

doi: 10.3788/gzxb20144305.0535001

功率谱密度法标定光镊的三维光阱刚度

梁言生, 姚保利, 雷铭, 于湘华, 严绍辉, 杨延龙, 但旦, 郜鹏, 闵俊伟, 叶彤

(中国科学院西安光学精密机械研究所 瞬态光学与光子技术国家重点实验室, 西安 710119)

摘 要:采用四象限探测器和功率谱密度法, 搭建了一套快速标定光镊三维光阱刚度的测量系统. 实验中, 用四象限探测器记录微粒做受限布朗运动时的位置信息, 用功率谱密度法标定光阱刚度, 测得了直径 $0.97 \mu\text{m}$ SiO_2 小球和直径 $1 \mu\text{m}$ PMMA 小球的光阱刚度与激光功率的关系. 结果表明: 对于 SiO_2 小球, 当激光功率为 $50 \sim 120 \text{ mW}$ 时, 光阱刚度与激光功率成正比; 对于 PMMA 小球, 当激光功率为 $80 \sim 130 \text{ mW}$ 时, 光阱刚度与激光功率成正比. 该光镊系统可用于生物、物理等微观领域研究的高准确度测力系统.

关键词:光镊; 光阱刚度; 布朗运动; 功率谱密度法; 四象限探测器

中图分类号: O439

文献标识码: A

文章编号: 1004-4213(2014)05-0535001-5

Calibration of Stiffness of Optical Tweezers in Three Dimensions with Power Spectral Density Method

LIANG Yan-sheng, YAO Bao-li, LEI Ming, YU Xiang-hua, YAN Shao-hui,

YANG Yan-long, DAN Dan, GAO Peng, MIN Jun-wei, YE Tong

(State Key Laboratory of Transient Optics and Photonics, Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710119, China)

Abstract: An optical tweezers system which can accurately and quickly calibrate the stiffness of optical tweezers in three dimensions was set up combined with quadrant photodiode detector and power spectral density method. The limited Brownian motion of the trapped particle was recorded by a quadrant photodiode detector, and the stiffness of optical tweezers was calibrated by power spectral density method. The relations of the laser power with the stiffness of a $0.97 \mu\text{m}$ -diameter silica bead and of the $1 \mu\text{m}$ -diameter PMMA bead were investigated. The results indicate that the stiffness is proportional to the laser power at the range from 50 mW to 120 mW of laser power for a $0.97 \mu\text{m}$ -diameter silica bead and at the range from 80 mW to 130 mW for a $1 \mu\text{m}$ -diameter PMMA bead. This system can be used as a precise force measuring tool for microscopic investigation in biology, physics, etc.

Key words: Optical tweezers; Stiffness; Brownian motion; Power spectral density method; Quadrant photodiode detector

OCIS Codes: 350.4855; 020.7010; 140.7010; 070.4790

0 引言

1986 年美国贝尔实验室的 Ashkin 利用高数值孔径物镜聚焦单束激光束首次成功捕获了在水溶液中的电解质小球, 标志着光镊 (Optical Tweezers, OT) 的诞

生^[1]. 20 年来, 光镊技术发展迅速, 可捕获的粒子尺寸从原来的微米量级发展到现在的几十纳米量级^[2]. 光镊由于对微粒的低损伤性被广泛应用于生物、化学、胶体物理等研究领域^[3-5]. 光镊的出现使得直接研究单分子成为了可能, 极大地促进了人们对错综复杂的生物

基金项目: 国家重大科学研究计划 (No. 2012CB921900) 和国家自然科学基金 (No. 61275193) 资助

第一作者: 梁言生 (1987-), 男, 博士研究生, 主要研究方向为光镊捕获技术. Email: liangyansheng@opt. ac. cn

导师 (通讯作者): 姚保利 (1968-), 男, 研究员, 博士, 主要研究方向为光学微操纵技术、超分辨显微成像技术和数字全息技术开发与应用. Email: yaobl@opt. ac. cn

收稿日期: 2013-09-30; 录用日期: 2013-12-10

<http://www.photon.ac.cn>

作用如细胞的黏连、分子的拉伸等的理解。

光镊常用于测量生物分子作用力^[3]、分子马达的运动距离^[6]以及研究胶质粒子的电泳现象^[7]。作为一种高精度测力工具,精确知道光镊对样品的作用力至关重要。光镊和被捕获的粒子构成一个谐振子,粒子偏离平衡位置受到的恢复力与粒子位移量成正比,这个比值定义为光阱刚度,是描述光镊力学特性的一个重要参量。常见的光阱刚度标定方法有热力学平衡法、流体力学法、视频跟踪法、功率谱密度法(Power Spectral Density, PSD)等^[8-11],其中热力学平衡法^[8]、流体力学法^[9]等通常需要知道粒子运动的实际位移量。视频跟踪微粒得到微粒的运动位置信息再标定光阱刚度,这种方法受限于相机的低帧频,而且要处理大量的图片数据,无法实现光阱刚度的实时标定^[10]。功率谱密度法^[11]只需要知道粒子的相对位移量,无需考虑其单位,通过测量功率谱并拟合出拐角频率即可求出光阱刚度,且简单快速、准确度高,但是需要带宽很高的四象限探测器(Quadrant Photodiode Detector, QPD)来记录粒子的布朗运动信息。

本文采用四象限探测器和功率谱密度法,搭建了一套可快速标定光镊三维光阱刚度的定量测量系统,设计了可实时计算光阱刚度的软件。标定了光镊对不同样品的三维光阱刚度,研究了光阱刚度与激光功率的关系,解释了三轴光阱刚度不均匀的原因。

1 材料与方法

1.1 功率谱密度法

功率谱密度法标定光阱刚度主要是通过计算粒子布朗运动的功率谱得到光阱刚度^[11]。假设光阱为一个谐振子势阱,粒子在光阱中作布朗运动,根据布朗运动理论^[12-13],粒子运动方程为

$$m\ddot{x}(t) + \gamma_0 \dot{x}(t) + \kappa x(t) = F(t) \quad (1)$$

式中 $x(t)$ 表示 t 时刻粒子在 x 方向上偏离平衡位置的位移量, m 表示粒子的质量, γ_0 表示粒子在溶液中的阻力系数, κ 表示光阱刚度, $F(t)$ 表示粒子在溶液中受到的呈高斯分布的随机力。

对于一个球形粒子,由斯托克斯定律(Stoke's law)可得粒子在溶液中的阻力系数为

$$\gamma_0 = 6\pi\rho\nu R \quad (2)$$

式中 ρ 表示溶液的密度, ν 表示溶液的运动粘度, R 表示粒子半径。

由于粒子的捕获通常发生在低雷诺数条件下(雷诺数为惯性力与粘滞力之比),式(1)等号前第一项可以忽略,故有

$$\gamma_0 \dot{x}(t) + \kappa x(t) = F(t) \quad (3)$$

引入拐角频率(corner frequency) $f_c = \kappa/(2\pi\gamma_0)$,式(3)可以简化为

$$\dot{x}(t) + 2\pi f_c x(t) = F(t)/\gamma_0 \quad (4)$$

$x(t)$ 的傅里叶变换为

$$x(f) = \int_{-\infty}^{+\infty} e^{-i2\pi ft} x(t) dt \quad (5)$$

对式(4)两边做傅里叶变换可得

$$x(f) = \frac{F(f)}{2\pi\gamma_0(f_c + if)} \quad (6)$$

根据功率谱密度的定义

$$P(f) \equiv |x(f)|^2 \quad (7)$$

把式(6)代入式(7)得

$$P(f) = \frac{|F(f)|^2}{4\pi^2\gamma_0^2(f_c^2 + f^2)} \quad (8)$$

由于 $F(t)$ 是一个白噪声随机力,其傅里叶变换 $F(f)$ 满足^[14]

$$|F(f)|^2 = 4\gamma_0 k_B T \quad (9)$$

式中 k_B 表示波尔兹曼常量, T 表示溶液温度,把式(9)代入式(8)可得

$$P(f) = \frac{k_B T}{\pi^2 \gamma_0 (f_c^2 + f^2)} \quad (10)$$

实验上通过测量出粒子布朗运动的功率谱,拟合出功率谱曲线,就可得到拐角频率 f_c ,最终求得光阱刚度为

$$\kappa = 2\pi\gamma_0 f_c \quad (11)$$

1.2 实验方案

实验采用倒置光镊系统,如图1, QPD 为四象限探测器, DM_1 、 DM_2 为双色镜, L_1 、 L_2 、 L_3 为透镜, OB 为物镜。捕获光源是波长为 1 064 nm、输出功率为 2 W 的连续 Nd:YAG 激光器(RGBLase LLC, USA),聚焦物镜是数值孔径为 1.4 的 100 倍浸油物镜(Nikon, JP)。激光经扩束准直后由双色镜 DM_1 和反射镜反射进入物镜聚焦到样品上,然后被聚光镜收集,经双色镜 DM_2 、透镜 L_3 后被四象限探测器 QPD 接收。LED 照明光源经聚光镜照明样品, CCD 用来实时观测样品。实验样品密封在一个 15 mm×15 mm×150 μ m 的样品池中。图1中四象限探测器与样品所在平面共轭,位于

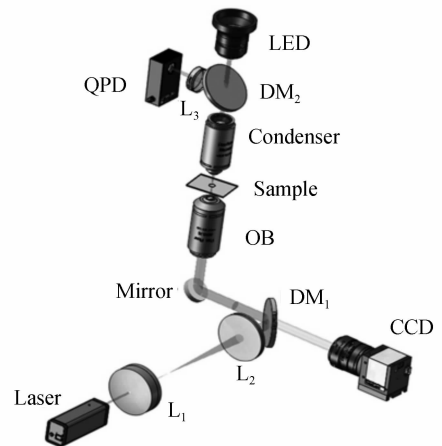


图1 标定光镊光阱刚度实验光路
Fig. 1 Experiment setup for calibrating stiffness of optical tweezers

L_3 的后焦平面上,四象限探测器得到的是模拟电压信号,需要数据采集卡采集数据,本文使用 NI 公司 NI-USB 6351 A/D 数据采集卡。

四象限探测器是一个光电器件,其光敏面被分成四个象限,每个象限的输出信号大小与其受光面板接收的光强成正比。定义 I_1, I_2, I_3, I_4 是四个象限的输出信号大小,探测器有三个输出信号,即

$$I_x = (I_1 + I_3 - I_2 - I_4) \quad (12)$$

$$I_y = (I_1 + I_2 - I_3 - I_4) \quad (13)$$

$$I_z = I = (I_1 + I_2 + I_3 + I_4) \quad (14)$$

四象限探测器的信号大小(I_x, I_y, I_z)与微粒在光阱中的位移(x, y, z)相关^[15-16]。聚焦激光经过粒子的散射光和未散射光在聚光镜的后焦平面形成远场干涉,横向方向(例如 x 方向)满足

$$\frac{I_x}{I} \propto \left(\frac{x}{w_0}\right) \exp\left[-\left(\frac{x}{w_0}\right)^2\right] \quad (15)$$

式中 x 表示粒子偏离平衡位置的横向位移量, w_0 表示在焦平面处的激光束腰半径。由于粒子的布朗运动范围很小(100~300 nm),即 $x \ll w_0$, 式(15)变为

$$\frac{I_x}{I} \propto \frac{x}{w_0} \propto x \quad (16)$$

即横向信号大小与微粒横向位移成正比。

在轴上,总光强满足

$$I_z \propto \left[1 + \left(\frac{z}{z_0}\right)^2\right]^{1/2} \sin\left[\arctan\left(\frac{z}{z_0}\right)\right] \quad (17)$$

式中 z 表示粒子偏离平衡位置的纵向位移量,瑞利长度 $z_0 = \pi w_0^2 \lambda$ 。同样当 $z \ll z_0$ 时,

$$I_z \propto \frac{z}{z_0} \propto z \quad (18)$$

即总信号大小与纵向位移成正比。因此实验测得的 QPD 电压信号反映了粒子布朗运动的位置信息。

1.3 软件

实验使用 LabVIEW 软件控制数据采集卡采集四象限探测器的电压信号。设计如图 2 所示的界面软件实时分析采集得到的实验数据。

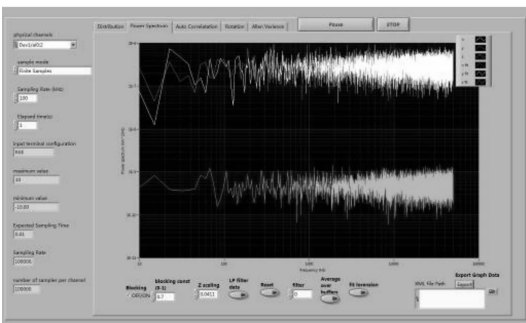


图 2 功率谱密度法标定光阱刚度的软件界面
Fig. 2 The software for calibrating stiffness of OT with PSD method

2 结果与讨论

2.1 标定三维光阱刚度

由 1.1 节的理论分析可知,要标定光镊光阱刚度,首先要知道粒子的布朗运动信息,然后计算粒子布朗运动的功率谱,最终求出光阱刚度。图 3 是使用 LabVIEW 软件控制数据采集卡得到的粒子三维运动位置随时间变化的信号图。计算粒子位移的统计分布图并对其拟合,发现粒子在简谐势阱中的布朗运动位移满足高斯分布^[17]。

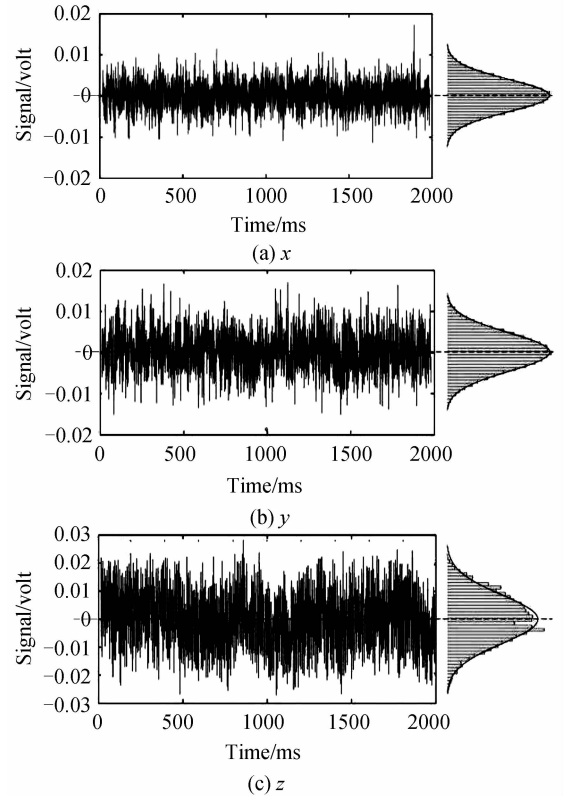


图 3 四象限探测器获得的粒子布朗运动位移随时间变化的电压信号图

Fig. 3 The voltage signals of the QPD resulted from the Brownian motion of particle with time

图 4 是根据 QPD 得到的电压信号图计算得到的

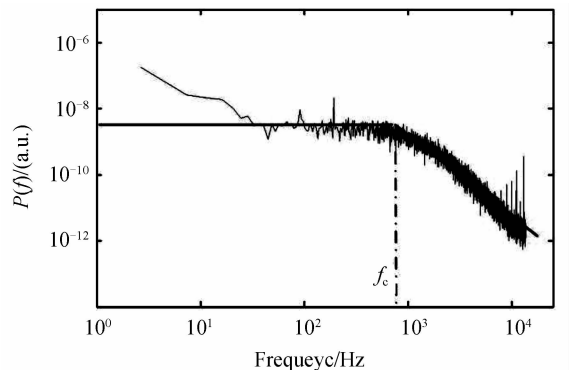


图 4 粒子在光阱中运动的功率谱(x 方向)
Fig. 4 Power spectrum for a trapped particle (x direction)

功率谱. 由功率谱曲线可以看出, 拐角频率把功率谱曲线分成两个区域. 对于 $f \ll f_c$ 区域, 功率谱的值约等于一个常量 $D/(2\pi^2 f_c^2)$, 这体现出光镊对粒子的束缚作用^[14]; 在 $f \gg f_c$ 区域, 功率谱可以近似为 $D/(2\pi^2 f^2)$, 这是粒子由于溶液分子作用而自由扩散的特征表现^[14].

图5是利用功率谱密度法标定的光镊三维光阱刚度. 三角形、圆形和正方形离散点分别表示实验测得的 x, y, z 三组信号的功率谱值, 实线和虚线是拟合得到的洛伦兹曲线. 进入物镜前的激光功率为 68 mW, 所用 100 倍浸油物镜数值孔径是 1.4, 样品是直径 $0.97 \mu\text{m}$ 的 SiO_2 小球. 实验中使用的样品溶液运动粘度 $\nu = 1.0 \mu\text{m}^2/\mu\text{s}$, 溶液密度 $\rho = 1.0 \text{ g/cm}^3$, 由式(2)求得粒子的阻力系数 $\gamma_0 = 8.73 \text{ g/s}$. 通过拟合功率谱曲线可以得到三个方向的拐角频率分别是 $f_{cx} = (494.3 \pm 14.6) \text{ Hz}$, $f_{cy} = (414.1 \pm 12.8) \text{ Hz}$, $f_{cz} = (222.5 \pm 10.9) \text{ Hz}$; 根据式(13)计算得到光阱刚度的三个分量分别为: $\kappa_x = (27.1 \pm 0.8) \text{ pN}/\mu\text{m}$, $\kappa_y = (22.7 \pm 0.7) \text{ pN}/\mu\text{m}$, $\kappa_z = (12.2 \pm 0.6) \text{ pN}/\mu\text{m}$. 由实验结果可以看出, 纵向光阱刚度约为横向光阱刚度的一半, 主要原因是物镜球差的影响使得激光聚焦光斑是一个沿轴向拉伸的近椭圆光斑, 因此轴向梯度力小于横向梯度力.

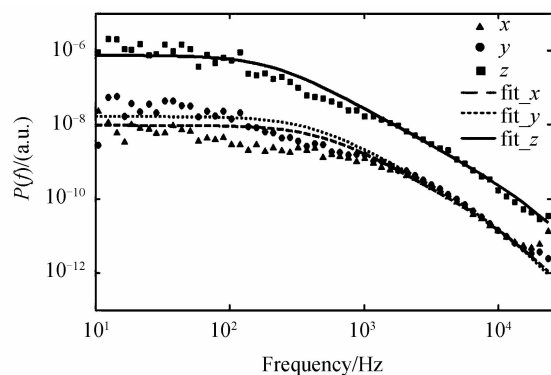


图5 直径 $0.97 \mu\text{m}$ SiO_2 小球的三维功率谱

Fig. 5 Power spectrum for a $0.97 \mu\text{m}$ -diameter SiO_2 bead in three dimensions

2.2 光阱刚度与激光功率的关系测量

通过改变激光的入射功率, 研究了 SiO_2 小球和 PMMA 小球两种样品的横向光阱刚度与激光功率的关系. 图6为光阱刚度与激光功率的关系图, k_x 和 k_y 分别是 x 和 y 方向的光阱刚度测量值, fit_{k_x} 和 fit_{k_y} 表示实验数据的拟合曲线. 由图可知, 对于 SiO_2 小球, 在激光功率为 $50 \sim 120 \text{ mW}$ 的区域, 光阱刚度与激光功率成正比; 对于 PMMA 小球, 在激光功率为 $80 \sim 130 \text{ mW}$ 的区域, 光阱刚度与激光功率成正比, 这与理论一致^[18]. 此外, 如图6所示, x 与 y 方向光阱刚度并不相等, x 方向的光阱刚度稍大于 y 方向的光阱刚度. 这是由于本文实验使用的是线偏振激光光源, 而光源

的偏振方向对于光镊的横向捕获力有影响. 对于偏振方向沿 x 方向的捕获光源, 当粒子直径 d 为波长量级时 ($\lambda < d < 10\lambda$), 光镊 x 方向的最大捕获效率要大于与其垂直的 y 方向的最大捕获效率^[19], 因此 x 偏振方向的光阱刚度要比 y 方向的刚度大.

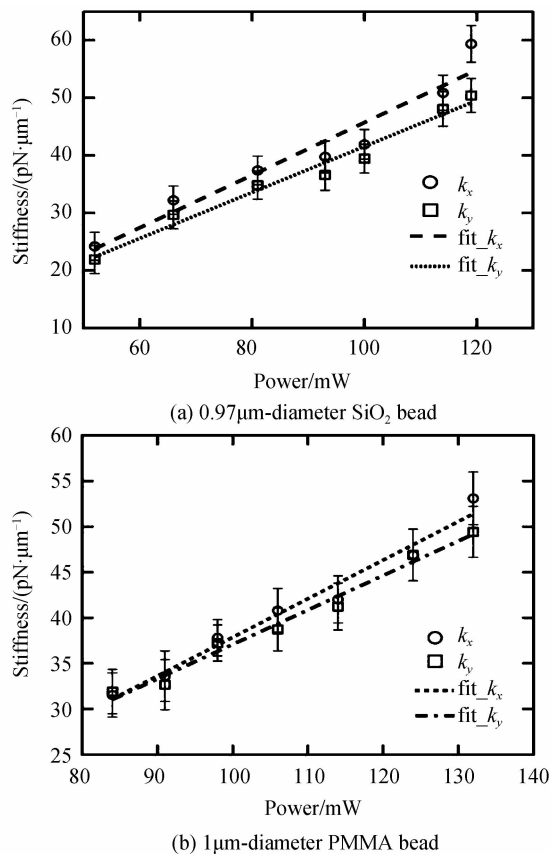


图6 光阱刚度与激光功率的关系

Fig. 6 The relationship between stiffness and laser power

3 结论

采用四象限探测器和功率谱密度法标定了光镊的三维光阱刚度, 并测量了光阱刚度与激光功率的关系. 四象限探测器可以快速、精确地记录微粒的布朗运动信息, 然后利用功率谱密度法快速标定光阱刚度. 功率谱密度法标定光阱刚度简单快速, 可以设计界面软件实时计算光阱刚度.

参考文献

- [1] ASHKIN A, DZIEDZIC M, BJORKHOLM E, *et al.* Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles[J]. *Optics Letters*, 1986, **11**(5): 288-290.
- [2] MANDAL S, SEREY X, ERICKSON D. Nanomanipulation using silicon photonic crystal resonators[J]. *Nano Letters*, 2010, **10**(1): 99-104.
- [3] MEHTA A, RIEF M, SPUDICH J, *et al.* Single-molecule biomechanics with optical methods[J]. *Science*, 1999, **283** (5408): 1689-1695.
- [4] DHOLAKIA K, REECE P, GU M. Optical micromanipulation[J]. *Chemical Society Reviews*, 2007, **37** (1): 42-55.

- [5] CHU S. Laser manipulation of atoms and particles [J]. *Science*, 1991, **253**(5022): 861-866.
- [6] ABBONDANZIERI E, GREENLEAF W, SHAEVITZ J, *et al.* Direct observation of base-pair stepping by RNA polymerase[J]. *Nature*, 2005, **438**(7067): 460-465.
- [7] SEMENOV I, OTTO O, STOBER G, *et al.* Single colloid electrophoresis[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2009, **337**(1): 260-264.
- [8] FLORIN L, PRALLE A, STELZER K, *et al.* Photonic force microscope calibration by thermal noise analysis[J]. *Applied Physics A: Materials Science & Processing*, 1998, **66**: S75-S78.
- [9] PENG Fei, YAO Bao-li, LEI Ming, *et al.* Measurement of optical trapping force and stiffness of micro-particles with the drag-force method[J]. *Journal of Opto-electronics • Laser*, 2010, **21**(1): 78-82.
彭飞,姚保利,雷铭,等. 拖曳法测量微粒光阱力和光阱刚度的实验研究[J]. *光电子·激光*, 2010, **21**(1): 78-82.
- [10] NEUMAN K, BLOCK S. Optical trapping[J]. *Review of Scientific Instruments*, 2004, **75**(9): 2787-2809.
- [11] BERG-SØRENSEN K, FLYVBJERG H. Power spectrum analysis for optical tweezers [J]. *Review of Scientific Instruments*, 2004, **75**(3): 594-612.
- [12] UHLENBECK E, OMSTEIN S. On the theory of the Brownian motion[J]. *Physical Review*, 1930, **36**(5): 823-841.
- [13] WANG Ming-chen, UHLENBECK E. On the theory of the Brownian motion II[J]. *Reviews of Modern Physics*, 1945, **17**(2-3): 323-342.
- [14] GITTES F, SCHMIDT C. Signals and noise in micromechanical measurements [J]. *Methods in Cell Biology*, 1997, **55**: 129-156.
- [15] GITTES F, SCHMIDT C. Interference model for back-focal-plane displacement detection in optical tweezers[J]. *Optics Letters*, 1998, **23**(1): 7-9.
- [16] PRALLE A, PRUMMER M, FLORIN E, *et al.* Three-dimensional high-resolution particle tracking for optical tweezers by forward scattered light[J]. *Microscopy Research and Technique*, 1999, **44**(5): 378-386.
- [17] KUBO R, TODA M, HASHITSUME N. *Statistical physics* [M]. Heidelberg: Springer, 1985, Vol. 2.
- [18] NETO P, NUSSENZVEIG H. Theory of optical tweezers [J]. *Europhysics Letters*, 2000, **50**(5): 702-708.
- [19] YAN Shao-hui, YAO Bao-li. Transverse trapping forces of focused Gaussian beam on ellipsoidal particles[J]. *Journal of the Optical Society of America B*, 2007, **24**(7): 1596-1602.