

文章编号: 0258-7025(2004)11-1361-06

光阱刚度与实验条件的依赖关系

陈洪涛¹, 李银妹¹, 楼立人², 龚 璠¹, 邱 俊²

(中国科学技术大学¹ 选键化学开放实验室, ² 物理系, 安徽 合肥 230026)

摘要 对微小力的测量是光镊系统的重要功能。主要研究了进行微小力测量时所需的重要参数——光阱刚度与实验条件的依赖关系。在以 He-Ne 激光器为光源的光镊系统中, 得到了光阱刚度随着阱位距离样品池底面高度的提升而减小, 随着被捕获小球直径的增加而减小, 以及光阱刚度与激光功率具有线性的依赖关系等经验规律, 并作了定性的讨论。最后给出了该系统所能达到的测力精度和测力范围。

关键词 测量与计量; 光镊; 光阱刚度; 飞牛顿/皮牛顿力

中图分类号 O 435 **文献标识码** A

Experimental Conditions Dependence of Trap Stiffness in Optical Tweezers

CHEN Hong-tao¹, LI Yin-mei¹, LOU Li-ren², GONG Zan¹, QIU Jun²

(¹Open Laboratory of Bond Selective Chemistry, ²Department of Physics,
University of Science & Technology of China, Hefei, Anhui 230026, China)

Abstract The measurement of tiny force is an important function of the optical tweezers, for which the trap stiffness plays a key role in the measurement. In this paper, the results of the experimental study on the regulation are reported that the trap stiffness changes with experimental conditions. The results show that the trap stiffness is linearly dependent on the laser power and decreases with the trap height increasing of the bead. In addition, it decreases along with the diameter increase of the trapped bead. The results are qualitatively discussed. The accuracy and range of force measurement are also analyzed.

Key words measurement and metrology; optical-tweezers; trap stiffness; femtonewton/piconewton force

1 引 言

微小宏观粒子的尺度从数十纳米到数十微米, 它们是很多宏观物质系统的基本组成单元, 光镊正是捕获操控这一尺度范围微粒的特有手段, 是对这一尺度范围内微粒的个体行为进行研究的基本工具。光镊的发明打开了在粒子层次上深入理解宏观粒子行为的大门^[1]。在生命科学、分散体系等涉及这种微粒的领域中, 光镊技术已经得到了重要应用并且正向纵深发展^[2,3]。

光镊能够操控微粒, 实际上是光施加给微粒一个作用力, 因此, 光镊犹如一个力的探针, 可以用来

进行微小力的定量测量^[4]。光镊的这种独特功能已经被成功地应用在纳米生物学等研究领域^[5,6], 成为微小粒子的静态和动态力学过程研究的理想手段。

在生物大分子水平上, 力学量是表征其特性和在生命过程中的作用的重要参量。生物大分子的尺度为纳米量级, 它要求力学量的测量具有与之相当的精度。与这种要求相适应的纳米光镊技术正在迅速发展之中^[7~9], 微小力的精确测量是它最重要的方面之一, 而光阱刚度的标定则是微小力测量的基础。由于光阱刚度明显地依赖于实验条件, 每次都

收稿日期: 2003-07-17; 收到修改稿日期: 2003-10-31

基金项目: 国家自然科学基金(10072062)和中国科学院知识创新工程重大项目(KJCX1-06-05)资助课题。

作者简介: 陈洪涛(1976—), 男, 新疆人, 中国科学技术大学物理系在读博士研究生, 主要从事光镊技术和光学微操作微加工的研究和应用。E-mail: htchen@mail.ustc.edu.cn

联系人: 鲍建华, E-mail: Liyinmei@ustc.edu.cn

需要根据具体条件对它进行标定。因此,光阱刚度的精确测量和它随实验条件的变化规律是微小力测量的重要环节。光镊技术中已经有多种方法可以实现光阱刚度的精确测量,如流体力学法、热运动分析法、角频率法和外加周期驱动力法等^[10]。本文主要采用热运动分析法研究光阱刚度随实验条件的改变而变化的规律。

2 实验装置

实验装置如图 1 所示。光镊光源采用 He-Ne 激光器 (632.8 nm, 10 mW, Polarized, Coherent, USA)。He-Ne 激光束通过中性衰减片组改变光强,以适应不同测量范围。He-Ne 激光束经耦合光路进入倒置显微镜 (IX70, OLYMPUS, JAPAN),由油浸物镜 (100×, NA 1.3, OLYMPUS, JAPAN) 强会聚后形成光镊,通过压电扫描平台 (P-517.3CL, PI, German) 实现对样品的精确定位和操控^[11]。

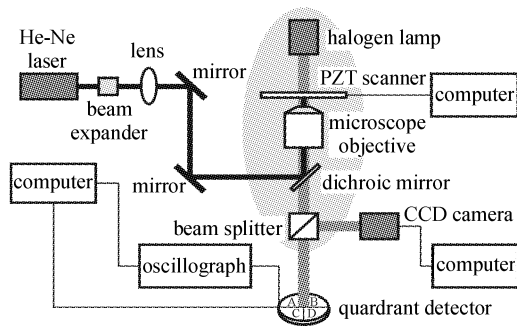


图 1 实验装置示意图

Fig. 1 Experimental setup

实验装置中包括两路独立的测量系统用以实现微米小球的纳米位移测量。一路为四像限探测器位移测量系统;另一路为 CCD 相机 (CoolsnapCF mono camera, USA) 图像采集和图像分析处理系统,通过对动态显微图像的分析来实现样品的位移测量。在实验测量中,采用图像分析法,实现微米聚苯乙烯小球的纳米精度位移的测量和在此基础上的光阱刚度的测量。

3 实验原理

光镊捕获夹持微小粒子具有非机械接触的特点。微小粒子在强会聚激光束的作用下,犹如处在一个势阱中。这个势阱称为光势阱,也叫光阱。当微粒偏离光阱的中心(即光阱阱位),就会受到一个

指向该中心的光阱力,也就是说,光镊像是一个三维的弹簧。因此,光镊不但可以进行微粒的操控,而且可以进行微小力的定量测量。

利用光镊测量微小力是基于下述事实:在围绕光阱中心的区域,光镊束缚小球的势阱近似于简谐势,即微粒受到的光阱力 F 与其偏离光阱中心的位移 x 成线性关系,即 $F = -K_x \cdot x$, 常数 K_x 为光阱的刚度。因此,如果已知光阱的刚度,以及小球在外力 F 的作用下偏离光阱中心的位移 x ,就能够直接计算出小球所受到的作用力 F 。由于光阱的刚度与形成光镊的光场的强度分布密切相关,所以对一个确定的系统,首先要对光阱的刚度进行严格标定。对由高斯光束构成的理想光镊,其光场是轴对称的,所以光阱在垂直光轴的方向(称为水平方向、横向或径向)的刚度也是轴对称的。垂直轴方向(径向)的刚度 K_r 通常情况下比平行轴方向(轴向)的刚度 K_z 小,所以三维简谐势阱是一个回转椭球势阱,它可以通过两个回复力常数,即径向光阱刚度 K_r 和轴向光阱刚度 K_z 来描述。M. Capitanio 和 A. Rohrbach 都对光镊三维势阱作过讨论^[10,12],一般情况下, $K_r = K_x = K_y = \alpha K_z$ 。当球差影响很小的时候, $\alpha \approx 4$; 当球差影响较大的时候,例如将物镜从物平面与样品池底面重合时的位置出发,提升 $20 \mu\text{m}$, 则 $\alpha \approx 10$ 。实验结果也证实了在径向上光阱具有很好的对称性;而粒子容易从轴向逃逸出光阱的现象,也充分表明轴向的捕获力比径向的光捕获力要弱得多。通常利用光镊作为力的测量工具,主要是用其水平方向的力学性质,本文主要针对光镊径向的光阱刚度进行系列实验研究。

热运动分析法是常用的测量光阱刚度的方法^[13]。光镊势场中的微米小球,在平衡点附近作无规则的热运动,位置分布的概率密度遵从理想简谐势情况下的玻尔兹曼分布规律。对小球在不同时刻的热运动位置反复进行测量,然后进行小球位置数据统计,得到小球位置概率分布的实验曲线。将实验曲线与理想简谐势模型下玻尔兹曼概率密度曲线相拟合,即可得到光阱的刚度。

4 光阱刚度的实验研究

4.1 实验条件与方法

实验样品为聚苯乙烯小球悬浮液,小球直径 $(3.063 \pm 0.027) \mu\text{m}$ (Duke Scientific, USA)。将其置于内孔直径为 6 mm, 高度为 1 mm 的硅胶垫圈

中,上下表面用盖玻片密封。CCD 相机采集小球经 150 倍光学放大成像,小球的精确位移信息通过图像分析法获得。对在相同条件下的小球布朗运动过程,每次采集 5000 张图像,每张图片曝光 1 ms,重复三次。在激光与显微镜耦合窗口处测量激光的入射功率,功率改变由中性衰减片组来实现。通过压电扫描平台带动样品池整体相对显微镜运动,就能控制液体环境(相对于显微镜运动)和被捕获小球(相对于显微镜静止)的相对运动。由于随着光镊阱位距离样品池底面高度的变化,光阱刚度会发生改变,除非特别说明,所有的实验均在光镊阱位距离底面 20 μm 高度进行。

4.2 结果与讨论

4.2.1 激光功率的变化对光镊刚度的影响

改变激光入射功率,通过 CCD 相机分别采集 3 μm 聚苯乙烯小球在光阱中的布朗运动位移图像。由热运动分析法分析不同激光功率下的运动图像,得到光阱刚度随激光功率变化的规律,如图 2 所示。激光入射功率从 4~10 mW 的区域,光阱刚度随入射激光功率的增加而加大,具有线性关系。

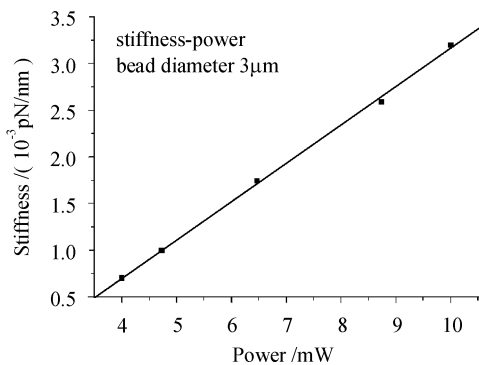


图 2 光阱刚度随激光功率的变化曲线

Fig. 2 Trap stiffness versus laser power

4.2.2 光阱刚度和阱位距离样品池底面高度的关系

实际研究工作中,经常用光镊在距样品池底面的不同高度对粒子进行微小力的测量,因此需要对不同高度情况下的光阱刚度进行标定。确定阱位位置的方法是,在光镊捕获小球以后,逐渐降低物镜(也就是降低物平面),直到小球和底面相接触,此时小球处于最低的位置。这一位置被取作光镊轴向位置原点。此时光束焦点接近玻片表面,球差可以忽略,真实会聚点与理想会聚点重合。以此为原点,逐渐升高物镜高度,改变了阱位理想位置距离样品池底面的高度。

以 5 μm 为步长提升物镜的高度,用热运动分

析法测量不同高度下的光阱刚度。图 3 给出的是当入射激光功率为 10 mW 时的实验结果,光阱刚度随着阱位理想位置离底面距离的加大而减小。并且实验中观察到当高度大于 25 μm 时,3 μm 小球容易在轴向逃逸。此时,光阱刚度有较大的测量误差。

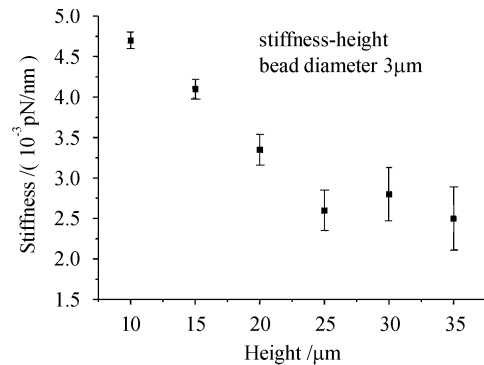


图 3 光阱刚度与阱位理论高度的关系

Fig. 3 Trap stiffness versus trap theoretical height

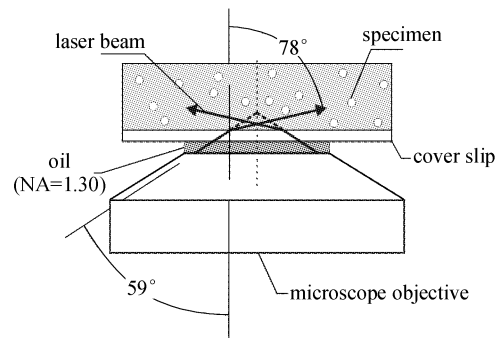


图 4 折射率不匹配对光镊的影响

Fig. 4 Effect of refracting index mismatch on the optical tweezer

光阱刚度随着阱位理想位置距离底面高度变化主要是由于球差造成的。在实际的光镊装置中,高数值孔径的油浸物镜是光镊的核心部件,它既具有近衍射极限的分辨能力,又被用于形成强会聚的激光光束——光镊。激光被物镜强会聚后穿过物镜匹配油和样品池底面玻片进入溶液,由于物镜匹配油($n = 1.52$),玻片($n = 1.52$)与水($n = 1.33$)的折射率不匹配,光线在它们的交界面发生折射,它的真实会聚点要偏离理想会聚点(无折射条件下的会聚点)而更靠近玻片表面,如图 4 中实线所示,此时阱位的实际位置偏离了通过提升物镜高度实现的理想阱位位置。球差的存在导致光束在焦点的会聚情况和强度分布发生变化。随着高度的增加,焦斑的尺寸增大,光阱刚度减小,轴向和横向捕获力减小。因此介质的折射率不匹配不仅降低了光学分辨力,也

使光镊的捕获能力下降^[9]。

光束在焦点的会聚情况和强度分布随高度增加而发生变化,也使光镊中小球稳定捕获点的轴向位置相对于成像平面发生了变化。图 5 给出了 $1\ \mu\text{m}$ 小球的变化趋势图,图 5(a)为阱位理想位置距离底面 $5\ \mu\text{m}$ 的小球像,成像清晰。以步长 $5\ \mu\text{m}$ 逐步升高物镜并记录图像,可见小球的成像状态在不断地变化;小球提升到距离底面 $40\ \mu\text{m}$ 时,如图 5(b)最后一幅图,小球在光阱中的轴向位置相对于清晰成像的位置($5\ \mu\text{m}$)时,小球的像在轴向上已改变了约 $1\ \mu\text{m}$ 。

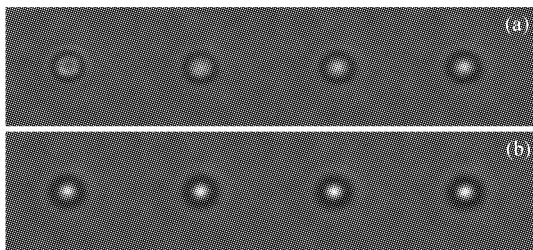


图 5 光镊中 $1\ \mu\text{m}$ 小球的轴向位移变化
阱位理想位置距离底面高度为 $5\sim 40\ \mu\text{m}$

Fig. 5 Axial displacement of bead with $1\ \mu\text{m}$ diameter
in optical tweezers
The height is from $5\ \mu\text{m}$ to $40\ \mu\text{m}$

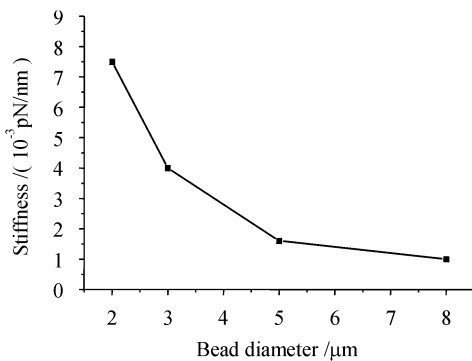


图 6 光阱刚度和小球直径的关系曲线

Fig. 6 Trap stiffness versus bead diameter

4.2.3 光阱刚度随粒子尺寸的变化

对处在光阱中的不同直径的小球($2\ \mu\text{m}$, $3\ \mu\text{m}$, $5\ \mu\text{m}$ 和 $8\ \mu\text{m}$),用上述方法测量了相应的光阱刚度。图 6 给出了在入射激光功率为 $10\ \text{mW}$ 时的结果,在所测量的小球尺度范围内,随着小球直径的增大,光阱的刚度逐渐下降。

由于所用小球的直径大于光波长,可以用几何光学模型对上述现象进行分析讨论。如果小球受到的重力和浮力的合力近似为零,可以给出定性的解

释。根据光镊的几何光学理论,阱力是小球直径与小球球心到焦点的距离之比的函数。小球越大,相应的阱位离焦点越远,因而同样的阱力对应的位移也越大,也就是说光阱刚度越小。

5 微小力的测量精度

利用已知光阱刚度的光镊,通过对光镊中小球位移的测量就可以实现微小力的测量。微小力的测量精度取决于光阱刚度和小球位置的测量精度。由于被光镊捕获的小球始终在光阱中作布朗运动,即使没有外力的作用,小球的实时位置也随时间起伏。因此,微粒的布朗运动限制了力的测量精度。

作用于小球的外力大体可以分为动态力和稳态力两种。对于动态力,即小球受到一个随时间变化的作用力,测量要达到很高的时间分辨力,才能够实时跟踪力的变化。一般对某个瞬间的力,测量时间是有限的,因此小球布朗运动对测量的影响无法完全消除。在测量变化较快的力时,这是主要的误差来源。

所谓稳态力,是指小球受到一个恒定的作用力,例如小球受到恒定流速的液体的作用。在稳态力的作用下,小球将偏离光阱中心到达新的平衡位置(外力和光阱力平衡),围绕该位置作布朗运动,而这种随机的位置起伏对测量精度产生的影响,可以通过大量数据统计平均来消除,因此,对稳态作用力的测量可以达到很高的精度。

在本实验条件下,光阱刚度的测量误差小于 5% ^[13]。因此这里主要考虑小球平衡点位置的精确测量。以 $3\ \mu\text{m}$ 小球为例,考察粒子在不同入射激光功率(不同的光阱刚度)时的布朗运动位移的情况。无外力作用时,光镊中的小球围绕光镊中心作布朗运动,小球的位置坐标为小球布朗运动位置坐标的统计平均,即为光镊中心位置坐标。当小球受稳态力作用到达新的平衡点时将围绕这一点作布朗运动,此刻小球布朗运动的位置坐标的统计平均值就是新平衡位置的坐标。而小球的位移是两个统计平均位置的差。如果取 N 幅(实验选取的 $N = 5000$)不相关的图像中小球位置的平均值作为小球的平均位置,那么小球平均位置的误差为

$$\sigma_{\text{Aver}}^2 = \frac{\sigma_{\text{Brown}}^2 + \sigma_c^2}{N - 1}$$

其中, σ_{Aver} 为粒子布朗运动平均位置测量值的标准偏差; σ_{Brown} 为布朗运动对位置测量的标准偏差的贡

献; σ_c 为对固定小球进行位置测量的标准偏差。如前所述, 实验测量结果 σ_c 为 0.3 nm。通过实验可以直接测量得到单次测量值的标准偏差 $\sigma_{\text{Brown}}^2 + \sigma_c^2$, 然后计算出 σ_{Aver} 。由于小球新平衡位置的坐标 x 和小球的中心位置坐标 x_0 都是统计平均位置, 所以小球偏离光镊中心的位移 $x - x_0$ 的标准偏差为 $\sqrt{2}\sigma_{\text{Aver}}$ 。

图 7 为在不同激光功率的光阱中布朗运动位移的标准偏差曲线。随着光功率的提高, 小球的布朗运动幅度受到了限制。图 8 为在不同激光功率的光阱中小球位移测量的标准偏差曲线, 它表明了该光镊系统所能达到的位移分辨能力。光功率的提高使小球的布朗运动幅度受到限制, 位移测量的标准偏差随之减小, 因此位移分辨能力得到了提高。图 9 为在光阱刚度已知的情况下, 力分辨能力和激光入射功率的关系。力分辨能力为一定功率下光阱刚度和位移分辨能力的乘积, 结果说明较小的功率具有较高的测力分辨能力, 可以达到飞牛顿量级。

对 3 μm 小球, 实验表明在光镊理想位置距离底面 20 μm 时, 回复力线性正比于位移这一关系成

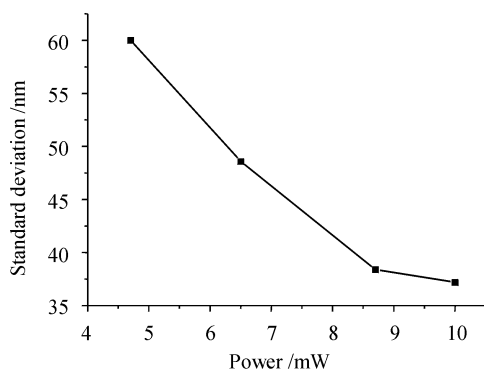


图 7 布朗运动位移标准偏差和激光功率的关系
Fig. 7 Standard deviation of Brown motion versus laser power

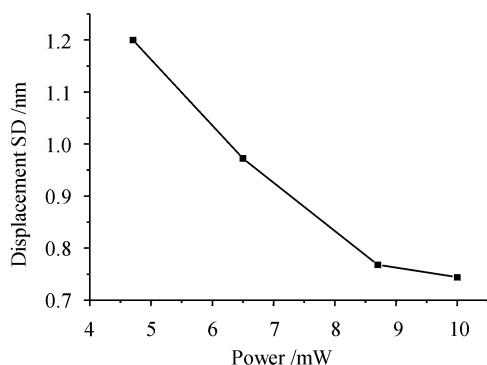


图 8 小球位移测量标准偏差和激光功率的关系
Fig. 8 Standard deviation of displacement versus laser power

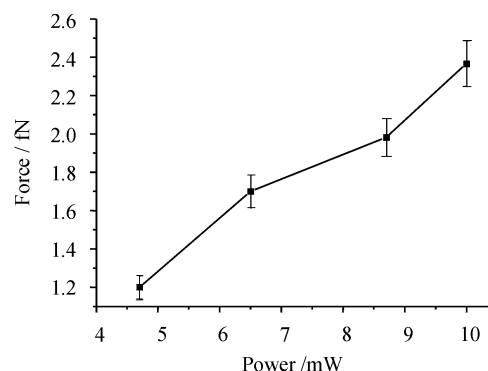


图 9 力分辨能力和激光功率的关系
Fig. 9 Force resolution versus laser power

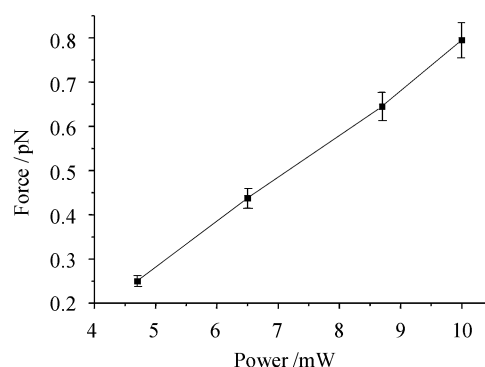


图 10 测力范围和激光功率的关系
Fig. 10 Force range versus laser power

立的区域在小球偏离光阱中心 250 nm 以内。因此在这个区域内, 不同功率下最大测力范围如图 10 所示, 在 10 mW 入射功率时, 测力范围为 0.76 pN。

6 结 论

通过系统研究光阱刚度与实验条件的依赖关系, 得到光阱刚度随着光镊距离样品池底面高度的增大而减小; 光阱刚度在微粒直径 2~8 μm 范围内是因捕获微粒直径的增大而减小; 光阱刚度和激光功率具有线性依赖关系等光镊系统的实验规律。在目前所使用的 He-Ne 激光光镊系统中, 测力分辨能力可以达到飞牛顿; 在回复力线性正比于位移的区域内, 最大测力范围为 0.76 pN。虽然对于不同的纳米光镊系统具体技术参数会有所不同, 但光镊的力学特性和变化规律是一致的。本研究结果为光镊系统进行微小力的测量、系统的设计和应用提供了一些有用的信息。

参 考 文 献

- 1 Li Yinmei. The Optical Tweezers: Principle, Technology and

- Application [M]. Hefei: Publishing Company of USTC, 1996. 8~18
- 李银妹. 光镊原理、技术和应用[M]. 合肥:中国科学技术大学出版社, 1996. 8~18
- 2 G. J. Sonek, Y. Liu, R. H. Iturriaga. *In situ* microparticle analysis of marine phytoplankton cells with infrared laser-based optical tweezers [J]. *Appl. Opt.*, 1995, **34**(33):7731~7741
 - 3 J. P. Hoogenboom, D. L. J. Vossen, C. Faivre-Moskalenko *et al.*. Patterning surfaces with colloidal particles using optical tweezers [J]. *Appl. Phys. Lett.*, 2002, **80**(25):4828~4830
 - 4 Chun-Cheng Huang, Chia-Fong, Dalip Singh Mehta *et al.*. Optical tweezers as sub-pico-newton force transducers [J]. *Opt. Commun.*, 2001, **195**:41~48
 - 5 G. V. Shivashankar, A. Libchaber. Single DNA molecule grafting and manipulation using a combined atomic force microscope and an optical tweezer [J]. *Appl. Phys. Lett.*, 1997, **71**(25):3727~3729
 - 6 Chen Hongtao, Li Yinmei, Lou Liren *et al.*. High precision measurements in optical tweezers [J]. *Chinese J. Lasers*, 2002, **A29**(Supplement):672~674
陈洪涛,李银妹,楼立人等. 激光光镊中纳米位移 QD 法和 CCD 法测量装置[J]. 中国激光, 2002, **A29**(增刊):672~674
 - 7 Cui Guoqiang, Li Yinmei, Weng Mingqi *et al.*. Improvement of the effective trapping force by using ring-beam laser [J]. *Chinese J. Lasers*, 2001, **A28**(1):89~92
崔国强,李银妹,翁明琪等. 环形光对有效捕获力的提高[J]. 中国激光, 2001, **A28**(1):89~92
 - 8 Yin Lianghong, Li Yinmei, Lou Liren *et al.*. Multiple methods of forming ring optical trap and resultant comparison [J]. *Chinese J. Lasers*, 2002, **A29**(Supplement):678~682
尹良红,李银妹,楼立人等. 实现环形光阱的多种方法及结果比较[J]. 中国激光, 2002, **A29**(增刊):678~682
 - 9 E. L. Florin, J. K. Heinrich Hörber, Ernst H. K. Stelzer. High-resolution axial and lateral position sensing using two-photon excitation of fluorophores by a continuous-wave Nd:YAG laser [J]. *Appl. Phys. Lett.*, 1996, **69**(4):446~448
 - 10 M. Capitanio, G. Romano, R. Ballerini *et al.*. Calibration of optical tweezers with differential interference contrast signals [J]. *Rev. Scient. Instrum.*, 2002, **73**(4):1687~1696
 - 11 Li Yinmei, Lou Liren, Yao Yuan. The observation and adjustment of the laser trap [J]. *Chinese J. Lasers*, 1998, **A25**(12):1083~1086
李银妹,楼立人,姚 媛. 光阱阱位的调节与观察[J]. 中国激光, 1998, **A25**(12):1083~1086
 - 12 A. Rohrbach, E. H. K. Stelzer. Trapping forces, force constants, and potential depths for dielectric spheres in the presence of spherical aberrations [J]. *Appl. Opt.*, 2002, **41**(13):2494~2507
 - 13 E.-L. Florin, A. Pralle, E. H. K. Stelzer *et al.*. Photonic force microscope calibration by thermal noise analysis [J]. *Appl. Phys. A*, 1998, **66**:S75~S78