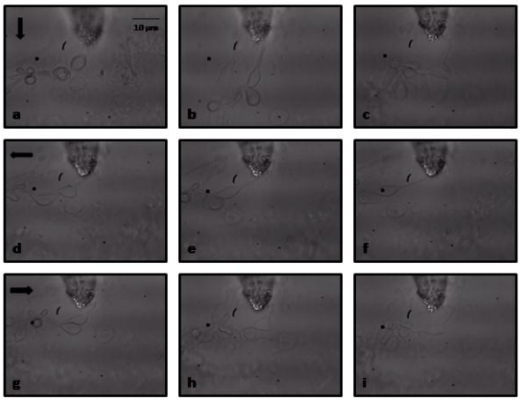
با نیروی تله اندازی نور علاوه بر اینکه می توان ذرات را به تله انداخت و آنها را جابجا کرد، نیز می توان با نیروی کم لیزر بر آنها کشیدگی‌هایی را نیز وارد نمود. اولین‌بار گاک و همکارانش چنین کاری را بر روی غشاء ها انجام

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

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

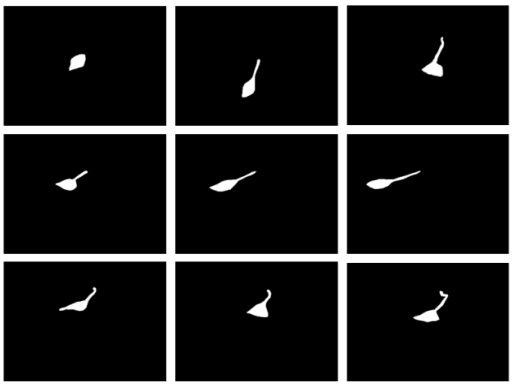


شکل ۴: برازش نمودارهای لورنتسی بر طیف توانی در راستای x و y.



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 ترکیب های مهم در آزمایشگاه‌های زیستی است. تصاویر سیاه و سفید برای مشخص شدن میزان کشیدگی در شکل ۶ آمده است.



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 ثبت ۵۰۰ فریم بر ثانیه استفاده شد. فرکانس‌های گوشه در نمودارهای طیف توانی در دو راستای x و y به‌دست آمدند. با توجه به شکل ۴، از آن جایی که فرکانس گوشه در راستای x نسبت به راستای y مقدار بزرگتری به‌دست 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.

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