

doi: 10. 3788/gzxb20124103. 0258

# 光热效应用于光纤光镊焦点位置的研究

李新宇, 梁姗姗, 孙长森

(大连理工大学 物理与光电工程学院 生物医学光学实验室, 辽宁 大连 116024)

**摘 要:**光镊是利用光穿过处于系统焦点的物体时产生的动量变化对其施加力的作用, 因此确定光镊系统焦点位置是极其重要的. 但目前缺少有效确定光镊焦点的方法. 本文提出利用测量皮安培量级电流的膜片钳技术, 基于光在溶液中产生的光热效应来确定光纤端面出射光斑的焦点. 基于水的吸收光谱, 选用波长为 980 nm、845 nm 和功率为 100 mW 的激光作为光源. 由于光热效应引起溶液电导的改变, 影响流过玻璃微电极的电流, 再用标准温度引起电流变化对膜片钳放大器记录的电流标定, 将电流值转换成温度值, 获得微电极尖端点的温升值. 用三维微操纵器控制玻璃微电极的空间位置, 获得温度空间分布, 从而确定该光斑焦点位置.

**关键词:**变焦光纤光镊; 光热效应; 膜片钳

**中图分类号:** Q632

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1004-4213(2012)03-0258-5

## 0 引言

激光光镊技术是利用光辐射产生的压力来捕获, 操纵微小颗粒的技术. 根据光量子理论, 光是一群以光速运动、有质量和动量的光子流, 当高度汇聚的激光束照射微小物体时, 光在物体的表面以及内部发生反射, 折射和吸收等现象, 会引起光子动量的变化, 动量传递到物体上, 使物体受到力的作用. 由于光镊技术的捕获尺度为几纳米到几十微米, 作用力为皮牛顿量级, 且具有非接触、无损伤的特点, 非常适用于细胞尺度物体的捕获, 在生物医学等领域已有很好的应用.

1970 年 Ashkin 首先在实验中观察到激光的辐射力<sup>[1]</sup>, 随后 Ashkin 采用两束功率相等、水平共轴、相对传输的会聚激光, 产生了稳定的光学势阱<sup>[2]</sup>, 对于光学捕获的研究, 真正的突破是在 1986 年. Ashkin 等人采用单束强会聚激光, 在水溶液中成功地完成了对介质微粒稳定的三维光学捕获<sup>[3]</sup>. 1993 年 A. Constable 首先提出使用光纤来实现光镊的方法<sup>[4]</sup>. 1995 年 E. R. Lyons 等提出使用端面做成半球形的双单模光纤来实现光纤光镊<sup>[5]</sup>. 1997 年 Taguchi 等人报道了单锥形透镜光纤对粒子捕获作用<sup>[6]</sup>, 实现了单光纤光镊. 与基于显微镜的光镊系统相比, 光纤形成的光阱操纵更加灵活, 光镊微操纵

系统简单适用, 大大提高了光阱捕获范围. 捕获光学系统从观察光学系统中分离出来, 使得在系统中添加激光束计量和光谱仪等测量设备有了较大的自由度.

光镊以其独特的优势, 目前在细胞和亚细胞尺度上生物微粒的操控, 如活细胞、细胞器和染色体的固定、分离和精细操作, 已有很多报道<sup>[7-9]</sup>. 光镊技术还被应用于对单分子施加力的效应, 从而研究其静态和动态力学特性<sup>[10-12]</sup>. 2008 年, 霍鑫将光镊与膜片钳实验相结合, 解决了悬浮细胞无法利用毛细玻璃微电极吸附、实现封接的问题, 为光镊技术的应用开启了一个新的领域<sup>[13]</sup>. 随着光镊技术的进一步发展, 其必将成为生命科学研究中的重要手段.

由于在光镊系统中, 力学作用的产生主要是依靠光学系统在光束焦点处产生的光学势阱来实现, 所以研究光镊系统光束焦点位置的确定对光镊技术的进一步发展有重要的意义, 但目前缺少确定光纤光镊焦点位置有效方法的实验报道.

本文提出利用光热效应测量光纤出射光在溶液中引发的温升来确定光束的焦点位置的方法, 具体方法是结合测量微电流的膜片钳技术来测量在光纤端面附近所引起的溶液温度场分布, 不同的温度会引起不同的电极电流改变, 这样温度升高最高点所对应的位置即应为光纤焦点的位置.

**基金项目:** 国家自然科学基金(No. 30870582)资助

**第一作者:** 李新宇(1986-), 男, 博士研究生, 主要研究方向生物医学光子学. Email:lixinyu33@gmail.com

**导师(通讯作者):** 孙长森(1966-), 男, 教授, 主要研究方向为生物医学光子学. Email:suncs@dlut.edu.cn

**收稿日期:** 2011-11-24; **修回日期:** 2011-12-28

### 1 实验方法

为了确定光纤焦点,本文提出通过测量出射光在溶液中引起的温度场变化来确定光纤焦点的方法,传统测量溶液温升的方法为热电偶测量,但这种方法的空间分辨率低、反应速度慢,不能满足精确测量溶液温度场微观分布的要求.研究发现用于生物电生理研究的膜片钳系统对溶液的温度变化十分敏感,可以用于温度的测量<sup>[14]</sup>.膜片钳技术是利用玻璃微电极与细胞膜形成高阻抗封接,测量细胞离子通道流过的微弱电流信号的技术,其值可达到 pA ( $10^{-12}$  A)量级,是一种低噪音的测量技术,将其与准确度为  $1\ \mu\text{m}$  的微操纵器结合,成为具有高空间分辨率、高准确度测量环境温度变化的技术.

如图 1 所示,用电极拉制仪将玻璃毛细管拉制成尖端为微米量级的玻璃微电极,电极电阻为  $3\sim 5\ \text{M}\Omega$ ,将充灌标准细胞外液的空电极和地线插入溶液中,形成回路.当激光辐照空电极时,溶液吸收光

能转化为热能,温度升高将使溶液内离子运动加快,而空电极电阻减小.使用光纤切刀将单模光纤端面切平,形成自然平整的光纤端面,然后将其水平的固定在一个培养皿底,光纤水平放置.在培养皿内加满标准细胞外液,并置于倒置显微镜上.将光纤端面调至显微镜的视野之内,然后将充灌标准细胞外液的玻璃微电极连接到膜片钳上,用准确度为一个微米的微操纵器来控制玻璃微电极,将其移动到显微镜视野内,使用 EPC10 膜片钳放大器 (HEKA, 德国) 来记录流过玻璃微电极的电流.使用微操纵器控制微电极,使其在光纤端面附近移动.由于出射光线具有空间对称性,只需测量与纤芯平行的一个平面就可得到温度场的三维空间分布,图 1 右侧图为玻璃微电极在光纤端面附近的扫描测量示意图.使微电极尖端与光纤纤芯处于同一水平面,并用微操纵器控制在这一平面内轴向每隔  $20\ \mu\text{m}$ ,径向每隔  $5\ \mu\text{m}$  移动微电极(如图 1 右侧图),并记录下在各个点处激光辐照下的电流值.用这些电流值减去无

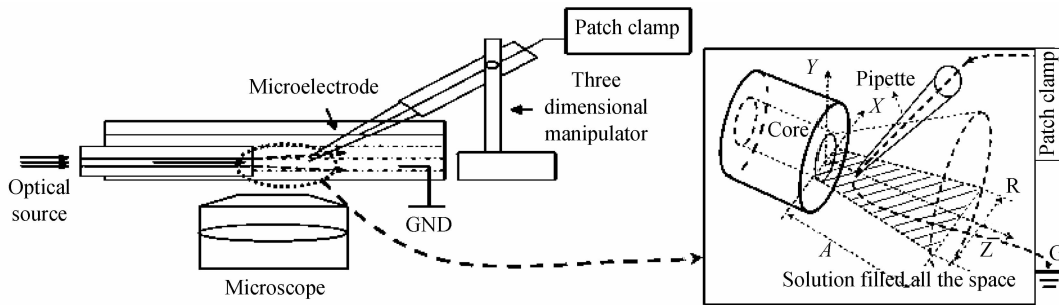


图 1 实验系统结构

Fig.1 Schematic illustration of the experimental setup

The right side figure: The schematic figure of pipette moving near the end of the optical fiber

光照时的电流值,就可以得到电流改变值.

半导体激光器由 Thorlabs 公司生产的 ITC510 型激光二极管控制器来驱动,并与膜片钳放大器同步工作,将产生的激光耦合进前端面切平的光纤内,经单模光纤传输后在光纤端面出射,出射的光强服从高斯分布.膜片钳放大器系统所构成的电路中的电阻主要来源于玻璃微电极,一般是在兆欧姆数量级,其他部分的电阻较之都要小六个数量级左右.当用激光辐照微电极时,温度的升高造成微电极电阻微小的变化,由膜片钳放大器施加一个  $1\ 400\ \text{ms}$ 、 $100\ \text{mV}$  的脉冲电压,会得到一个纳安量级的脉冲电流,当施加脉冲电压并用激光辐照电极进行调制时,观察到其电流值在激光辐照下增加,在  $500\ \text{ms}$  时趋于稳定.所以在施加  $1\ 400\ \text{ms}$  的脉冲电压的同时,对微电极进行  $500\ \text{ms}$  的激光辐照,得到在光辐照作用下微电极电流的变化值.图 2 为在施加脉冲电压基础上,用激光辐照电极所得到的电流值.

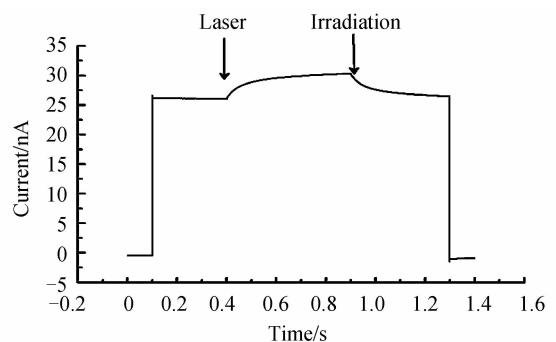


图 2 100 mV 脉冲电压的激光辐照玻璃微电极产生的电流曲线

Fig.2 Current curve from simultaneous 100 mV pulsed voltage and laser excitation on the microelectrode

为了得到相对应于电流变化的温度值,将玻璃微电极放入恒温控制的水槽中,水槽内为标准细胞外液,使用恒温控制器 (TC-324B, Warner) 控制溶液温度,从  $25\text{ }^\circ\text{C}$  到  $55\text{ }^\circ\text{C}$  每升高一度记录一次在  $100\ \text{mV}$  脉冲电压下的电流值,随着温度的升高电流值会变大,图 3 为各个温度下的电流曲线.

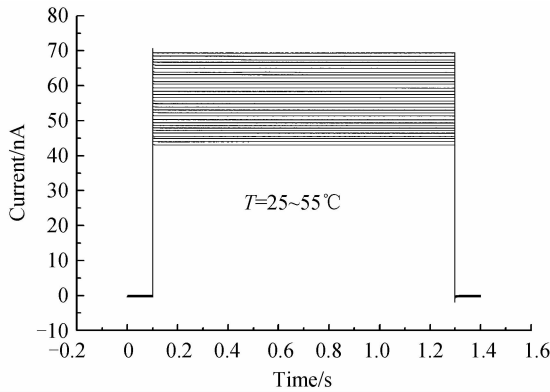


图3 当温度从 25℃ 升高至 55℃ 时 100 mv 脉冲电压下的电流曲线

Fig. 3 Current curve raised by 100 mv pulse voltage when temperature rises to 55℃ from 25℃

根据电流值随温度升高的关系曲线,通过线性拟合得到温升和电流改变值的关系,如图 4 所示.

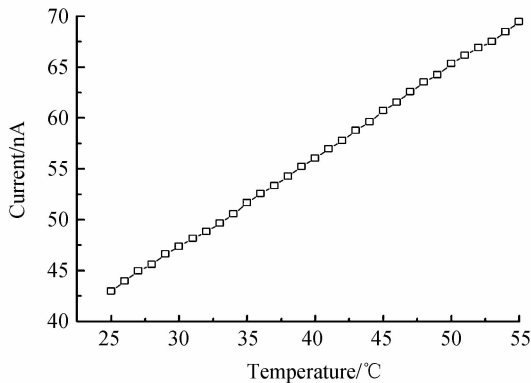


图4 膜片钳测得的微电极电流与培养皿中溶液温度的散点图与拟合的函数关系

Fig. 4 The pipette currents are a function of the chamber temperature; the measured data and fitting curve

$$T = 1.127 \times I - 23.30 \quad (1)$$

$T$  代表设定的温度值,  $I$  代表测得的电流值, 则温升值和电流变化值的关系式为

$$\Delta T / \Delta I = 1.127 \quad (2)$$

根据式(2), 可将激光辐照实验中测量到的电流改变值换算为温升值, 最终得到激光辐照下溶液中温度场的变化情况.

实验中选取 845 nm 和 980 nm 的半导体光源,

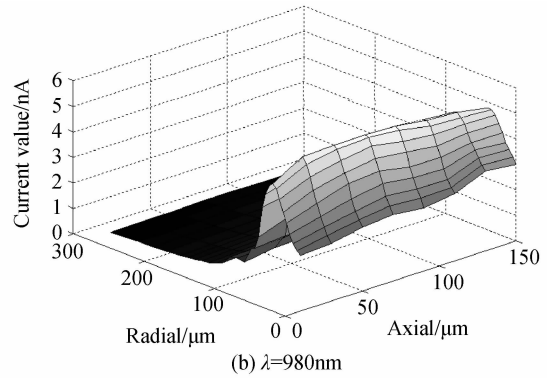
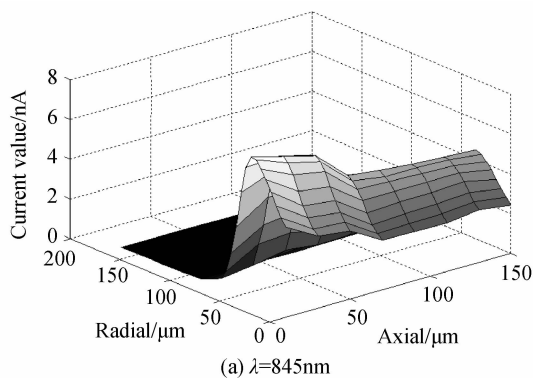


图5 激光辐照下引起的电极电流变化的空间分布

Fig. 5 Space distribution of current under laser irradiation using 100 mW 的功率来辐照微电极, 分别得到代表两种光源引起温升分布的电流值, 如图 5.

## 2 结果与分析

为了测出光纤光镊的焦点位置, 本文测出光纤纤芯轴线上某一个切面上的温度变化(如图 5 所示), 845 nm 和 980 nm 激光引起温升的最大值点分别为 10 μm 和 50 μm 处. 图中最大温度点的上升沿是由于所使用的梯度折射率光纤的自聚焦作用, 因为在光纤中传播光线为余弦传播, 而水的折射率 ( $n=1.33$ ) 与光纤纤芯折射率相差不多, 会在光纤端面附近处产生焦点. 这一聚焦作用将在焦点处产生能量汇聚并伴随光镊效应, 而由于水对光能的吸收就表现为焦点位置处的温升最大. 基于这样的分析, 根据子午光纤处的温升曲线(如图 6), 可以分别确定测得光纤对 845 nm 和 980 nm 激光的焦点为距光纤端面 10 μm 和 50 μm 处.

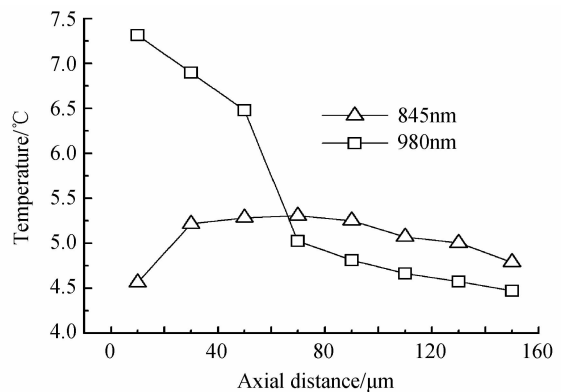


图6 845 nm 和 980 nm 激光在光纤纤芯轴线上引起的温升曲线

Fig. 6 Temperature curve on Axis under irradiation of 845 nm and 980 nm laser

自聚焦特性可以解释为: 由于光束在梯度折射率光纤纤芯内传播的轨迹为余弦函数, 如图 7. 对于平行入射光线, 如果梯度渐变折射率光纤的长度为  $P/4$  的奇数倍时,  $P$  为传播周期长度, 出射光线则聚

焦于径向变折射率透镜出射端面的光轴处;当光纤的长度略短于这一值时,对于这一波长的光会起到聚焦作用<sup>[15]</sup>,将光线聚焦于光纤端面前的一点,所以焦点位置与光纤长度和波长对应的折射率有很大关系.实验中测得的两种波长光的不同焦点即是由于光波长和光纤长度的不同造成的.对于梯度折射率光纤折射率表达式为: $n=n_0(1-Ar^2/2)$ ;式中 $n_0$ 为中轴上的折射率, $A$ 为聚焦常量, $r$ 为离开对称轴的距离.光线在光纤纤芯内以余弦函数传播,其传播周期为 $P=2\pi/A^{1/2}$ ,所以传播周期 $P$ 是随 $A$ 变化的.对于不同波长的光,波长越短光纤的聚焦常量越小,所以传播周期 $P$ 变长,得出在光纤中980 nm光对应的传播周期要比845 nm光的传播周期要长,所以会引起在出射时光能量焦点的位置离开光纤端面更远.从图5中的实验结果可以验证这一点.

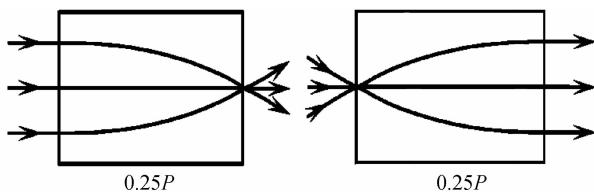


图7 在光纤长度为光线传播周期的1/4时的光线轨迹

Fig.7 Light track in 1/4 pitch optical fiber

另一方面,对于图5(b)中980 nm的长尾现象,可以用激光热镜(Thermal lens)理论来解释,Gordon首次提出这个理论是在1965年<sup>[16]</sup>.由于水介质的折射率是随温度的升高而减小的,而水折射率的这种负温度依赖使得高斯光束在水溶液中传播时,光吸收引起的温升会造成折射率的减小.这样越靠近光斑中心区的折射率就越小,因而使得后续光线穿过该凹透镜时会产生发散效果.这样在图6中845 nm和980 nm的激光都会在水溶液中产生热镜效应,进而对后续的光线产生发散作用.按照文献<sup>[17]</sup>中的结果水在980 nm处的吸收是0.502/cm;在845 nm处的吸收是0.0378/cm(可以通过对847 nm的0.0387/cm和833 nm的0.0308/cm线性插值获得),由于水对845 nm的光的吸收系数比980 nm的小一个数量级,经发散后水对845 nm激光的吸收会很不明显,因此如图6中所示光热效应造成的温度变化迅速的下降.而对于980 nm的光由于其吸收系数比较大,经热热镜发散后,使得水溶液的吸收面积变大,再加上水在该波长的强吸收而使得后面的温度升高区域变长,也和图5(b)及图6中的实验结果相符.

### 3 结论

利用本文提出的方法测得了光纤中不同波长出

射光由于光热效应而形成的焦点位置,这种方法的空间分辨率主要取决于微操纵器的准确度,如选择更精确的微操纵器可以获得更高的空间分辨率.膜片钳系统对于电流的微小变化非常敏感、且响应速度快,可以反映激光辐照对溶液造成的影响,这一方法在确定光纤光镊系统的焦点上有很大优势,有望在生物医学光子学中,使用近红外激光作为光纤光镊操纵光源时的定量研究中有广泛发展前景.

#### 参考文献

- [1] ASHKIN A. Acceleration and trapping of particles by radiation pressure[J]. *Physical Review Letters*, 1970, **24**(4): 156-159.
- [2] ASHKIN A, DZIEDZIC J M. Optical levitation by radiation pressure[J]. *Applied Physics Letters*, 1971, **19**(8): 283-285.
- [3] ASHKIN A, DZIEDZIC J M, BJORKHOLM J E, et al. Observation of a single beam gradient force optical trap for dielectric particles[J]. *Optics Letters*, 1986, **11**(5): 288-290.
- [4] CONSTABLE A, KIM J, MERVIS J, et al. Demonstration of a fiber-optical light-force trap [J]. *Optics Letters*, 1993, **18**(21): 1867-1869.
- [5] LYONS E R, SONEK G J. Confinement and bistability in a tapered hemispherically lensed optical fiber trap[J]. *Applied Physics Letters*, 1995, **66**(13): 1584-1586.
- [6] TAGUCHI K, UENO H, HIRAMATSU T, et al. Optical trapping of dielectric particle and biological cell using optical fiber[J]. *Electronics Letters*, 1997, **33**(5): 413-414.
- [7] LIU Zhi-hai, GUO Cheng-kai, WU Zhong-fu, et al. Numerical analysis and experiment of single fiber optic tweezers used in cell manipulation[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2009, **38**(4): 900-904.  
刘志海,郭成凯,吴忠福,等.一种用于细胞操作的单光纤光镊研究[J]. *光子学报*, 2009, **38**(4):900-904.
- [8] FALLMAN E, SCHEDIN S, JASS J, et al. Optical tweezers based force measurement system for quantitating binding interactions: system design and application for the study of bacterial adhesion[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2004, **19**(11): 1429-1437.
- [9] MOHANTY S, UPPAL A, GUPTA P. Self-rotation of red blood cells in optical tweezers: prospects for high throughput malaria diagnosis[J]. *Biotechnology letters*, 2004, **26**(12): 971-974.
- [10] SMITH S B, CUI Y, BUSTAMANTE C. Overstretching B-DNA: the elastic response of individual double-stranded and single-stranded DNA molecules [J]. *Science*, 1996, **271**(5250): 795-799.
- [11] BLOCK S M. Fifty ways to love your lever Myosin motors [J]. *Cell*, 1996, **87**(2): 151-157.
- [12] BUSTAMANTE C, CHEMLA Y R, FORDE N R, et al. Mechanical processes in biochemistry[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2004, **73**(1): 705-748.
- [13] 霍鑫. 激光光刀光镊耦合微束系统的设计及相关器件的研制[D]. 大连:大连理工大学,2008:49-53.
- [14] YAO J, LIU B, QIN F. Rapid temperature jump by infrared diode laser irradiation for patch-clamp studies [J]. *Biophysical Journal*, 2009, **96**(9): 3611-3619.
- [15] 刘德森. 变折射率介质理论及其技术实践[M]. 重庆:西南师范大学出版社,2005:101-104.
- [16] GORDON J P, LEITE R, MOORE R S, et al. Long-transient effects in lasers with inserted liquid samples[J].

*Journal of Applied Physics*, 1965, **36**(1): 3-8.  
[17] PALMER K F, WILLIAMS D. Optical properties of water in

the near infrared[J]. *Journal of the Optical Society of America*, 1974, **64**(8): 1107-1110.

## Focus Location Measurement of Fiber Optic Tweezer Based on the Photothermal Effect

LI Xin-yu, LIANG Shan-shan, SUN Chang-sen

(*Biomedical Optics Laboratory, School of Physics and Optoelectronic Engineering, Dalian University of Technology, Dalian, Liaoning 116024, China*)

**Abstract:** Fiber optic tweezer is an effective method in biomedical applications that can be used to operate the objective in a microscale. It employs the moment changes when the photon passes through a small particle to generate a weak force on the particle. So the accurate control of the focus is the most important thing for the application of the tweezer. However, the tweezer is usually used in liquid environment. So the focus location measurement becomes extremely important and this cannot be easily obtained through the common CCD technology. In order to solve this problem, the Patch Clamp technology is employed, which has been successfully used in the electrophysiology field. In this technique, a micro pipette filled with the extracellular solution bearing a mega Ohm resistance, can give rise to a microampere current measuring accuracy. Based on the optical characteristics of the pure water and the FTIR result proves that the optical characteristics extracellular solution are quite close to pure water, 845 nm and 980 nm wavelength are chosen as the operating wavelength. The photothermal effect is generated by the solution absorbed the optical energy, and this effect can also cause the microampere current changes according to the Ohm's law. In the experiment, the common communication fiber SMF28 is employed to fabricate a fiber-optic tweezer, and the light passes through the tweezer and incident to the solution. Following the scattering and absorption effect, the photothermal effect dominates the region of stimulation. When the micropipette filling with the solution is irradiated by the tweezer, the resistance of the micropipette will change determined by the temperature effect. Based on the scale of the micropipette, say 1 micro meter or so, the spot of the tweezer output can be measured through the micropipette movement under a precision control by a three-dimensional controller. In this way, a fine variable of the focus of the tweezer can be obtained when the wavelength switched.

**Key words:** Fiber optical tweezers; Photothermal effect; Patch clamp