

اندازه‌گیری خواص ویسکوالاستیک گلبول قرمز خون توسط انبرک نوری

سیدنادر سیدریحانی^۱، علی آزادبخت^۱، الهام میرزاحسین^۱، ملیکا متقیان^۱ و مهرداد بابایی^۲

۱. دانشکده فیزیک، دانشگاه صنعتی شریف، تهران

۲. مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران

پست الکترونیکی: sreihani@sharif.edu

(دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۲/۱۵؛ دریافت نسخه نهایی: ۱۳۹۷/۰۶/۲۶)

چکیده

تلاش‌های زیادی برای مطالعه رفتار مواد پیچیده در ابعاد میکرومتر با روش‌های مختلف صورت گرفته است. یکی از این روش‌ها استفاده از انبرک نوری برای کاربردهای بیوفیزیکی است. گلبول قرمز به عنوان فراوان‌ترین سلول سازنده خون، نقش مهمی در حیات موجودات زنده دارد و خواص مکانیکی منحصر به فرد آن حائز اهمیت است. در این گزارش به مطالعه مواد نرم با استفاده از انبرک نوری پرداخته شده است. این کار حرکات ذره‌ای با ابعاد میکرومتر در تله نوری و همچنین در هنگام اتصال به یک سلول گلبول قرمز بررسی شد. انبرک نوری این امکان را می‌دهد که شکسانی سیال نیوتونی مثل آب و گلیسرین، به علاوه خواص مکانیکی مواد ویسکوالاستیک به عنوان مثال گلبول قرمز خون را اندازه‌گیری کند.

واژه‌های کلیدی: انبرک نوری، گلبول قرمز، میکرو-رفتارشناسی سلول، ویسکوالاستیسیت، بیماری خونی

۱. مقدمه

بسیار نازک است [۶]. از این رو مطالعه خواص ویسکوالاستیک آن حائز اهمیت است. مواد ویسکوالاستیک موادی هستند که هر دو خاصیت کشسانی (خاصیت تغییر شکل بازگشت پذیر) و خاصیت شکسانی (مقاومت سیال در برابر اعمال تنش برشی) را از خود نشان می‌دهند. روش‌های زیادی برای مطالعه این خواص، از جمله استفاده از انبرک نوری به صورت فعال و غیرفعال وجود دارد [۷ و ۸]. در روش فعال با اعمال نیروی خارجی، مکان تله یا محفظه را به حرکت در آورده و از طرف

انبرک نوری با استفاده از پرتو به شدت کانونی شده لیزر قادر به تله‌اندازی ذرات از نانومتر تا میکرون است [۱]. نیروی وارد بر ذره تا دامنه خاصی از حرکت، خطی در نظر گرفته می‌شود [۲]. مطالعات بسیاری برای به دست آوردن دما و شکسانی در ابعاد میکرون انجام شده است [۳-۵]. گلبول قرمز یکی از حیاتی‌ترین سلول‌های سازنده خون است و به خاطر خاصیت انعطاف‌پذیری بالایی که دارد قادر به عبور کردن از مویرگ‌های

۲.۲. تعیین وشکسانی سیال

برای راست آزمایی کار با استفاده از ترکیب روش فعال و غیرفعال ما می‌توانیم کمیتی اضافه بر سختی تله (k) و β که در روش قبلی تعیین کردیم را به دست بیاوریم. در این روش ما جایگاه نمونه را با موج سینوسی با دامنه $A=150\text{nm}$ و بسامد $f_{\text{drive}}=10\text{Hz}$ به حرکت در می‌آوریم که مکان جایگاه نمونه به‌عنوان تابعی از زمان به صورت:

$$x_{\text{drive}}(t) = A \sin(2\pi f_{\text{drive}} t), \quad (3)$$

است. با نادیده گرفتن عبارت اینرسی همان طور که قبلاً توضیح داده شد معادله لانژون برای میکروکره به صورت [۳]:

$$\gamma[\dot{x}(t) - v_{\text{drive}}(t)] + kx = f(t), \quad (4)$$

است. که γ ضریب مقاومت سیال و $x(t)$ مکان ذره نسبت به مرکز تله و k سختی تله است. پس در حالت کلی پاسخ این معادله (۵) به صورت جمع دو عبارت زیر است:

$$x(t) = x_T(t) + x_{\text{response}}(t), \quad (5)$$

که $x_T(t)$ جابه‌جایی‌های ناشی از افت‌وخیز گرمایی است و به صورت

$$x_T(t) = \int_{-\infty}^t dt' e^{-\gamma\pi f_c(t-t')} \xi(t'),$$

و x_{response} جابه‌جایی‌های مربوط به پاسخ موج سینوسی

$$x_{\text{response}}(t) = \frac{x_{\text{drive}}(t - t_{\text{lag}})}{\sqrt{1 + \left(\frac{f_c}{f_{\text{drive}}}\right)^2}}, \quad (6)$$

که $t_{\text{lag}} = \arctan\left[\frac{f_{\text{drive}}}{f_c} - \frac{\pi}{2}\right] / 2\pi f_{\text{drive}}$ است.

حال طیف توانی این معادله علاوه بر عبارت اول در معادله (۲) شامل عبارت دیگری است که ناشی از پاسخ به موج سینوسی است:

$$P(f) = \frac{\langle |x(f)|^2 \rangle}{t_{\text{msr}}} = P_T(f) + P_{\text{response}}(f) \quad (7)$$

$$\xrightarrow{t_{\text{msr}} \rightarrow \infty} \frac{D}{\pi^2(f^2 + f_c^2)} + \frac{A^2}{\gamma \left(1 + \frac{f_c^2}{f_{\text{drive}}^2}\right)} \delta(f - f_{\text{drive}})$$

که t_{msr} زمان داده‌گیری است. با استفاده از معادله بالا می‌توان

دیگر حرکات ذره را مشاهده می‌کنند ولی در روش غیرفعال فقط حرکات گرمایی ذره را مورد مطالعه قرار می‌دهند. در اینجا ابتدا ما وشکسانی آب و مخلوط آب و گلیسرین را به دست می‌آوریم سپس خواص وشکسانی و کشسانی یک سیال ویسکوالاستیک را در فضای بسامد محاسبه می‌کنیم.

۲. نظریه

۲.۱. طیف توانی سیال وشکسانی

وقتی ذره‌ای مانند کره پلی استایرن را در یک سیال کاملاً وشکسان با استفاده از انبرک نوری به تله می‌اندازیم می‌توانیم نیروهای وارد بر آن را از معادله لانژون به صورت زیر بنویسیم:

$$m\ddot{x} + \gamma\dot{x} - kx = f(t), \quad (1)$$

که در معادله بالا γ ضریب مقاومت سیال و $\dot{x}$ نیروی مقاومت سیال، kx نیروی تله و $f(t)$ نیروهای تصادفی (گرمایی) که نتیجه برخوردهای تصادفی بین میکروکره و محلول است. در حد نیوتونی اثرات وشکسانی در تمام طول‌های زمانی مستقل از زمان بوده و ضریب مقاومت سیال را می‌توان از رابطه $\gamma = 6\pi\eta R$ به دست آورد. در آزمایش‌های ما به دلیل ابعاد آزمایش، عدد رینولدز بسیار کوچک بوده و اصطکاک نقش پررنگ‌تری در حرکات ذره بازی می‌کند پس می‌توان از سهم کوچک جمله اول صرف‌نظر کرد. از آنجایی که تابع $f(t)$ در فضای بسامد طیف شناخته شده‌ای دارد $\langle |f(\omega)|^2 \rangle = 4\gamma k_B T$ برای حل معادله بالا از طرفین معادله (۱) تبدیل فوریه می‌گیریم و طرفین را به توان دو می‌رسانیم تا طیف توانی مکان ذره را به دست آوریم [۹ و ۱۰]

$$|x(f)|^2 = \frac{K_B T}{\gamma \pi^2 (f^2 + f_c^2)}, \quad (2)$$

که در آن f_c بسامد گوشه و برابر $\frac{k}{2\pi\gamma}$ است، که k ثابت فنر تله نوری است. برای مطالعه رفتار ذره ما از QPD استفاده می‌کنیم که به جای کمیت مکان ذره، ولتاژ را گزارش می‌کند. مکان و ولتاژ در اولین تقریب، توسط ضریب تبدیل β به هم مربوط می‌شود $(x(t) = \beta x^{\text{volt}}(t))$ [۱۱].

به دست می‌آید. از آنجایی که آب یک سیال نیوتونی است و قضیه اتلاف-نوسان در آن صادق است می‌توان بخش موهومی تابع α را به وسیله انتگرال کرمرز-کرونیک^۲ از بخش حقیقی محاسبه نمود [۱۲]:

$$\alpha'(\omega) = \frac{2}{\pi} p \int d\omega' \frac{\alpha''(\omega)\omega'}{\omega'^2 - \omega^2}, \quad (15)$$

که در آن P همان انتگرال کوشی است. حال با محاسبه تابع α می‌توان قسمت حقیقی و موهومی مدول مختلط را با استفاده از معادله

$$G(\omega) = \frac{1}{\epsilon \pi R \alpha},$$

به دست آورد. باید به این نکته توجه کرد که G' شامل اطلاعاتی از رفتار کشسانی تله و همچنین محیط اطرافش است. پس برای به دست آوردن رفتار کشسانی محیط باید اثرات تله را با استفاده از رابطه (۱۶)

$$G'(\omega) = G'_{\text{obs}} - \frac{K_{\text{trp}}}{\epsilon \pi R}, \quad (16)$$

کم کنیم.

۳. روش تهیه نمونه

برای تهیه نمونه خونی لازم برای این آزمایش به وسیله یک لنست^۳ از یک فرد سالم مقدار خیلی کمی، در حدود یک صد میکرولیتر خون گرفته شده است. این خون به وسیله محلولی از سرم سدیم کلرید ۰/۹٪ (نرمال سالین) و BSA^۴ (ساخت شرکت سیگما) رقیق می‌شود. غلظت BSA در محلول نهایی ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر است تا گلبول قرمز در محیطی قرار بگیرد که فشار اسمزی درون و بیرون برابر باشد. در این آزمایش از انبرک نوری با یک میکروسکوپ معکوس و یک لیزر تک مد Nd:YAG با طول‌موج ۱۰۶۴ و حداکثر با توان ۴ وات ساخت شرکت کوهیرنت^۵ استفاده شده است که لیزر با استفاده از عدسی شیئی المپیوس^۶، غوطه‌وری در آب با

ضریب β ، سختی تله و وشکسانی را با یک سری محاسبات ریاضی به دست آورد. می‌توان طیف توانی مکان و ولتاژ را به صورت:

$$P_{\text{response}}(f) = \beta^2 P_{\text{response}}^{\text{volt}}(f) \quad (8)$$

نوشت. برای تعیین ضریب β از معادله $\beta = \sqrt{\frac{w_{\text{th}}}{w_{\text{ex}}}}$ استفاده می‌کنیم که w_{th} با استفاده از انتگرال‌گیری از عبارت دوم معادله (۸) روی فضای بسامد به صورت زیر به دست می‌آید:

$$w_{\text{th}} = \int_0^{f_{\text{Nyq}}} P_{\text{response}}(f) df = \frac{A^2}{2 \left(1 + \frac{f_c^2}{f_{\text{drive}}^2} \right)}, \quad (9)$$

و w_{ex} را به صورت تجربی از ارتفاع طیف توانی ذره در بسامد مشخصه دست می‌آوریم

$$w_{\text{ex}} = [P^{\text{volt}}(f_{\text{drive}}) - P_T^{\text{volt}}(f_{\text{drive}})] \Delta f, \quad (10)$$

که در آن $\Delta f = \frac{1}{t_{\text{msr}}}$ ارتفاع قله است. با خواندن β و انجام یک سری محاسبات می‌توانیم به معادله زیر برسیم و وشکسانی سیال را از روی آن بخوانیم:

$$\gamma_{\text{ex}} = \frac{k_B T}{\beta^2 D^{\text{volt}}}, \quad (11)$$

۳.۲. مدول ویسکوالاستیک

در حالت کلی تبدیل فوریه حرکات ذره در تله به صورت زیر است [۱۲]

$$x(\omega) = \frac{f_{\text{th}}(\omega)}{\epsilon \pi R G(\omega)} = \alpha(\omega) f_{\text{th}}(\omega). \quad (12)$$

اگر ذره در تله در تعادل گرمایی با محیط باشد. با استفاده از قضیه اتلاف-نوسان^۱ حرکات کاتوره‌ای ذره را به α مرتبط می‌سازیم و می‌توانیم قسمت موهومی تابع α را به دست آوریم:

$$\alpha''(\omega) = \frac{\omega}{\epsilon K_B T} S(\omega), \quad (13)$$

که $S(\omega)$ چگالی طیف توانی حرکات کاتوره‌ای است که از رابطه:

$$S(\omega) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} |x(\omega)|^2, \quad (14)$$

۲. Kramers-Kronig integral

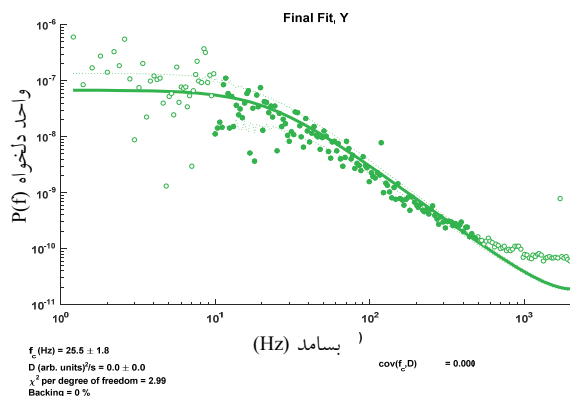
۳. Lancet

۴. Bovine Serum Albumin

۵. Coherent

۶. Olympus

۱. Fluctuation-dissipation theorem



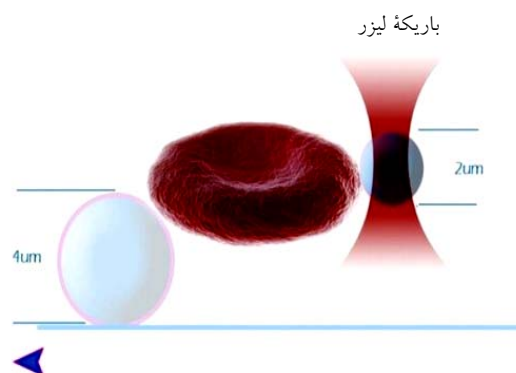
شکل ۲. (رنگی در نسخه الکترونیکی) برازش منحنی لورنتزی به داده‌های میکروکره دو میکرومتری برای محاسبه سختی تله و روش تحلیلی طیف توانی.

گلبول وارد نشود. سلول را با انبرک نوری به دام انداخته و به میکروکره چهار میکرومتری نزدیک می‌کنیم تا به آن بچسبد و سپس گلبول قرمز را رها کرده و به سراغ میکروکره دو میکرومتری می‌رویم تا آن را به دام بیاندازیم. میکروکره‌ها به خوبی چسبنده هستند و فقط کافی است برای چند ثانیه آنها را کنار سلول نگه داریم.

۴. داده‌ها و نتایج

۴.۱. کالیبراسیون

اکنون از مطالعه حرکات کاتوره‌ای ذره و تحلیل طیف توانی با برازش به معادله (۲) سختی تله و ضریب تبدیل ولتاژ را محاسبه کنیم. مدت زمان داده‌گیری در آزمایش‌ها پنج ثانیه بوده است. نمودار لورنتزی مشاهده شده در شکل ۲ مربوط به میکروکره دو میکرومتری در حالت آزاد است و همان طور که مشاهده می‌شود بسامد گوشه $1/8 \pm 25.7$ هرتز گزارش شده است. باید توجه داشت که بسامد نمونه‌برداری در این آزمایش چهار کیلوهرتز بوده و تنها داده‌های مربوط به بسامد کمتر از بسامد نایکوئیست^۹ معتبر است. سختی تله از رابطه $k = 2\pi\gamma f_c$ ، برابر با $3/16$ پیکونیوتون بر میکرومتر محاسبه شده است. همان طور که مشاهده می‌شود داده‌های موجود در



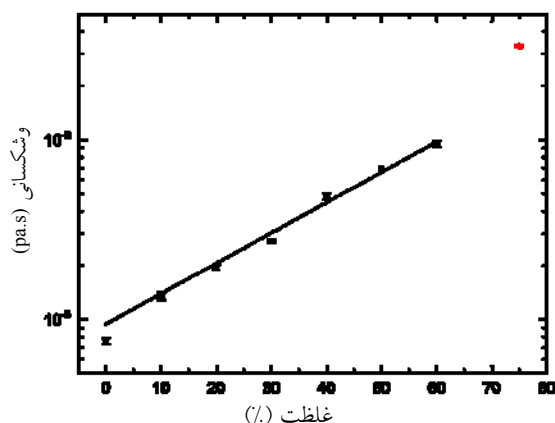
شکل ۱. (رنگی در نسخه الکترونیکی) میکروکره چهار میکرومتری بر روی لامل به عنوان پایه قرار گرفته و میکروکره دو میکرومتری با استفاده از انبرک نوری به دام افتاده است و گلبول از دو انتها به دو میکروکره متصل شده است.

بزرگ‌نمایی ۶۰ برابر و روزه عددی $1/2$ روی نمونه کانونی شده است. دستگاه آشکارسازی در این آزمایش با استفاده از جابه‌جایی نمونه، توسط فوتودیودهای چهارتایی^۷ اندازه‌گیری می‌شود [۱۳]. به دلیل حساسیت بسیار بالایی که دارند برای اندازه‌گیری‌های کوچک مناسب است. بسامد داده برداری چهار کیلوهرتز است و از نرم‌افزار متلب برای محاسبات استفاده شده است [۱۴]. محفظه استفاده شده برای نمونه مشابه همه میکروسکوپ‌ها از یک لامل (به ضخامت ۲۰۰ میکرومتر) و لامل (شیشه به ضخامت ۱ میلی‌متر) تشکیل شده است. در این آزمایش از دو نوع میکروکره ساخت شرکت اسفروتک استفاده کرده‌ایم. نمونه اول، کره پلی‌استایرن^۸ به قطر دو میکرومتر و دیگری به قطر چهار میکرومتر است که از اولی به عنوان دستگیره استفاده می‌شود و دومی را به سطح لامل می‌چسبانیم و از آن به عنوان نگه‌دارنده سلول استفاده می‌کنیم. ابتدا محلول حاوی میکروکره چهار میکرومتری را به داخل محفظه تزریق می‌کنیم و کمی صبر می‌کنیم تا ته‌نشین شود سپس محفظه را با محلول نرمال سالین شستشو می‌دهیم و بعد از آن محلول حاوی گلبول قرمز و محلول میکروکره دو میکرومتری را به محفظه اضافه می‌کنیم، باید دقت کرد توان لیزر کم باشد تا آسیبی به

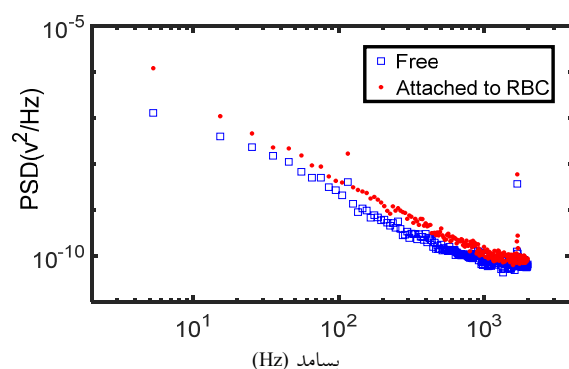
۲. QPD

۳. polystyrene

۴. Nyquist



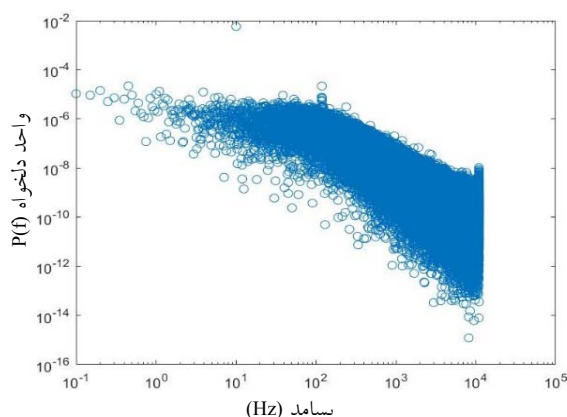
شکل ۴. (رنگی در نسخه الکترونیکی) نمودار نشان دهنده تغییرات وشکسانی با غلظت مخلوط آب و گلیسرین است. که نقاط به ترتیب ۰٪، ۱۰٪، ۲۰٪، ۳۰٪، ۴۰٪، ۵۰٪، ۶۰٪ و ۷۵٪ است.



شکل ۵. (رنگی در نسخه الکترونیکی) نمودار طیف توانی میکروکره در حالت آزاد (نمودار آبی) و در حالت متصل به گلبول (نمودار قرمز) نشانگر آن است که بسامد گوشه برای حالت متصل به گلبول کاهش یافته است.

گلبول کاهش یافته است. همچنین می‌دانیم سطح زیر نمودار طیف توانی مقیاسی از انرژی ذره است و مشاهده می‌شود که در حالت متصل به گلبول نمودار طیف توانی اندکی بالا رفته است. داده‌های در بسامدهای ۱۰۰ و ۱۰۸۰ هرتز مربوط به نوفه دستگاه است.

اکنون اگر نمودار فراوانی^۱ حرکت کاتوره‌ای ذره دو میکرونی، قبل و بعد از اتصال به گلبول را مشاهده کنیم، متوجه



شکل ۳. (رنگی در نسخه الکترونیکی) طیف توانی ذره‌ای با وارد شدن نیروی فعال سینوسی در بسامد ۱۰ هرتز.

انتهای بازه از نمودار لورنسی منحرف می‌شود. در شکل ۲ نقاط توپر در برازش منحنی سهم داشته اما نقاط تو خالی در برازش در نظر گرفته نشده است.

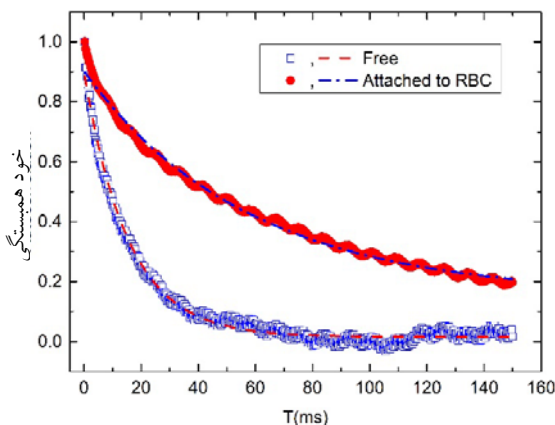
۲.۴. وشکسانی مخلوط آب و گلیسرین

همان طور که در بخش ۲.۲ توضیح داده شده، جایگاه نمونه را با بسامد ۱۰ هرتز و دامنه ۱۵۰ نانومتر به حرکت در می‌آوریم. همان طور که در شکل ۳ نشان داده شده قله بسامد ۳ هرتز به خاطر این نیروی خارجی است. سپس می‌توان ضریب وشکسانی سیال را محاسبه کرد. با استفاده از طیف توانی اندازه‌گیری شده و معادلات بخش ۲.۲ وشکسانی سیال آب و گلیسرین را برای غلظت‌های مختلف محاسبه می‌کنیم. شکل ۴ به خوبی نشانگر تغییرات نمایی وشکسانی نسبت به غلظت است اما برای غلظت‌های بالاتر از ۶۰ درصد ما شاهد تغییرات سریع‌تر از نمایی در این نمودار هستیم که با مشاهدات قبلی مطابقت دارد [۱۵].

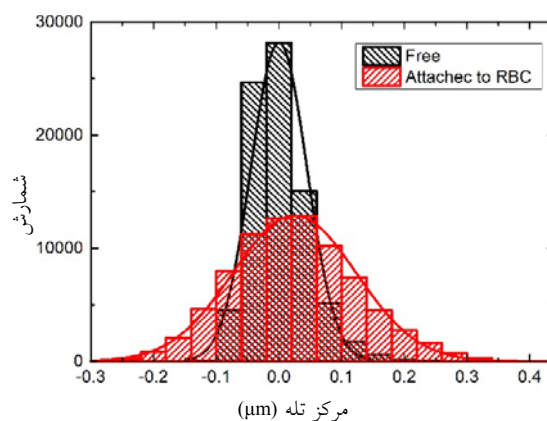
۳.۴. بررسی خواص مکانیکی گلبول قرمز

با مقایسه طیف توانی میکروکره‌ها در دو حالت آزاد و متصل به گلبول با توجه به شکل ۵ بسامد گوشه در حالت متصل به

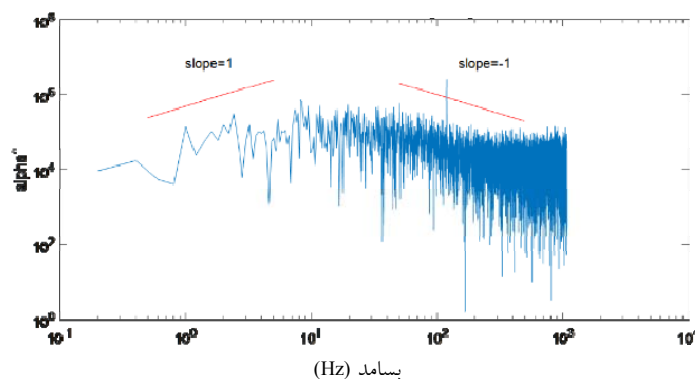
۱. histogram



شکل ۷. (رنگی در نسخه الکترونیکی) تابع خود همبستگی ذره در تله نوری در حالت آزاد (آبی) و متصل به گلبول (قرمز).



شکل ۸. (رنگی در نسخه الکترونیکی) نمودار فراوانی مکان ذره نسبت به مرکز تله در حالت آزاد (سیاه) و حالت متصل به گلبول (قرمز).



شکل ۹. (رنگی در نسخه الکترونیکی) نمودار تابع α'' بر حسب بسامد.

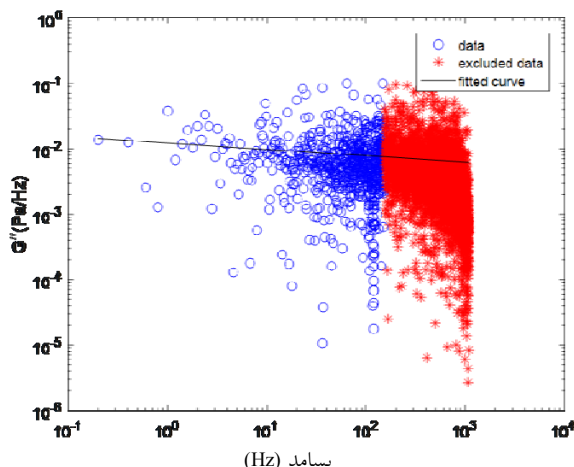
را روی محیط می‌گذارد. در شکل ۷، منحنی برازش شده هرکدام از توابع، مشاهده می‌شود. مشخصه زمانی ذره در حالت آزاد و متصل به گلبول به ترتیب 1 ± 0.154 میلی‌ثانیه و 0.7 ± 0.0574 میلی‌ثانیه گزارش شده است.

برای مطالعه خواص ویسکوالاستیک غشاء گلبول قرمز می‌توان با استفاده از داده‌هایی که از میکروکره دو میکرومتری که هم در حالت آزاد و هم در حالت متصل به گلبول گرفته شده است این دو حالت را با یکدیگر مقایسه کرد است. مدول کشسانی از رابطه با α به دست می‌آید پس با توجه به معادله (۱۵) با داشتن طیف توانی می‌توان قسمت موهومی تابع α را به دست آورد و همان طور که انتظار می‌رود با توجه به شکل ۸ داده‌ها ابتدا با شیب یک رشد می‌کنند و پس از بسامد گوشه با

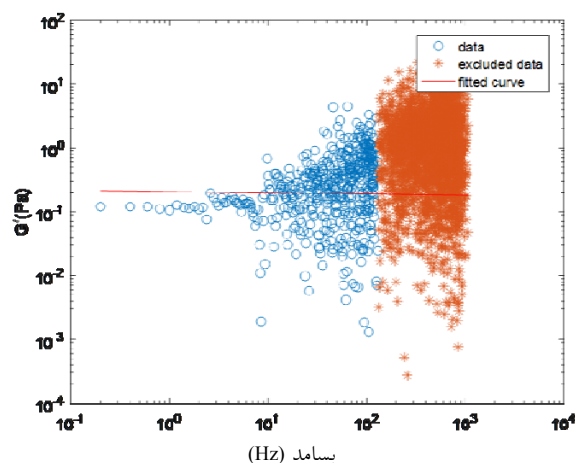
می‌شویم نمودار فراوانی حالت متصل به گلبول پهن‌تر شده است (شکل ۸). این تفاوت نشان می‌دهد که ذره متصل به گلبول قادر بوده است مدت زمان بیشتری را در فاصله‌های دورتری از تله سپری کند و انگار سختی تله را کمتر احساس کند. تابع توزیع ذره گاوسی بوده و ضریب پخش شدگی دورتری از تله سپری کند و انگار سختی تله را کمتر احساس کند. تابع توزیع ذره گاوسی بوده و ضریب پخش شدگی دورتری از تله سپری کند و انگار سختی تله را کمتر احساس کند. تابع توزیع ذره گاوسی بوده و ضریب پخش شدگی دورتری از تله سپری کند و انگار سختی تله را کمتر احساس کند.

$$f_{\text{autocorrelation}}(\tau) = \langle x(t+\tau)x(t) \rangle \quad (13)$$

برای دو حالت آزاد و متصل به گلبول در (شکل ۷) نشان داده شده است که تابع خود-همبستگی میکروکره متصل به گلبول قرمز دیرتر به صفر میل می‌کند و این نشانگر آن است که دستگاه حافظه طولانی‌تری یافته است و زمان بیشتری تأثیر خود



شکل ۱۰. (رنگی در نسخه الکتریکی) نمودار مدول اتلافی تقسیم بر حسب بسامد آب برای ذره‌ای به قطر دو میکرومتر.



شکل ۹. (رنگی در نسخه الکتریکی) نمودار مدول کشسانی آب بر حسب بسامد که به خوبی عدم وابستگی آن را به بسامد نشان می‌دهد. قسمت‌های نارنجی داده‌های جدا شده هستند و خط قرمز شیب برازش شده به نمودار در بسامدهای پایین است.

می‌دهد. خط برازش شده در نمودار تمام لگاریتمی 0.2 ± 0.2 است که رفتار بسامدی نسبت به حالت آزاد افزایش یافته است یعنی خاصیت کشسانی بیشتری از خود نشان می‌دهد. شیب برازش شده برای مدول اتلافی تقسیم بر بسامد، بر حسب بسامد در نمایش لگاریتمی 0.3 ± 0.05 به دست آمده است (شکل ۱۲) [۱۵].

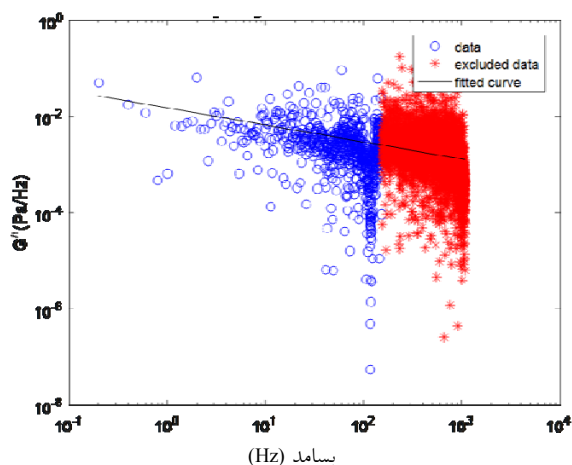
۴. نتیجه‌گیری

انبرک نوری وسیله‌ای بسیار خوبی برای اندازه‌گیری خواص مکانیکی مواد نرم، زیست پلیمرها و سلول‌های زنده است. با استفاده از تحلیل حرکات کاتوره‌ای یک میکروکره به دام افتاده در تله نوری، نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که مدول ذخیره‌ای برای آب با تقریب خوبی مستقل از بسامد بوده $(G' \propto f^{-0.2})$ و بخش مدول اتلافی تقسیم بر بسامد آب به شکل توانی تابعیت بسامد $(\frac{G''}{\omega} \propto f^{-0.9})$ از خود نشان می‌دهد. در مرحله بعد با استفاده از مطالعه میکروکره چسبیده به گلبول قرمز نشان دادیم که مدول ذخیره‌ای این بار به شکل نمایی تابعیتی از بسامد از خود نشان داد $(G' \propto f^{\frac{1}{2}})$ و مدول

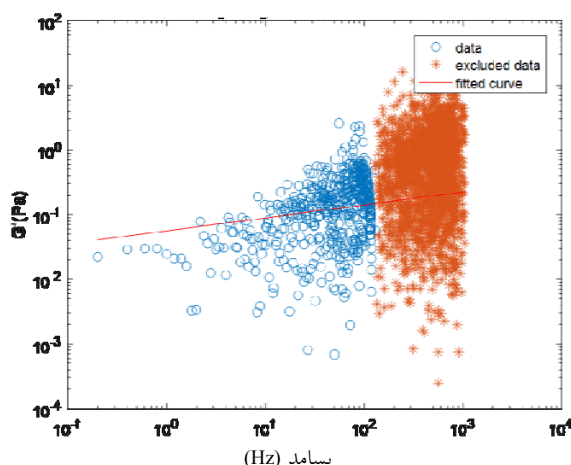
شیب منفی یک روند نزولی پیدا می‌کنند. حالا با استفاده از انتگرال کرامرز-کرونیک معادله (۱۵) می‌توان قسمت حقیقی تابع α را نیز محاسبه نمود.

در این صورت با در دست داشتن تابع α محاسبه مدول کشسانی کار ساده‌ای است. به ترتیب شکل‌های ۹ و ۱۰ نشانگر G' که مدول ذخیره‌ای و G'' مدول اتلافی آب و رابطه آنها با بسامد است. همان طور که انتظار می‌رود برای محلول آب که کاملاً کشسانی است مدول ذخیره‌ای G' مستقل از بسامد بوده و باید برابر صفر باشد. با توجه به شکل ۸ در بسامدهای پایین به خوبی مستقل از بسامد است و شیب برازش شده برابر 0.3 ± 0.02 به دست آمده است. علت عدم صفر بودن آن با توجه به رابطه (۱۶) تأثیرات تله نوری است که باید در محاسبات لحاظ شود. برای مدول اتلافی داده‌های G'' بر بسامد تقسیم شده است تا نواحی با شیب صفر بهتر دیده شود (شکل ۱۰). شیب خط برازش شده برای مدول اتلافی تقسیم بر بسامد، بر حسب بسامد در نمودار لگاریتمی 0.7 ± 0.09 به دست آمده است.

با توجه به شکل ۱۱ که مدول کشسانی G' برای حالت متصل به گلبول است و وابستگی آن را به بسامد نمایش



شکل ۱۲. (رنگی در نسخه الکترونیک) نمودار مدول کشسانی تقسیم بر بسامد گلبول قرمز.



شکل ۱۱. (رنگی در نسخه الکترونیک) نمودار مدول کشسانی میکروکره متصل به گلبول.

حالت آزاد از خود وابستگی بسامدی نشان داده است.

قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه صنعتی شریف (G۹۳۰۲۰۸) و صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (G۹۵۸۴۴۷۸۸) برای حمایت مالی اثر تشکر می‌شود.

اتلافی تقسیم بر بسامد به صورت ($G'' \propto f^{1/3}$) رفتار کرد که نشان دهنده این است که آب به عنوان یک سیال وشکسانی، تقریباً خاصیت کشسانی از خود نشان نمی‌دهد و به عبارت دیگر مدول کشسانی آن مستقل از بسامد است اما گلبول قرمز دارای خاصیت ویسکوالاستیک بوده است و مدول کشسانی آن وابستگی بسامدی داشته و مدول اتلافی با توان کمتری نسبت به

مراجع

1. F Hajizadeh and S Nader S Reihani, *Optics Express* **18**, 2 (2010) 551.
2. T Godazgar, R Shokri, and S Nader S Reihani, *Optics Letters* **36**, 16 (2011) 3284.
3. Tolić-Nørrelykke, F Simon *et al.*, *Review of Scientific Instruments* **77**, 10 (2006) 103101.
4. T Peterman, J G Erwin, F Gittes, and F Christoph Schmidt, *Biophysical Journal* **84**, 2 (2003) 1308.
5. P M Bendix, S Nader, S Reihani, and L Oddershede, *Biophysical Journal* **98**, 3 (2010) 185a.
6. N Mohandas and P G Gallagher, *Blood* **112**, 10 (2008) 3939.
7. Y Zoon Yoon, *et al.*, *Soft Matter* **7**, 5 (2011) 2042.
8. M Wojdyla, R Saurabh, and P Dmitri, *European Biophysics Journal* **42**, 7 (2013) 539.
9. M Capitanio *et al.*, *Review of Scientific Instruments* **73**, 4 (2002) 1687.
10. Williams, C Mark, "Optical Tweezers: Measuring Piconewton Forces", Biophysics Textbook Online: <http://www.biophysics.org/btol> (2002).
11. F Hajizadeh *et al.*, *Journal of Optics* **16**, 10 (2014) 105706.
12. D Mizuno *et al.*, *Macromolecules* **41**, 19 (2008) 7194.
13. F Gittes and C F Schmidt, *Optics Letters*. **23**, 1 (1998) 7.
14. K Berg-Sørensen and H Flyvbjerg, *Review of Scientific Instruments* **75**, 3 (2004) 594.
15. R R Brau *et al.*, *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics* **9**, 8 (2007) S103.