

doi:10.3788/gzxb20184707.0718002

# 基于视觉原理和流体力学法的全息光镊三维 光阱刚度测量

何威, 李静

(中国科学技术大学 精密机械与精密仪器系, 合肥 230027)

**摘 要:** 为了检测全息光镊的捕获能力, 将基于视觉原理的光学测量系统用于全息光镊三维光阱刚度的测量. 光学系统采用对称分布的双光源照射样品池, 形成两个像点, 通过跟踪像点位移获取被全息光镊捕获微球的三维位移信息. 结合流体力学法测出本光学系统中单、双光阱的三维光阱刚度. 实验结果表明: 单光阱中, 沿  $X$ 、 $Y$  水平方向光阱刚度相差不大, 而轴向光阱刚度落在水平方向的  $1/3 \sim 1/4$  范围; 双光阱中, 离光轴(即衍射中心)近的光阱其三维刚度要比距离光轴稍远的光阱要大, 说明越靠近衍射中心, 光的衍射效率越高, 产生的光阱捕获能力也越强.

**关键词:** 全息光镊; 视觉原理; 三维光阱刚度; 流体力学法; 图像处理

中图分类号: O439

文献标识码: A

文章编号: 1004-4213(2018)07-0718002-6

## 3D Trap Stiffness Measurement of Holographic Tweezers Based on Vision Theory and Hydrodynamic Method

HE Wei, LI Jing

(Department of Precision Machinery and Precision Instrument, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China)

**Abstract:** In order to test the capture ability of holographic optical tweezers, an optical measurement system based on vision theory was used to measure the 3D trap stiffness of holographic optical tweezers. In the optical system, two symmetrically distributed light sources irradiated the sample cell to form two images. The 3D positions of the microspheres captured by the holographic optical tweezers were obtained by tracking the displacements of their images. Combined with hydrodynamic method, the trap stiffness of the single and double optical traps was measured. The experimental results show that in a single optical trap, there is little difference between  $X$  and  $Y$  horizontal trap stiffness, and the axial trap stiffness falls in the range of  $1/3$  to  $1/4$  of the horizontal direction; in double optical traps, the three-dimensional stiffness of the optical trap near the optical axis is larger than that at a far distance, which demonstrates that the closer to the diffraction center, the higher the diffraction efficiency of light, and the stronger the capture ability of the optical trap.

**Key words:** Holographic optical tweezers; Vision theory; 3D trap stiffness; Hydrodynamic method; Image processing

**OCIS Codes:** 180.6900; 350.4855; 140.7010; 330.1440; 100.2000

## 0 引言

1970 年, 美国贝尔实验室的 Ashkin 观察到了激光辐射力, 完成了激光悬浮微粒实验<sup>[1]</sup>. 1986 年,

基金项目: 国家自然科学基金(No. 91023049)资助

第一作者: 何威(1994-)男, 硕士研究生, 主要研究方向为光镊技术. Email: hewei15@mail.ustc.edu.cn

导师(通讯作者): 李静(1968-)女, 副教授, 博士, 主要研究方向为全息光镊技术. Email: lijing@ustc.edu.cn

收稿日期: 2018-01-19; 录用日期: 2018-04-04

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

ASHKIN A 等利用高度聚焦激光稳定捕获了微粒并首先提出了光镊技术<sup>[2-3]</sup>.光镊又称为单光束梯度力光阱,是一种利用高度汇聚的激光束形成的三维梯度势阱来俘获、操纵微小粒子的技术.由于光镊技术可以捕获纳米至毫米尺度的粒子,可产生超过 100pN 的力,具有非接触、对样品无损伤等优点,因而被广泛应用于胶体物理<sup>[4]</sup>、分子生物<sup>[5-7]</sup>、材料科学以及微纳制造<sup>[8-9]</sup>等领域.

1998 年,芝加哥大学的 Dufresne 等实现了全息光镊<sup>[10]</sup>.他们使用衍射光学元件将准直的激光束分成多个独立光束,通过汇聚透镜聚焦形成多光镊<sup>[11-12]</sup>.空间光调制器(Spatial Light Modulator, SLM)的发展,促进了全息光镊技术的进步.目前在全息光镊系统中,通常采用计算机控制 SLM 加载编制的计算全息图,生成所需的光阱.

光阱刚度的大小决定了光镊的捕获能力<sup>[13]</sup>.被光镊捕获的微球会受到光阱产生的回复力,回复力大小正比于微球偏离光阱中心的位移,它们的比值就是光阱刚度.目前光阱刚度的测量方法有流体力学法<sup>[14]</sup>、功率谱法<sup>[15-16]</sup>、外加周期力驱动法<sup>[17]</sup>、热运动分析法等<sup>[18]</sup>,本文选取了对测量系统带宽要求较低的流体力学法.当微球以一定速度相对周围流体运动时,微球会受到液体的粘滞阻力  $F$  的影响,粘滞阻力可由斯托克斯公式得出  $F = 6\pi\eta av$ ,其中  $\eta$  为液体的粘滞阻力系数, $a$  为微球的半径, $v$  为微球与液体的相对运动速度.微球受到液体的粘滞阻力后会偏离光镊的中心位置,同时也会受到与粘滞阻力大小相同方向相反的光阱力.根据  $F = kx$  可以计算得出光阱刚度, $x$  为微球偏离光阱中心的位移.

当前测量样品池中微粒轴向位移的常用方法是单光源照明下的图像标定法,即获取一系列与轴向位移相对应的图像,然后将测得的图像与标定过的图像进行比较,得出轴向位移<sup>[19-20]</sup>.Bowman 等提出了一种基于视觉原理的三维位移测量方法<sup>[21-22]</sup>.他们采用两束对称的照明光照射样品,产生两个像.当微粒轴向移动时,根据微粒两个像的位移差,获取轴向位移.与通常的基于视觉原理的测量方法相比,由于采用同一相机同时获取同一目标两个像,避免了采用两个相机各获取一个像的情况下相机测量误差的影响,因而提高了测量精度.与单光源照明下的图像标定法相比,微小的微粒轴向位移对应较大范围的微粒两个像位移,这不仅有利于观察、分析,也显著提高了测量灵敏度和精度.虽然我们已采用该测量方法与功率谱法相结合测量了被光镊捕获微粒的三维光阱刚度<sup>[23]</sup>,但测量中采用了像素数较低的高速相机(一百万像素),测量精度较差.本文中我们将这种基于视觉原理的光学测量方法和流体力学方法相结合,采用低帧速、高像素数相机(500 万像素)获取目标图像,增加每个像占用的像素数,以进一步提高测量精度.

## 1 光学系统及其标定

### 1.1 光学系统的建立

建立的光学系统如图 1 所示,包括全息光镊光路和基于视觉原理的测量光路.

全息光镊光路中,1 064 nm 激光器发出的激光准直扩束后照射在空间光调制器(SLM)上,光束经 SLM 衍射后被调制成全息光束,经倒置的望远镜系统与浸油物镜(NA 1.3, 100 $\times$ )聚焦在样品池中形成多个光阱.

基于机器视觉的测量光路中,照明双光源发出白光,经过聚焦透镜后以对称角度汇聚到样品池中,然后依次经过浸油物镜、透镜  $L_1$ 、光楔、透镜  $L_2$  和  $L_3$  后被相机接受.在光路中,使用光楔将左右两像分开,分离的像同时成像在同一摄像头,实验中采用的摄像头像素数为五百万.采用一个摄像头,同时得到两个像的位移,可以提高测量精度.

样品池固定在三维压电陶瓷平台上,样品为悬浮在水溶液中直径 2.5  $\mu\text{m}$  的聚苯乙烯微球.

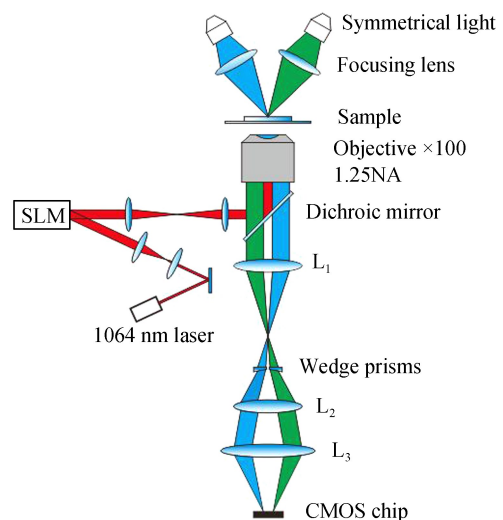


图 1 光学系统光路示意图  
Fig.1 Diagram of the optical system

## 1.2 图像处理

如图 2 所示为摄像头拍摄的被全息光镊捕获的单个聚苯乙烯微球的两个像,目标微粒的三维位移通过测量两个像的位移来获得.微粒水平位移可以根据两个像的在  $X$ 、 $Y$  方向的平均位移获得,轴向位移根据两个像在  $X$  方向的位移差得到.在图像处理中,选取包含微球像的适当大小矩形区域,进行增强、降噪等预处理.然后对图像的每行(或每列)像素点做式(1)的方向积分变换<sup>[16]</sup>,以得到表征微球像位置的中心.式(1)中, $p(x)$ 为减去图像平均灰度值后某行第  $x$  列的像素点灰度值, $a$  的选取使得  $x \pm x'$  在图像边界内.如图 3(a)为得到的归一化后图像,将图像每列的灰度值相加,得到分布曲线如图 3(b)所示.对曲线采取样条插值并找出最大点,得到亚像素精度的像点位置.

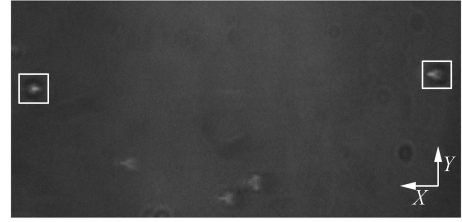
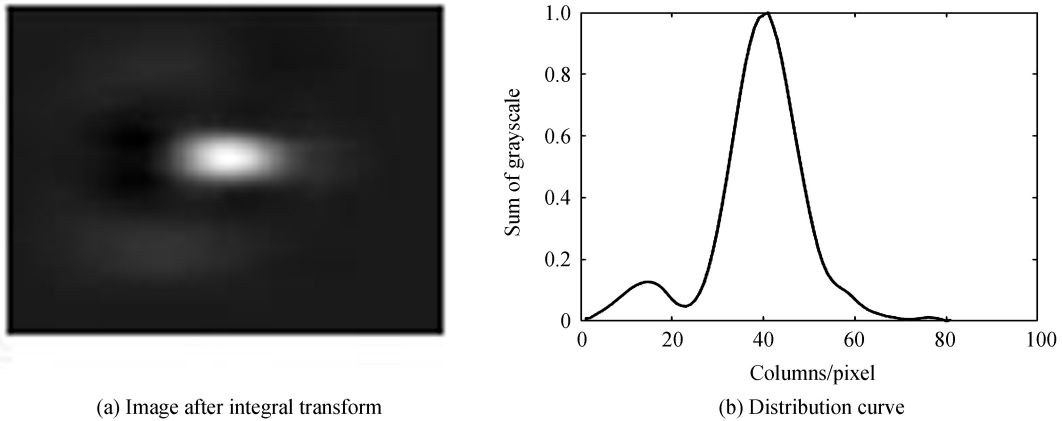


图 2 被捕获的微球经双光源照射后的图像  
Fig.2 An image of a captured bead illuminated by two light sources

$$S(x) = \int_{x'=-a}^a p(x-x')p(x+x')dx' \quad (1)$$



(a) Image after integral transform

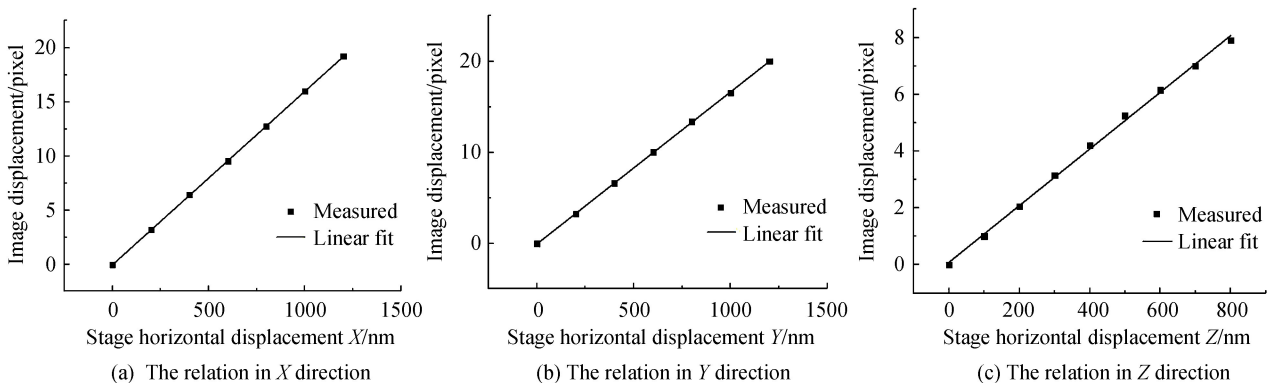
(b) Distribution curve

图 3 积分变换后的图像和灰度分布曲线

Fig.3 Image and gray distribution curve after integral transform

## 1.3 系统标定

基于机器视觉的测量光路标定方法如下:将聚苯乙烯微球固定在样品池底部;以固定步距分别沿  $X$ 、 $Y$ 、 $Z$  方向移动压电陶瓷平台,同时获取系列图像;将图像处理后,得到微球位移的像素数;用最小二乘法拟合微球的位移像素数与压电陶瓷位移之间的对应关系.得到的结果如图 4 所示,图中(a)、(b)、(c)分别为  $X$ 、 $Y$ 、 $Z$  方向的标定结果.



(a) The relation in  $X$  direction

(b) The relation in  $Y$  direction

(c) The relation in  $Z$  direction

图 4 压电平台位移与像点位移的关系

Fig.4 The relation between displacements of the piezo-stage and image displacements

图4可见,标定结果线性较好.每个方向标定5次,结果如图5所示,误差为标定结果的标准偏差.图像中每个像素对应的位移量沿X、Y、Z方向平均值分别为62.36 nm/pixel、60.70 nm/pixel、100.17 nm/pixel.

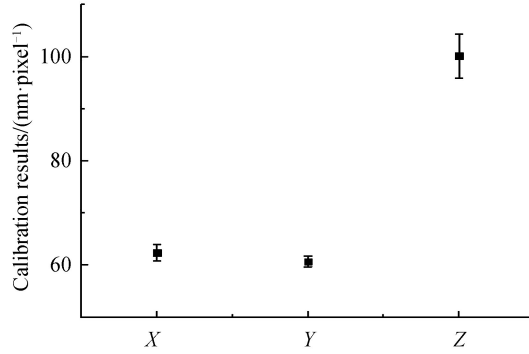


图5 三维标定结果  
Fig.5 3D calibration results

目标Z方向每个像素对应的位移量与双光源放置角度有关.若水平方向的标定结果为 $\delta$ ,则Z方向位移的标定结果为 $\delta/\tan\alpha$ , $\alpha$ 为照明光源与激光光轴夹角.已知 $\alpha$ 为 $30^\circ$ , $\delta$ 取水平方向结果的平均值,则 $\delta/\tan\alpha = 106.57$  nm/pixel.可见,Z向的标定结果和理论值相差6.4%,Z向标定结果可靠.

## 2 实验及结果

在上述基于视觉原理的测量光路中,加入流体力学法用于全息光镊光阱刚度的测量.具体方法为:首先全息光镊捕获 $2.5\ \mu\text{m}$ 微球;采用压电陶瓷平台带动样品池做周期匀速往复运动,从而对微球反复施加大小相等、方向相反的流体力,使微球在两个相反方向偏离光阱中心;在压电平台运动时连续拍摄数个周期图像,获取微球位移;取微球在两个相反方向偏离光阱中心距离的一半作为偏离平衡点的位移值,根据压电平台的振幅和周期计算微球受到的粘滞阻力,最后得到光阱刚度.压电平台位移和周期的选取应保证运动周期内微球不脱离光阱.

测试时,分别采用 $20\ \mu\text{m}$ 与 $4\ \mu\text{m}$ 作为水平与轴向刚度测试时压电平台的运动振幅,运动周期分别取6 s和4 s.雷诺系数根据 $\text{Re} = \rho v L / \mu$ (其中, $\rho$ 为水溶液密度, $v$ 为流速, $L$ 为特征长度, $\mu$ 为水的动力粘度)得到,分别为0.000 01与0.000 04,均远小于1,不存在湍流.微球所受到的粘滞阻力可由斯托克斯公式得到,由于光阱位置距离样品池底面 $5\ \mu\text{m}$ ,靠近底面,会使得阻力系数增加,微球水平方向运动引起的阻力系数可由式(2)得出,轴向运动引起的粘阻力系数可由式(3)得出,其中 $a$ 为微球半径, $h$ 为微球中心到底面的距离, $\beta_0 = 6\pi\eta a$ 为斯托克斯阻力系数, $\alpha = \cosh^{-1}(h/a)$ .水平方向和垂直方向的粘滞阻力分别为0.184 pN和0.059 pN.

$$\beta_h = \frac{6\pi\eta a}{1 - \frac{9}{16}\left(\frac{a}{h}\right) + \frac{1}{8}\left(\frac{a}{h}\right)^3 - \frac{45}{256}\left(\frac{a}{h}\right)^4 - \frac{1}{16}\left(\frac{a}{h}\right)^5} \quad (2)$$

$$\beta_v = \beta_0 \frac{4}{3} \sinh \alpha \sum_{n=1}^{\infty} \frac{n(n+1)}{(2n-1)(2n+3)} \times \left[ \frac{2\sinh(2n+1)\alpha + (2n+1)\sinh 2\alpha}{4\sinh^2\left(n+\frac{1}{2}\right)\alpha - (2n+1)^2 \sinh^2 \alpha} - 1 \right] \quad (3)$$

在激光输出功率1.3 W时,对全息光镊产生的单光阱作五次测量,图6(a)、(b)、(c)分别为实验中测量X、Y和Z方向光阱刚度时微球的位移,得到的X、Y和Z方向的平均光阱刚度分别为0.955、1.047和0.301 pN/ $\mu\text{m}$ .可见,X、Y向光阱刚度相差不大,Z向的光阱刚度位于X、Y向光阱刚度的 $1/3 \sim 1/4$ 范围内.加大激光功率至1.6 W,在离光轴(即零级衍射位置)横向距离不同的位置上产生两个光阱,位置关系如图7所示,1为光轴的位置,2和3为两个光阱分别捕获的微球,与光轴的距离分别为27.1、41.4  $\mu\text{m}$ .测得距离光轴近的光阱(标号为2)三维光阱刚度分别为0.526、0.564和0.140 pN/ $\mu\text{m}$ ,距离光轴远的光阱(标号为3)三维光阱刚度分别为0.445、0.452和0.128 pN/ $\mu\text{m}$ .可见,距离光轴远的光阱相对于近的具有较小的三维光阱刚度.由于全息光镊是通过空间光调制器施加计算全息图实现衍射再现的,而计算全息图可以看成是由多个光栅生成的图案,因此根据光栅衍射原理,与光轴距离越远,衍射效率越低.对距离光轴不同的双光镊光阱刚

度的测量结果验证了这一理论.

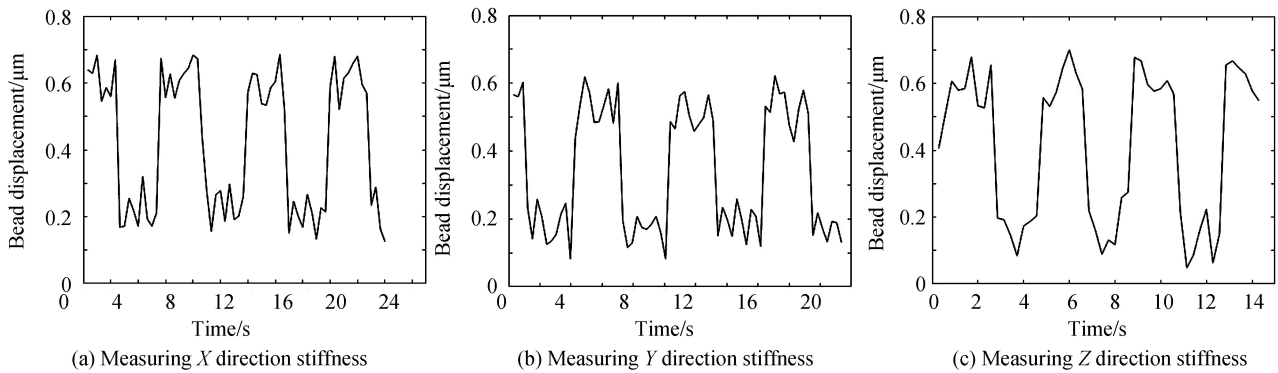


图6 实验中微球的位移

Fig.6 Displacements of microsphere in experiments

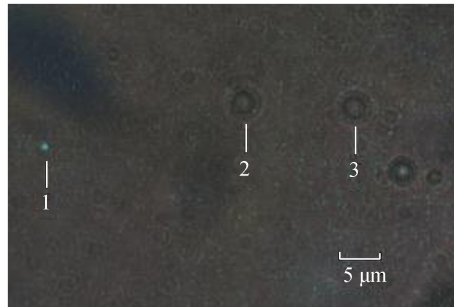


图7 光轴与双光阱的位置

Fig.7 The position of optical axis and two traps

### 3 结论

本文利用视觉原理在全息光镊系统上搭建了三维光阱刚度测量系统,获取了被全息光镊捕获微球的两个投影图像.经二维图像跟踪算法处理后,系统能获取目标的三维位移,结合流体力学法测量了全息光镊的三维光阱刚度.由于采用高像素数的单个相机获取目标的两个像,再加上测量方法的灵敏度高,得到的测量结果精度高.对全息光镊产生的单光阱进行测量时,得到沿 X、Y 水平方向光阱刚度相差不大,而轴向光阱刚度落在水平方向的  $1/3 \sim 1/4$  范围.对全息光镊形成的双光阱进行测量时,得到离光轴近的光阱其三维刚度要比距离稍远的要大,说明了越靠近衍射中心光的衍射效率越高,产生的光阱捕获能力也越强,这符合光的衍射原理.

#### 参考文献

- [1] ASHKIN A. Acceleration and trapping of particles by radiation pressure[J]. *Physical Review Letters*, 1970, **24**(4): 156.
- [2] 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.
- [3] ASHKIN A, DZIEDZIC J M, YAMANE T. Optical trapping and manipulation of single cells using infrared laser beams [J]. *Nature*, 1987, **330**(6150): 769-771.
- [4] RODRIGO P J, DARIA V R, GLÜCKSTAD J. Four-dimensional optical manipulation of colloidal particles[J]. *Applied Physics Letters*, 2005, **86**(7): 074103.
- [5] SVOBODA K, MITRA P P, BLOCK S M. Fluctuation analysis of motor protein movement and single enzyme kinetics [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1994, **91**(25): 11782-11786.
- [6] MEHTA A D, RIEF M, SPUDICH J A, *et al.* Single-molecule biomechanics with optical methods[J]. *Science*, 1999, **283**(5408): 1689-1695.
- [7] BUSTAMANTE C, SMITH S B, LIPHARDT J, *et al.* Single-molecule studies of DNA mechanics[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2000, **10**(3): 279-285.
- [8] PAUZAUSKIE P J, RADENOVIC A, TREPAGNIER E, *et al.* Optical trapping and integration of semiconductor nanowire assemblies in water[J]. *Nature Materials*, 2006, **5**(2): 97-101.

- [9] URBAN A S, LUTICH A A, STEFANI F D, *et al.* Laser printing single gold nanoparticles[J]. *Nano Letters*, 2010, **10**(12): 4794-4798.
- [10] DUFRESNE E R, GRIER D G. Optical tweezer arrays and optical substrates created with diffractive optics[J]. *Review of Scientific Instruments*, 1998, **69**(5): 1974-1977.
- [11] GRIER D G. A revolution in optical manipulation[J]. *Nature*, 2003, **424**(6950): 810-816.
- [12] CURTIS J E, KOSS B A, GRIER D G. Dynamic holographic optical tweezers[J]. *Optics Communications*, 2002, **207**(1): 169-175.
- [13] ASHKIN A. Forces of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regime[J]. *Biophysical Journal*, 1992, **61**(2): 569-582.
- [14] SIMMONS R M, FINER J T, CHU S, *et al.* Quantitative measurements of force and displacement using an optical trap [J]. *Biophysical Journal*, 1996, **70**(4): 1813-1822.
- [15] BERG-SØRENSEN K, FLYVBJERG H. Power spectrum analysis for optical tweezers[J]. *Review of Scientific Instruments*, 2004, **75**(3): 594-612.
- [16] GOSSE C, CROQUETTE V. Magnetic tweezers: micromanipulation and force measurement at the molecular level[J]. *Biophysical Journal*, 2002, **82**(6): 3314-3329.
- [17] GONG Zan, CHEN Hong-tao, LI Yin-mei, *et al.* The experimental research and comparison of four methods to measure the optical trap stiffness[J]. *Journal of University of Science & Technology of China*, 2005, **35**(5): 601-607. 龚鋈, 陈洪涛, 李银妹, 等. 四种光阱刚度测量法的实验研究与比较[J]. *中国科学技术大学学报*, 2005, **35**(5): 601-607.
- [18] FLORIN E L, PRALLE A, STELZER E H K, *et al.* Photonic force microscope calibration by thermal noise analysis [J]. *Applied Physics A: Materials Science & Processing*, 1998, **66**: S75-S78.
- [19] DREYER J K, BERG-SØRENSEN K, ODDERSHEDE L. Improved axial position detection in optical tweezers measurements[J]. *Applied Optics*, 2004, **43**(10): 1991-1995.
- [20] ZHANG Z, MENQ C H. Three-dimensional particle tracking with subnanometer resolution using off-focus images[J]. *Applied Optics*, 2008, **47**(13): 2361-2370.
- [21] BOWMAN R, PREECE D, GIBSON G, *et al.* Stereoscopic particle tracking for 3D touch, vision and closed-loop control in optical tweezers[J]. *Journal of Optics*, 2011, **13**(4): 044003.
- [22] BOWMAN R, GIBSON G, PADGETT M. Particle tracking stereomicroscopy in optical tweezers: control of trap shape [J]. *Optics Express*, 2010, **18**(11): 11785-11790.
- [23] ZHENG Yue, LI Jing. Measuring system of 3D trapping stiffness based on vision theory[J]. *Instrument Technique and Sensor*, 2016, (12): 96-99. 郑越, 李静. 基于视觉原理的三维光阱刚度测量系统[J]. *仪表技术与传感器*, 2016, (12): 96-99.

**Foundation item:** The National Natural Science Foundation of China (No. 91023049)

引用格式: HE Wei, LI Jing. 3D Trap Stiffness Measurement of Holographic Tweezers Based on Vision Theory and Hydrodynamic Method [J]. *Acta Photonica Sinica*, 2018, **47**(7): 0718002

何威, 李静. 基于视觉原理和流体力学的全息光镊三维光阱刚度测量[J]. *光子学报*, 2018, **47**(7): 0718002