بیست و پنجمین کنفرانس اپتیک و
فوتونیک ایران و یازدهمین کنفرانس
مهندسی و فناوری فوتونیک ایران،
دانشگاه شیراز،
شیراز، ایران.
۹-۱۱ بهمن ۱۳۹۷

بررسی طیف عبوری تک گلبول قرمز در گذر زمان با استفاده از میکروسکوپ فراطیفی

مینا ملائی، احمد درودی* و پیمان سلطانی

گروه فیزیک دانشگاه زنجان

darudi@znu.ac.ir

چکیده - در این مقاله از میکروسکوپ فراطیفی برای بررسی طیف عبوری تک گلبول قرمز در غلظت مشخصی از سرم نمک در گذر زمان استفاده می‌شود. از سرم نمک به منظور نگهداری گلبول قرمز خون در محیط خارج بدن استفاده می‌شود. در عمل، نشان می‌دهیم که با گذر زمان، نسب طیف عبوری تک گلبول قرمز به دلیل اکسیداسیون آن تغییر پیدا می کند. برای این منظور میزان تغییرات طیف عبوری از گلبول قرمز در طول موج های مختلف در مدت ۳ ساعت بررسی می‌شود.

کلید واژه- دوربین فراطیفی، طیف عبوری، غلظت، گلبول های قرمز

Investigation of temporal evolution of red blood cell transmission spectrum by hyperspectral microscopy

Mina Mollaei, Ahmad Darudi and Peyman Soltani

Physics Department, University of Zanjan

darudi@znu.ac.ir

Abstract- In this paper, a hyperspectral microscopy was used to investigate the red blood cell spectrum in specified concentration of saline over time. The saline is used to keep red blood cells in outside of the body. In experiments we show that a red blood cell transmission intensity decrease by time. The changes in the spectrum of red blood cells over the course of different wavelengths are examined.

Keywords: Hyperspectral camera, spectrum, concentration, red blood cells

[Downloaded from www.opsi.ir on 2026-06-19]

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

۱-مقدمه

استفاده از روش‌های اپتیکی در زمینه‌های پزشکی و زیستی بسیار فراگیر شده است و برخلاف دیگر روش‌های اندازه‌گیری پیچیدگی و هزینه بالا نداشته ندارد. در این مقاله از میکروسکوپ فراطیفی برای مطالعه گلبول قرمز خون در محیط خارج از بدن استفاده می کنیم.

در تصاویر دوربین فراطیفی از یک نمونه برخلاف دوربین های RGB، هر پیکسل از تصویر شامل اطلاعات طیفی در صدها طول موج است، با داشتن جزئیات طیفی بیشتر می‌توان از آن به عنوان یک ابزار تشخیص استفاده شود. نتایج دقیق و سریع استفاده از دوربین فراطیفی موجب شده است که اخیرا استفاده از آن به صورت چشمگیری گسترش یابد.

دوربین تصویربرداری فراطیفی برای اولین بار در اواخر دهه ۷۰ میلادی در ایالات متحده امریکا انجام شد و از سال ۱۹۸۹ مورد استفاده گسترده قرار گرفت. دوربین‌های فراطیفی بر خلاف دوربین‌های رنگی RGB امکان مشاهده و تجزیه و تحلیل طیفی از نمونه‌هایی در تصاویر دو بعدی را با تفکیک‌پذیری بالای طیفی فراهم می‌کنند. اثر طیفی مربوط به مواد مختلف منحصر به فرد است و در نتیجه از آن در شناسایی مواد کمک می‌گیرند [۱]. طیف‌سنج فراطیفی بر خلاف طیف‌سنجهای متداول به سادگی در روی ابزار اپتیکی مختلف قابل نصب است و امکان تحلیل طیفی تصاویر را فراهم میکند. در زمینه‌های زیست شناسی سلولی، تحقیقات بنیادی مطالعه بافت‌ها و باکتری‌ها، شناسایی هموگلوبین و چربی، اتوفلورسانس چشم، ارزیابی توزیع اندازه ذرات در فرمولاسیونهای دارویی، بررسی تغییرات کاربردی اعمال شده روی نانو ذرات و دیگر زمینه های علمی مورد استفاده قرار می‌گیرند [۲و۳].

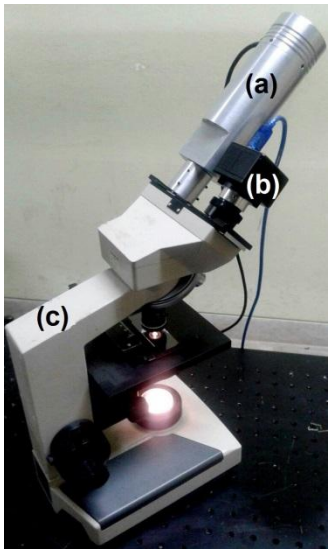
در این مقاله دوربین فراطیفی بر روی میکروسکوپ نصب شده و مطالعه بر روی گلبول خون انجام شده است. طیف قابل مشاهده‌ی خون تازه دارای سه قله است که بزرگترین آن در ۴۱۵ نانومتر که گاما و دو قله دیگر در ۵۱۴ و۵۷۶ نانومتر که به ترتیب آلفا و بتا نام دارند. ۹۸ درصد گلبول-های قرمز را هموگلوبین و دو درصد مابقی را پروتئین‌ها، گلوکز، لیپیدها و نمک‌های معدنی بوجود می‌آورند که به دلیل وجود چنین ترکیباتی، طیف مشخص خود را دارند [۳]. هموگلوبین‌ها بصورتهای مختلفی وجود دارند که به آنها مشتقات هموگلوبین گفته می‌شود، در داخل بدن رفتاری متفاوت از خارج بدن دارد.Hbo2 هموگلوبین اکسیژن دار است که در خارج از بدن خیلی سریع با اکسیژن تماس پیدا می‌کند. تغییر طیفی در ناحیه بتا و آلفا به دلیل اکسیداسیون Hbo2 به met-Hb و HC میباشد [۵]. در سال ۲۰۱۳ در مقاله ای که توسط L.bi,et al منتشر شده بیان می کند که طیف لکه خون در گذر زمان دستخوش تغییر می‌شود و توسط آن می توان مدت زمانی که از وجود آن لکه خون می گذرد را محاسبه کرد [۴]. پژوهشی که در مرجع [۴] انجام شده بر روی یک لکه خون یا مجموعه‌ای از گلبول‌ها بوده و هدف ما در این مقاله بررسی و مقایسه رفتار تک گلبول قرمز در گذر زمان می‌باشد که این کار با استفاده از دوربین تصویربرداری فراطیفی امکان‌پذیر است. دوربین فراطیفی مورد استفاده ساخت شرکت دانش بنیان پرتو افزار صنعت است.

۲-چیدمان میکروسکوپ فراطیفی و نتایج تجربی

چیدمان آزمایشگاهی میکروسکوپ فراطیفی در شکل (۱) نشان داده شده است. بر روی یکی از چشمی‌های میکروسکوپ دوربین فراطیفی ساخت شرکت پرتوافزار صنعت مدل HSI-Visb-12bit نصب شده است، شکل.۲ و چشمی دیگر برای دوربین CCD جهت نمایش نمونه مورد استفاده قرار می‌گیرد.

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

[Downloaded from www.opsi.ir on 2026-06-19]



شکل ۱: چیدمان میکروسکوپ فراطیفی، (a) دوربین فراطیفی، (b) دوربین RGB جهت مشاهده نمونه و (c) میکروسکوپ.

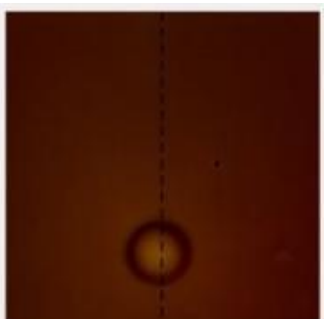
دوربین نمایش نمونه اطلاعاتی نظیر این‌که از کدام قسمت نمونه طیف گرفته می‌شود ، در اختیار ما قرار می‌دهد. دوربین فراطیفی در ناحیه طول موجی ۴۰۰ تا ۸۰۰ ناتومتر با قدرت تفکیک ۲ نانومتر درا متداد یک خط از تصویر طیف ثبت می‌کند، شکل ۳. هدف اصلی در تصویر برداری فراطیفی بدست آوردن طیفی نمونه در هر پیکسل از تصویر نمونه است. تصویر فراطیفی متشکل از عکس‌های طیفی نمونه در طول‌موج‌های مختلف که به صورت لایه لایه کنار یکدیگر چیده شده اند می‌باشد که در اصطلاح به آن مکعب داده‌ها می‌گویند.

لامپ استفاده شده در این میکروسکوپ، لامپ هالوژنی است که عملکرد آن در دمای ۲۷۰۰ تا ۳۳۵۰ کلوین می‌باشد. لامپ هالوژنی مورد استفاده، دارای طیف پیوسته از بازه طول موجی ۴۵۰ تا ۶۵۰ نانومتر می‌باشد

شکل ۲: دوربین فراطیفی

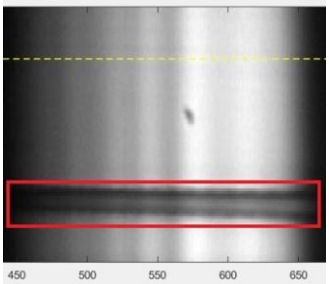
برای داشتن یک نمونه استاندارد آزمایشی، نمونه خونی یک داوطلب سالم گرفته شده و مورد بررسی قرار می‌گیرد. دو میلی لیتر از نمونه خون در محلول سرم نمک نگهداری می‌شود. رقیق سازی خون در محلول نمک، موجب پایداری گلبول قرمز شده و تکرارپذیری داده‌ها را ممکن می‌سازد [۲]. از سوی دیگر چون غلظت محیط خارجی سلول از محیط داخلی آن غلیظ‌تر است و طی پدیده ای آب تمایل به خروج از سلول را دارد تا زمانی که غلظت دو محیط باهم برابر شوند، نیاز به رقیق‌سازی نمونه در محلول نمک یک ضرورت است. طیف عبوری یک تک گلبول قرمز در غلظت مشخصی از سرم نمک در یک بازه‌ی زمانی مشخص، مورد بررسی قرار می‌گیرد.

پس از آماده کردن نمونه مورد نظر و قرار دادن آن زیر میکروسکوپ فراطیفی می توان تصویر گلبول مورد نظر را توسط دوربین نمایش نمونه در نرم افزار دوربین فراطیفی مشاهده کرد.



شکل ۳: نمایش نمونه در نرم افزار دوربین فراطیفی

با قرار دادن نمونه بروی خط نشان مشکی رنگ در شکل ۳ میتوان تصویر طیفی گلبول را در راستای آن مشاهده کرد، شکل ۴.



شکل ۴: تصویر طیفی از یک راستای گلبول

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

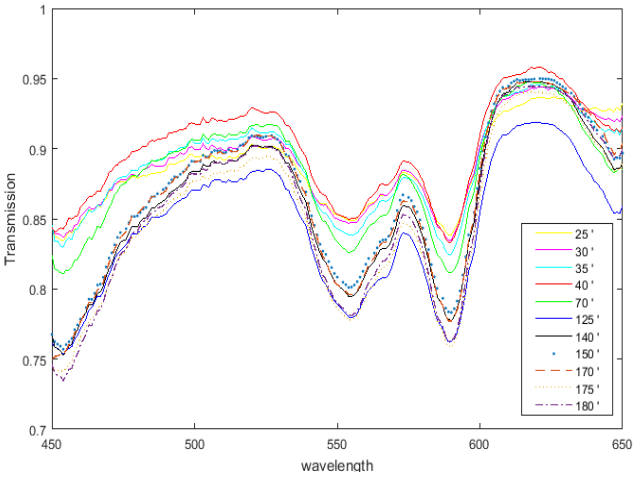
[Downloaded from www.opsi.ir on 2026-06-19]

سپس می توان طیف هر نقطه دلخوا بروی گلبول را در قسمت پایین نرم افزار مشاهده کرد. نمودار طیفی شکل ۵، نشان می‌دهد که با گذر زمان، طیف عبوری تک گلبول قرمز، دست‌خوش تغییر می‌شود. با گذر زمان، ضریب عبور گلبول قرمز در برخی طول موجها کاهش و در مقابل جذب آن افزایش می‌یابد[۳].

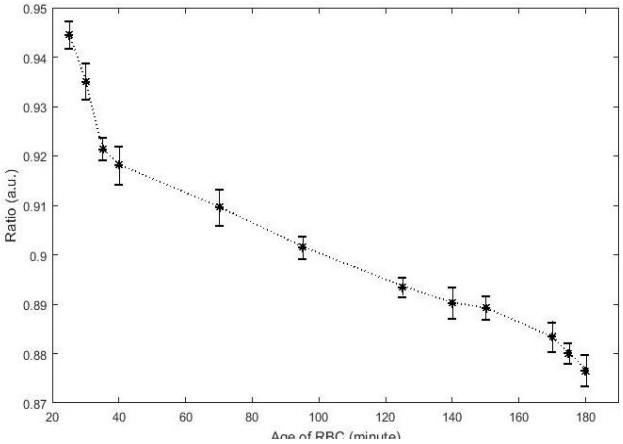
از نمودار شکل ۷، می‌توان این گونه استنباط کرد که گذر زمان بر روی رفتار تک گلبول قرمز تاثیر گذار است و می‌توان نسبت رفتار دو طول موج را در بازه زمانی مشاهده کرد[۴و۵]. این نشان می‌دهد که در گذر زمان و در محیط خارج سلولی، رفتار تک گلبول قرمز ثابت نبوده و تغییراتی را با خود به همراه دارد.

۳. نتیجه گیری

مطابق آزمایش انجام شده و نتایج بدست آمده از تک گلبول قرمز و تحلیل آن‌ها، می‌توان نتیجه گرفت رفتار تک گلبول و جمعی آنها تفاوتی ندارند و همچنین مشاهدات نشان می‌دهد بخشهای مختلف گلبول رفتار زمانی یکسانی نشان می‌دهند. به عنوان نمونه از کاربردی از تحقیق فوق تشخیص زمان فوت از تحلیل تصاویر فراطیفی امکانپذیر است.



شکل ۵: طیف عبوری تک گلبول قرمز



شکل ۶: بررسی تغییرات نسبت دو طول موج۵۵۰ و ۵۲۰ نانومتر

تقدیر و تشکر

از آقای دکتر علیرضا مرادی و خانم دکتر وحیده فرزام راد که ما را در تحلیل دادها و تهیه نمونه یاری دادند تقدیر و تشکر فراوان داریم.

مرجع‌ها

[1] Gao, L. and Smith, R.T., 2015. Optical hyperspectral imaging in microscopy and spectroscopy–a review of data acquisition. *Journal of biophotonics*, *8*(6), pp.441-456.

[2] Karpienko, K., Gnyba, M., Milewska, D., Wróbel, M.S. and Jędrzejewska-Szczerska, M., 2016. Blood equivalent phantom vs whole human blood, a comparative study. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, *9*(02), p.1650012.

[3] Vermaas, W.F., Timlin, J.A., Jones, H.D., Sinclair, M.B., Nieman, L.T., Hamad, S.W., Melgaard, D.K. and Haaland, D.M., 2008. In vivo hyperspectral confocal fluorescence imaging to determine pigment localization and distribution in cyanobacterial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105*(10), pp.4050-4055.

[4] Li, B., Beveridge, P., O'Hare, W.T. and Islam, M., 2013. The age estimation of blood stains up to 30 days old using visible wavelength hyperspectral image analysis and linear discriminant analysis. *Science & Justice*, *53*(3), pp.270-277.

[5] Bremmer, R.H., Nadort, A., Van Leeuwen, T.G., Van Gemert, M.J. and Aalders, M.C., 2011. Age estimation of blood stains by hemoglobin derivative determination using reflectance spectroscopy. *Forensic science international*, *206*(1-3), pp.166-171.

این مقاله در صورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

[Downloaded from www.opsi.ir on 2026-06-19]