

四象限探测器位移测量的标定方法

黄璐 郭红莲* 屈娥 凌林 李兆霖 张道中 李志远 冯宝华

(中国科学院物理研究所凝聚态物理国家实验室, 北京 100190)

摘要 提供了一种能实时快捷地对光镊系统中四象限探测器位移探测信号进行校准的方法。实验研究表明了该方法的可靠、精确,其自身的不稳定性小于 1%。利用该方法研究了校准系数随小球深度的变化情况,得出校准系数随小球深度的升高而减小。该方法可以用于光镊系统稳定性的监测。

关键词 探测器;激光光镊;标定;校准系数;位移

中图分类号 O439 **文献标识码** A **doi**: 10.3788/AOS201131.1004001

Method for Displacement Calibration of Four-Quadrant Photodetector in Optical Tweezers System

Huang Lu Guo Honglian Qu E Ling Lin Li Zhaolin Zhang Daozhong

Li Zhiyuan Feng Baohua

(National Laboratory for Condensed Matter Physics, Institute of Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China)

Abstract A method for real-time, quick calibration of four-quadrant photodetector (QD) signals in optical tweezers system is provided. The experimental results indicate that the method is feasible and precise. Its instability is less than 1%. In addition, the effect of the bead depth on calibration factor is investigated experimentally, and it is found that the calibration factor decreases when the bead depth increases. The method can be used to monitor the stability of the optical tweezers system.

Key words detector; optical tweezer; calibration; calibration factor; displacement

OCIS codes 040.5160; 350.4855; 350.4800

1 引 言

由于光镊可实现对生物活体样品的非实体、无损伤操纵^[1~3],该技术已经成为物理、化学、生物以及交叉学科中的一个重要工具^[4~11]。光镊系统最基本的功能是捕获并操纵样品,同时它也是微作用力的探针。在生物实验过程中,一般将微米级的介质小球(如聚苯乙烯小球)粘接在生物样品上,将球体作为“手柄”来对生物样品进行操纵,同时,通过测

量小球的位移来了解生物样品的运动和受力等情况,位移的测定是进行微小作用力测量的基础。采用 CCD 光能重心提取法^[12]、四象限探测器(QD)法^[13]和单光电二极管^[14]等可实现精确的位移测定,其中四象限探测器法是较常用的方法之一。而对于 QD 探测信号的标定方法,传统 QD 扫描法^[13,15]是普遍采用的方法,此方法通过移动 QD 探头对物体影像进行扫描,得到影像相对于 QD 的位移与 QD

收稿日期: 2011-03-21; 收到修改稿日期: 2011-05-18

基金项目: 国家自然科学基金(10604065)和国家 973 计划专项基金(2002CB713805, 2006CB910302, 2007CB935703)资助课题。

作者简介: 黄璐(1985—),女,硕士研究生,主要从事光镊及其在生物学中的应用等方面的研究。

E-mail: huanglu@aphy. iphy. ac. cn

导师简介: 冯宝华(1952—),男,博士,研究员,主要从事全固态激光特性研究及应用等方面的研究。

E-mail: bhfeng@aphy. iphy. ac. cn

* 通信联系人。E-mail: hlguo@aphy. iphy. ac. cn

输出电压的关系曲线来实现标定。

传统 QD 扫描标定方法操作不方便,耗时长,并且可能因为操作过程中系统的不稳定、QD 位移调节的误差等引起 QD 的位移与输出电压的转换系数的测量误差,进而对实验结果带来影响等。本文提供了一种能实时测量物体影像相对于 QD 的位移与输出电压的转换系数的方法,从而进一步得到小球位移和输出电压信号的转换系数。利用此方法可快速准确地获取标定参数,大大提高实验结果的可靠性和精度。

2 实验原理和方法

标定方法的基本原理是:根据光线经过平板玻璃后发生平移的原理,出射光线随玻璃的摆动而移动,从而实现影像信号在 QD 上的移动。通过小球影像位移以及 QD 输出信号的峰-峰值就可以得到位移-电压转换系数。

在本研究所使用的双光镊系统中,采用 Nd:YVO₄ 激光器和倒置研究型显微镜 (Leica DM IRBE)。测量系统分别为 QD (Hamamatsu1557-03) 和视频 CCD。将直径为 1 μm 的聚苯乙烯小球经 500 倍放大成像到 QD 探测表面,根据 QD 的输出电压信号以及电压-位移转换系数就可以精确获得小球偏离光阱中心的位移信息。为了获得实时的校准系数,实验中将一厚度为 1.18 mm,折射率为 1.50 的普通载玻片置于最小步距为 7.5° 的步进马达上,控制载玻片做 ±7.5° 的周期振动,振动频率为 2 Hz。图 1 是步进马达偏转系统的照片。±7.5° 的振动幅度和玻片 1.18 mm 的厚度保证了信号处在



图 1 步进马达偏转系统照片

Fig. 1 Picture of the stepping-motor deflection system

线性区。当马达停止运动时,载玻片停在 0° 位置,即载玻片表面垂直于入射光路。当载玻片偏转到 +7.5° 和 -7.5° 两个角度时,光线出射的位置相应移动(如图 2 中两幅插图所示),即当马达控制载玻片做 ±7.5° 的振动时,小球影像在 QD 的两个位置上回来跳动。因此,QD 的输出电压信号是一系列频率为 2 Hz 的方波(图 2)。根据输出电压信号的峰-峰值以及小球影像在 QD 上两个跳动位置间的距离就可以得到小球影像相对于 QD 的位移与输出电压的转换系数。

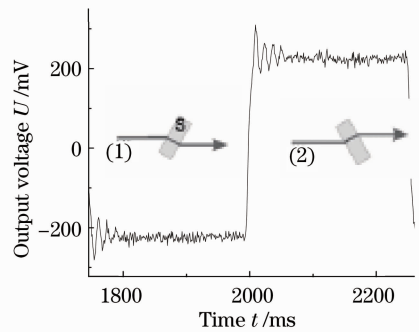


图 2 玻片作周期振动时四象限探测器的输出电压信号曲线。插图是玻片分别摆动 +7.5° 和 -7.5° 时出射光线位置的示意图

Fig. 2 Output voltage signal of QD when the glass plate oscillates periodically. The insert pictures show the emergent light when the plate is at +7.5° and -7.5°, respectively

对于本文提供的标定方法,首先要在马达控制载玻片做 ±7.5° 偏转时,对由光束的移动所引起的小球影像在 QD 上的位置移动进行测量。理论计算玻片在 ±7.5° 来回摆动时小球影像相对于 QD 移动的距离为

$$\Delta X = 2d \left\{ \sin u_1 - \cos u_1 \tan \left[\arcsin \left(\frac{n_1}{n_2} \sin u_1 \right) \right] \right\}. \quad (1)$$

式中 $d=1.18$ mm 为载玻片的厚度, $n_2=1.5$ 是其折射率, $n_1=1.0$ 为空气折射率, $u_1=7.5^\circ$ 为入射角,具体如图 3 所示。因此玻片作 ±7.5° 摆动时小球影像相对于 QD 的位移为 103.7 μm。

实验中用 CCD 拍摄玻片振动时光阱中小球的图像,并用灰度重心法计算小球影像位置的方法来实际测量该位移量。改变小球尺寸等条件进行多次测量,发现系统的重复性很好,影像位置和小球尺寸等因素无关。多次实验测量得到该位移量为 (103.3 ± 1.0) μm。在需要测量转换系数的任何时候,只需打开步进马达,根据 QD 输出电压的峰-峰值和小球影像相

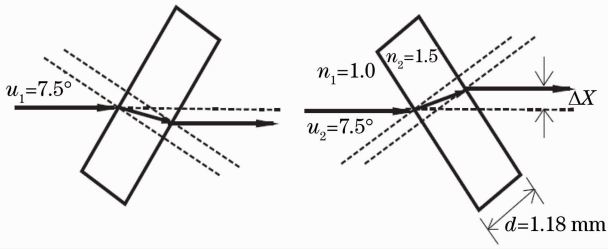


图3 平行平面玻璃片偏转光束原理示意图

Fig. 3 Schematic diagram of the glass plate deflecting light beam

对于 QD 移动的距离 ($103.3 \mu\text{m}$) 就能迅速获得位移-电压转换系数,再转换到光阱处,即可得到光阱中小球的位移与电压的转换系数。

根据以上原理与方法进行标定。激光器的输出功率为 4.0 W ,照明电压为 8.0 V ,用固定光阱捕获一个直径为 $1 \mu\text{m}$ 的聚苯乙烯小球,光阱距样品池底部 $6 \mu\text{m}$ (若无特殊说明,以后的实验条件与此相同)。

3 实验结果

实验结果如图 4 所示,方波的峰-峰值是此种标定方法的重要数据,测量得到峰-峰值为 $(490.5 \pm 3.3) \text{ mV}$ 。利用峰-峰值和前面标定好的偏转位移就能得出小球相对 QD 的位移与 QD 输出电压信号的转换系数,换算公式为

$$a = U_{p-p}/103.3,$$

式中 a 为转换系数, U_{p-p} 为方波的峰-峰值;转换系数的单位为 $\text{mV}/\mu\text{m}$ 。由该方法测得转换系数为 $(4.478 \pm 0.032) \text{ mV}/\mu\text{m}$ 。再根据光放大倍数 (500) 就能得到光阱处小球位移和输出电压信号的转换系数为 $(2.374 \pm 0.016) \text{ mV}/\text{nm}$ 。

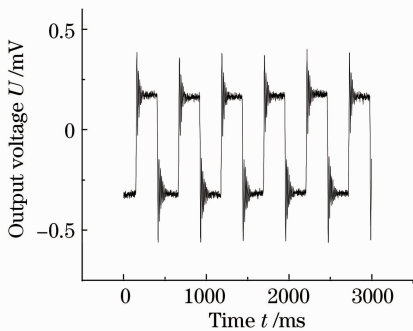


图4 平行玻璃片偏转光束时四象限探测器的输出电压信号随时间的变化曲线。方波峰-峰值的平均值及涨落为 $(490.5 \pm 3.3) \text{ mV}$

Fig. 4 Output voltage signal of QD when the glass plate deflecting light beam versus time. The peak-to-peak value of the square wave is $(490.5 \pm 3.3) \text{ mV}$

4 实验方法验证

为了验证该方法的稳定性,进行了以下实验:用光阱捕获一小球,在光镊光路中,加入马达偏转玻璃片并调节玻璃片的偏转角度,使得玻璃片在 0° 时垂直于光束。多次重复地开关马达,用 QD 采集未开马达时的电压信号和开马达时的方波信号。观察玻璃片停下来时 0° 角的稳定情况。

图 5 是未开马达时 X 方向 QD 采集信号和开马达时方波中心位置的变化曲线。由曲线可得出 QD 的 X 输出信号的均值为 $(-68 \pm 5) \text{ mV}$,方波的中心位置为 $(-76 \pm 5) \text{ mV}$,二者相差 $(7.1 \pm 2.1) \text{ mV}$,差值的涨落 (2.1 mV) 明显小于二者本身的涨落 (5 mV)。可见,QD 的 X 输出信号和方波中心位置信号虽不相等但平行性较好。二者不等可能是由于马达做 $\pm 7.5^\circ$ 偏转时,实际偏转并不对称,但这种机械缺点并不影响校准的准确性。重要的是二者的平行性表明马达 0° 和 $\pm 7.5^\circ$ 三者的位置关系相对比较稳定,即该系统本身具有很好的稳定性。

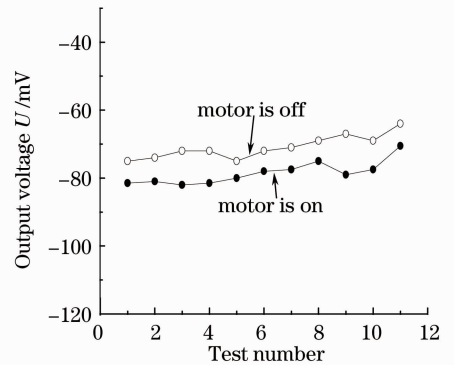


图5 系统稳定性测量

Fig. 5 Stability of the system

图 6 是多次测得的转换系数的变化:转换系数最大值为 $2.406 \text{ mV}/\text{nm}$,最小为 $2.347 \text{ mV}/\text{nm}$,其最大相差只有 2% ,该方法本身的涨落不到 1% ,从而验证了该方法的稳定性和可靠性。

为了进一步验证,将此方法与传统 QD 扫描法和移动光阱扫描法进行了比较。实验得到由该方法测得的转换系数为 $(2.374 \pm 0.016) \text{ mV}/\text{nm}$;用移动光阱扫描法和传统 QD 扫描标定法测得的校准曲线分别如图 7 和图 8 所示,线性拟合得到的校准系数分别为 $(2.299 \pm 0.006) \text{ mV}/\text{nm}$ 和 $(2.275 \pm 0.009) \text{ mV}/\text{nm}$ (此处拟合前所做的单位转换为:实验中控制转镜的马达移动 $1 \mu\text{m}$,相当于样品池处光阱移动 74.4 nm),本文方法的最大误差只有 4% 。这进一步证明了该方法的可行性和可靠性。

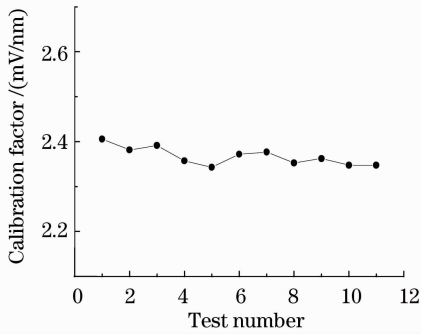


图 6 多次测得的校准系数变化曲线。平均值为 (2.367 ± 0.020) mV/nm

Fig. 6 Stability of the calibration factor measured by our method. The average value is (2.367 ± 0.020) mV/nm

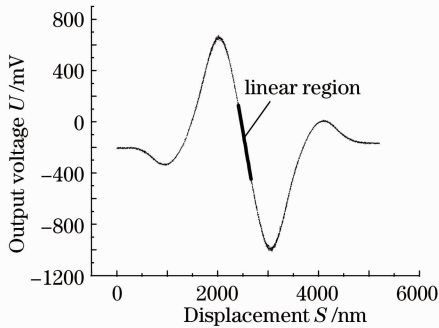


图 7 移动光阱扫描时 QD 输出电压信号随光阱位移的变化曲线

Fig. 7 Output voltage signal of QD versus position of the trap

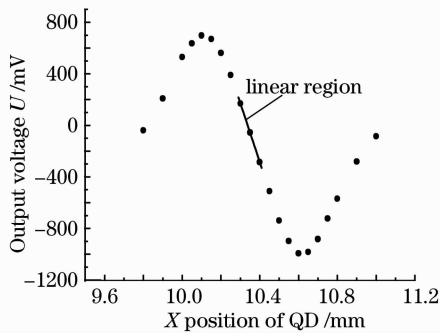


图 8 传统标定方法中四象限探测器与光阱捕获小球的影像发生相对移动时,输出电压的变化

Fig. 8 Output voltage signal of QD versus the position of QD by traditional calibration method

5 应 用

另外,利用本文提供的实时校准方法还研究了转换系数受小球深度变化的影响。用光阱捕获小球,控制小球下沉至接近样品池底,然后以步距 $1 \mu\text{m}$ 上升,其高度通过显微镜上的示数确定。其变

化曲线如图 9 所示,实验得出小球深度每升高 $1 \mu\text{m}$,校准系数减小 0.248 mV/nm。分析其原因可能如下:随光阱纵向深度的变化,由于物镜球差等的影响,小球在光阱中的平衡位置会发生变化,进而引起小球影像的变化,这种变化将直接影响到 QD 的输出信号,从而对校准系数产生影响。这一结果表明该方法可作为一种实时监测系统稳定性的手段。如在实验中小球的大小、纵向深度等参数发生变化,QD 的转换系数也会发生相应的变化。因此,在进行实验时,对每一组数据都做一次 QD 校准系数的测量显得尤为重要,这将直接关系到实验结果的精确性。

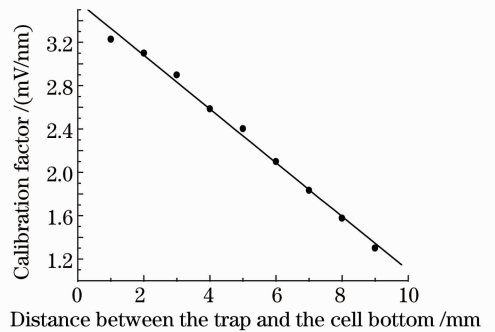


图 9 校准系数随小球深度的变化曲线

Fig. 9 Effect of the bead depth on calibration factor

6 结 论

提供了一种能实时、快捷地对光镊系统中四象限探测器位移探测信号进行校准的方法,实验证明该方法具有良好的稳定性,其自身不稳定性小于 1% 。将该方法的测量结果与其他方法进行了比较,进一步证明了其可靠性和精确度。在传统的方法中,需要人工调节 QD 的螺旋调节旋钮逐点改变 QD 的位移从而产生影像相对于 QD 的移动,操作不方便,耗时长。另外,如果物体形状不规则、尺寸不同,或光阱在样品池中的深度不同等,转换系数也不同,因此采用之前校准得到的系数很可能给实验带来较大误差。而本文提供的方法可以实时测量物体影像相对于 QD 的位移与输出电压的转换系数,提高了实验的精度。另外,此方法还可用于监测系统的变化,如照片光强、小球尺寸和小球纵向深度等参数的变化。

参 考 文 献

- 1 A. Ashkin, J. M. Dziedzic. Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria [J]. *Science*, 1987, **235**(4795): 1517~1520
- 2 A. Ashkin, J. M. Dziedzic, T. Yamane. Optical trapping and

- manipulation of single cells using infrared laser beams [J]. *Nature*, 1987, **330**(6150): 769~771
- 3 Chris Hawes, Anne Osterrieder, Imogen A. Sparkes. Optical tweezers for the micromanipulation of plant cytoplasm and organelles [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010, **13**(6): 731~735
- 4 T. Sugimoto, T. Takahashi, T. Itoh *et al.*. Direct measurement of interparticle forces by the optical trapping technique [J]. *Langmuir*, 1997, **13**(21): 5528~5530
- 5 Peng Fei, Yao Baoli, Lei Ming *et al.*. Fabrication of micro devices by use of optical tweezers[J]. *Chinese J. Lasers*, 2010, **37**(5): 1245~1252
彭飞, 姚保利, 雷铭等. 利用光镊系统制作微型器件[J]. *中国激光*, 2010, **37**(5): 1245~1252
- 6 J. C. Meiners, S. R. Quake. Direct measurement of hydrodynamic cross correlations between two particles in an external potential [J]. *Phys. Rev. Lett.*, 1999, **82**(10): 2211~2214
- 7 Zhang Yong, Ye Anpei, Wen Cheng. A micro-Raman spectroscopy combining with optical tweezers[J]. *Acta Optica Sinica*, 2010, **30**(2): 491~497
张勇, 叶安培, 闻丞. 一种与光镊结合的显微拉曼光谱技术[J]. *光学学报*, 2010, **30**(2): 491~497
- 8 P. M. Hansen, V. K. Bhatia, N. Harrit *et al.*. Expanding the optical trapping range of gold nanoparticles [J]. *Nano Lett.*, 2005, **5**(10): 1937~1942
- 9 Ren Hongliang, Zhuang Lihui, Li Yinmei. Measurement of interaction potential between colloidal particles using dual optical tweezers[J]. *Chinese J. Lasers*, 2008, **35**(1): 151~155
任洪亮, 庄礼辉, 李银妹. 双光镊测量胶体微粒间相互作用势[J]. *中国激光*, 2008, **35**(1): 151~155
- 10 E. Qu, Honglian Guo, Chunhua Xu *et al.*. Kinetics of microtubule-AtMAP65-1 bond studied with dual-optical tweezers [J]. *Jpn. J. Appl. Phys.*, 2007, **46**(11): 7514~7518
- 11 N. Kitamura, N. Sekiguchi, K. Haeng-Boo. Optical transformation and fission of single giant vesicles in water by radiation pressure [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1998, **120**(8): 1942~1943
- 12 J. Gelles, B. J. Schnapp, M. P. Sheetz. Tracking kinesin-driven movements with nanometer-scale precision [J]. *Nature*, 1988, **331**(6155): 450~453
- 13 R. M. Simmons, J. T. Finer, S. Chu *et al.*. Quantitative measurements of force and displacement using an optical trap [J]. *Biophys. J.*, 1996, **70**(4): 1813~1822
- 14 L. P. Ghislain, N. A. Switz, W. W. Webb. Measurement of small forces using an optical trap [J]. *Rev. Sci. Instrum.*, 1994, **65**(9): 2762~2768
- 15 H. L. Guo, C. X. Liu, Z. L. Li *et al.*. Displacement and force measurements with quadrant photodetector in optical tweezers [J]. *Chin. Phys. Lett.*, 2003, **20**(6): 950~952