

中国科学技术大学

UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY OF CHINA

# 博士学位论文



论文题目 光镊研究分散体系中微粒的运动

作者姓名 钟 敏 成

学科专业 光 学

导师姓名 郭光灿 教授 李银妹 教授

完成时间 二 〇 一 〇 年 四 月

# 中国科学技术大学

# 博士学位论文



## 光镊研究分散体系中微粒的运动

作者姓名: 钟敏成

学科专业: 光学

导师姓名: 郭光灿 教授 李银妹 教授

完成时间: 二零一零年四月二十五日

University of Science and Technology of China  
A dissertation for doctor's degree



**Motion of the Micro-particles in Dispersion  
System Studied with Optical Tweezers**

Author: Min-Cheng Zhong

Speciality: Optics

Supervisor: Prof. Guang-Can Guo Prof. Yin-Mei Li

Finished time: April 25<sup>th</sup>, 2010

## 中国科学技术大学学位论文原创性声明

本人声明所提交的学位论文,是本人在导师指导下进行研究工作所取得的成果。除已特别加以标注和致谢的地方外,论文中不包含任何他人已经发表或撰写过的研究成果。与我一同工作的同志对本研究所做的贡献均已在论文中作了明确的说明。

作者签名: 钟敏成

签字日期: 2010.5.29

## 中国科学技术大学学位论文授权使用声明

作为申请学位的条件之一,学位论文著作权拥有者授权中国科学技术大学拥有学位论文的部分使用权,即:学校有权按有关规定向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版,允许论文被查阅和借阅,可以将学位论文编入《中国学位论文全文数据库》等有关数据库进行检索,可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。本人提交的电子文档的内容和纸质论文的内容相一致。

保密的学位论文在解密后也遵守此规定。

公开 保密 (\_\_\_\_年)

作者签名: 钟敏成

导师签名: 张世英

签字日期: 2010.5.29

签字日期: 2010.5.29



## 摘要

分散体系是自然界中广泛存在的一种物质体系,对分散体系性质的研究一直具有重要的科学意义和应用价值。分散体系的宏观性质归根结底是由体系中的微粒的性质特别是微粒的动力学行为所决定,所以涉及特征尺度为微米量级的微粒、液滴或者气泡的运动的运动的问题,是流体力学在分散体系应用研究的一个主要领域。然而长期以来,因为缺乏有效的实验手段,对单个微粒动力学行为的实验研究非常困难。

光与物质相互作用的过程中传递动量,也能够传递角动量,基于此原理的光镊技术可以非机械接触的方式三维操控水溶液中的  $0.1\mu\text{m}\sim 10\mu\text{m}$  的微粒。另外,光镊可以精确测量光阱对微粒施加的光阱力,使得在光镊出现之后,很快就被成功地应用于对分散体系中微粒的动力学行为进行研究。

本文的工作主要是利用光镊研究分散体系中微粒的运动。对分散体系中微粒的扩散运动、旋转运动以及光镊操控界面中的微粒等进行了深入的研究和详细的讨论。对这些研究过程中所需要的实验设备、实验方法和涉及的相关问题也进行了实验研究和模拟计算。

分散体系中微粒运动的一个主要特征是布朗运动,可以使用微粒的扩散系数参数描述其运动。利用光镊操控微粒的特点,非常适合于测量微粒的扩散系数。根据不同的研究对象,人们已经发展了多种利用光镊测量扩散系数的方法。论文根据纳米光镊系统,研究了溶液中微粒扩散系数的测量方法,测量不同浓度的溶液中微粒的扩散系数,并发展了结合高低功率谱测量扩散系数的方法。

微粒在光阱中不仅会平面运动,而且会做旋转运动。论文研究了双折射小球旋转速度随光阱的各种条件的变化。发现随着捕获高度的增加,微粒的旋转速度逐渐下降,并指出该下降是由于折射率不匹配引起的球差导致的。在无穷远显微系统上使用有限远物镜对球差进行补偿,将小球最大的旋转速度的位置平移至捕获高度约等于  $50\mu\text{m}$  的位置。

光镊可以测量微区和界面中微粒的力学行为是其他研究手段无法比拟的。将光镊应用于界面体系研究的基础是光镊能够操控界面上的微粒。操控界面微粒与液体中操控微粒不一样,当微粒处于界面时,纵向方向主要受表面张力影响,而

激光的辐射压力是次要的,所以光镊只能够二维操控界面上的微粒。论文使用几何光学模型,计算微粒处于界面时的光阱捕获力,指出如何才能最大限度的增加光阱力,以更好的操控界面微粒。计算结果指出低数值孔径的物镜更适合于操控界面微粒,在实验中使用了数值孔径为0.75的物镜对空气—水界面上的微粒进行了操控和移动,为光镊研究空气—水界面的性质做了初步的实验基础。

论文利用光镊捕获粘附于Hela细胞的小球,测量小球与Hela细胞的非特异性结合力,研究了该结合力的强度和断裂过程,并分析该结合力的来源,认为该结合力是空间相互作用和静电力共同作用的结果。

实验设备是实验研究工作的基础。论文前期还对光镊系统的参数进行了研究,测量了系统的光阱刚度包括横向刚度和纵向刚度,纵向刚度测量中小球的纵向位移采用信息熵进行标定。明确光阱中的微粒个数,是光镊在微观层次开展实验研究的前提。论文根据光散射原理,提出通过测量光阱内微粒的背散光强度来区分光阱中的微粒个数的方法,实验中成功地分辨了光阱中直径分别为  $1\ \mu\text{m}$ 、 $0.5\ \mu\text{m}$ 、 $0.2\ \mu\text{m}$ 、 $100\ \text{nm}$  和  $73\ \text{nm}$  的微粒个数。论文还对光阱中微粒布朗运动引起的背散光光强度变化进行分析,研究光阱中存在两个微粒时微粒的排列状态和光阱的物理参数。

**关键词:** 光阱、扩散系数、旋转速度、界面、粒子个数

## Abstract

Since the dispersion system widely exists in nature, it is important to do research in this field. The properties of dispersion rely on the properties of small particles especially their dynamics behaviors, so the research on the motion behavior of micro-sized particles is a large application field of hydrodynamics in the research of dispersion system. However, it is difficult to investigate the dynamics of single particle experimentally for a long time due to the lack of appropriate instruments.

Light carries both linear and angular momentum and can thus exert force and torques on matter. Optical tweezers exploit this fundamental property to trap objects in a potential well formed by tightly focused light. This technique allows the manipulation of microscopic objects without mechanical contact. Moreover, the optical forces on a micro-particle trapped in an optical trap can be accurately measured. Such optical tweezers have been used in the study of dynamics behaviors of colloidal particles.

In this thesis, we use optical tweezers to study the motion of the particles in the dispersion system. The main subjects of this thesis are the diffusion and rotation of particles in the trap, manipulation of particles at the interfaces. The contents are also investigated related to the main subjects such as experimental setup and methods by experiment or simulation.

One of the main features of particles in the dispersion system is Brownian motion which can be described by the diffusion coefficient. Optical tweezers is suitable for measuring the diffusion coefficient of particles due to its manipulation contactless. The researchers have developed several measurement methods for different research objects. In this thesis, the diffusion coefficients of micro-sized particles were investigated with several methods based on the nanometer optical tweezers system, and a new method with combination of high-low frequency power spectrum has been developed to measure the diffusion coefficient.

Birefringent particles rotate when trapped in elliptically polarized light. The rotation rates of the particles have been investigated with the condition of the optical trap. When an infinity corrected oil-immersion objective is used for trapping, the maximum rotation rate of birefringent particles occurs close to the coverslip, and the rotation rate decreases dramatically as the trapped depth increases. The decrease is due to the spherical aberration at the glass-water interface. In the thesis the spherical

aberration is compensated by using a finite-distance-corrected objective to trap and rotate the birefringent particles, and the result shows that the trapped depth corresponding to the maximum rotation rate is moved to 50  $\mu\text{m}$ .

One of the characteristic of optical tweezers is applicable to non-conventional geometries: thin films, interior of biological cell, membranes etc. Manipulation of the particles at the interfaces is the basis of optical tweezers applied to the interface system. However, it's different to manipulate the particles at the interfaces from manipulation of the particles in the solutions. We numerically investigated the transverse trapping forces on a dielectric sphere located at an oil/air-water interfaces with ray-optics model, and manipulated the micron-sized particles at an air-water interface. The results establish the base for the applications of optical tweezers to measure the interaction of colloidal particles at the interfaces.

The polystyrene particle adhered to Hela cell was trapped by the optical tweezers to measure the rupture force between the particle and the cell. The process of bond rupture was observed with the help of detection photodiode. The result showed that the adhesion is a nonspecific adhesion due to a combination of electrostatic and steric effects.

Experimental equipment is the basis for experimental research. This thesis is based on optical tweezers technology, so the optical stiffness the nanometer optical tweezers system is studied in the second chapter first. We measured the optical stiffness including the lateral stiffness and axial stiffness, and the axial displacement of the particles calibration with information entropy during the measurement process.

Optical tweezers can trap multiple particles in single trap, and how to distinguish the number of particles in single optical trap was the key work in the experiment. A novel method based on laser scattering method to distinguish the numbers of nanometer-particles in single trap was presented in Chapter Seven. The number of particles in single trap was distinguished by measure the intensity of backscattering light with corresponding situation. In the thesis, the number of particles with diameters of 1  $\mu\text{m}$ , 0.5  $\mu\text{m}$ , 0.2  $\mu\text{m}$ , 100 nm, 73 nm was distinguished successfully. The method presented may find applications of optical tweezers in the nanometer dimension.

**Key words:** optical trap, diffusion coefficient, rotation rate, interface, number of particles

目 录

第1章 绪论	1
1.1 光镊技术简介	1
1.2 光镊技术应用	3
1.2.1 光镊测量红细胞形变	3
1.2.2 光镊测量分散体系稳定性	4
1.2.3 光镊测量胶体链刚度	5
1.2.4 冷却微粒	6
1.3 光阱中粒子运动研究现状	7
1.3.1 测量微粒的流体力学行为	7
1.3.2 胶体粒子之间的相互作用	8
1.3.3 微流变学	9
1.4 本文主要内容介绍	10
第2章 纳米光镊系统的刚度	17
2.1 纳米光镊系统光路简介	17
2.2 位移测量系统	18
2.2.1 CCD系统	18
2.2.2 QD系统	18
2.3 测量光阱横向刚度	19
2.3.1 无穷远物镜时的光阱横向刚度	20
2.3.2 有限远物镜时的光阱横向刚度	21
2.4 光阱纵向刚度	22
2.4.1 信息熵	22
2.4.2 信息熵值与小球位移的标定	23
2.4.3 纵向刚度测量结果	24
2.5 本章小节	25
第3章 光镊测量微粒扩散系数	27
3.1 光镊测量粒子扩散系数原理	27

3.2	光镊测量粒子扩散系数	28
3.2.1	闪频光镊法	28
3.2.2	粒子运动轨迹追踪法	29
3.2.3	追踪光阱中粒子运动法	29
3.2.4	高低频位移功率谱结合法	31
3.3	光镊测量 PEO 溶液中的粒子扩散系数	33
3.4	本章小节	35
<b>第 4 章 光阱中微粒的旋转运动</b>		<b>37</b>
4.1	光镊旋转双折射小球的原理	38
4.2	光阱条件与双折射小球的旋转	40
4.2.1	实验设备	41
4.2.2	小球旋转速度测量方法	41
4.2.3	旋转速度与激光功率	41
4.2.4	旋转速度与物镜数值孔径	42
4.2.5	无穷远物镜时旋转速度与捕获高度	43
4.2.6	有限远物镜时旋转速度与捕获高度	43
4.3	球差对小球旋转速度的影响	44
4.3.1	光阱中的球差	45
4.3.2	球差补偿方法	46
4.3.3	有效筒长改变引起的球差变化	47
4.3.4	匹配油折射率变化对光阱的影响	49
4.3.5	水浸物镜做捕获物镜	49
4.3.6	光镊中几种修正球差方法的比较	50
4.4	界面对粒子旋转运动的影响	50
4.5	本章小结	51
<b>第 5 章 光镊操控界面上的微粒</b>		<b>55</b>
5.1	界面粒子的相互作用	55
5.2	水—油（空气）界面微粒的光阱力	56
5.2.1	均一介质中粒子的光阱力计算	57
5.2.2	界面上的粒子的光阱力分析	58
5.2.3	油水界面上的粒子的光阱力计算结果	60

5.2.4	水—空气界面上的粒子的光阱力计算结果	64
5.3	光镊操控空气—水界面的胶体粒子	65
5.3.1	实验方法	66
5.3.2	实验设备与样品	67
5.3.3	样品池设计原理	67
5.3.4	样品池制作	68
5.3.5	实验步骤	68
5.3.6	实验结果	69
5.4	本章小节	69
<b>第6章 光镊操控粘附于细胞表面的微粒</b>		<b>73</b>
6.1	细胞粘附分子与受体分子的结合力	73
6.2	样品和试剂	74
6.2.1	细胞株	74
6.2.2	试剂	74
6.2.3	细胞的培养与处理	74
6.3	实验装置及实验方法	75
6.3.1	实验设备	75
6.3.2	实验方案	75
6.3.3	光阱刚度测量	76
6.4	实验结果与分析	78
6.4.1	结合力的大小	78
6.4.2	结合力的起源分析	80
6.5	本章小结	81
<b>第7章 背散光分辨光阱捕获的粒子个数</b>		<b>83</b>
7.1	分辨光阱中粒子数的现有方法	83
7.2	背散光强度分辨原理	84
7.3	光阱中粒子个数区分实验	85
7.3.1	实验流程	86
7.3.2	微米粒子个数的分辨	86
7.3.3	纳米粒子个数的分辨	88
7.4	实验结果讨论	89



7.5 本章小结.....	91
论文的总结与展望.....	95
博士期间发表文章目录.....	96
致谢.....	97

# 第1章 绪论

分散体系是指一种或几种物质分散在另一种物质中的体系，广泛存在于自然界中，与我们的生活密切相关，因此对分散体系性质的研究具有重要的科学意义和应用价值。分散体系的宏观性质归根结底是由体系中的微粒的性质所决定。

涉及特征尺度为微米量级的微粒、液滴或者气泡的运动的问题，是低雷诺数流体力学理论的主要领域，其所研究的微粒的特征尺度是 $0.1\mu\text{m}\sim 10\mu\text{m}$ ，正是处于分散体系的分散相微粒的尺寸，因此应用低雷诺数流体力学理论从微观对分散体系的性质，如悬浮液的粘度、血液流变性、胶体稳定性等性质进行了广泛的理论研究。然而长期以来，因为缺乏有效的实验手段，对这些体系的实验研究都是从宏观来进行，对单个微粒的动力学行为的实验研究都非常困难。

微粒的尺度是 $0.1\mu\text{m}\sim 10\mu\text{m}$ 时，能对该尺寸的微粒进行操控的一种有效手段是光镊技术[1-3]。在光镊出现之后，很快就被成功地应用于研究分散体系中单个微粒的动力学行为。

## 1.1 光镊技术简介

光镊(optical tweezers)是一种以激光的力学效应为基础的工具，原理是利用强会聚激光与微粒相互作用所形成的三维势阱来捕获微粒。1971年Ashkin提出了利用光压操纵微粒的思想[1]，并用两束相向照射的激光首次实现了对水中的玻璃微粒的捕获，建立了第一套利用光压操纵微粒的装置。1986年，Ashkin等人发现，在合适的条件下只需要一束激光就可以形成稳定的三维势阱，可以吸引微粒并把它局限在激光焦点附近的势阱中[2]。之后报道的各种光镊装置都是以Ashkin设计的这套单光束光阱为基础发展起来的，这种光势阱的正式名称是“单光束梯度力光阱”(single-beam optical gradient force optical trap)，简称“光镊”。

光镊在液相中无机械接触和无损伤对微粒进行三维操纵，同时还可以测量 $0.1\text{pN}\sim 100\text{pN}$ 的微小力，测量精度上能达到 $0.001\text{pN}$  [4]。通过光镊直接操纵微米级颗粒，能分选单条染色体[5]、研究细胞膜的粘弹性[6]、辅助实现细胞[7]、

囊泡[8]融合；直接测量分散体系的稳定率[9]、高分子材料的流变学性质[10]；研究微粒之间的流体力学相互作用[11]、静电相互作用[12-13]等。操纵微粒作为手柄从而间接操控更小的微粒，能在单分子层次上研究 DNA 双链[14]、蛋白质分子[15]和分子马达行走的力学行为[16]。另外，光镊与拉曼光谱系统结合[17-19]，即拉曼光谱结合光阱(RSOT)技术或激光拉曼光镊子(LTRS)系统，采用光镊固定活细胞，同时应用激光拉曼技术对活细胞或细胞器进行长时间的拉曼光谱测定。该技术既克服了传统拉曼光谱探测中固定技术的缺陷，又提高了生物单细胞在实验过程中的活性。通过拉曼光谱峰的差异就可以分析研究细胞与细胞器中核酸、蛋白质或多糖类的含量与结构的变化。

光子除了携带线性动量外还携带角动量，因此光经过微粒后光子角动量能传递给微粒使微粒产生转动[20-24]，这在光镊对微粒的三维操作基础上又增加了一维角向的操作，在研究溶液中微粒旋转运动的动力学行为和应用中有着重要作用，例如可以研究界面对微粒旋转的影响[25]和微区的流体性质[26]。

典型的光镊是由一束激光经过一个高数值孔径的物镜形成的。当一个微粒处于激光焦点附近时，入射光由于发生反射和折射导致其动量发生改变，而动量的改变量传递给微粒，因此微粒会受到一个光阱力，将它局限在激光焦点附近，如图 1.1 所示。

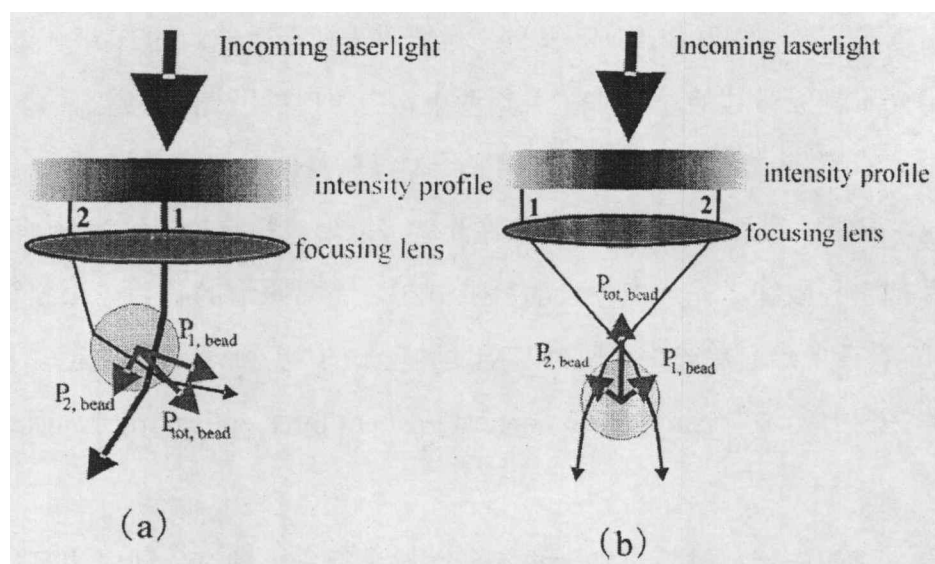


图 1.1 光镊原理图

光阱力通常可分为两部分：散射力和梯度力。其中散射力推动微粒沿光线传

播方向运动,大小与光强成正比,而梯度力会使着微粒沿着光强的梯度方向运动,大小与光强梯度成正比。通常散射力占有优势,但当激光光强存在一个很大的梯度时,梯度力将大于散射力。为了产生很大的光强梯度,通常使用一个高数值孔径的物镜作为捕获物镜。在物镜的焦点附近,散射力和梯度力达到平衡,微粒就被束缚在此处。当微粒偏离平衡位置时,梯度力和散射力的共同作用将偏离平衡位置的微粒拉回到平衡位置。

图1.1(a)表示的是光阱的横向捕获效果。光线1的光强大于光线2的光强,因此其传递的动量也较大,总体效果是一个横向的梯度力,使得微粒向激光焦点处移动。图1.1(b)表示的是光阱的纵向捕获效果。当微粒处于焦点以外时,因纵向梯度力而产生回复力使得微粒回复到激光焦点处。这样,一束高度会聚的光束便构成了三维空间的一个势阱,能量最低处在焦点附近,这就是单光束梯度力光阱。

## 1.2 光镊技术应用

光镊技术具有非接触、低损伤和适用对象广泛等特点,使得光镊从发明起就得到广泛关注。经过二十多年的发展,光镊技术已经被应用到了生物学、胶体化学、流体力学等许多领域,下面对光镊的一些典型的应用进行介绍。

### 1.2.1 光镊测量红细胞形变

红细胞的变形能力与血液循环有着很大的关系,其变形能力的改变是一些疾病的主要原因或重要临床表现,所以对红细胞变形能力的测量和研究有着重要的意义。由于红细胞膜表面的蛋白带有一定量的电荷,因此红细胞在流动中会发生一定的聚集,这也是红细胞的一个重要流变学性质。变形性、松弛性和聚集性三者结合,才能完全反应红细胞在机体中的流动性。另外,对红细胞变形能力的深入了解有助于人们阐明具有更复杂结构的细胞的力学性质。同时可为人工红细胞的构建提供实验依据,推进人工红细胞替代红细胞应用研究的步伐。

红细胞的变形能力受到细胞所处环境例如血液粘度、pH值以及渗透压等影响很大。红细胞在机体中的流动性是体系中的很多个单细胞变形能力的整体反映,因此有必要对单个红细胞的变形能力进行研究。目前对红细胞流变性质的研究大都使用粘度法、激光散射等宏观测量方法,而不是以单个红细胞为对象进行

研究，而光镊技术的特点使其可以对单个红细胞的力学行为进行研究。

利用光镊拉伸红细胞的方法如图 1.2 所示，在红细胞两端分别连接一个微球，用光阱将微球捕获。其中一个光镊固定不动，主动操控另一个光镊拉伸红细胞。分析光阱力与红细胞的形变，可以测得红细胞膜的弹性模量。

Henon等人[27]使用了10~15pN的光阱力对红细胞进行拉伸，测量所得的结果是红细胞的弹性模量为 $2.5 \pm 0.4 \mu\text{N}/\text{m}$ 。当拉伸的光阱力增大时，红细胞的弹性模量会逐渐增大，Lim等人的结果表明[28-29]，当光阱力为85pN时，细胞的弹性模量达到 $5.5 \mu\text{N}/\text{m}$ 。吴建光等人[30]研究了不同渗透压下红细胞的变形能力，发现等渗条件下双凹形的红细胞形变能力最强，渗透压降低时，红细胞形变能力下降，其主要是由于细胞形状的改变造成的，而在高渗条件下，细胞变形能力同样减弱，主要原因是细胞内液粘度呈指数增加。另外，Bronkhorst等人[31]利用光镊将红细胞拉伸一定距离之后，观察细胞的回复时间，发现新生的红细胞(162ms)比老的红细胞(353ms)有更短的回复时间。

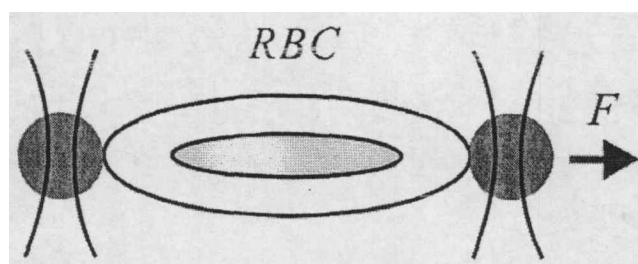


图 1.2 光镊法拉伸红细胞方法示意图

### 1.2.2 光镊研究分散体系稳定性

光镊技术的优势不仅在生物学研究中得到了发挥，还被大量应用到了分散体系研究中。在光镊引入分散体系研究之前，研究分散体系稳定性一般使用光散射方法来测量体系的聚沉过程。从粒子层次考虑，分散体系的稳定程度是由体系中的微粒碰撞聚集过程所决定的，因此，要实现从微粒层次研究体系的稳定性，必须要对体系中微粒的碰撞聚集过程进行研究。

徐升华等人[9, 32]基于光镊可以操控和定位微粒的特点，同时捕获两个胶体微粒并居于显微镜方便跟踪的视野中。实验中光镊捕获两个微粒，微粒在光阱中会发生碰撞，关闭光镊后对微粒的碰撞聚集过程进行跟踪，观察微粒对在光镊中碰撞之后是否发生聚集，其实验过程如图 1.3 所示。统计大量微粒对的结合几率，

就可以从粒子层次研究微粒的碰撞聚集过程的规律，在研究中建立了光镊中两个微粒碰撞聚集过程的物理模型和从微小粒子层次来测量体系的稳定率的方法。

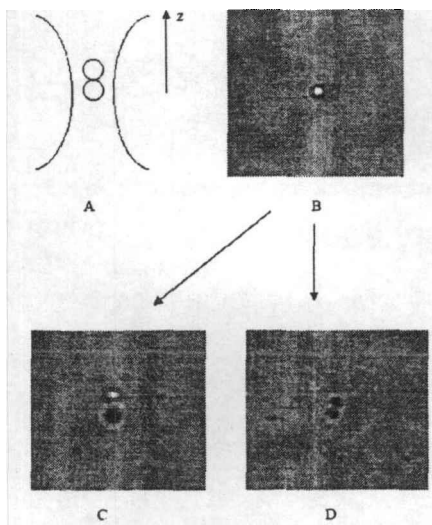


图 1.3: 实验过程图。A: 光镊捕获两个微粒示意图。B: 光镊捕获两个微粒的显微图像。C: 微粒未结合分开的图像。D: 微粒结合的图像。

### 1.2.3 光镊测量胶体链刚度

通常胶体微粒间的相互作用力由 DLVO 理论描述，其中微粒间的总相互作用由微粒双电层的排斥力和范德华力共同决定。DLVO 理论的假设条件包括微粒表面是光滑的，而且化学条件均一，而实际中的胶体体系很少满足这些理想条件。在微粒间的距离较远时，DLVO 理论还能较准确的描述微粒间的相互作用，而当微粒距离较小或接触之后，微粒之间的相互作用力与 DLVO 的预言值相差很大。利用光镊将胶体微粒排成小球链，可以测量研究小球链的力学性质，研究微粒之间的相互作用。

Pantina 等人做了一系列的研究工作[33-35]，为研究胶体微粒间相互作用及胶体凝胶的流变学性质及其动力学过程，提供了新的实验依据。他们利用扫描光镊排布胶体小球链，并测量了一定盐浓度下胶体微粒间的结合力（如图1.4）。孟炳寰等人[36]利用单光镊将小球排成小球链，用光镊沿小球链切向方向拉伸末端的小球，对小球链的力学性质随时间变化进行测量，研究胶体微粒间相互作用状态的变化。Furst 等[37]用光镊将磁流变液的微粒排成单链，在小球链的两端粘接2个直径为 $3.5\mu\text{m}$ 的聚苯乙烯小球，在垂直于小球链的方向施加磁场，然后通过光镊操控聚苯乙烯小球对磁流变液微粒链进行切向拉伸，研究微粒之间的结合力和

微粒链在磁场下的应力行为。

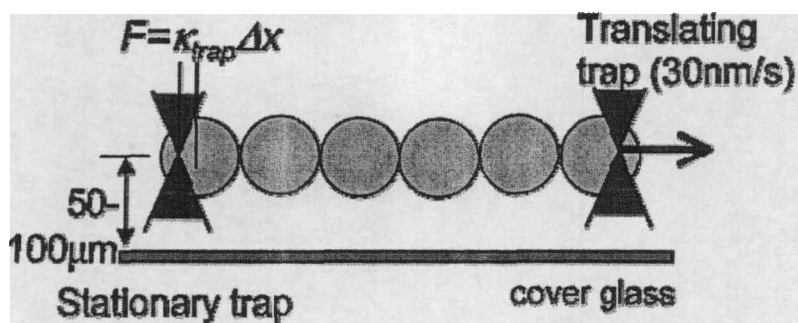


图 1.4 利用扫描光镊排布胶体微粒单链后，用光镊测量胶体微粒间的结合力[33]

### 1.2.4 冷却微粒

上世纪70年代初，人们开始对激光辐射压力进行全面和深入的研究，特别是对原子在各种不同条件下所受辐射压力的性质和机制进行了理论探索和实验观测，从而发展了原子束的激光冷却等实验技术。与此同时，另一类有关激光对于宏观微粒的辐射压力的研究（包括对宏观介质微粒的光悬浮、光捕获和光操纵等），这方面的研究最终导致了光镊的发明。近年来，人们利用光镊在空气和真空中捕获微粒，逐渐发展出与普通光镊应用不同的新研究方向[38-40]，使得这两种技术有重合的趋势。

光阱中的微粒做布朗运动，如果能够实时跟踪小球的运动轨迹，当小球位置与光阱正中心有所偏离时，对小球实时施加一个反馈力，让小球回到光阱的中心，这样可以大大增加光阱的刚度[41]。一般光镊捕获微粒都是在类水溶液中进行，由于水的粘滞系数影响远大于微粒的惯性质量影响，所以Langvin方程中惯性项被忽略。当处于空气甚至真空中的微粒被捕获时，微粒的惯性项影响不能忽略，如果施加反馈，可以对微粒的运动进行限制，减弱光阱中的微粒的运动，该过程被称为光力学冷却(Optomechanical Cooling)[42-43]。

量子理论出现于20世纪早期，它用于解释采用经典力学所无法解释的原子行为。然而，当物体较大时，其自身的热量和运动掩盖了量子效应。为了观察到较大物体的量子效应，人们需要将它们冷却到绝对零度或极其接近绝对零度，如此低温只有让物体尽可能地不动才能实现。在绝对零度时，物质的原子失去了其所有的热能，只剩下它们的量子运动。

Corbitt等人[44]于2007年在PRL发表论文，用两束激光同时作用于悬浮的镜



子,其中一束激光用于捕获镜子,另一束激光则减缓镜子的运动,成功地将体积相当于硬币大小的镜子(质量1g)冷却到到0.8K。

### 1.3 光阱中微粒运动研究现状

分散体系中微粒的一个重要特点是做布朗运动(Brownian Motion)。布朗运动是英国植物学家布朗于1827年在研究微生物时发现的。他发现植物花粉的细小微粒在液体中有不规则运动,一开始,他以为这种运动与生命有关,后来证明了布朗运动是液体分子无规则运动的一种效应,布朗运动成为分子学说及分子运动论的有力支持。爱因斯坦于1905年用统计的方法证明了布朗微粒在一段时间内位置随时间的变化量与其他参量的关系,1908年,佩兰用实验测量了布朗微粒的位移平方平均值,证实了爱因斯坦的理论,并测量了阿伏伽德罗常数的值。

光阱的势阱是一个简谐势阱,Clercx和Schram[45]从理论研究了布朗微粒处于简谐势阱中时的运动过程,Lukić等人[46]于2007年在Phys. Rev. E上发表文章,研究光阱中微米粒子的布朗运动理论和实验研究,Davis[47]则理论研究了纳米粒子在光阱中的运动布朗运动。自从发现光镊可以旋转双折射小球以后[21],光致旋转实验研究中所用的微粒主要是双折射小球。光子除了携带线动量外还有角动量,光经过双折射率微粒后光子角动量的变化能传递给微粒产生转动,因此可以微观测量力矩,产生光致旋转效果而实现微传动装置。通过光阱中微粒的转动,可以测量光子的轨道角动量和自旋角动量[48-52]。

目前对光阱中微粒运动的研究主要是应用研究,下面介绍几项应用。

#### 1.3.1 测量微粒的流体力学行为

应用光镊技术可以方便的测量微粒在溶液中特定几何位置的扩散系数。Lin等人[53-54]利用闪频光镊以及数字成像技术,研究了当小球处于双平面中心时,平面对微粒横向和纵向扩散的影响。Dufresne等人[55]测量了微粒处于双平面中不同位置的扩散系数,并与理论计算结果进行了比较。Crocker等人[11]采用一定频率开关的双光镊,捕获两个相同大小的微米粒子,并对微粒在微米尺度距离下的流体动力学相互作用进行了研究。Dufresne等人[56]还使用双光镊捕获两个胶体小球,研究微粒处于单平面附近时,表面对小球之间的流体动力学相互作用行为的影响。Wang等人[57]研究微粒处于液体-液体附近时微粒的扩散与自由扩散

时的区别, 结果发现与微粒处于固体面附近时的扩散系数修正趋势相反。

微粒的旋转运动会因为与表面的流体动力学相互作用而受到影响, 即便在与表面相距比较远的地方这种影响仍然可能很大。Brenner于1964年的理论研究结果[58]指出, 无论旋转轴垂直还是平行于平面, 与附近的表面之间的流体动力学相互作用将会抑制微粒的旋转速度。Leach等人利用光镊旋转双折射小球, 研究了界面对小球旋转运动的影响[25]。

### 1.3.2 胶体微粒之间的相互作用

分散介质中带很高表面电荷的胶体微粒之间的静电相互作用一直是胶体体系领域研究的热点问题。利用光镊可以直接对胶体体系中微粒之间的静电相互作用进行实验研究, 而且对相互作用势的测量已经达到能和静电相互作用的 DLVO 理论做对比的精度, 提供了实验依据, 使得人们可以对理论以及相互作用过程进行更深入的探讨。

Crocker 和 Grier 等人[12-13, 59]使用双光镊捕获然后释放两个分离的静电稳定的胶体微粒, 然后对这种存在静电相互作用的两个微粒的布朗运动轨迹进行分析计算, 得出了微粒间的相互作用势, 一系列这样的测量定量地给出了与 DLVO 理论相一致的排斥作用。Dobnikar 等人[60]利用双光镊抓住两个微粒, 然后利用一个闪频光镊捕获第三个微粒, 对第三个微粒的布朗运动轨迹进行分析计算, 得出了三个微粒间的相互作用势, 观察到了三体之间的吸引作用, 实验结果与非线性 Poisson-Boltzmann 模型相符合。Gutsche 等人[61]测量了不同盐浓度下微粒之间的相互作用, 并与 DLVO 模型和 Poisson-Boltzmann 模型进行了比较, 认为当溶液为单价盐溶液时, 结果与 DLVO 和 Poisson-Boltzmann 模型都符合, 当溶液为高价盐溶液时, 微粒之间的力大小在两个模型的计算结果之间。

Dinsmore 等人[62]使用以一定频率开关的闪频光镊测量了被大分子链所包围的胶体刚性小球之间的空缺相互作用, 给出了研究微粒与微粒之间空缺相互作用的微观方法。其后, Verma 等人[63]利用线扫描光镊对非吸附性大分子溶液中的胶体小球之间的空缺相互作用进行了测量。Crocker 等人[64]也利用线扫描的光镊, 对有其它微粒存在下的胶体微粒之间的空缺相互作用进行了研究。Owen 等人[65]利用线扫描光镊测量了微粒之间的空间排斥相互作用势, 指出势能与微粒之间的距离的关系呈指数衰减规律。

### 1.3.3 微流变学

流变学(Rheology)是研究物质在力的作用下变形和流动的科学,属于力学的一个分支。宏观粘滞系数可经由测量流体在一定剪力下的形变速率而得到。一般而言,粘弹性材料的弹性部分的频率反应区可高达数千赫兹,而粘度仪测量的转动频率只能上达几十赫兹,因此不能测量许多粘弹性材料的高频弹性反应,而且在许多场合的应用受到限制。

微流变学方法(Microrheology Method)利用布朗运动的特性,以光散射技术或显微术在很小的局域内测量材料的粘弹性。微流变学基本上可分为主动与被动两种方法(Active and Passive Microrheology)。

主动的微流变学[66-68]利用微操控技术,如光镊捕获粘结在细胞膜表面或溶液中的微粒,对其作高频往复运动,通过测量此微粒或附近微粒的位移来得到流体的流变学参数。

被动流变学方法[69-71],以扰动—耗散关系为出发点,单纯测量由自然的热扰动造成的微粒位移。由于每一次的位移量都很小,因此一般用线性粘弹理论来分析。光镊捕获分散于溶液中的微米小球,测量由于的热扰动造成的微粒位移 $x(t)$ ,对 $x(t)$ 作傅立叶变换得到位移的频谱 $X(\omega)$ ,通过下列公式,

$$\alpha' = \frac{\omega}{2kT} \langle X^2(\omega) \rangle \quad (1.1)$$

$$\alpha' = \frac{2}{\pi} PV \int_0^{\infty} d\varepsilon \frac{\varepsilon \alpha'(\varepsilon)}{\varepsilon^2 - \omega^2} \quad (1.2)$$

$$\alpha = \alpha' + i\alpha'' \quad (1.3)$$

其中 $PV$ 为中值积分符号,由公式 $\alpha(\omega) = \frac{1}{6\pi G(\omega)R}$ 可得到粘弹性材料的弹性和

耗损模数(Elastic and Loss Modulus) $G'(\omega)$ 及 $G''(\omega)$ 。文献[71]利用光镊测量了纯水溶液的流变学参数 $G'(\omega)$ 及 $G''(\omega)$ ,如图1.5所示。虽然纯水不存在弹性响应,但是测量结果中却出现了弹性成分,而且在不同的激光功率下 $G'(\omega)$ 大小也不一样,这是因为激光光阱本身的限制作用引起的,因此在被动微流变学测量方法中需要扣除激光光阱带来的弹性影响。

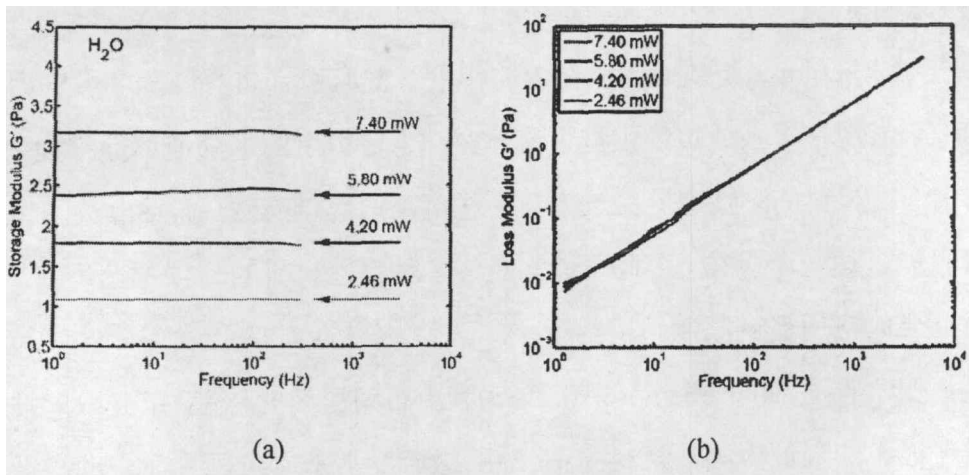


图 1.5 (a) 纯水溶液中的弹性模数。(b) 纯水溶液中的粘性模数。

光镊微流变测量法作为一种新的测量方法，其优势在于可以测量粘弹性材料的高频弹性反应，可以进行微区的性质探测，而且实验样品用量非常少，也可以在一些特殊的情况下进行测量，比如薄膜，细胞内部等，其不足之处是样品必须透光，不能研究材料的非线性相应性质等。

#### 1.4 本文主要内容介绍

本文主要研究微米粒子在光阱中的运动和应用光镊操控界面的微粒。

对于光阱中微粒的平面运动的研究，主要是利用光镊技术，测量微粒分散于水溶液时的扩散系数，以及不同浓度PEO溶液中微粒的扩散系数。对于微粒的旋转运动，主要研究了双折射小球在光阱中的旋转速度随捕获高度的变化，指出其中球差的影响，根据修正方法对光阱的球差进行修正，并测量研究修正后的微粒的旋转速度与捕获高度的关系。

对界面上的胶体微粒进行受力分析，计算界面上微粒受到的光阱力，并使用光镊二维操控了微粒进行运动，为研究界面上小球的布朗运动做实验技术准备。文章还介绍了光镊的两个具体应用：一、利用光镊测量聚苯乙烯小球与Hela细胞的非特异性结合力。二、利用光阱中微粒的背散光进行光阱中微粒个数的分辨，并对光阱的参数进行研究。

由于本论文工作大部分都是在实验室研制的纳米光镊系统上进行，因此在第二章中先介绍了纳米光镊系统，并测量了该光镊的关键参数—光阱刚度。在两种不同的物镜下，光阱的横向刚度与捕获高度的变化关系都给予了测量。使用信

息熵标定微粒的纵向位移，并测量了光阱的纵向刚度。

第三章研究分散体系中微粒在光阱中的扩散行为。根据纳米光镊系统，研究了几种使用光镊进行微粒扩散系数测量的方法，并测量了不同浓度的PEO溶液中微粒的扩散系数。根据前人的理论研究和实验方法，提出小球运动位移的高低功率谱结合测量微粒的扩散系数。

第四章的内容为本论文的重点之一，研究双折射小球在光阱中的旋转运动。指出由于油水界面存在引起的球差，小球的旋转速度随着捕获高度的增加而减小，文中研究使用改变有效机械筒长的方法对球差补偿，并测量了修正之后的小球旋转速度随捕获高度的变化。

在第五章中对界面上的微粒进行了受力分析，并使用几何光学模型对光阱力进行了数值计算，研究合适的捕获条件，并根据计算结果，使用低数值孔径的物镜对空气—水界面上的胶体微粒进行二维操控。

第六章利用光镊研究操控粘附在细胞表面的小球，测量小球与Hela细胞的非特异性结合力，研究了该结合力的强度和断裂时间，并分析该结合力的来源，认为该结合是空间相互作用和静电力共同作用的结果。

第七章介绍光镊实验中的一个实验技术，利用光阱中微粒的背散光进行光阱中微粒个数的分辨，并对微粒在光阱中的排列状态、光阱的参数等进行研究。

## 参考文献

1. A. Ashkin, and J. M. Dziedzic, "Optical Levitation by Radiation Pressure," *Appl. Phys. Lett.* **19**, 283-285 (1971).
2. A. Ashkin, J. M. Dziedzic, J. E. Bjorkholm, and S. Chu, "Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles," *Opt Lett* **11**, 288-290 (1986).
3. K. C. Neuman, and S. M. Block, "Optical trapping," *Rev. Sci. Instrum.* **75**, 2787-2809 (2004).
4. K. C. Neuman, and A. Nagy, "Single-molecule force spectroscopy: optical tweezers; magnetic tweezers and atomic force microscopy," *Nature Methods* **5**, 491-505 (2008).
5. H. W. Wang, X. H. Liu, Y. M. Li, B. Han, L. R. Lou, and K. J. Wang, "Isolation of a single rice chromosome by optical micromanipulation," *J. Opt. A: Pure Appl. Opt.* **6**, 89-93 (2004).

6. Z. W. Li, B. Anvari, M. Takashima, P. Brecht, J. H. Torres, and W. E. Brownell, "Membrane tether formation from outer hair cells with optical tweezers," *Biophys. J.* **82**, 1386-1395 (2002).
7. Y. M. Li, L. J. Guan, L. R. Lou, G. Q. Cui, Y. Yao, H. W. Wang, C. S. Cao, R. L. Lu, and X. Chen, "Laser-induced tobacco protoplast fusion," *Science in China Series C-Life Sciences* **42**, 122-127 (1999).
8. S. Kulin, R. Kishore, K. Helmerson, and L. Locascio, "Optical manipulation and fusion of liposomes as microreactors," *Langmuir* **19**, 8206-8210 (2003).
9. Z. Sun, S. Xu, G. Dai, Y. Li, L. Lou, Q. Liu, and R. Zhu, "A microscopic approach to studying colloidal stability," *Journal of Chemical Physics* **119**, 2399-2405 (2003).
10. F. Gittes, B. Schnurr, P. D. Olmsted, F. C. MacKintosh, and C. F. Schmidt, "Microscopic viscoelasticity: Shear moduli of soft materials determined from thermal fluctuations," *Phys. Rev. Lett.* **79**, 3286-3289 (1997).
11. J. C. Crocker, "Measurement of the hydrodynamic corrections to the Brownian motion of two colloidal spheres," *J. Chem. Phys.* **106**, 2837-2840 (1997).
12. J. C. Crocker, and D. G. Grier, "Microscopic Measurement of the Pair Interaction Potential of Charge-Stabilized Colloid," *Physical Review Letters* **73**, 352-355 (1994).
13. J. C. Crocker, and D. G. Grier, "When like charges attract: The effects of geometrical confinement on long-range colloidal interactions," *Physical Review Letters* **77**, 1897-1900 (1996).
14. X. W. Zhuang, "Unraveling DNA condensation with optical tweezers," *Science* **305**, 188-190 (2004).
15. X. H. Zhang, K. Halvorsen, C. Z. Zhang, W. P. Wong, and T. A. Springer, "Mechanoenzymatic Cleavage of the Ultralarge Vascular Protein von Willebrand Factor," *Science* **324**, 1330-1334 (2009).
16. N. R. Guydosh, and S. M. Block, "Direct observation of the binding state of the kinesin head to the microtubule," *Nature* **461**, 125-128 (2009).
17. C. G. Xie, M. A. Dinno, and Y. Q. Li, "Near-infrared Raman spectroscopy of single optically trapped biological cells," *Optics Letters* **27**, 249-251 (2002).
18. D. V. Petrov, "Raman spectroscopy of optically trapped particles," *J. Opt. A-Pure Appl. Opt.* **9**, S139-S156 (2007).
19. S. Rao, S. Balint, B. Cossins, V. Guallar, and D. Petrov, "Raman Study of Mechanically Induced Oxygenation State Transition of Red Blood Cells Using Optical Tweezers," *Biophys J* **96**, 209-216

- (2009).
20. S. Sato, M. Ishigure, and H. Inaba, "Optical Trapping and Rotational Manipulation of Microscopic Particles and Biological Cells Using Higher-Order Mode Nd:YAG Laser Beams," *Electron. Lett.* **27**, 1831-1832 (1991).
21. M. E. J. Friese, T. A. Nieminen, N. R. Heckenberg, and H. Rubinsztein-Dunlop, "Optical alignment and spinning of laser-trapped microscopic particles," *Nature* **394**, 348-350 (1998).
22. A. T. O'Neil, and M. J. Padgett, "Rotational control within optical tweezers by use of a rotating aperture," *Opt. Lett.* **27**, 743-745 (2002).
23. L. Paterson, M. P. MacDonald, J. Arlt, W. Sibbett, P. E. Bryant, and K. Dholakia, "Controlled rotation of optically trapped microscopic particles," *Science* **292**, 912-914 (2001).
24. M. E. J. Friese, T. A. Nieminen, N. R. Heckenberg, and H. Rubinsztein-Dunlop, "Optical torque controlled by elliptical polarization," *Opt. Lett.* **23**, 1-3 (1998).
25. J. Leach, H. Mushfique, S. Keen, R. Di Leonardo, G. Ruocco, J. M. Cooper, and M. J. Padgett, "Comparison of Faxén's correction for a microsphere translating or rotating near a surface," *Phys. Rev. E* **79**, 026301 (2009).
26. A. I. Bishop, T. A. Nieminen, N. R. Heckenberg, and H. Rubinsztein-Dunlop, "Optical microrheology using rotating laser-trapped particles," *Phys. Rev. Lett.* **92**, 198104 (2004).
27. S. Henon, G. Lenormand, A. Richert, and F. Gallet, "A new determination of the shear modulus of the human erythrocyte membrane using optical tweezers," *Biophys J* **76**, 1145-1151 (1999).
28. C. T. Lim, M. Dao, S. Suresh, C. H. Sow, and K. T. Chew, "Large deformation of living cells using laser traps," *Acta Materialia* **52**, 1837-1845 (2004).
29. C. T. Lim, M. Dao, S. Suresh, C. H. Sow, and K. T. Chew, "Corrigendum to "Large deformation of living cells using laser traps" [*Acta Materialia* 52 (2004) 1837-1845]," *Acta Materialia* **52**, 4065-4066 (2004).
30. J. G. Wu, Y. M. Li, D. Lu, Z. Liu, Z. D. Cheng, and L. Q. He, "Measurement of the Membrane Elasticity of Red Blood Cell with Osmotic Pressure by Optical Tweezers," *Cryoletters* **30**, 89-95 (2009).
31. P. J. H. Bronkhorst, G. J. Streekstra, J. Grimbergen, E. J. Nijhof, J. J. Sixma, and G. J. Brakenhoff, "A new method to study shape recovery of red blood cells using multiple optical trapping," *Biophys J* **69**, 1666-1673 (1995).



32. Z. W. Sun, S. H. Xu, J. Liu, Y. M. Li, L. R. Lou, and J. C. Xie, "Improved procedure on the microscopic approach to determine colloidal stability," *Journal of Chemical Physics* **122**, 184904 (2005).
33. J. P. Pantina, and E. M. Furst, "Directed assembly and rupture mechanics of colloidal aggregates," *Langmuir* **20**, 3940-3946 (2004).
34. J. P. Pantina, and E. M. Furst, "Elasticity and critical bending moment of model colloidal aggregates," *Physical Review Letters* **94**, 138301 (2005).
35. J. P. Pantina, and E. M. Furst, "Colloidal aggregate micromechanics in the presence of divalent ions," *Langmuir* **22**, 5282-5288 (2006).
36. B. H. Meng, J. G. Wu, Y. M. Li, and L. R. Lou, "Aging process of bond between colloidal particles using laser tweezers," *Colloids and Surfaces A* **322**, 253-255 (2008).
37. E. M. Furst, and A. P. Gast, "Micromechanics of magnetorheological suspensions," *Physical Review E* **61**, 6732-6739 (2000).
38. M. Michihata, T. Hayashi, and Y. Takaya, "Measurement of axial and transverse trapping stiffness of optical tweezers in air using a radially polarized beam," *Appl. Opt.* **48**, 6143-6151 (2009).
39. S. Groblacher, J. B. Hertzberg, M. R. Vanner, G. D. Cole, S. Gigan, K. C. Schwab, and M. Aspelmeyer, "Demonstration of an ultracold micro-optomechanical oscillator in a cryogenic cavity," *Nat Phys* **5**, 485-488 (2009).
40. T. J. Kippenberg, and K. J. Vahala, "Cavity optomechanics: Back-action at the mesoscale," *Science* **321**, 1172-1176 (2008).
41. A. E. Wallin, H. Ojala, E. Hæggström, and R. Tuma, "Stiffer optical tweezers through real-time feedback control," *Appl. Phys. Lett.* **92**, 224104 (2008).
42. I. Wilson-Rae, N. Nooshi, W. Zwerger, and T. J. Kippenberg, "Theory of ground state cooling of a mechanical oscillator using dynamical backaction," *Physical Review Letters* **99**, 093901 (2007).
43. F. Marquardt, A. A. Clerk, and S. M. Girvin, "Quantum theory of optomechanical cooling," *Journal of Modern Optics* **55**, 3329-3338 (2008).
44. T. Corbitt, Y. Chen, E. Innerhofer, H. Müller-Ebhardt, D. Ottaway, H. Rehbein, D. Sigg, S. Whitcomb, C. Wipf, and N. Mavalvala, "An All-Optical Trap for a Gram-Scale Mirror," *Physical Review Letters* **98**, 150802 (2007).
45. H. J. H. Clercx, and P. P. J. M. Schram, "Brownian particles in shear flow and harmonic potentials:

- A study of long-time tails," *Physical Review A* **46**, 1942 (1992).
46. B. Lukić, S. Jeney, Ž. Sviben, A. J. Kulik, E. L. Florin, and L. Forró, "Motion of a colloidal particle in an optical trap," *Phys. Rev. E* **76**, 011112 (2007).
47. T. J. Davis, "Brownian diffusion of nano-particles in optical traps," *Optics Express* **15**, 2702-2712 (2007).
48. T. A. Nieminen, N. R. Heckenberg, and H. Rubinsztein-Dunlop, "Optical measurement of microscopic torques," *J. Mod. Opt.* **48**, 405-413 (2001).
49. M. K. Liu, N. Ji, Z. F. Lin, and S. T. Chui, "Radiation torque on a birefringent sphere caused by an electromagnetic wave," *Phys. Rev. E* **72**, 056610 (2005).
50. A. I. Bishop, T. A. Nieminen, N. R. Heckenberg, and H. Rubinsztein-Dunlop, "Optical application and measurement of torque on microparticles of isotropic nonabsorbing material," *Phys. Rev. A* **68**, 033802 (2003).
51. A. La Porta, and M. D. Wang, "Optical torque wrench: Angular trapping, rotation, and torque detection of quartz microparticles," *Phys. Rev. Lett.* **92**, 190801 (2004).
52. S. Parkin, G. Knoner, T. A. Nieminen, N. R. Heckenberg, and H. Rubinsztein-Dunlop, "Measurement of the total optical angular momentum transfer in optical tweezers," *Opt. Express* **14**, 6963-6970 (2006).
53. B. H. Lin, J. Yu, and S. A. Rice, "Direct measurements of constrained Brownian motion of an isolated sphere between two walls," *Phys. Rev. E* **62**, 3909-3919 (2000).
54. B. H. Lin, J. Yu, and S. A. Rice, "Diffusion of an isolated colloidal sphere confined between flat plates," *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **174**, 121-131 (2000).
55. E. R. Dufresne, D. Altman, and D. G. Grier, "Brownian dynamics of a sphere between parallel walls," *Europhysics Letters* **53**, 264-270 (2001).
56. E. R. Dufresne, T. M. Squires, M. P. Brenner, and D. G. Grier, "Hydrodynamic coupling of two Brownian spheres to a planar surface," *Phys. Rev. Lett.* **85**, 3317-3320 (2000).
57. G. M. Wang, R. Prabhakar, and E. M. Sevick, "Hydrodynamic Mobility of an Optically Trapped Colloidal Particle near Fluid-Fluid Interfaces," *Phys. Rev. Lett.* **103**, 248303 (2009).
58. H. Brenner, "Slow viscous rotation of an axisymmetric body within a circular cylinder of finite length," *Applied Science Research A* **13**, 81-120 (1964).
59. J. C. Crocker, and D. G. Grier, "Methods of digital video microscopy for colloidal studies,"

- Journal of Colloid and Interface Science **179**, 298-310 (1996).
60. J. Dobnikar, M. Brunner, H. H. von Grunberg, and C. Bechinger, "Three-body interactions in colloidal systems," *Physical Review E* **69**, 031402 (2004).
  61. C. Gutsche, U. F. Keyser, K. Kegler, and F. Kremer, "Forces between single pairs of charged colloids in aqueous salt solutions," *Physical Review E* **76**, 031403 (2007).
  62. A. D. Dinsmore, A. G. Yodh, and D. J. Pine, "Entropic control of particle motion using passive surface microstructures," *Nature* **383**, 239-242 (1996).
  63. R. Verma, J. C. Crocker, T. C. Lubensky, and A. G. Yodh, "Entropic colloidal interactions in concentrated DNA solutions," *Physical Review Letters* **81**, 4004-4007 (1998).
  64. J. C. Crocker, J. A. Matteo, A. D. Dinsmore, and A. G. Yodh, "Entropic attraction and repulsion in binary colloids probed with a line optical tweezer," *Physical Review Letters* **82**, 4352-4355 (1999).
  65. R. J. Owen, J. C. Crocker, R. Verma, and A. G. Yodh, "Measurement of long-range steric repulsions between microspheres due to an adsorbed polymer," *Physical Review E* **6401**, 011401 (2001).
  66. M. T. Valentine, L. E. Dewalt, and H. D. OuYang, "Forces on a colloidal particle in a polymer solution: A study using optical tweezers," *J. Phys.-Condes. Matter* **8**, 9477-9482 (1996).
  67. M. T. Wei, A. Zaorski, H. C. Yalcin, J. Wang, M. Hallow, S. N. Ghadiali, A. Chiou, and H. D. Ou-Yang, "A comparative study of living cell micromechanical properties by oscillatory optical tweezers," *Optics Express* **16**, 8594-8603 (2008).
  68. L. A. Hough, and H. D. Ou-Yang, "Viscoelasticity of aqueous telechelic poly(ethylene oxide) solutions: Relaxation and structure," *Phys. Rev. E* **73**, 031802 (2006).
  69. C. J. Rueb, and C. F. Zukoski, "Viscoelastic properties of colloidal gels," *J Rheol* **41**, 197-218 (1997).
  70. K. M. Addas, C. F. Schmidt, and J. X. Tang, "Microrheology of solutions of semiflexible biopolymer filaments using laser tweezers interferometry," *Phys. Rev. E* **70**, 021503 (2004).
  71. G. Pesce, A. C. De Luca, G. Rusciano, P. A. Netti, S. Fusco, and A. Sasso, "Microrheology of complex fluids using optical tweezers: a comparison with macrorheological measurements," *J. Opt. A-Pure Appl. Opt.* **11**, 034016 (2009).

## 第2章 纳米光镊系统的光阱刚度

随着光镊技术在越来越多的领域得到了应用,对光镊技术本身的要求也越来越高,促进了光镊技术本身的发展[1-3]。光镊实验系统是利用光镊技术进行实验研究的基础,根据实验室的需求,实验室于2002年起研制了纳米光镊系统。

本论文的主要工作都是在纳米光镊系统上进行,因此在本章集中介绍纳米光镊系统,并对光镊的关键参数—光阱刚度进行测量。如果在以后的章节中没有特别指出,所用的光镊系统就是纳米光镊系统。

本章的安排如下:第一节介绍纳米光镊系统的光路,第二节介绍系统的位移信号测量系统,第三节测量光阱的横向刚度,第四节测量光阱的纵向刚度,最后在第五节中对本章进行小结。

### 2.1 纳米光镊系统光路简介

纳米光镊系统的实验装置主要是根据倒置显微镜Olympus IX70进行改造,光路如图2.1所示。

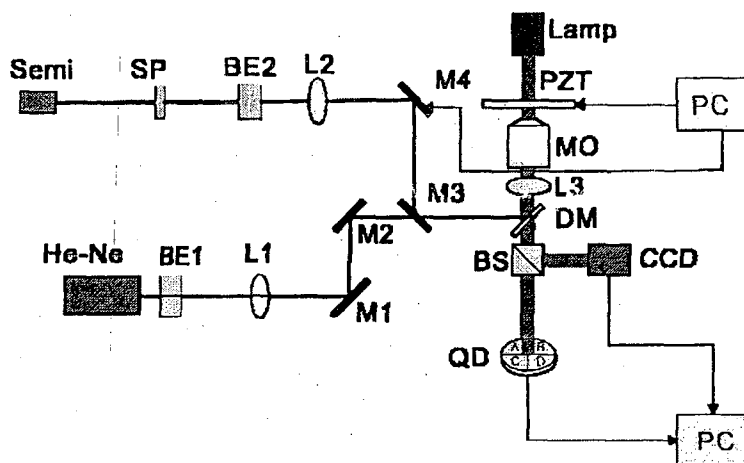


图2.1 纳米光镊系统光路示意图。He-Ne: He-Ne激光器; Semi: 半导体激光器; SP: 整形棱镜; BE: 扩束镜; L: 聚焦透镜, L3为显微镜内部的镜筒透镜(tube lens); M: 45°反射镜,其中M4固定在压电转镜; DM: 二色镜; BS: 分束镜; QD: 四象限探测器; CCD: 电荷耦合器件; PZT: 压电扫描平台; MO: 显微物镜; Lamp: 照明光源; PC: 计算机。

系统最终形成两个光阱, 其中一个光阱的光镊光源为He-Ne激光器(35mW, Coherent, USA), 输出的激光波长为632.8nm, 输出的激光束由扩束镜BE1扩束, 由L1聚焦后经由耦合光路耦合进入显微镜, 再由物镜MO强会聚后形成He-Ne激光光阱。另一个光阱是半导体光阱, 由半导体激光束(Semi,  $\lambda=810\text{nm}$ )通过整形棱镜SP、扩束镜BE2和聚焦透镜L2后, 由耦合光路耦合进入显微镜, 最后由物镜MO强会聚后形成半导体激光光阱。半导体光镊的光路中使用了压电转镜M4(Physik Instrumente S330)来偏转扫描光束, 实现主动改变光阱的位置。M4的偏转范围是1mrad, 精度是0.2 $\mu\text{rad}$ 。

对样品的精确定位和操控是通过压电扫描平台(P-517.3CL, PI, German)来实现的, 它的运动由计算机控制, 在水平方向(X、Y方向)上的运动范围是100 $\mu\text{m}$ , 精度为1nm, 在纵向(Z方向)上的运动范围是20 $\mu\text{m}$ , 精度为0.1nm。

## 2.2 位移测量系统

纳米光镊系统中同时采用了 CCD 和 QD 这两套数据采集系统采集小球的位移。实验装置中用 CCD (CoolsnapCF mono camera, USA) 进行图像采集, 而小球位移的测量则是通过对动态显微图像进行自相关分析来实现。另外, 可以通过四象限探测系统(QD)测量光镊激光的背散射光来得到小球的位移。下面就对这两种位移采集系统分别进行介绍。

### 2.2.1 CCD 系统

纳米光镊系统中所选用的 CCD 是 Roper Scientific 公司生产的 CoolSNAP cf 型黑白 CCD, 它的每个感光元的尺寸是 4.65 $\mu\text{m}\times 4.65\mu\text{m}$ , 最短的曝光时间是 1ms, 每秒可拍摄的帧数要根据拍摄的范围的大小和 binning 值(如: binning 值为 2 表示将 2 $\times 2$  的像素范围的光强相加当作最后的图像的一个像素的值)等因素来决定。该 CCD 配套使用的软件是 Image-Pro Express。

### 2.2.2 QD 系统

这是实验室自主设计开发的光电探测系统, 它的核心是滨松公司生产的 S1557 型四象限光电管(见图 2.2)。

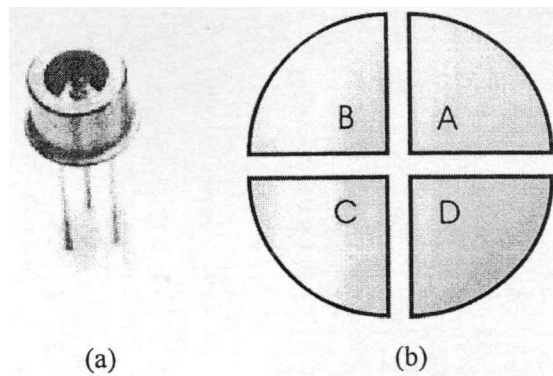


图 2.2: 四象限光电管及其靶面示意图。(a): 四象限光电管; (b): 探测器靶面示意图。

在纳米光镊系统中, QD 被安装在成像通道上, 采集的信号是被 He-Ne 光镊捕获的小球的背散光。被光镊捕获微粒的背散光通过成像通道成像到 QD 的靶面上, 四个面元将所收到的光强通过光电转换变成电信号, 由计算机读取存储。四路电压信号就代表了四个面元上所分别感受到的光强。当微粒(假设是一个规则的球形)的像正好处在靶面的正中心时, 四个面元收到的光强信号相等。当微粒的像偏离正中心时, 四个面元的信号就会发生变化, 有的会增加而有的会减少, 通过公式(2.1)分析这四个面元的信号, 就可以得到偏离靶面中心的位移。

$$\begin{cases} U_x = \frac{(A+D)-(B+C)}{U_z} \\ U_y = \frac{(A+B)-(C+D)}{U_z} \\ U_z = A+B+C+D \end{cases}, \quad (2.1)$$

式中的  $A$ 、 $B$ 、 $C$  和  $D$  分别对应图 2.2(b)中四个面元所输出的电压信号,  $U_x$  和  $U_y$  分别代表横向上两个方向位移,  $U_z$  则可以代表轴向上的位移。从 QD 探测器输出的信号是电压信号, 通过压电平台对电压一位移的比例进行标定之后就可以得到位移值。

### 2.3 测量光阱横向刚度

光镊的最重要的一个功能就是对微小力的测量, 而光阱刚度的测量是获得光阱力的关键步骤。当光阱中的粒子受到外力  $F_{ex}$  而偏离阱中心至  $x$  处静止时, 粒子将受到一个指向光阱中心的光阱力  $F_{trap}$ , 两者大小相等, 方向相反。

在光阱中心附近的一定范围之内, 光阱可以近似看成一个简谐势阱, 即在这个范围内粒子偏离阱中心的位移  $x$  与粒子受到光阱力成正比:

$$F_r = -k \cdot x, \quad (2.2)$$

其中比例常数  $k$  称之为光阱刚度。标定光阱刚度的方法有许多种, 常用的方法[4]有流体力学法、热运动分析法、功率谱法[5]等, 其中流体力学法[6]是最常用的一种。光镊对微粒的捕获操作通常都是在类水溶液中进行的, 当光镊捕获的小球与周围液体以一定速度相对运动时, 小球受到液体的粘滞阻力大小为

$$F = -6\pi\eta r v, \quad (2.3)$$

其中  $r$  为小球半径,  $\eta$  为液体粘滞系数,  $v$  为相对运动速度。当粘滞阻力与小球所受到的光阱力平衡时, 小球将偏离光阱中心而处于新的平衡位置, 其偏离光阱中心的位移  $x$  通过第 2.2 节介绍的位移测量系统进行精确的测量。因为光阱力和粘滞阻力大小相等, 根据公式(2.3)求出光阱力, 再由公式(2.2)求得光阱刚度  $k$ 。

He-Ne 光镊系统中可以使用两个不同的物镜, 一个是无穷远物镜, NA=1.30。另一个是机械筒长为 160mm 的物镜, 数值孔径为 1.25。下面测量使用这两个物镜时光阱刚度的区别。

### 2.3.1 无穷远物镜时的光阱横向刚度

实验样品为聚苯乙烯小球悬浮液, 小球的直径  $0.997 \pm 0.021 \mu\text{m}$  (Duke Scientific, USA)。将小球置于内孔直径为 6mm, 高度为 1 mm 的硅胶垫圈中, 上下表面用盖玻片密封。使用的物镜为无穷远物镜 (NA=1.30,  $\infty$ , Olympus, Japan)。

实验采用流体力学法测量光阱横向刚度  $k_x$ 。改变不同的捕获高度, 在每个捕获高度时测量了 5 个不同小球的光阱横向刚度, 然后平均得到光阱横向刚度  $k_x$ , 其测量结果如图 2.3 所示, 光阱刚度随着捕获高度  $h$  的增加而变小。

通过图 2.3 可以看出, 随着捕获高度的增大, 光阱的刚度从  $h=5\mu\text{m}$  时的  $19.7 \text{ pN}/\mu\text{m}$  减低至  $h=40\mu\text{m}$  时的  $11.9 \text{ pN}/\mu\text{m}$ , 而且在实验中发现, 离盖玻片底面的高度超过  $45\mu\text{m}$  以后, 光阱很难捕获小球。光阱刚度随着捕获高度的变大而变小的现象, 被认为主要是由于折射率不一致引起的球差所导致[7]。



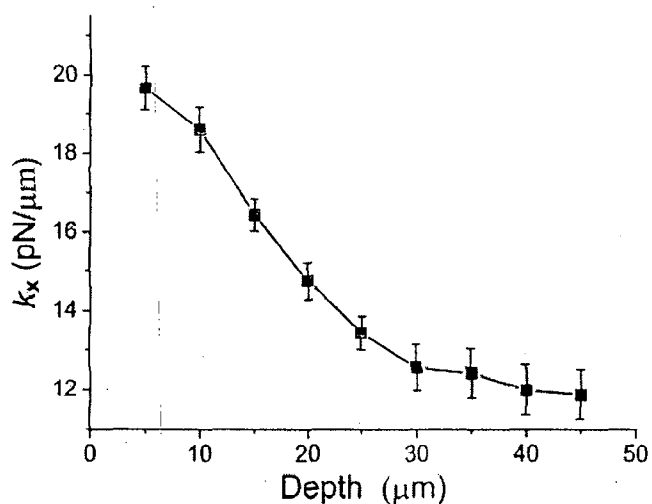


图 2.3 光阱横向刚度随捕获高度的变化

### 2.3.2 有限远物镜时的光阱横向刚度

实验样品为聚苯乙烯小球悬浮液，小球的直径  $0.997 \pm 0.021 \mu\text{m}$  (Duke Scientific, USA)。将小球置于内孔直径为 6mm，高度为 1mm 的硅胶垫圈中，上下表面用盖玻片密封，使用的物镜为机械筒长为 160mm 的物镜 (NA=1.25, 160mm, 江南显微镜厂, China)。

实验采用流体力学法测量光阱横向刚度  $k_x$ 。改变不同的捕获高度，在每个捕获高度时测量 5 个不同小球的光阱横向刚度，然后平均得到光阱横向刚度  $k_x$ 。实验中测量了光阱刚度随捕获高度的变化，结果如图 2.4 所示。

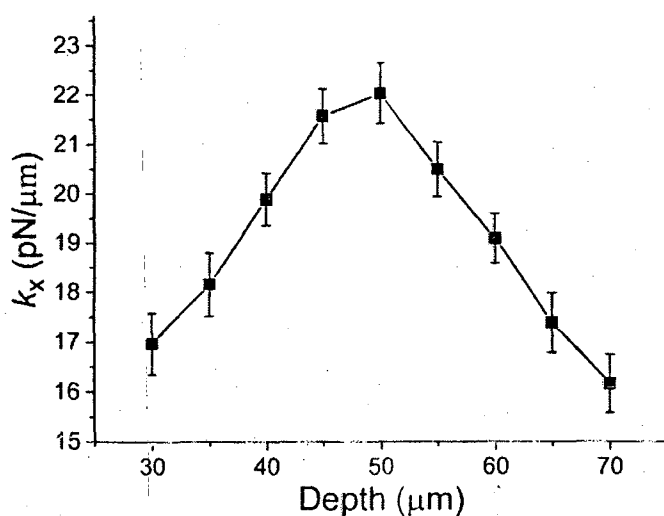


图 2.4 机械筒长 160mm 的物镜捕获小球时，光阱横向刚度随捕获高度的变化。

根据图 2.4 可以看出, 在捕获高度很高的位置光阱还能捕获粒子, 而且光阱的横向刚度都比较大, 光阱刚度最大的捕获高度被平移到离底  $50 \mu\text{m}$  的位置。这是通过改变物镜的有效筒长, 对球差进行了补偿。球差补偿的原理和方法将在第四章中详细讨论。

## 2.4 光阱纵向刚度

相比于光阱的横向刚度, 测量光阱的纵向刚度的困难在于对纵向位移的测量。经调研, 光阱中的纵向位移的测量方法主要有前散射光标定法[8-10]和背散光标定法[11], 其中前散射光标定法由于 QD 线性区比较大, 所以比较常用。标定位移与电压的关系之后, 采用流体力学法可以测得光阱刚度。根据图 2.1 中的设备, 我们可以采用背散光法标定粒子的纵向位移, 然而给压电平台施加纵向的外力使得粒子在光阱中振动时发现, 光阱由于球差的存在使得光阱在纵向上的对称性已经被破坏, 导致 QD 信号与纵向位移并不是线性关系, 因此无法用背散光法标定光阱中粒子的纵向位移。本小节使用图像信息熵方法解决测量纵向位移的困难, 使用流体力学法测量光阱纵向刚度, 研究其随捕获高度的变化。

### 2.4.1 信息熵

信息熵是基于 Shannon 信息熵论发展而来。假设一条信息有  $n$  个事件组成 $[a_1, a_2, a_3, \dots, a_n]$ , 并且第  $i$  ( $1 \leq i \leq n$ ) 个事件发生的概率为  $p_i$ ,  $1 \leq p_i \leq n$ , 且  $\sum_{i=1}^n p_i = 1$ , 则这条信息的信息熵值由公式 (2.4) 求得:

$$H = -\sum_{i=1}^n p_i \log p_i \quad (2.4)$$

将信息熵论引申到图像处理中, 用它来描述一幅图像所包含的信息量。假设一幅图像有  $j \times k$  个像素, 每一个像素有其对应的灰度值, 并且总像素数设为  $n$  ( $n \leq j \times k$ )。假设有  $m$  ( $m \leq j \times k$ ) 个像素的灰度为第  $i$  ( $1 \leq i \leq n$ ) 灰度, 则在这幅图像中第  $i$  个灰度出现的几率为  $p_i = \frac{m}{j \times k}$ 。如果在这幅图像中各个灰度出现的几率都已知,

则这幅图像的信息熵为  $H = -\sum_{i=1}^n p_i \log p_i$ 。鲍建华等人[12-13]将信息熵作为小球图像的判别函数, 发现图像的信息熵值与小球偏移焦面的距离在一定范围内成线性变化, 可以用来标定光阱中粒子的纵向位移。

用 CCD 拍摄小球在光阱中做布朗运动的图像，计算每帧图片的信息熵值，然后做统计、拟合，得出粒子处于该位置时的信息熵值  $H$ 。

#### 2.4.2 信息熵值与小球位移的标定

根据实验装置图 2.1，在轴向方向移动聚焦透镜 L1 时，被光阱俘获的微米粒子将会在垂直方向上移动。沿光轴平移聚焦透镜 L1 (L1 的该变量为  $\Delta L$ )，被光镊俘获的微米小球将偏移初始位置，而小球处于不同的离焦面时图像的信息熵值不同。通过测量 L1 处于不同位置时小球的各个熵值，即可标定小球的熵值  $H$  与  $\Delta L$  的关系，如图 2.5(a) 所示。L1 在某段区域内附近平移时，L1 的位移  $\Delta L$  与  $H$  成正比。实验中所使用的样品是分散在水中的聚苯乙烯小球 (Duke Scientific Corporation, USA)，直径为  $2\mu\text{m}$ 。

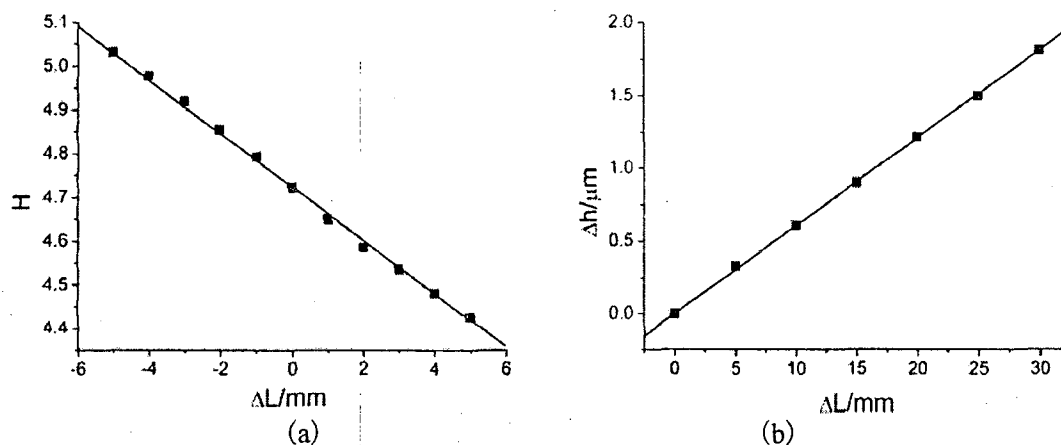


图 2.5 (a)信息熵值  $H$  与  $\Delta L$  的关系。(b)小球位移  $\Delta h$  与  $\Delta L$  的关系。

$\Delta L$  与粒子的纵向位移  $\Delta h$  之间的关系通过压电平台标定。因为直接测量光阱的阱位有困难，而激光光阱离激光会聚点很近，所以利用激光会聚点的轴向位移来代替小球的轴向位移。调整光路时，可以看到激光反射回来以后会形成一个光斑，当光斑最小时认为是激光会聚于波片的表面。这时当聚焦透镜 L1 改变微小量  $\Delta L$  时，光斑会变大，通过调整压电平台使激光光斑恢复原状，就可标定  $\Delta L$  与小球位移的改变量  $\Delta h$ ，如图 2.5(b) 所示，其中图 2.5(a) 的零点对应于图 2.5(b) 中  $\Delta L=15\text{mm}$  处。

实验中，激光经过匹配油和玻璃之后进入样品池，油和水的相对折射率分别为 1.52 和 1.33。因为折射率失配，移动物镜时，小球的位移量  $z$  比压电平台的改变量  $\Delta h$  要小，这可以使用小角度近似修正[14]，所以当透镜 L 轴向位移  $\Delta L$

时，小球的移动距离  $z$  为：

$$z = \frac{n_w}{n_{oil}} \times 2\Delta h \approx A \times \Delta L \quad (2.5)$$

### 2.4.3 纵向刚度测量结果

通过信息熵值标定粒子的纵向位移以后，通过压电平台施加一个周期的三角波，即使用流体力学法测量光阱的纵向刚度。施加的速度与粒子的信息熵变化值如图 2.6 所示，采用线性拟合即可得出光阱的纵向刚度。

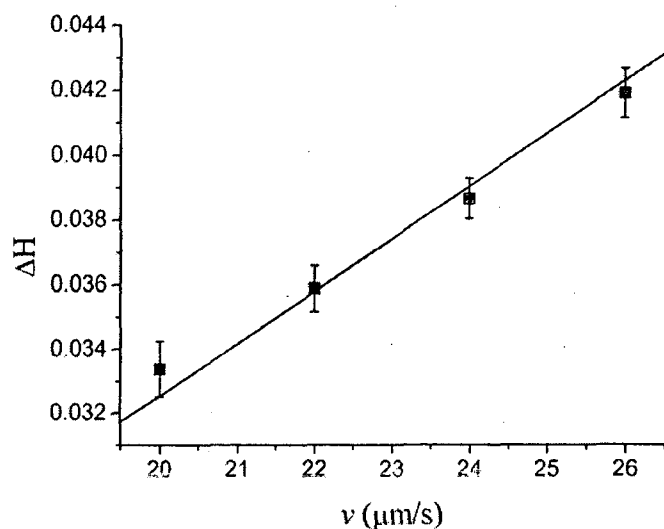


图 2.6 不同速度下的粒子信息熵值变化，对应的刚度为  $5.12\text{pN}/\mu\text{m}$ 。

测量不同捕获高度时光阱的纵向刚度，结果如图 2.7 所示。根据测量结果，光阱的纵向刚度也随着捕获高度的增加而减小。

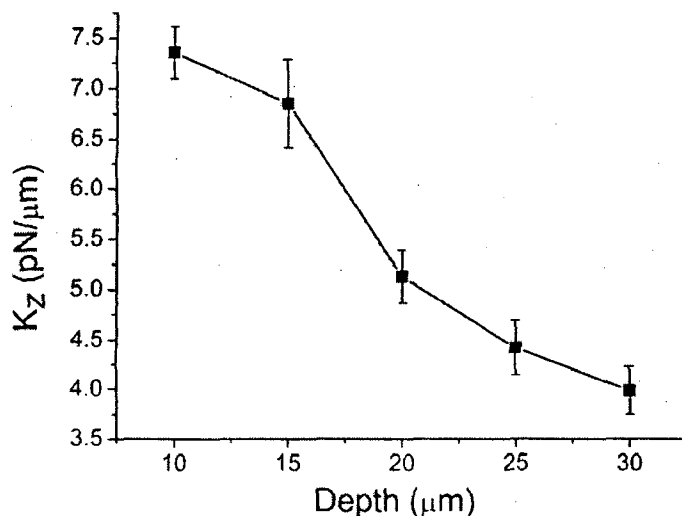


图 2.7 粒子直径为  $2\mu\text{m}$  时，光阱纵向刚度随捕获高度的变化。

通过图 2.7 可以看出, 随着捕获高度的增大, 光阱的纵向刚度从  $h=5\mu\text{m}$  时的  $7.25\text{ pN}/\mu\text{m}$  减低至  $h=30\mu\text{m}$  时的  $3.81\text{ pN}/\mu\text{m}$ ,

当小球中心离底面高度均为  $15\mu\text{m}$  时, 直径分别为  $2\mu\text{m}$  ( $1.998 \pm 0.022\mu\text{m}$ )、 $3\mu\text{m}$  ( $3.063 \pm 0.027\mu\text{m}$ ) 和  $5\mu\text{m}$  ( $4.987 \pm 0.04\mu\text{m}$ ) 的聚苯乙烯小球的纵向刚度测量结果如表 2.1 所示。

表 2.1 不同直径的小球纵向刚度及其误差。

$D(\mu\text{m})$	$k_z(\text{pN}/\mu\text{m})$	$k_x(\text{pN}/\mu\text{m})$
2	$6.29 \pm 0.66$	$9.96 \pm 0.38$
3	$2.93 \pm 0.22$	$6.03 \pm 0.34$
5	$2.76 \pm 0.09$	$4.27 \pm 0.07$

从表 2.1 的结果可得出, 光阱刚度随着小球直径的增大而减小, 该趋势与文献[4]中的结果一致。同样我们认为纵向刚度的减小也是球差的原因。

## 2.5 本章小结

本章中首先介绍了整个论文工作中使用的纳米光镊系统, 并采用流体力学法测量了使用不同物镜时的光阱横向刚度, 结果显示: 使用无穷远物镜作为捕获物镜时, 光阱横向刚度随着捕获高度的增大而减小, 而且当捕获高度超过  $45\mu\text{m}$  以后, 光阱很难再捕获小球。使用机械筒长为  $160\text{mm}$  的物镜作为捕获物镜时, 捕获高度很大时光阱还能捕获粒子, 而且光阱的横向刚度都比较大, 光阱刚度最大的捕获高度被平移到离底  $50\mu\text{m}$  的位置。本章还使用信息熵标定光阱中小球的纵向位移, 用流体力学法测量无穷远物镜作为捕获物镜时的光阱纵向刚度, 结果表明光阱的纵向刚度也随着捕获高度的增大而减小。

## 参考文献

1. K. C. Neuman, and S. M. Block, "Optical trapping," Rev. Sci. Instrum. **75**, 2787-2809 (2004).
2. J. R. Moffitt, Y. R. Chemla, S. B. Smith, and C. Bustamante, "Recent advances in optical tweezers," Annual Review of Biochemistry **77**, 205-228 (2008).
3. D. McGloin, "Optical tweezers: 20 years on," Philosophical Transactions of the Royal Society

- a-Mathematical Physical and Engineering Sciences **364**, 3521-3537 (2006).
4. M. Capitanio, G. Romano, R. Ballerini, M. Giuntini, F. S. Pavone, D. Dunlap, and L. Finzi, "Calibration of optical tweezers with differential interference contrast signals," *Rev. Sci. Instrum.* **73**, 1687-1696 (2002).
  5. K. Berg-Sørensen, and H. Flyvbjerg, "Power spectrum analysis for optical tweezers," *Rev. Sci. Instrum.* **75**, 594-612 (2004).
  6. R. M. Simmons, J. T. Finer, S. Chu, and J. A. Spudich, "Quantitative measurements of force and displacement using an optical trap," *Biophys J* **70**, 1813-1822 (1996).
  7. A. Rohrbach, and E. H. K. Stelzer, "Trapping forces, force constants, and potential depths for dielectric spheres in the presence of spherical aberrations," *Appl. Optics* **41**, 2494-2507 (2002).
  8. A. Pralle, M. Prummer, E. L. Florin, E. H. K. Stelzer, and J. K. H. Horber, "Three-dimensional high-resolution particle tracking for optical tweezers by forward scattered light," *Microsc. Res. Tech.* **44**, 378-386 (1999).
  9. A. Rohrbach, C. Tischer, D. Neumayer, E. L. Florin, and E. H. K. Stelzer, "Trapping and tracking a local probe with a photonic force microscope," *Rev. Sci. Instrum.* **75**, 2197-2210 (2004).
  10. A. Rohrbach, and E. H. K. Stelzer, "Three-dimensional position detection of optically trapped dielectric particles," *J. Appl. Phys.* **91**, 5474-5488 (2002).
  11. G. Volpe, G. Kozyreff, and D. Petrov, "Backscattering position detection for photonic force microscopy," *J. Appl. Phys.* **102**, 084701 (2007).
  12. J. H. Bao, Y. M. Li, L. R. Lou, and Z. Wang, "Measurement of the axial displacement with information entropy," *Journal of Optics A* **7**, 76-81 (2005).
  13. J. H. Bao, Y. M. Li, L. R. Lou, Z. Gong, Z. Wang, and H. W. Wang, "Information entropy method for measuring the axial displacement of a bead and its application to analyzing the trapping force of optical trap," *Proc. of SPIE* **5637**, 305-312 (2005).
  14. E. Fällman, and O. Axner, "Influence of a glass-water interface on the on-axis trapping of micrometer-sized spherical objects by optical tweezers," *Appl. Optics* **42**, 3915-3926 (2003).

## 第3章 光镊测量微粒扩散系数

涉及特征尺度为微米量级的微粒、液滴或者气泡的运动的问题,被称之为微水动力学(Micro-hydrodynamics)。该研究领域所研究粒子的特征尺度是 $0.1\sim 10\mu\text{m}$ ,关于这些粒子扩散的研究对分散体系的稳定性、物质在生物膜上的传递和跨膜运动等具有重要意义。

悬浮于液体中微粒的布朗运动是微粒受到周围液体分子的随机碰撞的结果,而布朗运动则是粒子扩散的根本原因。在理想情况中,一个半径为 $r$ 的硬球,在粘滞系数为 $\eta$ 的液体中运动时,它所受到的粘滞阻力与其运动方向相反,只考虑在小球在液体中的平面运动而不考虑旋转运动,那么在低雷诺数的情况下,它在分散体系中运动时所受到的粘滞阻力由 Stokes 定律给出

$$F = -6\pi\eta r v \quad (3.1)$$

其中 $v$ 是粒子的运动速度。这时粒子的扩散系数由 Stokes-Einstein 关系给出

$$D_0 = \frac{k_B T}{6\pi\eta r} \quad (3.2)$$

其中 $k_B$ 为 Boltzmann 常数, $T$ 为体系的绝对温度。

光镊出现以后,由于其非接触操作的特点,非常适合于操控液体中的粒子扩散运动,因此广泛用于测量粒子的扩散系数 $D$ 。通过研究粒子的扩散特性,可以得到体系的粘滞系数、体系中粒子之间的相互作用等信息,进一步研究体系的稳定性等性质。

本章介绍利用光镊研究液体中粒子扩散系数的原理、应用。本章的安排如下:第一节介绍光镊测量粒子扩散系数原理。第二节介绍利用光镊测量粒子扩散系数的各种方法。第三节利用光镊测量了 PEO 溶液中粒子的扩散系数,研究粒子扩散系数随 PEO 浓度的变化,第四节对本章小结。

### 3.1 光镊测量粒子扩散系数原理

一种物质(称为分散相)的粒子分散到另一种物质(称为分散介质)中所形成的体系叫做分散体系。分散体系与我们的生活密切相关,是一种相当广泛的物质体

系,比如我们常见的油漆、涂料、洗涤剂、墨水、细胞培养液和血液等都是属于分散体系的情形。扩散系数  $D$  表示物质在介质中的扩散能力,是物质特性常数之一。研究分散介质中分散相粒子的扩散系数,对研究分散体系的稳定性和分散介质的分子结构具有重要意义。

1827年,Robert Brown由液体中的花粉颗粒的运动现象提出了布朗运动,到1905年,Einstein开始建立布朗运动的理论框架,他提出悬浮颗粒会不停扩散,并且用扩散系数  $D$  来描述这一过程。

当粒子做布朗运动时,粒子的运动用郎之万方程(Langevin equation)描述,

$$m \frac{d^2 x}{dt^2} = F_{fr} + F_{th} + F_{ext}, \quad (3.3)$$

其中  $m$  是粒子质量,  $F_{fr}$  是惯性项,  $F_{th}$  是小球受到周围分子随机撞击的力,主要起源是热涨落,  $F_{ext}$  是小球受到的所有其他外力。在液体中忽略惯性项,可解得,自由布朗运动粒子在时间  $t$  的位移的平方平均值  $\langle \Delta x^2(t) \rangle$ , 其表达式如下[1-2]:

$$\begin{aligned} \langle \Delta x^2(t) \rangle = & 2Dt \left[ 1 - 2 \sqrt{\frac{1}{\pi} \frac{\tau_f}{t}} + 4 \frac{\tau_f}{t} - \frac{\tau_p}{t} \right. \\ & \left. + \frac{3}{t(5\tau_f - 36\tau_p)^{1/2}} \left( \frac{1}{\alpha_+^3} e^{\alpha_+^2 t} \text{erft}(\alpha_+ \sqrt{t}) - \frac{1}{\alpha_-^3} e^{\alpha_-^2 t} \text{erft}(\alpha_- \sqrt{t}) \right) \right] \quad (3.4) \end{aligned}$$

其中  $\alpha_{\pm} = \frac{3}{2} \frac{3 \pm (5 - 36\tau_p / \tau_f)^{1/2}}{\tau_f^{1/2} (1 + 9\tau_p / \tau_f)}$ ,  $\tau_p = \frac{m}{6\pi\eta r}$ ,  $\tau_f = r^2 \rho_f / \eta$ ,  $\rho_f$  是粒子的密度。

当  $t \rightarrow \infty$  时,

$$\langle \Delta x^2(t) \rangle = 2Dt. \quad (3.5)$$

### 3.2 光镊测量粒子扩散系数

由公式(3.5)得知,粒子布朗运动的位置分布均方差  $\langle \Delta x^2(t) \rangle$  与扩散时间  $t$  成正比。只要测得  $\langle \Delta x^2(t) \rangle$  和  $t$ , 即可测得扩散系数  $D$ , 然后由公式(3.2)可以获得分散介质的粘滞系数  $\eta$ 。本小节介绍几种利用光镊测量粒子扩散系数的方法。

#### 3.2.1 闪频光镊法

Binhua Lin 等人利用以一定频率开关的闪频光镊,直接测量了粒子扩散受边



界条件的影响。在 Binhua Lin 等人的研究工作[3-4]中,使用了开关频率为 1Hz 的闪频光镊,在每一秒中,有 0.5s 内小球被光镊捕获,另外 0.5s 内光镊关闭,小球进行自由运动,用 CCD 相机记录小球的运动位移。统计小球在这 0.5s 中小球偏离光阱中心的位移,根据公式(3.6)即可得到小球在水溶液中的扩散系数。任洪亮等人设计同步闪烁光镊[5],在 CCD 拍摄的时间区间内,小球做自由布朗运动。CCD 未拍摄区间内,小球被束缚在光阱中心。统计在这个固定时间内小球偏离光阱中心的位移,同样可获得小球的扩散系数。

### 3.2.2 粒子运动轨迹追踪法

使用闪频光镊时,在一段时间内小球被光镊捕获,另外一段时间光镊关闭,小球进行自由运动。光镊不断的介入会引起小球和周围液体温度的变化[6],从而会给小球的扩散运动的测量带来误差。

通过使用光镊的操控功能,光镊用来捕获粒子并对其进行定位,小球运动情况的测量则是在光镊关闭一段时间后再开始的,这样可以让光镊产生的热尽量散去,充分减小光镊对小球扩散的影响,使实验结果更接近实际情况。孙玉芬[7]等人通过这种方法,测量了两个平面对粒子扩散的影响。然而一般的 CCD 相机的拍摄速率小于 30Hz,这样会丢失粒子运动的高频信号,使得测量值偏离真实值,因此在实验中必须使用快速 CCD[8]。

### 3.2.3 追踪光阱中粒子运动法

由于 CCD 的价格随其拍摄速度的上升而变得昂贵,在光镊位移的探测中,经常使用 PSD 或 QD 测量粒子的位移。由于光电管的探测速度很快,甚至可以达到 100MHz,因此用其测量小球的扩散系数特别方便。而且由于数据采集频率很高,采集时间不需要很长,激光产生的热量可以忽略。但是光电管的位移探测范围很有限,只能在约一个小球直径范围内测量,因此需要使小球束缚在光阱中心进行测量。

小球处于光阱中心时,公式(3.3)中的  $F_{ext}$  项为光阱力。光阱的势能是一个简谐势

$$F_{ext} = -kx, \quad (3.6)$$

其中  $k$  是光阱刚度,  $x$  是小球偏移光阱中心的位移值。公式(3.3)中的  $F_{fr}$  项的表达式如下[1-2]

$$F_{fr}(t) = -6\pi\eta r \dot{x} - \frac{2}{3}\pi r^3 \rho_f \ddot{x} - 6r^2 \sqrt{\pi\rho_f \eta} \times \int_0^t (t-t')^{-1/2} \ddot{x}(t') dt', \quad (3.7)$$

光阱中 Langevin 方程解的表达式为[1-2]

$$\begin{aligned} \langle \Delta x^2(t) \rangle = & 2D\tau_k + \frac{2D}{\tau_p + \tau_f/9} \left( \frac{e^{z_1^2 t} \operatorname{erfc}(z_1 \sqrt{t})}{z_1(z_1 - z_2)(z_1 - z_3)(z_1 - z_4)} \right. \\ & + \frac{e^{z_2^2 t} \operatorname{erfc}(z_2 \sqrt{t})}{z_2(z_2 - z_1)(z_2 - z_3)(z_2 - z_4)} \\ & + \frac{e^{z_3^2 t} \operatorname{erfc}(z_3 \sqrt{t})}{z_3(z_3 - z_1)(z_3 - z_2)(z_3 - z_4)} \\ & \left. + \frac{e^{z_4^2 t} \operatorname{erfc}(z_4 \sqrt{t})}{z_4(z_4 - z_1)(z_4 - z_2)(z_4 - z_3)} \right) \end{aligned} \quad (3.8)$$

公式(3.8)中  $D$  是扩散系数, 系数  $z_1$ 、 $z_2$ 、 $z_3$  和  $z_4$  是方程

$$\left( \tau_p + \frac{1}{9}\tau_f \right) z^4 + \sqrt{\tau_f} z^3 + z^2 + \frac{1}{\tau_k} = 0 \quad (3.9)$$

的四个解。

当  $t \rightarrow \infty$  时, 公式(3.8)写成

$$\langle \Delta x^2(\infty) \rangle = \frac{2k_B T}{k} \quad (3.10)$$

$\tau_p$ 、 $\tau_f$  和  $\tau_k$  分别是惯性作用、流体作用和光阱力三种作用的特征时间, 假设实验中使用的粒子是半径  $r=0.5\mu\text{m}$  的聚苯乙烯小球(粒子密度与水密度之比  $\rho_p/\rho_f=1.05$ ,  $\eta=0.001\text{Pa s}$ ), 光阱刚度  $k=16\text{pN}/\mu\text{m}$ , 则  $\tau_p = m/(6\pi\eta r) = 0.06\mu\text{s}$ ,  $\tau_f = r^2\rho_f/\eta = 0.25\mu\text{s}$ ,  $\tau_k = (6\pi\eta r)/k = 588\mu\text{s}$ , 所以微米粒子处于光阱中时, 小球运动的主要影响因素是光阱力, 忽略惯性项的影响, 即  $\tau_{p,f} \rightarrow 0$ , 则粒子处于光阱中的 Langevin 方程的解为

$$\langle \Delta x^2(t) \rangle = \frac{2k_B T}{k} (1 - e^{-t/\tau_k}) \quad (3.11)$$

当  $t \rightarrow 0$  时, 公式(3.11)可写成

$$\langle \Delta x^2(t) \rangle = 2Dt \quad (3.12)$$

根据方程(3.10)和(3.12), 粒子在光阱中的位移如图 3.1(a)所示, 时间较大时由于光阱的束缚粒子的位移平方平均值为一定值, 时间很小时 ( $t < \tau_k$ ) 是线性增加。通过对时间很小的数据段进行拟合, 其斜率就是小球的扩散系数  $D$ , 如图 3.1(b)所示, 图 3.1(b)所用的数据为图 3.1(a)中时间很短的数据。

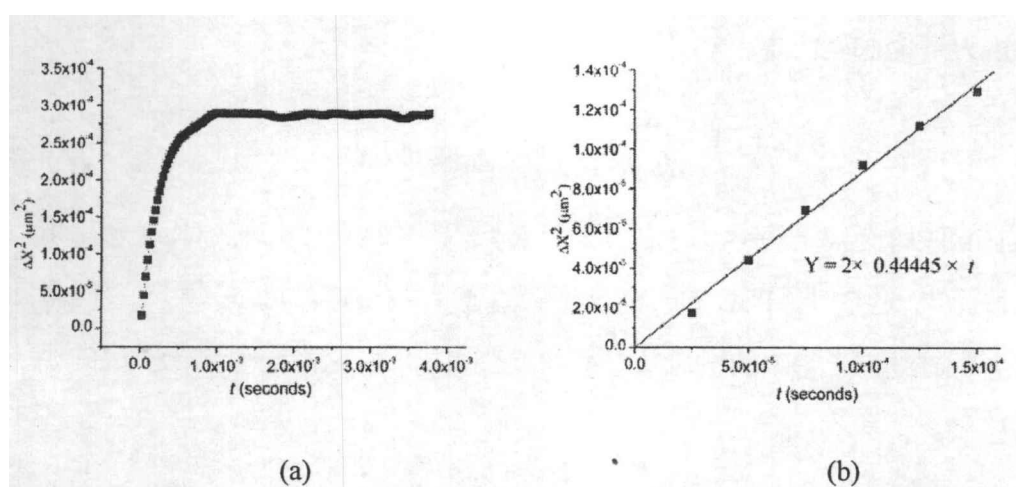


图 3.1 (a)光阱中粒子运动。(b)通过拟合得到小球的扩散系数。

图 3.1 中的实验使用的是半径  $r=0.5\mu\text{m}$  的聚苯乙烯小球 (Duke Scientific, 4009A) 分散于水溶液中, 光阱高度为  $5\mu\text{m}$ , 实验在室温 ( $T=25^\circ\text{C}$ ) 中进行。实验测量得到小球的扩散系数值为  $D=0.44\mu\text{m}^2/\text{s}$ , 与根据公式(3.2)算得的理论值  $D_0=0.489\mu\text{m}^2/\text{s}$  相比, 比较吻合。

### 3.2.4 高低频位移功率谱结合法

当小球作自由布朗运动时, 可以用 Langevin 方程描述其运动。当小球处于光阱谐振势阱中 Langevin 方程的解如公式(3.8)所示。

布朗运动可以使用功率谱  $P(f)$  来描述粒子的运动, 其中反映粒子位移平方均根  $\langle x^2(t) \rangle$  的傅里叶形式是[1]

$$\langle \Delta x^2(t) \rangle = \frac{2k_B T}{k} - 2 \int_0^\infty e^{-2\pi f t} P(f) df \quad (3.13)$$

其中  $P(f)$  的表达式子由文献[9]给出

$$P(f) = \frac{D}{\pi^2 f^2} \frac{1 + \sqrt{f/2\phi_f}}{(\phi_k/f - \sqrt{f/2\phi_p} - f/\phi_p - f/9\phi_f)^2 + (1 + \sqrt{f/2\phi_f})^2} \quad (3.14)$$

当  $f \rightarrow 0$  时,

$$P(f) = \frac{D}{\pi^2 f^2} \circ \quad (3.15)$$

小球在水中的运动是低雷诺数流体运动, 忽略惯性项, 则光阱中小球的布朗运动功率谱为洛伦兹型曲线

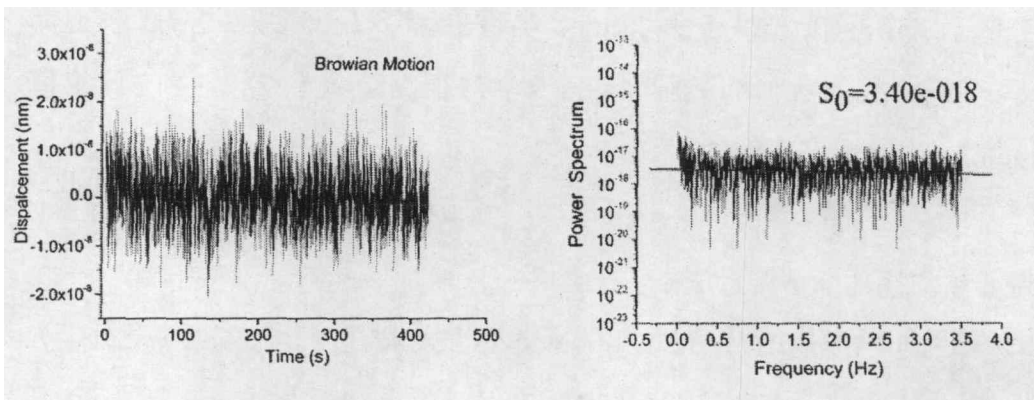
$$P(f) = \frac{S_0 f_c^2}{f^2 + f_c^2} \quad (3.16)$$

由公式(3.16)可以看出, 当  $f \ll f_c$  时  $P(f)$  是一常数  $S_0$ , 可以使用低频 CCD 采集信号直接获得。当  $f \gg f_c$  时, PSD 是一条斜率为-2 的直线, 这时可以采用 QD 测量获得, 让博后通过拟合 QD 的电压功率谱曲线获得  $f_c$ , 而无需知道电压对应的小球绝对位移值。

当  $f=f_c$  时, 根据公式(3.15)和(3.16)即可得到

$$D = \pi^2 S_0 f_c^2 / 2 \quad (3.17) \circ$$

从公式(3.16)可以看出, 得到  $S_0$  和  $f_c$  的值, 即可得到小球的扩散系数  $D$ 。



(a)

(b)

图 3.2 (a)CCD 拍摄的光阱中粒子位移。(b)通过拟合得到  $S_0$ 。

实验捕获一个直径为  $1\mu\text{m}$  的 Ps 小球，捕获高度为  $15\mu\text{m}$ 。CCD 采集频率为  $7.1\text{Hz}$ ，QD 采集频率为  $10\text{kHz}$ 。CCD 采集得到小球的位移信号如图 3.2(a)所示，其对应的功率谱曲线如图 3.2(b)所示，通过拟合得到  $S_0 = 3.4 \times 10^{-18} \text{m}^2\text{s}$ 。QD 采集的小球位移的电压信号如图 3.3(a)所示，其对应的功率谱曲线如图 3.3(b)所示。采用洛伦兹拟合，得到  $f_c = 160\text{Hz}$ 。

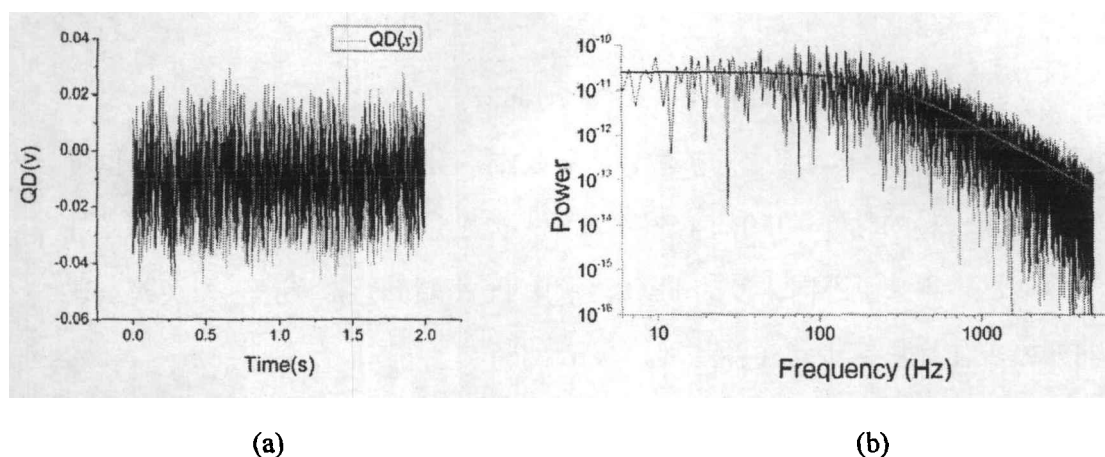


图 3.3 (a)光阱中粒子运动。(b)通过拟合得到小球功率谱曲线的  $f_c$ 。

将  $S_0$  和  $f_c$  的值带入公式(3.17)，得到小球的扩散系数  $D=0.43 \mu\text{m}^2/\text{s}$ 。根据公式(3.2)算得的理论值  $D_0=0.489\mu\text{m}^2/\text{s}$  相比，比较吻合。

在高低频位移功率谱结合法中，不需要标定 QD 电压信号与小球位移之间的对应关系。这能够被用于测量囊泡或者细胞内部的粒子扩散系数，因为当粒子处于悬浮的囊泡内部时，采用其他几种方法都需要知道小球的绝对位移，这需要给压电平台施加外力，使得待测粒小球离开光阱中心，才能测得 QD 电压信号与小球位移之间的对应关系。外力存在时包裹粒子的囊泡也会做相对运动，QD 采集所得的信号将是囊泡的位移信号，将导致无法准确的标定 QD 电压与小球位移的对应关系。

### 3.3 光镊测量 PEO 溶液中的粒子扩散系数

Pluronic 是一类非离子型高分子表面活性剂。主要是由聚氧乙烯 (PEO) 和聚氧丙烯 (PPO) 形成的嵌段共聚物，在药物增溶与缓释、废水处理等方面具有广阔的应用前景。其中聚氧乙烯嵌段为亲水部分，而聚氧丙烯嵌段为疏水部分。

由这两种嵌段组成的线型三嵌段共聚物有两类：PEO-PPO-PEO，命名为 Pluronic 型；PPO-PEO-PPO，命名为 Pluronic-R 型。这两类高分子表面活性剂常表示为  $(\text{PEO})_n(\text{PPO})_m(\text{PEO})_n$  (Pluronic 型)和  $(\text{PPO})_m(\text{PEO})_n(\text{PPO})_m$  (Pluronic-R 型)，其中  $n$  和  $m$  分别表示氧乙烯(EO)和氧丙烯(PO)单元的个数，分子式如图 3.4 所示。

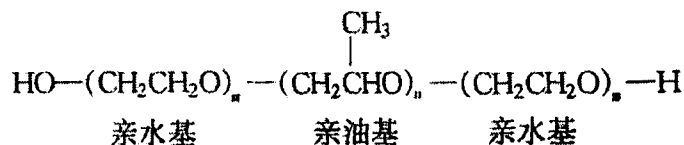


图 3.4 PEO-PPO-PEO

研究小球在 高分子溶液中的扩散，可以反演高分子本身的分子结构，也可以研究高分子材料的粘弹性[10]。在本小节中，分别采用闪频光镊法和追踪光阱中粒子运动法，测量了不同浓度的 PEO 溶液中 Ps 小球的扩散系数，为实验室在该方向开展工作提供初步的实验基础。

实验所用的 Pluronic L64、17R4、AE21 为 Sigma 公司产品，分散的小球为聚苯乙烯小球( $d=0.993\pm 0.021\mu\text{m}$ )水分散体系，Duke Scientific 公司产品，型号 4009A，固体含量为 1 wt%，所有体系均用去离子水配置，将聚苯乙烯原液稀释到一定倍数后 4℃ 保存备用。采用闪频光镊法，测量了不同浓度下的 L64 和 17R4 中 Ps 小球的扩散系数。结果如图 3.5 所示。可以看出，无论是 L64 还是 17R4，随着其浓度的增加，Ps 小球的扩散系数逐渐减小。

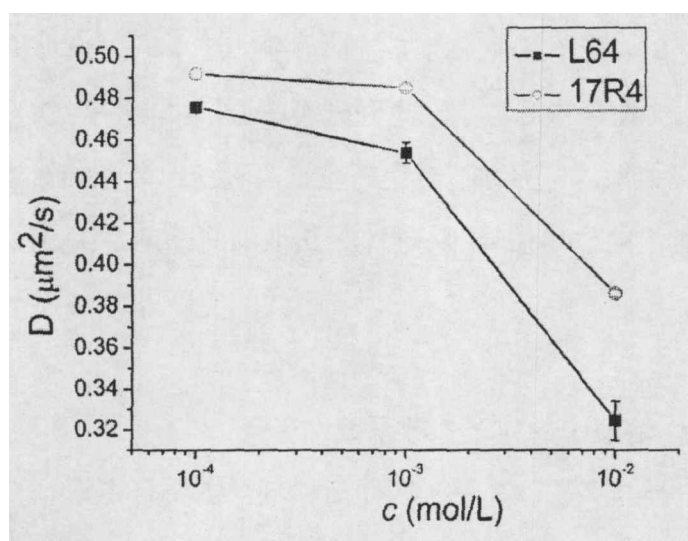


图 3.5 不同浓度的 L64 和 17R4 中小球的扩散系数

由于 CCD 相机拍摄的速度太慢，每个数据的测量需要的时间太多，所以每个样品只测量了 3 个不同的浓度。如果要测量很多浓度下的小球的扩散系数，需要使用其他的方法。追踪光阱中粒子运动法中使用 QD 对小球的位移进行测量，而 QD 的采集速度非常快，因此实验可以进行得比较快。采用追踪光阱中粒子运动法测量了不同浓度下的 AE21 中 Ps 小球的扩散系数，结果如图 3.6 所示，AE21 的浓度为 0 代表小球处于纯水中，可以看出随着 AE21 浓度的增加，小球的扩散系数逐渐减小。

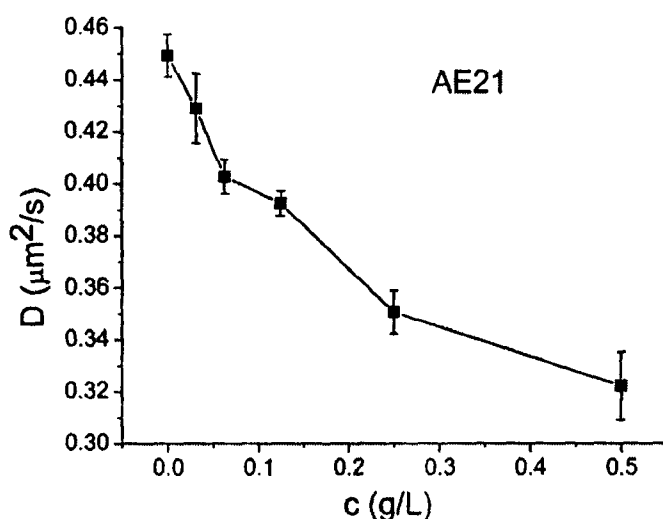


图 3.6 不同浓度的 AE21 中小球的扩散系数

从上面两种测量结果进行比较，闪频光镊法的测量精度比较高，但是实验速度很慢。追踪光阱中粒子运动法的实验速度较快，但是精度不如闪频光镊法。这在实验中需要根据实际情况采用不同的实验方法。

### 3.4 本章小结

本章中根据纳米光镊系统重复了目前几种光镊进行粒子扩散系数的测量方法，并测量了不同浓度的 PEO 溶液中粒子的扩散系数。根据前人的理论研究和实验方法，提出小球运动位移的高低频率功率谱结合方法测量小球扩散系数，有望在特殊研究对象比如囊泡内部等情况得到应用。

## 参考文献

1. B. Lukić, S. Jeney, Ž. Sviben, A. J. Kulik, E. L. Florin, and L. Forró, "Motion of a colloidal particle in an optical trap," *Phys. Rev. E* **76**, 011112 (2007).
2. H. J. H. Clercx, and P. P. J. M. Schram, "Brownian particles in shear flow and harmonic potentials: A study of long-time tails," *Physical Review A* **46**, 1942 (1992).
3. B. H. Lin, J. Yu, and S. A. Rice, "Direct measurements of constrained Brownian motion of an isolated sphere between two walls," *Phys. Rev. E* **62**, 3909-3919 (2000).
4. B. H. Lin, J. Yu, and S. A. Rice, "Diffusion of an isolated colloidal sphere confined between flat plates," *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **174**, 121-131 (2000).
5. 任洪亮, 庄礼辉, 李银妹, "双光镊测量胶体微粒间相互作用势", *中国激光* **35**, 151-155 (2008).
6. L. I. McCann, M. Dykman, and B. Golding, "Thermally activated transitions in a bistable three-dimensional optical trap," *Nature* **402**, 785-787 (1999).
7. 孙玉芬, 徐升华, 李银妹, 楼立人, "受限分散体系中粒子扩散特性的研究," *力学学报* **36**, 739-743 (2004).
8. S. Keen, J. Leach, G. Gibson, and M. J. Padgett, "Comparison of a high-speed camera and a quadrant detector for measuring displacements in optical tweezers," *Journal of Optics A* **9**, S264-S266 (2007).
9. K. Berg-Sørensen, and H. Flyvbjerg, "Power spectrum analysis for optical tweezers," *Rev. Sci. Instrum.* **75**, 594-612 (2004).
10. P. Cicuta, and A. M. Donald, "Microrheology: a review of the method and applications," *Soft Matter* **3**, 1449-1455 (2007).



## 第4章 光阱中微粒的旋转运动

物体的运动一般可分解为沿三个互相垂直方向的平移以及绕这三个方向的旋转。研究微粒的旋转运动不仅是物理学和流体力学的基本问题之一，而且在细胞生物学领域也有重要应用[1-2]。由于缺乏合适的实验手段，这一领域的研究一直没有深入的进展。光镊在操控微粒的同时可以旋转微粒，使得定量研究分散体系中微粒的旋转运动称为可能。

光子具有自旋角动量，其方向取决于光子的偏振状态。当光与双折射物质相互作用时，光束偏振态将发生变化导致其相应的自旋角动量发生改变，光束的角动量传递给双折射物质，一定条件下能使该物质旋转。Beth[3]于1936年让一束圆偏振光束通过由细丝悬挂着的 $\lambda/2$ 波片，实现了光束的角动量向粒子的传递，首次从实验上观察到了光致旋转。图4.1(a)是Beth的实验示意图。光镊出现后，1998年澳大利亚昆士兰大学的Friese等人[4]利用光镊能够无接触捕获操控的优点，使粒子远离样品池底面，减小粒子与底面接触产生的摩擦阻力的作用，实现了光阱中双折射 $\text{CaCO}_3$ 微粒的旋转运动，如图4.1(b)所示。

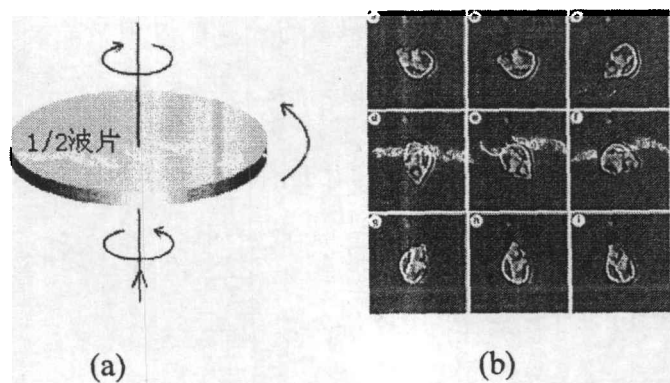


图4.1 (a)Beth 旋转半波片示意图。(b)Friese 利用光镊旋转光阱中的 $\text{CaCO}_3$ 示意图[4]，其旋转方向是逆时针旋转。

目前已经有很多种方法实现光致旋转[4-8]，但是其中最常用和最有用的方法是采用光镊旋转双折射小球。这是因为该方法有以下几个优点：(1)自旋角动量可以定量测量[9-11]，因此能够定量研究光镊对双折射小球施加的角动量。(2)可以通过改变捕获光的偏振状态控制小球的旋转速度而不减激光的功率。(3)该方

法产生的旋转速度非常快,其光子的利用效率很高。(4)该方法使用高斯光进行捕获的同时进行旋转,可以保证最大的捕获效率。

本章利用光镊旋转光阱中的双折射小球,研究小球旋转速度随各种光阱状态的变化,重点研究了光致旋转中经常碰见的设备问题—球差引起的光镊捕获性能变化及对旋转的影响。本章的安排如下:第一节介绍双折射粒子在激光作用下旋转的原理,第二节测量小球旋转速度随光阱各种参数的变化。第三节介绍由于折射率不匹配引起的球差及其对光镊性能的影响和修正方法,讨论球差对小球旋转速度的影响。第四节阐述界面对粒子旋转速度的影响。第五节对本章进行小结。

#### 4.1 光镊旋转双折射小球的原理

当一束光垂直入射并透过一个双折射玻片时(入射光垂直粒子光轴),光束的 $o$ 光和 $e$ 光分量可以获得不同的相位变化,透过双折射粒子后的合成光束的偏振状态可能发生改变,这时光束的自旋角动量就发生了变化,根据角动量守恒定律,粒子将获得光束传递的角动量而产生扭转趋势。

下面可以利用一个简单的平面波模型对光镊旋转双折射玻片进行建模[9]。假设玻片被光镊捕获于光镊的束腰处,光镊光源是一束椭圆偏振平面光波,垂直入射到一个由双折射晶体制作的玻片,在计算中不考虑玻片的反射和吸收。

对于沿 $z$ 轴传播的单色平面波,它的电场分量可以用下面的式子表示

$$\vec{E} = (E_x \hat{x} + E_y \hat{y}) \exp(ikz - i\omega t), \quad (4.1)$$

其中 $E_x$ 和 $E_y$ 是复数形式。当 $E_x$ 和 $E_y$ 之间的相位角 $\theta$ 等于0或者 $\pi$ 时,入射光是线偏光。当 $\theta = \pm\pi/2$ 且 $|E_x| = |E_y|$ 时,入射光是圆偏光,取正号是左旋光,取负号是右旋光。当 $\theta = \pm\pi/2$ 且 $|E_x| \neq |E_y|$ 时是椭圆偏振光。

圆偏光又可用下式表示

$$\vec{E} = E_c (\hat{x} \pm i\hat{y}) \exp(ikz - i\omega t), \quad (4.2)$$

为了求出它携带的自旋角动量,可以将它按两个正交的圆偏振光基矢展开:

$$\vec{E} = (E_L \hat{e}_L + E_R \hat{e}_R) \exp(ikz - i\omega t), \quad (4.3)$$

其中

$$\hat{e}_L = \frac{1}{\sqrt{2}}(\hat{x} + i\hat{y}) \quad (4.4)$$

$$\hat{e}_R = \frac{1}{\sqrt{2}}(\hat{x} - i\hat{y})$$

$$E_L = \frac{1}{\sqrt{2}}(E_x - iE_y) \quad (4.5)$$

$$E_R = \frac{1}{\sqrt{2}}(E_x + iE_y)$$

当 $|E_L| = |E_R|$ 时, 激光是线偏光。当 $E_R = 0$  而 $E_L \neq 0$ 时是左旋光。当 $E_L = 0$  而 $E_R \neq 0$ 时是右旋光。

入射光的能量

$$I = I_R + I_L = \frac{c\epsilon_0 E_L^* E_L}{2} + \frac{c\epsilon_0 E_R^* E_R}{2}, \quad (4.6)$$

单位面积的力矩为

$$L_z = (I_R - I_L) / \omega. \quad (4.7)$$

假设玻片的厚度为 $d$ , 其前端面位于 $z=0$ 处, 后端面位于 $z=d$ 处, 如图 4.2 所示。

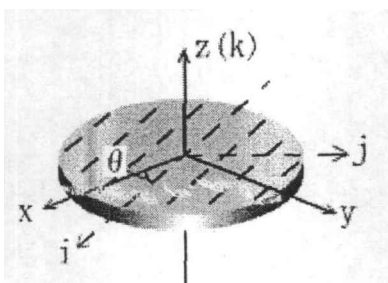


图 4.2 直角坐标系与晶体光轴坐标系之间的关系。

假设入射光的表达式为

$$\begin{aligned} \vec{E} = & [(E_x \cos \theta + E_y \sin \theta) \hat{i} \\ & + (-E_x \sin \theta + E_y \cos \theta) \hat{j}] \exp(ikz - i\omega t) \end{aligned} \quad (4.8)$$

则经过玻片后, 出射光的表达式为

$$\begin{aligned} \vec{E} = & [(E_x \cos \theta + E_y \sin \theta) \exp(ikdn_e) \hat{i} \\ & + (-E_x \sin \theta + E_y \cos \theta) \exp(ikdn_o) \hat{j}] \exp(ikz - i\omega t) \end{aligned} \quad (4.9)$$

入射光和出射光自旋角动量的差，就是光束在单位时间里传给单位面积玻片的角动量，也即施加在玻片单位面积上的扭转力矩：

$$\begin{aligned} \tau = & \frac{c\varepsilon_0}{2\omega} E_0^2 [i(E_x E_y^* - E_x^* E_y)(1 - \cos \Delta) \\ & + \sin \Delta \{ (E_x^* E_x - E_y^* E_y) \sin 2\theta - (E_x E_y^* + E_x^* E_y) \cos 2\theta \}] \end{aligned} \quad (4.10)$$

其中  $\Delta = kd(n_o - n_e)$ 。由式(4.10)可见，该力矩取决于入射光束的椭圆度，玻片的光轴  $\hat{i}$  与  $\hat{x}$ （入射光电矢量椭圆的长轴或短轴）间的夹角  $\theta$ ，玻片的主折射率为  $n_e$  和  $n_o$ ，厚度  $d$ 。当入射光为圆偏振光时(4.10)式的第二项等于零，悬浮于液体中的玻片将产生连续恒定的转动，选择玻片的厚度值使得  $\Delta = kd(n_o - n_e) = \pi$  时，粒子获得的力矩达到最大值。对于圆偏光，式(4.10)变成为：

$$\begin{aligned} \tau = & c\varepsilon_0 / (2\omega) E_0^2 [1 - \cos(kd(n_o - n_e))] \\ = & P_{eff} [1 - \cos(kd(n_o - n_e))] \end{aligned}, \quad (4.11)$$

其中  $P_{eff}$  是与玻片相互作用的激光的有效功率：

$$P_{eff} = \frac{c\varepsilon_0}{2\omega} E_0^2. \quad (4.12)$$

上面的计算都是理想情况，在实际情况中，由于光镊捕获的粒子不是薄圆板，一般是近圆形或者其他形状的粒子，因此计算有效功率  $P_{eff}$  非常困难，另外晶体的光轴在旋转中如果发生变化，情况会更加复杂，因此尚无法从理论计算中直接得到光致旋转的力矩，只能从实验中进行测量和研究[9-11]。

## 4.2 光阱条件与双折射小球的旋转

自从 Ashkin 等人发明光镊以后，光镊在各个领域得到广泛的应用，同时也推动了光镊本身的研究。光镊能够移动微粒的同时能够旋转微粒，在光镊对微粒的三维操作基础上又增加了一维角向的操作，对微操作的应用具有重要意义。光镊中微粒的光致旋转不仅是一种有效的微型马达，而且可以把旋转着的粒子操控至另外一个粒子附近带动这个粒子转动，从而为微型马达的传动研究和实际应用提供了手段。对各种光阱状态下小球的旋转运动进行研究，更有利于光致旋转的

应用推广。

本节从实验上对各种光阱条件下的  $\text{CaCO}_3$  的旋转速度进行了研究，包括激光功率、物镜数值孔径、不同物镜等条件。

#### 4.2.1 实验设备

实验设备采用的是第二章中的纳米光镊系统，使用的是He-Ne光镊。唯一的区别是在聚焦透镜L1和扩束镜BE1之间加入波长632.8nm的 $\lambda/4$ 玻片，将He-Ne激光由线偏光变为圆偏光。

#### 4.2.2 小球旋转速度测量方法

激光携带两种不同的角动量—自旋角动量和轨道角动量。每个光子的自旋角动量随着激光的偏振态变化在 $-\hbar$ 到 $\hbar$ 之间变化。因为轨道角动量引起的力矩比自旋角动量引起的要小很多[10]，所以可以忽略轨道角动量的作用，认为小球的旋转全部是由于自旋角动量的改变引起的。

实验中所用的双折射小球主要是通过研磨分析纯  $\text{CaCO}_3$  粉末而得，研磨之后将其分散于水中。调整四分之一波片的角度使得激光进入物镜前变成圆偏光。用光镊俘获一个  $\text{CaCO}_3$  小球，小球在光阱中会发生旋转，小球旋转信号用 QD 探测，如图 4.3(a)所示。

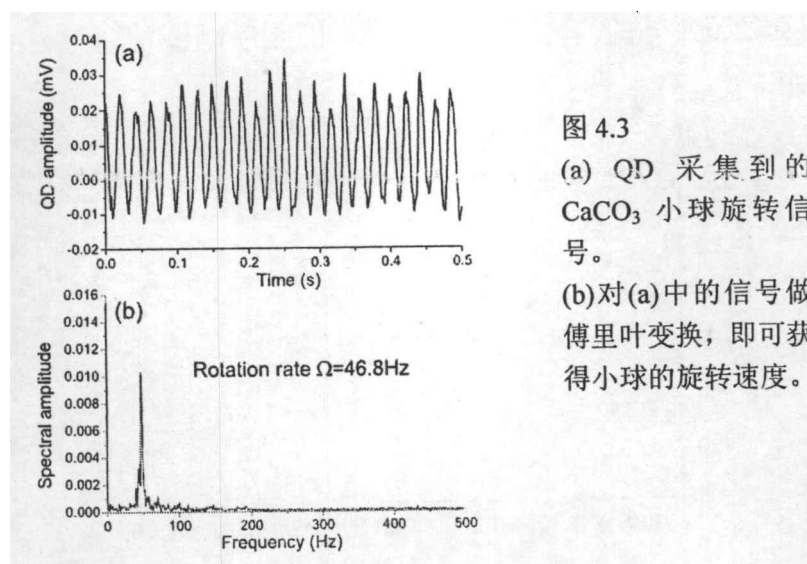


图 4.3  
(a) QD 采集到的  $\text{CaCO}_3$  小球旋转信号。  
(b)对(a)中的信号做傅里叶变换，即可获得小球的旋转速度。

#### 4.2.3 旋转速度与激光功率

用光镊捕获一个直径约为0.8微米的小球，测量其旋转速度随激光功率的变

化，其结果如图4.4所示。结果表明小球的旋转速度与激光功率成正比。

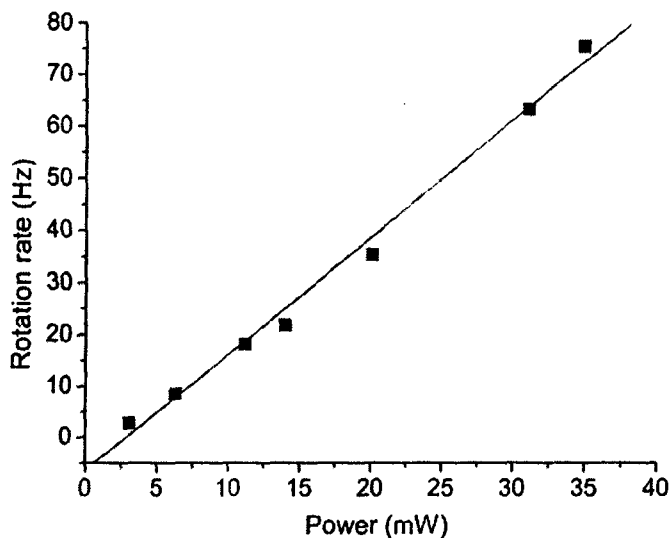


图4.4 小球旋转速度随激光功率线性变化。

根据公式(4.11)， $\tau \propto P_{eff}$ ，因此小球的旋转速度正比于入射激光的功率。

#### 4.2.4 旋转速度与物镜数值孔径

在固定的激光功率下，减小物镜中的光阑直径，减小物镜的数值孔径，测量在不同的数值孔径下小球的旋转速度，其结果如图4.5所示。

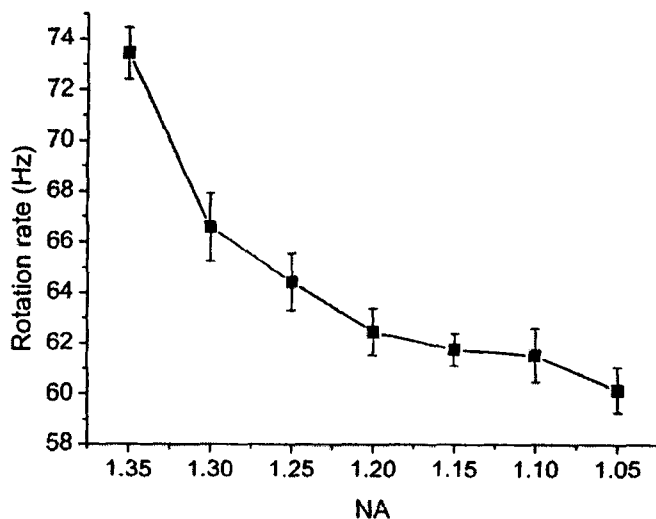


图4.5 物镜数值孔径改变引起小球旋转速度的变化。

实验中物镜的数值孔径的改变是物镜内部的通光光阑直径的变化引起的。通光光

阑的变小,导致通过物镜的激光功率变小,所以小球的旋转速度随着 NA 的变小而变小。

#### 4.2.5 无穷远物镜时旋转速度与捕获高度

用光镊捕获一个直径为 1.1 微米的小球,调整小球离样品池底的高度,测量小球在不同俘获高度的旋转速度 $\Omega$ ,结果如图 4.6 所示。从图 4.6 可以看出,小球旋转速度最大的地方是离底面 5 微米处,小球旋转速度随着离底面的高度的增大而减小。

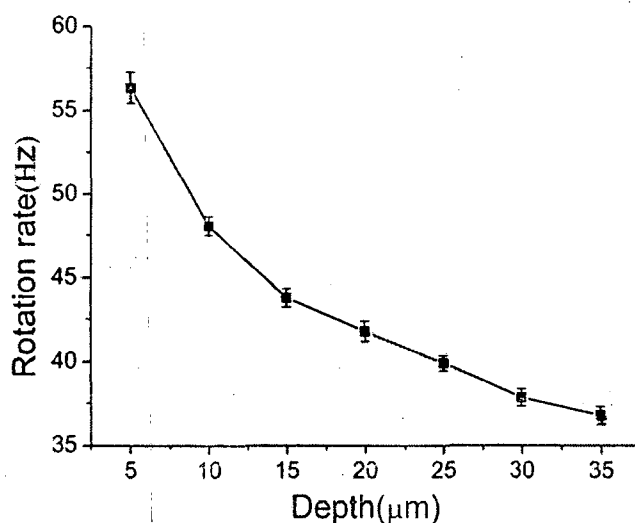


图4.6 小球旋转速度随捕获高度的增加而减小

关于图4.6的实验结果将在4.3节中进行详细解释,其原因是光镊设备中使用了高数值孔径的油浸物镜,其中匹配油与水的折射率不一致产生了球差导致了旋转速度的降低。激光经过物镜以后成一个弥散斑,球差越大弥散斑的直径越大。Alexander Rohrbach等人[12]研究了焦点处激光强度与捕获高度的关系,指出激光经过物镜以后照在小球上的激光强度随着捕获高度的变大而变小,而小球的旋转速度与相互作用的激光功率成正比,因此小球旋转速度的降低是由于球差的影响导致的。

#### 4.2.6 有限远物镜时旋转速度与捕获高度

采用机械筒长为 160mm 的物镜以后,与图 4.6 中相同小球的旋转速度与捕获高度的关系如图 4.7 所示,可以看出在  $d$  约等于  $50\mu\text{m}$  的位置旋转速度最大,这样即可在较高捕获高度获得较大的旋转速度。图 4.7 结果在 4.3 节中进行解释。

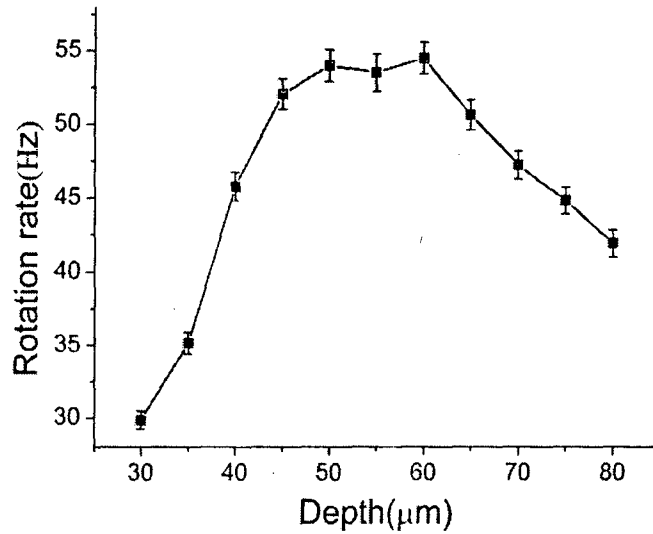


图 4.7 机械筒长为 160 mm 的物镜捕获  $\text{CaCO}_3$  小球时, 小球旋转速度随捕获高度的变化。实验所用的小球与图 4.6 所用的是同一个  $\text{CaCO}_3$  小球。

在实际应用中, 小球旋转速度的可控性是一个很重要的研究内容。通过改变激光功率、改变激光偏振态等方法, 都可以改变小球的旋转速度。同样, 由于球差存在, 通过改变小球的捕获高度, 在一定程度上可以改变小球的旋转速度。

通过使用一个有限机械筒长的物镜, 这样可以在一定程度上修正折射率失配引起的球差。该技术使得在使用普通的光镊时, 也可以在较高的捕获高度上获得很大的旋转速度, 这对实验非常重要, 因为这样可以避免来自底面其他  $\text{CaCO}_3$  粒子的干扰。

### 4.3 球差对小球旋转速度的影响

实验中采用的显微镜成像系统是无穷远成像系统, 使用的物镜也是与其匹配的无穷远物镜。该光镊由激光经过采用高数值孔径的物镜强聚焦后而成, 而一般的高数值孔径物镜都是油浸物镜, 这意味着激光到达被捕获的粒子之前要先经过匹配油(盖玻片)与水溶液, 由于匹配油的折射率与水的折射率不一致, 这将在光镊系统中引入球差, 严重影响光镊捕获性能。由于球差的关系, 激光经过物镜以后, 与光轴夹角不同的光线与光轴相交于不同位置, 在像面上形成一个圆形弥散斑, 导致有的光线没有与小球相交而发生动量转移, 随着捕获高度的增大, 弥



散斑的直径越大，没有相交的光线越多，因此光阱的捕获性能越差，小球的旋转速度也越小。

### 4.3.1 光阱中的球差

球差作为一个相位因子出现在点扩散函数中[13]，总的球差可以表示成

$$SA_{total} = SA_{obj} + SA_{o/g} + SA_{g/w} + SA_{tube} \quad (4.13)$$

其中  $SA_{obj}$  是物镜本身的球差， $SA_{o/g}$  和  $SA_{g/w}$  分别是物镜油与盖玻片、盖玻片与水折射率不一致引入的球差， $SA_{tube}$  是实际筒长改变带来的球差。球差越大，小球的旋转速度越小。本小节先讨论折射率失配引起的球差对小球旋转速度的影响。

关于折射率不一致引起的球差可以采用球差的几何理论或者像差的衍射理论分别描述。Sheppard等人采用几何像差理论研究了由于界面折射率不一致对共焦显微成像质量的影响[14]。Hell等人[15]和Török等人[16]分别用衍射理论对折射率失配问题进行了理论研究。这里采用几何球差分析方法分析由于界面折射率不一致而产生的对光镊性能的影响。

由物镜出射的光束经过匹配油和盖玻片以后聚焦到水中某一点，如图4.12所示。各种介质折射率的不一致会使由物镜出射的光束发出畸变，对光镊的捕获性能有很大的影响。因此为了更好的了解球差对捕获效率的影响，有必要对这畸变的大小进行计算。

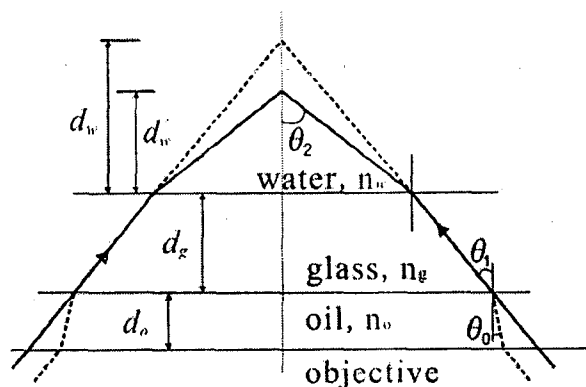


图 4.8 光线经过油浸物镜以后聚焦于水溶液中的示意图

如图 4.8 所示，假设物镜油的厚度为  $d_o$ ，折射率为  $n_o$ ，盖玻片的厚度为  $d_g$ ，折射率为  $n_g$ ，水的折射率为  $n_w$ 。光线从物镜出射以后，光线与法线的夹角分别

为  $\theta_0$ 、 $\theta_1$  和  $\theta_2$ ，则物镜油与盖玻片界面、盖玻片与水界面的相位差可以分别表示为[16]

$$\phi_{og} = -kd_g (n_o \cos \theta_0 - n_g \cos \theta_1) \quad (4.14)$$

$$\phi_{gw} = -kd_w (n_g \cos \theta_1 - n_w \cos \theta_2) \quad (4.15)$$

其中  $k=2\pi/\lambda$  为波数， $\lambda$  为照明波长。由折射定律有

$$n_o \sin \theta_0 = n_g \sin \theta_1 = n_w \sin \theta_2 \quad (4.16)$$

将公式(4.14)、(4.15)中的余弦函数展开为  $s=\sin(\theta_0/2)$  的幂级数，有

$$\cos \theta_0 = 1 - 2s^2 \quad (4.17)$$

$$\cos \theta_1 = \left[ 1 - \frac{4n_o^2}{n_g^2} s^2 (1 - s^2) \right]^{1/2} \quad (4.18)$$

$$\cos \theta_2 = \left[ 1 - \frac{4n_o^2}{n_w^2} s^2 (1 - s^2) \right]^{1/2} \quad (4.19)$$

利用公式(4.17-19)，将波前相位差  $\phi_{og}$  和  $\phi_{gw}$  展开为  $s$  的幂级数， $s^4$  项系数即表示初级球差。由于折射不一致引起的球差总系数为

$$\begin{aligned} W_{40} = & -2kd_g (n_o - n_g) (n_o + n_g) \frac{n_o^2}{n_g^3} \sin^4 (\theta_0 / 2) \\ & - 2kd_w (n_g - n_w) \times \frac{n_o^2 n_g^2 n_w^2 - n_o^4 (n_g^2 + n_g n_w + n_w^2)}{n_g^3 n_w^3} \sin^4 (\theta_0 / 2) \end{aligned} \quad (4.20)$$

实验中一般选择折射率与玻璃相等的物镜油，因此公式(4.20)可以简化成

$$W_{40} = -2kd_w (n_g - n_w) (n_w + n_g) \frac{n_w^2}{n_g^3} \sin^4 (\theta_0 / 2) \quad (4.21)$$

从公式(4.21)可以看出，随着捕获高度  $d_w$  的增加，球差因子  $W_{40}$  也大，因此光阱的刚度也越小，这就解释了第二章中光阱刚度随着捕获高度增加而减小的现象。同理，随着捕获高度  $d_w$  的增加，导致微粒发生相互作用的激光能量变小，所以光阱中双折射小球的旋转速度也越小。

### 4.3.2 球差补偿方法

光镊中普遍使用消球差物镜作为捕获物镜，但即使是消球差物镜也只是在特定波长下的某一个特定的高度（一般都是处于盖玻片表面附近）时才能完全地消

除球差,在这个高度时光阱的性能最好。随着捕获高度的变大,捕获效率急剧下降,这在实验和计算机模拟上已经有了大量的文献报道[12-13, 17-19]。由于粒子位于盖玻片表面附近时,小球与盖玻片表面有流体力学相互作用[20],这对实验操作与结果分析带来干扰和误差,因此人们希望能够在消除盖玻片表面影响的情况下操控小球。其中普遍的做法是在离盖玻片较远的地方操控粒子,但是这时光阱的捕获刚度与粒子位于盖玻片附近时的捕获性能相比差很多,这主要是折射率不一致引入的球差导致的,因此人们希望能够修正球差或者排除球差的影响,以便在较高的捕获高度下获得高捕获性能。根据文献报道[19],采用水浸物镜可以消除球差,在不同的高度时其光阱刚度基本不变,然而水镜的数值孔径比较低,导致光阱的捕获性能有所降低。通过改变物镜的有效筒长可以修正球差[13, 21],能够在较高的捕获高度时获得较好的捕获性能,这需要通过在外部光路加一个透镜调节激光的聚焦点,对激光功率有所损耗,削弱了光阱的捕获性能。采用薄膜变形镜[22-23] (Membrane Deformable Mirror)或者空间光调制器[24-25]校正球差引起的波前变化,可以达到修正球差的效果,然而该设备的价格因素限制了该技术的推广应用。

### 4.3.3 有效筒长改变引起的球差变化

本小节首先通过理论分析有效筒长改变引入的球差,在无穷远成像系统中采用有限机械筒长的物镜作为捕获物镜,在较高的捕获高度修正折射率失配引起的球差,获得较大的旋转速度,最后分析匹配油折射率的变化对光镊系统中球差的影响,分析了匹配油折射率的变化对光阱捕获性能的影响。

如图2所示,假设光轴上点L的理想像为点D,则轴线上光线通过一个厚透镜以后引起的相位差为

$$\phi = k \left[ l - (l^2 + h^2)^{1/2} + n_1 d - n_1 (d^2 + h^2)^{1/2} \right] \quad (4.22)$$

假设点L微小偏移移到L'点,成像于D'点,则由于物点的偏移引起的相位差为

$$\Delta\phi = k \left[ \Delta l - l (l^2 + h^2)^{-1/2} \Delta l + n_g \Delta d - n_g d (d^2 + h^2)^{-1/2} \Delta d \right] \quad (4.23)$$

由图4.13的几何关系有:  $h/d = \cos\theta$ , 另外,  $l/d = M$  ( $M$ 是物镜的放大倍数), 可将公式(4.23)写成

$$\Delta\phi = k \left[ \Delta l - l (l^2 + h^2)^{-1/2} \Delta l + n_g \Delta d (1 - n_g \cos\theta_1) \right] \quad (4.24)$$

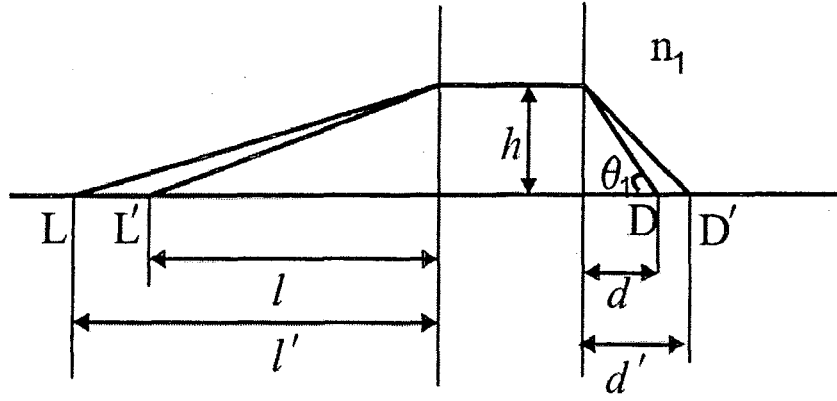


图4.13激光聚焦点发生变化的示意图

光镊系统中物镜都使用高倍物镜, 这意味着  $l \gg d$ ,  $l \gg d \tan \theta = h$ , 将公式(4.24)展开, 有

$$\begin{aligned} \Delta\phi &= k \left[ \Delta l \frac{d^2 \tan^2 \theta_1}{2l^2} + n_g \Delta d (1 - n_g \cos \theta_1) \right] \\ &= k \left[ \Delta l \frac{M \tan^2 \theta_1}{2} + n_g \Delta d (1 - n_g \cos \theta_1) \right] \end{aligned} \quad (4.25)$$

将有关  $s = \sin(\theta_1/2)$  展开,

$$\tan^2 \theta_1 = 3 \left( 4s^2/3 + 4s^4 + 32s^6/3 + \dots 2^n (n+1)s^{2n}/3 + \dots \right) \quad (4.26)$$

其中  $s^2$  项是离焦项,  $s^4$  项是一级球差, 即可得到相位球差因子为

$$W_{40} = 6kM\Delta l \sin^4 \left( \frac{\theta_1}{2} \right) \quad (4.27)$$

考虑筒长的变化以后, 一级球差系数为

$$W_{40} = \left[ -2kd_w (n_w - n_g)(n_g + n_w) \frac{n_1^2}{n_2^3} + 6kM\Delta l \right] \sin^4 \left( \frac{\theta_0}{2} \right) \quad (4.28)$$

一般情况下, 物镜完全消球差的位置位于盖玻片附近, 随着捕获高度的变大, 折射率不一致导致的球差会变大。  $\Delta l$  的增加会部分修正由于折射率失配引起的球差, 使得该位置的球差变小, 捕获性能得到提高。

根据公式(4.28),  $\Delta l$  的增加将会在某个捕获高度抵消折射率失配引起的球差, 使得公式(4.28)等于 0, 在这个高度下光阱的横向刚度最大。第二章中在无穷远显微镜上采用一个机械筒长为 160 mm 的物镜作为捕获物镜, 这意味物镜的实际

筒长近似为无穷远,这时物镜球差完全消除的位置会往捕获高度较大的位置移动( $d=50\mu\text{m}$ )。同理光阱中双折射小球的 $\dot{\theta}$ 最大旋转速度也出现在该位置附近。

#### 4.3.4 匹配油折射率变化对光阱的影响

匹配油的选择一般是折射率与玻璃相等,但是实验中可以使用折射率与玻璃的折射率不相等的物镜油,或者在某些实验[26-27]中,需要对样品池的温度进行控制。当温度变化时,匹配油的折射率会随着温度的变化而变化[28],样品池的温度变化较大时就无法忽略物镜油对球差的影响,下面讨论折射率变化对球差和光阱刚度的影响。

假设 $d_w=(d_w)_c$ 时, $W_{40}=0$ 。考虑到公式(4.20)中的第二项大于零,公式(4.20)可以改写成

$$\begin{aligned} W_{40} &= -2kd_g(n_o - n_g)(n_o + n_g)\frac{n_o^2}{n_g^3}\sin^4(\theta_0/2) \\ &\quad - 2kd_w(n_g - n_w)\times\frac{n_o^2n_g^2n_w^2 - n_o^4(n_g^2 + n_gn_w + n_w^2)}{n_g^3n_w^3}\sin^4(\theta_0/2) \\ &= [-Ad_g(n_o - n_g) + Bd_w]\sin^4(\theta_0/2), (A > 0, B > 0) \end{aligned} \quad (4.29)$$

$A, B$ 分别是对应的常数项。从公式(4.29)可以看出,如果改变 $n_o$ 使得 $n_o > n_g$ ,完全消球差的位置 $(d_w)_c$ 将会不再处于目前完全消球差的位置,随着 $n_o$ 的增大, $(d_w)_c$ 随着增大,光阱性能最优对应的捕获高度也将逐渐增大,这在已经报道的实验结果[29]中得到验证。如果温度升高,匹配油的折射率将会急剧下降,这会使得球差变大,所有捕获高度的光阱性能都会变差,甚至难以捕获粒子。

#### 4.3.5 水浸物镜做捕获物镜

水浸物镜经过消球差设计后,可以实现在很长一段距离之内都可以完好的消球差。水浸物镜一般都是直接浸在水溶液中使用,假如将其用在倒置显微镜中,这与在正置显微镜使用时相比只是中间多了一层玻璃。由公式(4.20)可以得出,中间的玻璃并不会带来新的球差,没有破坏光线的聚焦性质,光阱的捕获性能能够在很大的捕获范围内保持不变[19],因为盖玻片只是对光线起了一个平移的作用,并没有改变光线的聚焦性能。

### 4.3.6 光镊中几种修正球差方法的比较

采用空间光调制器校正波前的方法修正球差，由于衍射效率的限制，降低了光阱的刚度，另外设备价格的因素也限制了该方法的推广应用。在正置显微镜中使用水镜物镜，由于物镜直接浸在样品池中，粒子的运动都会由于物镜的存在而受到干扰，对实验结果带来不确定因素；如果是用在倒置显微镜中，由于水的粘滞系数很低，水会流到设备其他的地方，对实验设备的维护带来一定的危害，同时也会使得物镜与玻片之间的水层厚度发生变化，影响光阱的稳定性。另外，水镜物镜的数值孔径都比较低，因此与油浸物镜相比其光阱刚度也比较低，长焦距物镜也存在同样的问题。

现有的实验设备上，通过使用不同机械筒长的物镜，在离盖玻片较远的地方部分修正了由于折射率失配引起的球差，使得光阱横向刚度变大，双折射小球的旋转速度增大。尽管无法做到在所有捕获高度上都能完全消球差，但是该实现方法设备价格低廉，在实验上容易操作，在其它涉及油浸物镜的领域比如共焦显微术、光学存储与多光子显微成像术等技术的实际应用具有一定的参考价值。

### 4.4 界面对粒子旋转运动的影响

小球处于不同的捕获高度时，影响其旋转速度有两个潜在的因素。一个是折射率失配引起的球差导致的影响，另一个影响是刚性球在固体平面壁附近时的 Stokes 流会有一个修正[30]。关于球差的影响如前面所阐述，下面简述一下旋转的 Stokes 流修正。假设实验中碳酸钙粉末经过研磨之后得到的粒子是圆球颗粒，则旋转力矩

$$T_z = (T_z)_\infty \left[ 1 + \sinh^3 \alpha \sum_{n=2}^{\infty} \frac{1}{\sinh^3 n\alpha} \right] = \beta (T_z)_\infty \quad (4.30)$$

其中  $\beta$  是 Stocks 修正系数， $(T_z)_\infty$  是球以角速度  $\omega$  在没有盖玻片存在时绕  $z$  轴旋转的力矩。其中

$$(T_z)_\infty = 8\pi\eta\omega r^3, \quad (4.31)$$

$$\alpha = \cosh^{-1} \left( \frac{h}{r} \right) = \ln \left\{ \frac{h}{r} + \left[ \left( \frac{h}{r} \right)^2 - 1 \right]^{1/2} \right\}, \quad (4.32)$$

$h$  为小球中心与底面的距离， $r$  为小球半径。根据公式(4.32)计算不同捕获高度

下的修正值  $\beta$  列于表 4.1 中。

可以看出，当  $h/r > 10$  时，旋转的 Stocks 修正数值  $\beta$  很小，基本上可以忽略。假设小球半径为 1 微米，则捕获高度为 10 微米时就可以忽略 Stocks 修正系数的变化，视为常数 1 了，这时只剩下球差的影响。

表 4.1 不同捕获深度下的  $\beta$  值

	$h/r$	$\beta^{-1}$
$\infty$	$\infty$	1.0000
3.0	10.0677	1.0001
2.0	3.7622	1.0024
1.5	2.3524	1.0079
1.0	1.5431	1.0357
0.5	1.1276	1.1056
0.1	1.0050	1.1909
0.0	1.0000	1.2021

#### 4.5 本章小结

本章研究双折射小球在光阱中的旋转运动。指出由于油水界面存在折射率失配引起的球差，双折射小球的旋转速度随着捕获高度的增加而减小。采用几何球差分析方法对光阱中存在的球差进行分析，并使用改变有效筒长的方法对折射率失配引起的球差进行修正。通过研究修正之后的小球旋转速度随捕获高度的变化，发现经过修正后光镊捕获性能最佳的位置是  $d \approx 50 \mu\text{m}$  处。

## 参考文献

1. R. Yasuda, H. Noji, M. Yoshida, K. Kinosita, and H. Itoh, "Resolution of distinct rotational substeps by submillisecond kinetic analysis of F-1-ATPase," *Nature* **410**, 898-904 (2001).
2. M. G. Duser, N. Zarrabi, D. J. Cipriano, S. Ernst, G. D. Glick, S. D. Dunn, and M. Borsch, "36 degrees step size of proton-driven c-ring rotation in FoF1-ATP synthase," *Embo J.* **28**, 2689-2696 (2009).
3. R. A. Beth, "Mechanical detection and measurement of the angular momentum of light," *Physical Review* **50**, 115-125 (1936).
4. M. E. J. Friese, T. A. Nieminen, N. R. Heckenberg, and H. Rubinsztein-Dunlop, "Optical alignment and spinning of laser-trapped microscopic particles," *Nature* **394**, 348-350 (1998).
5. S. Sato, M. Ishigure, and H. Inaba, "Optical Trapping and Rotational Manipulation of Microscopic Particles and Biological Cells Using Higher-Order Mode Nd:YAG Laser Beams," *Electron. Lett.* **27**, 1831-1832 (1991).
6. A. T. O'Neil, and M. J. Padgett, "Rotational control within optical tweezers by use of a rotating aperture," *Opt. Lett.* **27**, 743-745 (2002).
7. L. Paterson, M. P. MacDonald, J. Arlt, W. Sibbett, P. E. Bryant, and K. Dholakia, "Controlled rotation of optically trapped microscopic particles," *Science* **292**, 912-914 (2001).
8. M. E. J. Friese, T. A. Nieminen, N. R. Heckenberg, and H. Rubinsztein-Dunlop, "Optical torque controlled by elliptical polarization," *Opt. Lett.* **23**, 1-3 (1998).
9. T. A. Nieminen, N. R. Heckenberg, and H. Rubinsztein-Dunlop, "Optical measurement of microscopic torques," *J. Mod. Opt.* **48**, 405-413 (2001).
10. A. La Porta, and M. D. Wang, "Optical torque wrench: Angular trapping, rotation, and torque detection of quartz microparticles," *Phys. Rev. Lett.* **92**, 190801 (2004).
11. A. I. Bishop, T. A. Nieminen, N. R. Heckenberg, and H. Rubinsztein-Dunlop, "Optical microrheology using rotating laser-trapped particles," *Phys. Rev. Lett.* **92**, 198104 (2004).
12. A. Rohrbach, and E. H. K. Stelzer, "Trapping forces, force constants, and potential depths for dielectric spheres in the presence of spherical aberrations," *Appl. Optics* **41**, 2494-2507 (2002).
13. P. C. Ke, and M. Gu, "Characterization of trapping force in the presence of spherical aberration," *J.*



Mod. Opt. **45**, 2159-2168 (1998).

14. C. J. R. Sheppard, and M. Gu, "Aberration Compensation in Confocal Microscopy," *Appl. Optics* **30**, 3563-3568 (1991).

15. S. Hell, G. Reiner, C. Cremer, and E. H. K. Stelzer, "Aberrations in confocal fluorescence microscopy induced by mismatches in refractive index," *Journal of Microscopy* **169**, 391-405 (1993).

16. P. Török, P. Varga, Z. Laczik, and G. R. Booker, "Electromagnetic diffraction of light focused through a planar interface between materials of mismatched refractive indices: an integral representation," *J. Opt. Soc. Am. A* **12**, 325-332 (1995).

17. X. C. Yao, Z. L. Li, H. L. Guo, B. Y. Cheng, X. H. Han, and D. Z. Zhang, "Effect of spherical aberration introduced by water solution on trapping force," *Chin. Phys.* **9**, 824-826 (2000).

18. X. C. Yao, Z. L. Li, H. L. Guo, B. Y. Cheng, and D. Z. Zhang, "Effects of spherical aberration on optical trapping forces for Rayleigh particles," *Chin. Phys. Lett.* **18**, 432-434 (2001).

19. K. C. Vermeulen, G. J. L. Wuite, G. J. M. Stienen, and C. F. Schmidt, "Optical trap stiffness in the presence and absence of spherical aberrations," *Appl. Optics* **45**, 1812-1819 (2006).

20. B. H. Lin, J. Yu, and S. A. Rice, "Direct measurements of constrained Brownian motion of an isolated sphere between two walls," *Physical Review E* **62**, 3909-3919 (2000).

21. S. N. S. Reihani, M. A. Charsooghi, H. R. Khalesifard, and R. Golestanian, "Efficient in-depth trapping with an oil-immersion objective lens," *Opt. Lett.* **31**, 766-768 (2006).

22. T. Ota, T. Sugiura, S. Kawata, M. J. Booth, M. A. A. Neil, R. Juškaitis, and T. Wilson, "Enhancement of laser trapping force by spherical aberration correction using a deformable mirror," *Jpn. J. Appl. Phys. Part 2 - Lett.* **42**, L701-L703 (2003).

23. E. Theofanidou, L. Wilson, W. J. Hossack, and J. Arlt, "Spherical aberration correction for optical tweezers," *Opt. Commun.* **236**, 145-150 (2004).

24. G. Sinclair, P. Jordan, J. Leach, M. J. Padgett, and J. Cooper, "Defining the trapping limits of holographical optical tweezers," *J. Mod. Opt.* **51**, 409-414 (2004).

25. Y. Roichman, A. Waldron, E. Gardel, and D. G. Grier, "Optical traps with geometric aberrations," *Appl. Optics* **45**, 3425-3429 (2006).

26. M. C. Williams, J. R. Wenner, I. Rouzina, and V. A. Bloomfield, "Entropy and heat capacity of DNA melting from temperature dependence of single molecule stretching," *Biophys. J.* **80**, 1932-1939 (2001).

27. P. Cicuta, S. L. Keller, and S. L. Veatch, "Diffusion of liquid domains in lipid bilayer membranes," *Journal of Physical Chemistry B* **111**, 3328-3331 (2007).
28. E. J. G. Peterman, F. Gittes, and C. F. Schmidt, "Laser-induced heating in optical traps," *Biophys J* **84**, 1308-1316 (2003).
29. S. N. S. Reihani, and L. B. Oddershede, "Optimizing immersion media refractive index improves optical trapping by compensating spherical aberrations," *Opt. Lett.* **32**, 1998-2000 (2007).
30. J. Happel, and H. Brenner, *Low Reynolds number hydrodynamics* (Martinus Nijhoff, Hague, 1983).

## 第5章 光镊操控界面上的微粒

乳状液是一液相分散于另一液相中形成的分散体系。如果将两个互不相溶的液体放在一起并用力摇动一段时间，它们就会形成乳状液。但是若静置一会，就会发现它们迅速分成两层液相，可见两个互不相溶的液相形成的乳状液是不稳定的。但是如果加入乳化剂，就会得到较为稳定的乳状液。在乳状液界面上的固体微粒能够起到稳定乳状液的作用。稳定乳状液的固体颗粒尺寸比液滴要小很多，所以可以认为固体颗粒是处于一个大的平滑界面上。

近年来，界面上胶体粒子的运动越来越引起人们的关注，这是因为界面上固体颗粒能够作为一个 Picking 乳状液的模型进行研究，而且胶体粒子能够在界面上形成有序的二维结构[1]，还能够做为研究模型研究二维胶体晶体[2]。通过研究界面上粒子的布朗运动，可以测量流体—流体界面的流变学参数[3-4]，也可以研究粒子之间的相互作用[5]。

利用原子力显微镜(AFM)和光镊等手段可以测量过油—水界面处带电微粒间的相互作用力。光镊测量该相互作用力的基础是光镊能够捕获和操控粒子，而在我们的实验中发现光镊对界面粒子的捕获力很弱。

本章的内容首先通过理论数值计算，对光镊对水—油(空气)界面上的胶体微粒的捕获力进行了分析，然后实验研究光镊操控空气—水界面的胶体粒子。本章的安排如下：第一节简介光镊操控界面粒子的意义，第二节利用几何光学模型对界面上粒子的光阱力进行计算。第三节利用毛细管效应，制作空气—水界面体系，使用光镊操控处于空气—水界面的微粒。第四节对本章进行小结。

### 5.1 界面粒子的相互作用

胶体粒子在油水界面上会形成有序排列的图形，与粒子分散与水溶液中时不同，例如图 5.1 所示，其有序排列的物理机制引起了人们的广泛关注。粒子之间的相互作用力是粒子稳定排布的重要影响因素，对界面上粒子的相互作用力的测量是理解粒子有序排列的重要途径，因此操控和测量其相互作用成为近年来的研究热点[1, 5-9]。

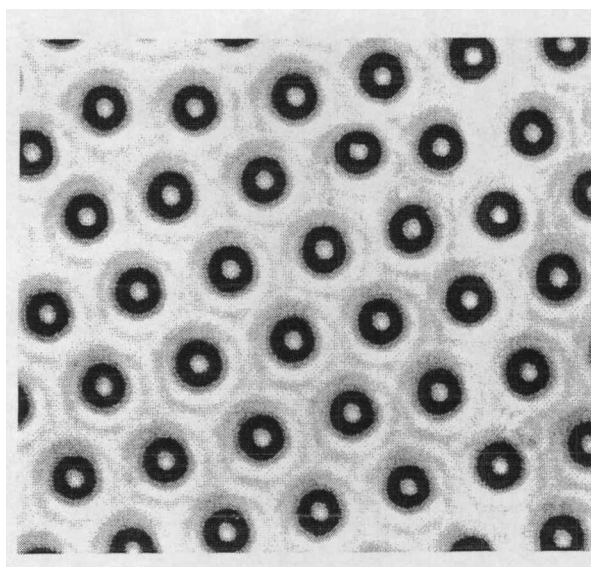


图 5.1 Aveyard 等人[1]利用聚苯乙烯小球在油水界面上形成的规则排布。小球直径为  $2.7\mu\text{m}$ ，油相为正十烷和正十一烷混合物，稳定以后小球之间的距离为  $5.8\mu\text{m}$ 。

关于粒子形成有序排列的原因，主要有两种不同的观点。一种观点一般认为微米或纳米带电粒子处于界面时是被库伦相互排斥力所稳定[1]。但是小球双电层引起的排斥力不足于形成类似于图 5.1 的结构，该长程排斥力的起源被认为是小球表面所带基团电离后吸附在油水界面上的极少数剩余电荷。如果形成界面的其中一相是非极性，例如是空气或油，则该相并不能维持电荷的平衡，这时将体现长程的排斥作用力。另一种观点认为两个粒子之间存在吸引力。相同带电分子之间的库仑排斥力是溶液中各种高分子稳定存在和结构排列的基本要求。然而，在某些特殊环境下，相同带电分子之间存在吸引力。根据已经报导的文献，从简单的胶体微粒[10]到复杂的纤维状的肌动蛋白[11]和 DNA[12]等体系都存在这种吸引力。由于粒子之间的相互作用性质在胶体科学和生物学等领域的基础研究与应用研究中的重要性，许多年来人们一直致力于解决该性质，但是目前未能得到令人满意的解释。

## 5.2 水—油（空气）界面微粒的光阱力

随着光镊的发展，光镊被应用于测量界面上粒子的力学行为。光镊在各个研究领域得到广泛应用的基础是光镊能够捕获和操控微粒，光阱的捕获力是衡量光镊捕获性能的一个重要指标。本章采用几何光学模型，从理论上计算，研究了光镊对的油水界面上球体微粒的捕获力。光镊能够用于测量界面上微粒的力学特性的基础是光镊能够捕获和移动粒子，理论分析和数值模拟对操控微粒实验的设计和解析可以起到指导的作用。

### 5.2.1 均一介质中粒子的光阱力计算[13]

当粒子半径远远大于捕获光的波长时，可以把捕获光看成由许多根光线组成的，而光阱对粒子的捕获力可以看成所有光线的作用力的总和，这称之为几何光学模型(Ray-Optics Model)。通过跟踪每条入射光线，在光线与小球的接触点计算光线的动量改变量，直至光线的能量衰减至某一极小值，最后将所有光线对小球的作用力累加，即可得到激光对小球的光阱力。

一根具有功率  $P$  的光线以入射角  $\theta$  碰到粒子以后，其折射和反射情况如图 5.2 所示。在小球内部，光线发生反射和折射，设折射角为  $r$ ，则各根光线的功率分别为  $PR, PT^2, PT^2R, \dots, PT^2R^m, \dots$ ，其中  $R$  和  $T$  分别为光强的反射和透射系数。各根光线对应的夹角分别为  $\pi+2\theta, \alpha, \alpha+\beta, \dots, \alpha+m\beta$ ，因此单位时间内沿入射光方向( $z$  方向)的动量该变量的表达式为：

$$F_z = \frac{nP}{c} - \left[ \frac{nPR}{c} \cos(\pi + 2\theta) + \sum_{m=0}^{\infty} \frac{nP}{c} T^2 R^m \cos(\alpha + m\beta) \right] \quad (5.1)$$

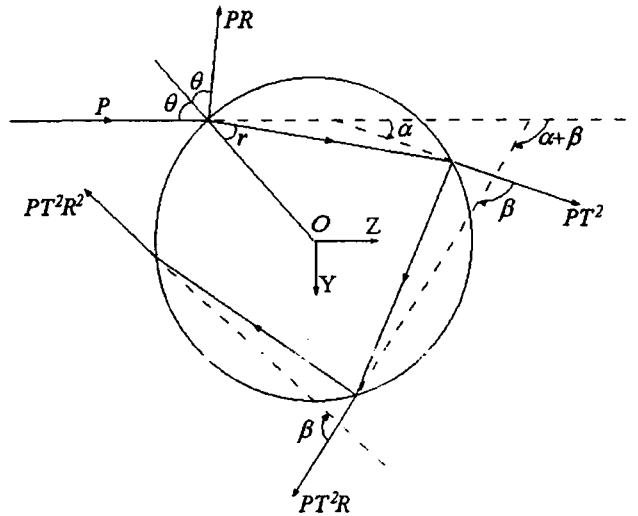


图 5.2 功率为  $P$  的光线入射到小球上之后的反射与折射情况

利用公式变换：

$$\begin{aligned}
 & 2R \cos \beta \sum_{m=0}^{\infty} R^m \cos(\alpha + m\beta) \\
 &= \sum_{m=0}^{\infty} R^{m+1} [\cos(\alpha + m\beta + \beta) + \cos(\alpha + m\beta - \beta)] \\
 &= \sum_{m=1}^{\infty} R^m \cos(\alpha + m\beta) + \sum_{m=0}^{\infty} R^{m+2} \cos(\alpha + m\beta) + R \cos(\alpha - \beta)
 \end{aligned} \tag{5.2}$$

由此可以得到:

$$\begin{aligned}
 & (1 + R^2 - 2R \cos \beta) \sum_{m=0}^{\infty} R^m \cos(\alpha + m\beta) \\
 &= \sum_{m=0}^{\infty} R^m \cos(\alpha + m\beta) + \sum_{m=0}^{\infty} R^{m+2} \cos(\alpha + m\beta) \\
 & - \left[ \sum_{m=1}^{\infty} R^m \cos(\alpha + m\beta) + \sum_{m=0}^{\infty} R^{m+2} \cos(\alpha + m\beta) + R \cos(\alpha - \beta) \right] \\
 &= \cos \alpha - R \cos(\alpha - \beta)
 \end{aligned} \tag{5.3}$$

利用公式(5.2)对表达式(5.1)进行化简, 得到小球在  $z$  方向上所受到的力  $F_z$  就可以表达为:

$$F_z = \frac{nP}{c} \left[ 1 + \cos(2\theta) - \frac{T^2 [\cos \alpha - R \cos(\alpha - \beta)]}{1 + R^2 - 2R \cos \beta} \right] \tag{5.4}$$

由图 5.2 的几何关系  $\alpha = 2\theta - 2r$ ,  $\beta = \pi - 2r$ , 公式(5.4)变为:

$$F_z = \frac{nP}{c} \left[ 1 + \cos(2\theta) - \frac{T^2 [\cos(2\theta - 2r) - R \cos(2\theta)]}{1 + R^2 - 2R \cos(2r)} \right] \tag{5.5}$$

方程(5.5)给出的小球这部分的受力的方向与光线传播方向相同, 称之为散射力。通过类似的计算过程, 可以计算出在  $y$  方向上小球受到的力为:

$$F_y = \frac{nP}{c} \left[ R \sin(2\theta) - \frac{T^2 [\sin(2\theta - 2r) - R \sin(2\theta)]}{1 + R^2 - 2R \cos(2r)} \right] \tag{5.6}$$

这一部分受力的方向与光的传播方向垂直, 一般叫做梯度力。

单条光线入射到小球上对小球的作用力可以用表达式(5.5)和(5.6)计算, 而整个光束对小球的作用力可以通过计算每条光线对小球的作用力再求积分而得到。

### 5.2.2 界面上的粒子的光阱力分析

由于界面存在表面张力, 光阱对界面上的粒子所施加的力效果不同于对处于

同一介质中粒子所施加的力。假设小球被局限于一个平滑的油水界面上，首先分析使小球移动所需要的力。

固体微粒所稳定的乳状液类型取决于两种液体对固体颗粒的润湿情况，容易润湿固体的形成外相。界面上颗粒的润湿情况可以采用杨氏方程表示，这里采用图 5.3 中的参数三相接触角  $\alpha$  表示固体小球在液相中的浸润情况。当  $\alpha < 90^\circ$  时，小球大部分在水中，形成水包油 (O/W) 型乳状液；当  $\alpha > 90^\circ$  时，小球大部分在水中，形成油包水 (W/O) 型乳状液。考虑一个半径为  $R$  的胶体小球处于油水界面上，忽略界面由于小球重力引起的变形，那么在纵向上将小球移动离开界面所需要的能量[14]是

$$E_{au} = \pi R^2 \gamma_{\alpha\beta} (1 \pm \cos \alpha)^2, \quad (5.7)$$

其中  $\gamma_{\alpha\beta}$  是界面的表面张力，将小球完全移动至水相时取正号，完全移动至油相取负号。一般的，液—液界面的表面张力  $\gamma_{\alpha\beta}$  的量级[15]是几十 pN/ $\mu\text{m}$ ，而一般光阱的纵向刚度  $k_z$  一般是 pN/ $\mu\text{m}$  量级，光镊将小球移动位移  $R$  所需要的能量是

$$E_k = \frac{1}{2} k_z R^2, \quad (5.8)$$

远远小于  $E_{au}$ ，所以光阱力无法克服油水界面的表面张力，在纵向方向操控小球。在论文的数值计算中只计算了光阱的横向力。

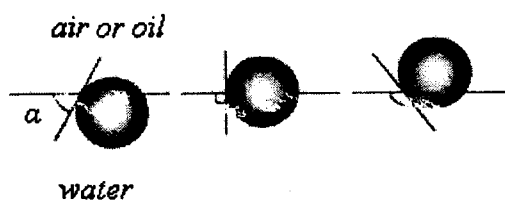


图 5.3 参数三相接触角  $\alpha$ 。

一条功率为  $P$  的一条入射光线入射到小球上之后的反射折射情况如图 5.4 所示，以物镜出光口的中心为原点，激光传输方向为  $z$  轴方向，建立直角坐标系，则小球的外表面为

$$(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2 + (z - z_0)^2 = R^2, \quad (5.9)$$

入射光线  $u$  采用矢量表示如下

$$\boldsymbol{u} = (\cos\theta \sin\varphi, -\sin\theta \sin\varphi, \cos\varphi), \quad (5.10)$$

第一次相交之后，小球受力

$$\boldsymbol{f}_0(\theta, \varphi) = \frac{n_m I}{c} (\boldsymbol{u}_0 - R_0 \boldsymbol{v}_0 - T_0 \boldsymbol{w}_0), \quad (5.11)$$

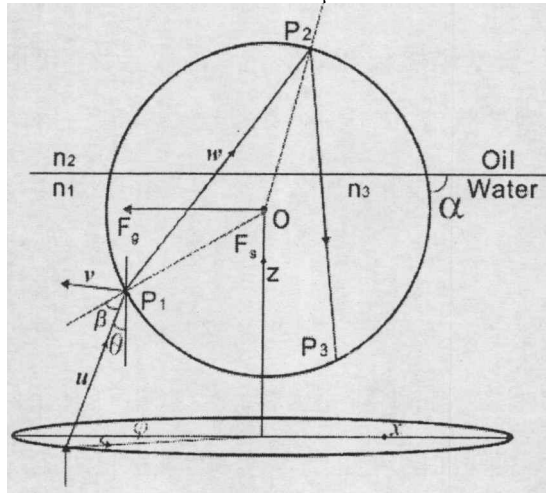


图 5.4 功率为  $P$  的一条入射光线入射到界面上的小球上之后的反射折射情况

其中经过折射进入小球内部的光线  $\boldsymbol{w}$  重新作为入射光，与小球边界相交于  $P_2$  点，计算在  $P_2$  点光线对小球所施加的力，直到光强衰减至初始入射光强的  $10^{-4}$  为止，这根光线施加的力为

$$\boldsymbol{f} = \sum_{i=1}^{\infty} \boldsymbol{f}_i. \quad (5.12)$$

跟踪所有光线，将其累加，即可获得小球的总受力为

$$\boldsymbol{F} = \int_0^{2\pi} \int_0^{\omega_0} \boldsymbol{f}(\theta, \varphi) r dr d\varphi. \quad (5.13)$$

计算中每个点的受力使用了空间解析几何的光线追迹方法[16]。

### 5.2.3 油水界面上的粒子的光阱力计算结果

由于小球外面的介质并非同一介质，因此不能使用表达式(5.5)和(5.6)中的光阱力来计算小球偏移光阱中心时的受力。

计算中采用高斯光束作为捕获光，其光强分布情况用下式表示

$$I(r) = I_0 \exp(-2r^2 / \omega_0^2), \quad (5.14)$$



计算中假定小球的半径为  $3\mu\text{m}$ ，捕获光在物镜出口处的直径  $d$  初始值为  $6\text{mm}$ ，激光功率等于  $1\text{W}$ ，波长为  $633\text{nm}$ ，小球的折射率为  $1.55$ ，空气的折射率为  $1.33$ ，激光的  $s$  分量强度等于  $p$  分量的强度。

### 5.2.3.1 油相折射率对光阱力的影响

当小球相对光阱中心有一个横向的偏移位移时，小球会受到一个回复力指向光阱中心。论文计算了油相折射率内  $n_2$  分别为  $1.33$ ， $1.40$ ， $1.45$ ， $1.50$  时光阱对小球的横向捕获力，其中  $n_2=1.33$  代表小球完全处于水溶液中。自然界中所有油相的折射率都大于水的折射率，所以计算中油相的  $n_2$  值都大于  $1.33$ 。横向光阱力随油相折射率变化的计算结果如图 5.5 所示。计算中假设物镜的数值孔径  $\text{NA}=0.7$ ，三相接触角  $\alpha=90^\circ$ 。

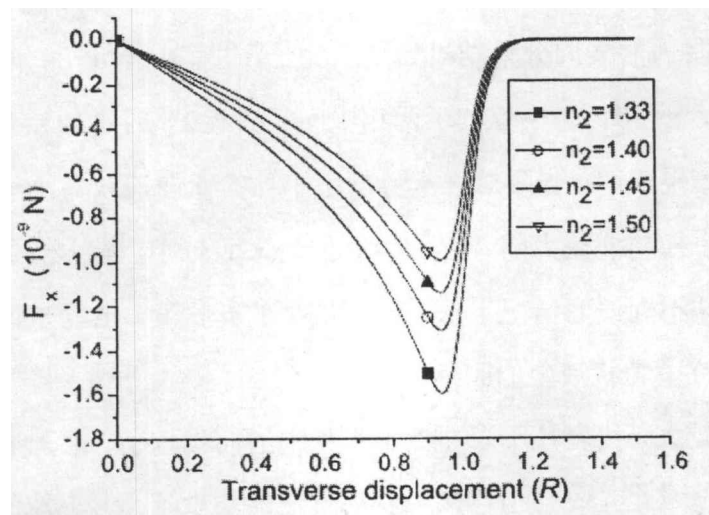


图 5.5 横向捕获力  $F_x$  随油相折射率变化。计算中假定  $\text{NA}=0.7$ ， $\alpha=90^\circ$

由图 5.5 可以看出横向光阱力随着油相折射率的增大而减小，这是因为随着油相折射率的增加，光线传递给小球的动量越少，因此光阱对小球的横向捕获力越小。

### 5.2.3.2 三相接触角对光阱力的影响

不同的油相，其表面张力不同，最终其形成的乳状液可能是水包油 (O/W) 型乳状液或油包水 (W/O) 型乳状液，这与三相接触角  $\alpha$  有关。三相接触角不同，粒子在界面上受到的横向捕获力也不同。

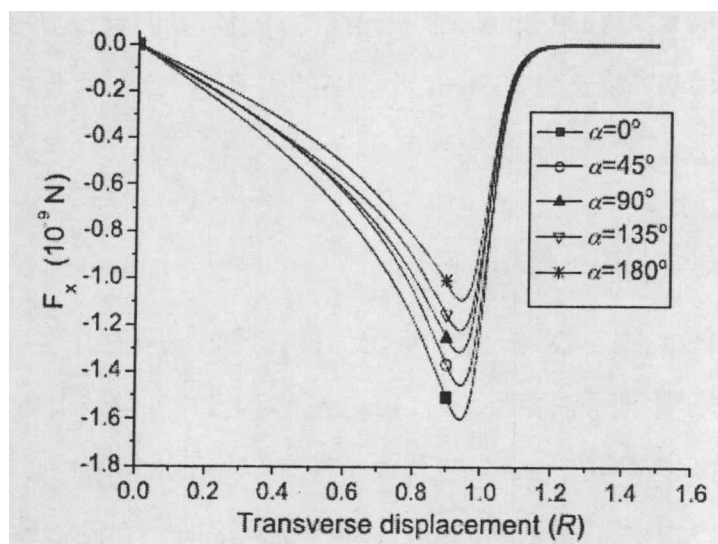


图 5.6 横向捕获力  $F_x$  随三相接触角变化。计算中假定  $NA=0.7$ ,  $n_2=1.40$

当三相角  $\alpha$  分别等于  $0^\circ$ ,  $45^\circ$ ,  $90^\circ$ ,  $135^\circ$ ,  $180^\circ$  时, 小球横向偏移激光中心时, 光阱力的横向分量结果如图 5.6 所示。其中当  $\alpha=0^\circ$  时相当于小球完全浸在水相中,  $\alpha=90^\circ$  时小球处于两相中间,  $\alpha=180^\circ$  时小球完全处于油相中。图 5.6 的计算结果表明: 光阱对油水界面上小球的横向捕获力小于小球全处于水中时的捕获力。横向捕获力随着三相角  $\alpha$  的增大而减小, 最小值是当小球完全处于油相时。小球不同浸润情况下形成不同类型的乳状液, 也就是说光镊更容易移动水包油 (O/W) 型乳状液上的胶体粒子。

接触角  $\alpha$  越大, 代表粒子表面处于水相中的面积越小。由于油相的折射率大于水的折射率, 因此光线与小球接触以后传递的动量越小, 小球的受力越小, 所以横向捕获力随着三相角  $\alpha$  的增大而减小。

### 5.2.3.3 数值孔径和激光光斑直径对光阱力的影响

前面的计算都是与粒子—界面体系的性质有关。通过调节油水体系的性质, 例如使用折射率较小的油相, 或者增大三相接触角, 能增大横向光阱捕获力, 更加方便横向操控粒子运动。

本小节的计算通过改变光镊的外部光路, 寻找增大横向捕获力的方法, 其中包括改变物镜的数值孔径  $NA$ , 和物镜出光口出的激光直径  $d$ 。光阱横向力随物镜的数值孔径的变化而变化, 其计算结果如图 5.7 所示, 计算中假定  $\alpha=90^\circ$ , 油相的折射率  $n_2=1.40$ 。

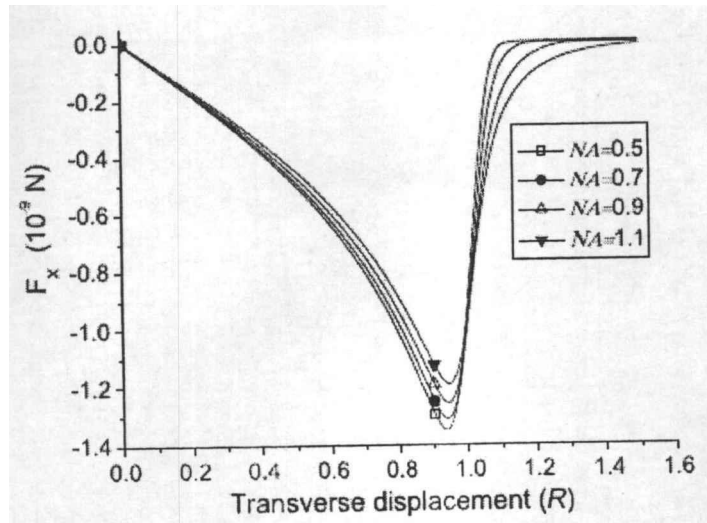


图 5.7 横向捕获力  $F_x$  随物镜数值孔径变化。计算中假定  $\alpha=90^\circ$ ， $n_2=1.40$

由图 5.7 可以看出，当  $NA>0.5$  时，横向光阱力  $F_x$  随着  $NA$  的减小而增加，因此实验中采用数值孔径较小的物镜捕获界面上的粒子更加合适。

光镊的捕获效果是散射力和梯度力共同作用的结果，纵向梯度力随着  $NA$  的增大而增加，横向梯度力随着  $NA$  的增大而减小，然而影响光镊捕获的效果主要是纵向梯度力，因此在光镊设备的搭建中都使用高  $NA$  值的物镜作为捕获物镜，这是在牺牲一部分横向捕获力来增强轴向捕获力，由于横向捕获力一般都远大于纵向捕获力，因此增大  $NA$  引起横向力损失的部分并不影响光镊的整体捕获效果。在本文的研究体系中，由于纵向方向的束缚是由界面的表面张力完成，因此并不需要考虑如何增强光镊的纵向力，所以可以通过减小  $NA$  值来达到增大横向捕获力的效果。根据文献[17]的实验研究， $NA$  值越大，横向捕获效率越小。

同理在同一  $NA$  下，减小光束的直径  $d$  也会增大边沿光束的入射角，所以也可以增大光镊的横向捕获力。改变光束的横向强度分布  $I(r)$ ，光阱的横向捕获力如图 5.8 所示。在计算中光束的直径不能太小，否则几何光学模型不再适用。

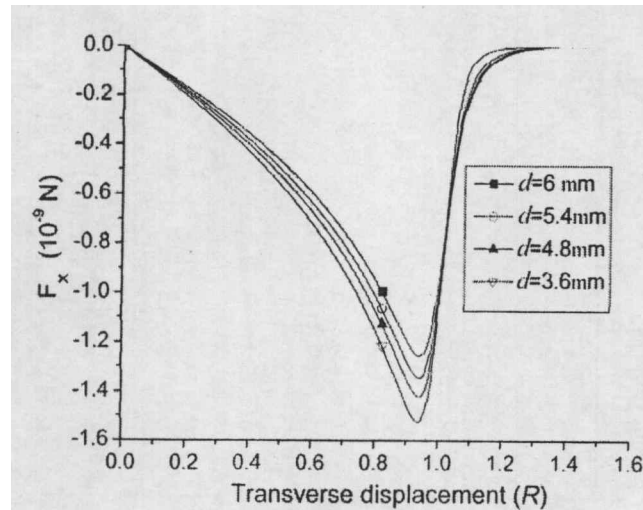


图 5.8 不同光束直径  $d$  时横向捕获力  $F_x$  的变化。计算中假定  $\alpha=90^\circ$ ,  $n_2=1.40$ ,  $NA=0.9$

一般的观点认为,设计光镊系统时激光的光斑都要充满物镜后瞳,甚至略大于物镜后瞳。但是,最新的研究表明[16, 18-19],激光光斑并不是越打越大,而是物镜后瞳与激光光斑直径之比 $\approx 0.65$ 时捕获效果最佳。图 5.8 的计算结果表明,当激光光束的直径减小至物镜出光口的 0.6 倍时,激光的横向捕获力最大,与最新的研究成果是基本吻合的。

#### 5.2.4 水—空气界面上粒子的光阱力计算

将油水界面中的油相换成空气,就形成水—空气界面。本小节计算水—空气界面的粒子的受力情况。通过使用不同的样品池,可以形成正常的水—空气界面(normal 型,激光先经过水相,然后再进入空气),也可以形成空气—水界面(倒置型 inverted,激光先经过空气再进入水中)。实际实验中,由于粒子的重力作用,粒子比较容易出现在 inverted 型的界面上,因此本节中只计算 inverted 型界面上的粒子横向受力。

当圆形微粒被固定于空气—水界面时,以直径计算,小球约有  $2/3$  处于水中,另外的  $1/3$  处于空气中[20]。数值模拟时假定小球的半径为  $3\mu\text{m}$ ,捕获光在物镜出口处的直径  $d$  初始值为  $6\text{mm}$ ,激光功率等于  $1\text{W}$ ,波长为  $633\text{nm}$ ,小球的折射率为  $1.55$ ,空气的折射率为  $1.33$ ,假定激光的  $s$  分量强度等于  $p$  分量的强度。

粒子处于空气—水界面上时,光阱的横向捕获力比粒子完全处于空气中小,比完全处于水中的力大,如图 5.9 所示。这是因为水的折射率大于空气的折射率,当微粒一部分浸在水中时,与完全处于空气中相比,光线传递给小球的动量变少,

因此光阱对小球的横向捕获力变小。

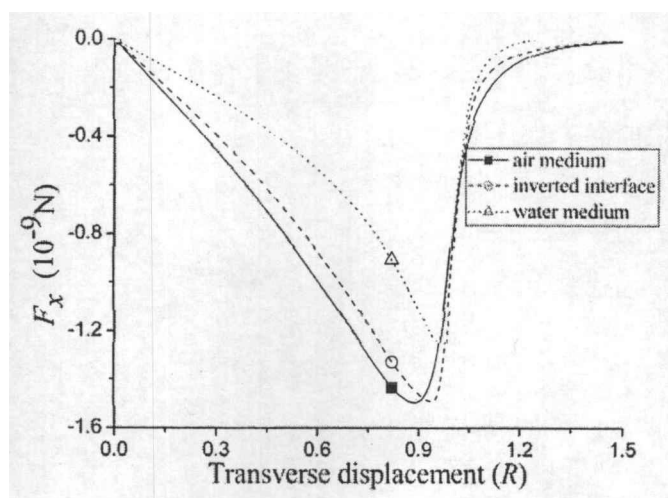


图 5.9 光镊对空气—水界面粒子横向捕获力  $F_x$

粒子处于空气—水界面上时，光阱的横向捕获力也随着物镜的 NA 减小而增大，如图 5.10 所示，因此实验中需要使用 NA 值比较小的物镜进行捕获粒子。

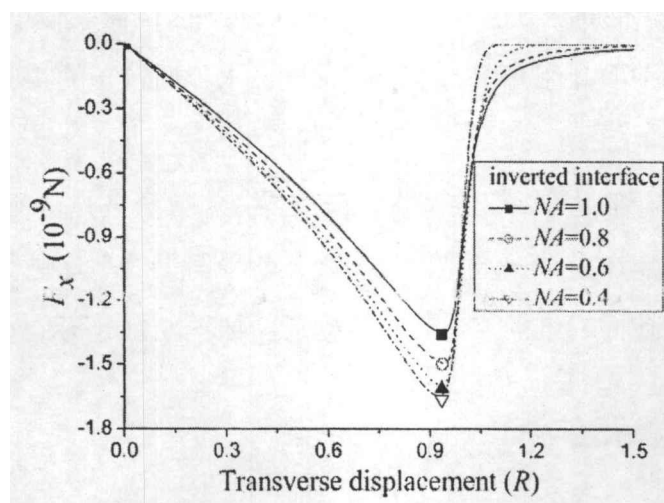


图 5.10 不同物镜数值孔径下，光镊对空气—水界面粒子的横向捕获力  $F_x$

### 5.3 光镊操控空气—水界面的胶体粒子

根据前面的计算与分析，捕获界面的粒子；使用低数值孔径的物镜适合提高横向光阱力。先介绍界面体系的特殊之处及给光镊操控界面上的粒子可能遇到的困难。空气—水界面体系有以下特点：

(1) 光镊操控空气—水界面处的微粒较之操控溶液内部的粒子要困难, 因为当粒子处于界面时, 粒子运动时受到的外力除了液体的粘滞阻力外还存在界面的表面张力阻碍其运动。

(2) 理想的界面应该是平面, 如图 5.11(a)。但是由于存在表面张力, 普通样品池中的空气—水界面都是曲面, 如图 5.11(b)。

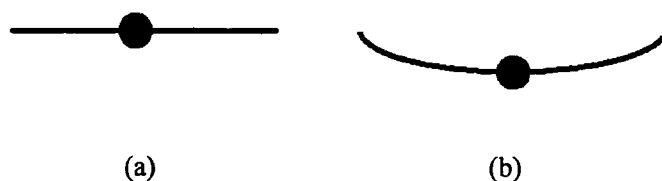


图 5.11 水平界面与凹凸界面上的粒子。

实验中光阱位置不动, 移动压电平台移样品带动小球运动, 使用被动操控的方法。当界面是平面的时候, 小球在界面上的横向移动比较容易。若界面是凹或凸的, 那么移动起来会相对困难, 即当压电平台移动的时候, 界面上的小球由于表面张力的原因随样品池移动而不是被光阱固定, 从而观察不到界面上的小球有相对移动的现象。这一推断也在实验过程中得以证实。因此需要使小球处于平滑的空气—水界面上。下面介绍光镊二维操控空气—水界面粒子的实验过程。

### 5.3.1 实验方法

光镊是可以对生物细胞等微小物体进行三维操控, 粒子被光镊捕获于激光的焦点附近。把激光聚焦在空气—水界面上, 激光与界面上的小球进行相互作用, 可以实现对界面处微粒的二维操控。其实验构思图如图 5.11 所示。

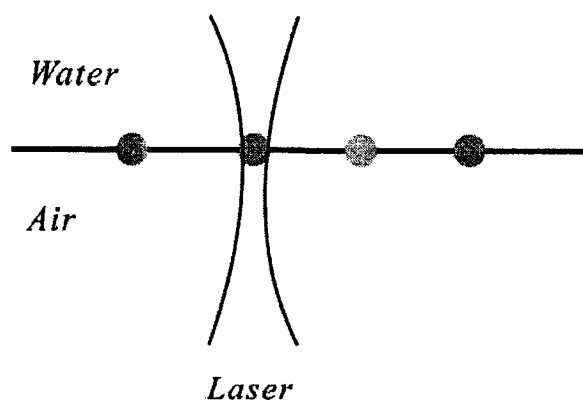


图 5.12 一束激光经过透镜会聚到空气—水界面处, 用于二维操控界面处的粒子。

### 5.3.2 实验设备与样品

实验采用的设备为第二章中介绍的纳米光镊系统，使用光路为 He-Ne 光镊，其中物镜使用的 60X 物镜，数值孔径为 0.7。实验采用的样品是聚苯乙烯小球 (Ps, Duke Scientific Corporation, USA)，直径为  $5\mu\text{m}$ 。

### 5.3.3 样品池设计原理

直径很小的细管（称毛细管）与液体接触时，液体会沿毛细管上升或下降。在浸润情况液体上升，管中液面呈凹面；不浸润情况液体下降，管中液面呈凸面。毛细现象是物质分子间作用的结果。利用毛细管现象可以实现平滑的空气—水界面，在该界面上操控粒子。

水是浸润液体，因此水在毛细管中呈凹面，如图 5.13 所示。当毛细玻璃管口径越小时，凹面越接近球面。假设溶液的密度为  $\rho$ ，溶液的表面张力系数为  $\sigma$ ，长为  $h$ ，毛细管半径为  $r$ ，空气密度为  $\rho_0$ ，接触角为  $\theta$ ，另记  $\Delta\rho=\rho-\rho_0$ ， $R$  为球面曲率半径。

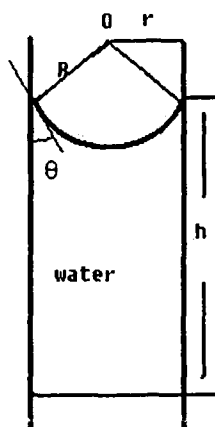


图 5.13 毛细玻璃管及管中水溶液示意图。

球形液面下附加压强公式为：

$$\Delta P = \Delta\rho gh = 2\sigma/R, \quad (5.15)$$

由图 5.13 易得： $R=r/\cos\theta$ ，故

$$\cos\theta = r/R = \Delta\rho ghr/2\sigma. \quad (5.16)$$

由表面张力公式  $F=2\pi r\sigma\cos\theta$ ，平衡时有  $F=G$ ，即

$$2\pi r\Delta\rho gh = \rho Vg. \quad (5.17)$$

近似结果：

$$V = 2\pi r\Delta\rho h/\rho \quad (5.18)$$

由公式(5.18)可知：只要确定一根高  $h$ ，半径  $r$  的玻璃细管，然后加入上述计算中

体积为  $V$  的样品溶液，即可得到平滑的空气—水界面。

### 5.3.4 样品池制作

虽然可以算出所加溶液的量，但是实际操作起来并不方便，因为样品池太小，所加的样品量为 ml 量级，利用移液器将 ml 量级的溶液加入毛细管后可能导致界面出现凹凸而影响捕获。

由毛细管现象引起的启发，论文提出了一种操作简单，精度又高的方法。如图 5.14 所示，当一根很细的毛细玻璃管插入水中时，由于毛细现象，毛细管中的水会上升直到水的表面张力和重力平衡为止。这时由于上表面（凹球面）的表面张力形成的向上合力的作用而使管中的水上升。如果这时把管从水中抽出，管中的水会留在其中，下表面的水面为平滑面。

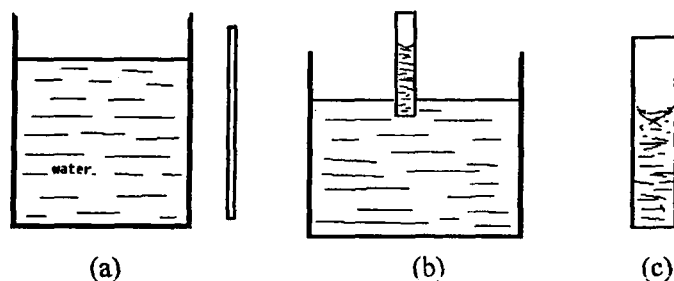


图 5.14 毛细玻璃管制作油水—界面过程示意图。

用一根很细的柱形吸管（内径 2mm）先用水浸润。用烧杯取一杯水水平放置，将吸管竖直插入一定水中，很快就看到管中水上升了，这时将管从水中抽出，通过 He-Ne 光在空气—水界面上的反射光斑观察判断，发现吸管底面的水面确是很平的，实验获得了成功。

### 5.3.5 实验步骤

1. 取一根内径 2mm 的柱形玻璃管，长度约 2cm。
2. 先用蒸馏水将管的内壁浸润，再对毛细管进行超声清洗。
3. 将样品池插入 Ps 球悬浮液中，待毛细现象稳定后向上取出玻璃管。
4. 静置玻璃管一段时间，让管中 Ps 球自然重力沉降至界面处。
5. 通过移动压电平台，将激光焦点与 Ps 小球重合。然后移动载物台，观察周围小球是否相对其发生移动。若是，则说明光镊已经可以横向捕获小球了，若相对移动不明显或者没有相对移动，说明光镊没有在横向方向束缚住小球。



### 5.3.6 实验结果

调节物镜使得激光聚焦点在空气—水界面处上方处,若小球未被激光推离物镜的焦平面,说明粒子已经处于空气—水界面上(因为Ps球重力很小,几乎可以忽略,若粒子未处于界面,则立刻被散射力纵向推离显微镜的视场;若小球在空气—水界面上,则会被表面张力束缚住而不会被激光推走)。实验结果如图5.15所示,先将激光聚焦点与球A重合,通过激光操控球A。

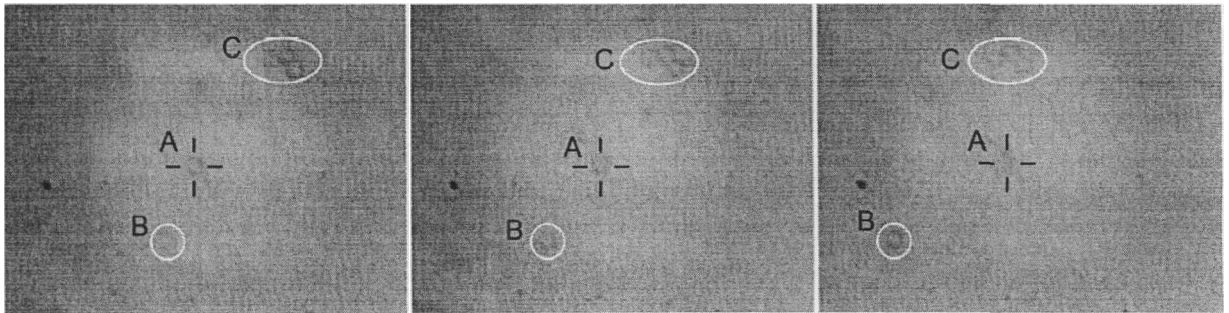


图 5.15 光镊横向捕获界面微粒的实验过程。

在图5.15中,载物台向左慢慢移动。开始时球B在球A附近,随后发现球A不动,球B向左发生了移动,最后球B移动到离A球较远处。在整个过程球A保持不动。从图5.15左上角的小球团C的运动过程也可以看出球A已经被光阱束缚住。

当操控实验进行了相当一段时间后,发现实验现象逐渐变得不明显,即光镊再不能横向操控小球。取下样品池可以清楚的看到界面的下表面凹进去了,这是因为激光的长时间照射而使管中的水蒸发从而破坏了界面的平衡,这正好验证了之前的猜想:界面的凹凸程度是影响实验的关键因素。

### 5.4 本章小结

本章采用空间解析几何的光线追迹方法,计算了光镊对油—水界面上的圆形微粒的横向捕获力。结果表明:光阱横向捕获力随着油相折射率的变大而变小。随着三相接触角的减小,光阱横向捕获力增大。计算结果还表明可以使用数值孔径较小的物镜对油水界面上的小球进行操控,因为在一段范围内横向光阱力随数值孔径的减小而增大,也可以适当减小捕获光的直径以增加横向光阱力。

计算结果表明,圆形微粒处于空气—水界面上时,光阱的横向捕获力比粒子完全处于空气中小,比小球完全处于水中的光阱力大;光阱的横向捕获力也随着物镜的NA值减小而增大。借助毛细管效应,制备出平滑的空气—水界面,利用纳米光镊系统二维操控界面上的微球,通过实验指出界面的水平程度是实现粒子横向捕获的关键。实验方法操作简便,实用性强,解决了操控空气—水界面粒子方法学问题,为光镊研究空气—水界面之间带电微粒间相互作用铺平了道路。该方法也适用于操控其他界面体系(如油—水界面)上的微粒。

## 参考文献

1. R. Aveyard, B. P. Binks, J. H. Clint, P. D. I. Fletcher, T. S. Horozov, B. Neumann, V. N. Paunov, J. Annesley, S. W. Botchway, D. Nees, A. W. Parker, A. D. Ward, and A. N. Burgess, "Measurement of long-range repulsive forces between charged particles at an oil-water interface," *Phys Rev Lett* **88**, 246102 (2002).
2. P. T. Korda, G. C. Spalding, and D. G. Grier, "Evolution of a colloidal critical state in an optical pinning potential landscape," *Phys. Rev. B* **66**, 024504 (2002).
3. W. Jian, and L. L. Dai, "One-particle microrheology at liquid-liquid interfaces," *Appl. Phys. Lett.* **89**, 094107 (2006).
4. C. Y. Wu, Y. M. Song, and L. L. Dai, "Two-particle microrheology at oil-water interfaces," *Appl. Phys. Lett.* **95**, 3 (2009).
5. M. G. Nikolaides, A. R. Bausch, M. F. Hsu, A. D. Dinsmore, M. P. Brenner, D. A. Weitz, and C. Gay, "Electric-field-induced capillary attraction between like-charged particles at liquid interfaces," *Nature* **420**, 299-301 (2002).
6. E. J. Stancik, M. J. O. Widenbrant, A. T. Laschitsch, J. Vermant, and G. G. Fuller, "Structure and dynamics of particle monolayers at a liquid-liquid interface subjected to extensional flow," *Langmuir* **18**, 4372-4375 (2002).
7. R. Aveyard, B. P. Binks, J. H. Clint, P. D. I. Fletcher, B. Neumann, and V. N. Paunov, "Drag forces on a stationary particle in flowing two-dimensional ordered particle monolayers: Simulation and measurement using optical tweezers," *Langmuir* **18**, 9587-9593 (2002).
8. T. S. Horozov, R. Aveyard, B. P. Binks, and J. H. Clint, "Structure and stability of silica particle monolayers at horizontal and vertical octane-water interfaces," *Langmuir* **21**, 7405-7412 (2005).
9. B. J. Park, J. P. Pantina, E. M. Furst, M. Oettel, S. Reynaert, and J. Vermant, "Direct measurements of the effects of salt and surfactant on interaction forces between colloidal particles at water-oil interfaces," *Langmuir* **24**, 1686-1694 (2008).
10. Y. Han, and D. G. Grier, "Confinement-Induced Colloidal Attractions in Equilibrium," *Phys Rev Lett* **91**, 038302 (2003).
11. T. E. Angelini, H. Liang, W. Wriggers, and G. C. L. Wong, "Like-charge attraction between polyelectrolytes induced by counterion charge density waves," *P Natl Acad Sci USA* **100**, 8634-8637

(2003).

12. W. M. Gelbart, R. F. Bruinsma, P. A. Pincus, and V. A. Parsegian, "DNA-inspired electrostatics," *Phys Today* **53**, 38-44 (2000).
13. A. Ashkin, "Forces of a Single-Beam Gradient Laser Trap on a Dielectric Sphere in the Ray Optics Regime," *Biophys J* **61**, 569-582 (1992).
14. B. P. Binks, "Particles as surfactants - similarities and differences," *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **7**, 21-41 (2002).
15. 颜肖慈, and 罗明道, *界面化学* (化学工业出版社 北京, 2005).
16. J. H. Zhou, H. L. Ren, J. Cai, and Y. M. Li, "Ray-tracing methodology: application of spatial analytic geometry in the ray-optic model of optical tweezers," *Appl. Opt.* **47**, 6307-6314 (2008).
17. N. Malagnino, G. Pesce, A. Sasso, and E. Arimondo, "Measurements of trapping efficiency and stiffness in optical tweezers," *Opt. Commun.* **214**, 15-24 (2002).
18. B. H. Meng, J. H. Zhou, M. C. Zhong, Y. M. Li, J. G. Wu, and H. L. Ren, "Improvement of transverse trapping efficiency of optical tweezers," *Chinese Physics Letters* **25**, 2300-2302 (2008).
19. A. Samadi, and S. N. S.Reihani, "Optimal beam diameter for optical tweezers," *optics Letters*, to be published (2010).
20. W. Chen, S. S. Tan, Z. S. Huang, T. K. Ng, W. T. Ford, and P. Tong, "Measured long-ranged attractive interaction between charged polystyrene latex spheres at a water-air interface," *Phys Rev E* **74**, 021406 (2006).

## 第6章 光镊操控粘结于细胞表面的微粒

当微球靠近细胞表面时,微球的扩散运动会受到影响。而当微球与细胞接触后,两者可能会粘结在一起。细胞与小球粘结的原因可能有很多种,可以分为特异性结合和非特异性结合。目前利用光镊研究生物大分子实验过程中主要是测量特异性结合[1],但是由于细胞表面性质的复杂性,在实验中不可避免的存在非特异性相互作用的干扰[2]。在光镊研究蛋白分子间相互作用的实验中,经常会因为捕获抗体、封闭剂和细胞表面带电等原因而存在少量非特异性作用的干扰。

本章对聚苯乙烯小球和 Hela 细胞之间的非特异性结合力进行了测量,研究其相互作用的强度,并分析该结合力的来源。

### 6.1 细胞粘附分子与受体分子的结合力

细胞粘附指细胞间的粘附,是细胞间信息交流的一种形式。而信息交流的可溶递质称细胞粘附分子(cell adhesion molecule, CAM)。CAM 是一类独立的分子结构,是通过识别与其粘附的特异性受体而发生相互间的粘附现象。

细胞粘附分子都是跨膜糖蛋白,可大致分为五类:钙粘素、选择素、免疫球蛋白超家族、整合素及透明质酸粘素。分子结构由三部分组成:①胞外区,肽链的 N 端部分,带有糖链,负责与配体的识别;②跨膜区,多为一次跨膜;③胞质区,肽链的 C 端部分,一般较小,或与质膜下的骨架成分直接相连,或与胞内的化学信号分子相连,以活化信号转导途径。

多数细胞粘附分子的作用依赖于二价阳离子,如  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ 。细胞粘附分子的作用机制有三种模式:两相邻细胞表面的同种 CAM 分子间的相互识别与结合(亲同性粘附);两相邻细胞表面的不同种 CAM 分子间的相互识别与结合(亲异性粘附);两相邻细胞表面的相同 CAM 分子借细胞外的连接分子相互识别与结合。

细胞黏附分子相互作用为细胞间提供物理连接并维持作用力存在。在单分子水平对粘附分子—配体分子之间的相互作用进行定量测量对于认识其结构—功能关系及生物物理特性是非常重要的。但是采用传统的热力学及统计方法是难以完成单分子水平分子间相互作用强度的研究,随着科学技术的发展,出现了各种

适合于研究大分子之间相互作用工具, 包括: 微吸管(Micropipette)[3]、原子力显微镜(AFM)[4]、生物膜力探针(Biomembrane Force Probe, BFP)[5]、磁镊(magnetic tweezers)[6]和光镊[7-8]等。光镊技术的测力范围是 0.1~100pN, 而原子力显微镜技术可以测量从 10~1000pN 范围的作用力[9]。不同生物大分子间的作用强度的大小从 10pN 到几百 pN 不等[1], 因此光镊和原子力显微镜两者结合基本覆盖生物大分子间的作用强度的大小。

选择素-配体相互作用是一种随机性的动力学过程, 实验中无法判断单次粘附事件究竟是选择素-配体特异性作用还是由于非特异性作用引起。一般人们认为非特异性作用导致的粘附频率比特异性引起的粘附频率要小很多, 因此在实验中测量得到的断裂力被认为是特异性作用引起, 非特异性作用的断裂力和寿命并被得到充分的关注。对非特异性作用引起的粘附断裂力进行测量和研究, 将有助于研究特异性相互作用。

## 6.2 样品和试剂

### 6.2.1 细胞株

实验中使用的是人子宫颈癌细胞系(Hela 细胞), 生命学院温龙平教授组提供。细胞传代后, 在生命学院培养 12 小时, 细胞贴壁生长后带回激光生物实验室放入 CO<sub>2</sub> 培养箱进行培养、传代。

### 6.2.2 试剂

DMEM 细胞培养基、细胞培养级别 PBS、胎牛血清、双抗, 都购自 Hyclone 公司, 用于细胞培养。使用时胎牛血清: DMEM=1: 10。双抗用于细胞培养, 防止长细菌。胰酶用于细胞传代培养。

人血纤连蛋白 fibronectin (FN), 用于细胞与盖玻片粘结, 购自 Roche。

### 6.2.3 细胞培养与处理

Hela 细胞从生物实验室拿回之后, 放入 CO<sub>2</sub> 培养箱正常培养。当培养基颜色偏黄时, 需要更换培养液以维持其健康生长。先用吸管将旧的培养基抽调, 用 PBS 清洗后加入新的培养基。

当培养皿中的细胞长得比较密集时, 需要进行传代培养。其操作顺序是 1. 移除旧培养液。2. 放入胰酶, 放入培养箱中 1~2 分钟, 使得胰酶发生作用, 使得细

胞成片从培养皿底部脱落。3.加入培养液中中止胰酶作用。4.用吸管吸取培养皿中的溶液反复冲洗培养皿，将细胞全部从培养皿上脱落。5.对细胞悬浮液进行分离。离心机的转速800，时间约3分钟。6.移除上层清液。7.在离心管中加入培养液，用移液器加吸管吹匀称，将其吸出，在加好培养液的培养皿里滴入细胞悬浮液。然后放回培养箱培养。

光镊一般都使用高倍物镜进行捕获，该物镜的工作距离都很短，所以实验中一般使用在厚度为0.17mm的盖玻片。将 $5\mu\text{g/ml}$ 的FN均匀的涂在盖玻片后，放入细胞培养皿中进行培养12小时，Hela细胞会在盖玻片上贴壁生长，这样的细胞可以使用油浸物镜进行观察。将生长了细胞的盖玻片制作成样品池，其中的介质为细胞培养基，可以维持实验过程中细胞的存活。

### 6.3 实验装置及实验方法

#### 6.3.1 实验设备

实验所用的光镊是第二章中介绍的纳米光镊系统，实验中使用了He-Ne光镊系统，采用CCD和QD两个探测器对小球的位移进行测量。实验采用的是聚苯乙烯小球(PS, product of Duke Scientific Corporation, USA)，直径为 $1\mu\text{m}$  ( $0.997\pm 0.021\mu\text{m}$ )。

细胞培养箱为Thermo Fisher Scientific THM-3111型 $\text{CO}_2$ 培养箱。

#### 6.3.2 实验方案

本实验利用光镊测量Hela细胞表面与聚苯乙烯小球之间的相互作用。聚苯乙烯被光阱俘获，细胞粘附固定在玻片表面，移动压电平台使得细胞与微球接触并结合，然后反方向移动压电平台使二者分开，直到二者分开，在此过程中光阱中的小球将离开激光捕获中心，利用其离开光阱中心的距离可以得到细胞和微球之间的作用力，微球和细胞分开瞬间，可以测量出细胞和微球之间的断裂力(rupture force)。

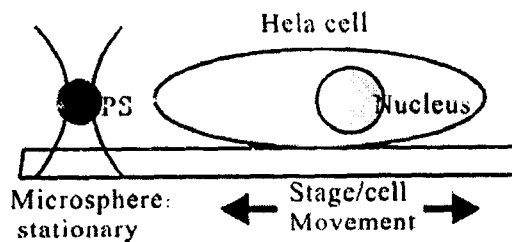


图6.1 小球与细胞结合力测量示意图

实验示意图如图 6.1 所示。通过分析 CCD 采集的实验录像,可以得到小球偏离光阱中心的位移  $\Delta x$ , 将位移量代入公式  $F=-k \cdot \Delta x$  即可求得微球与细胞结合力。分析 QD 输出的小球位移, 分析细胞与小球断裂过程的精细结构。

### 6.3.3 光阱刚度测量

光阱刚度系数的标定是应用光阱技术准确测力的前提。因为功率谱法[10-11]主要是基于对微粒的热运动进行分析, 不需要知道小球的绝对位移, 而且标定速度很快, 所以是一种常用的光阱刚度标定方法。在本实验中采用功率谱法测量光阱刚度。

半径等于  $r$  的粒子被光阱捕获以后在光阱中做受限布朗运动, 小球的运动方程可以写成:

$$m\ddot{x} + \gamma\dot{x} + k_x x - F_{rand}(t) = 0, \quad (6.1)$$

其中  $\gamma=6\pi\eta r$ 。在低 Reynolds 数的情况下, 惯性力相对于粘滞力可以忽略。对(6.1)简化后作傅立叶变换, 得到:

$$(k_x - i2\pi f\gamma)X(f) = F_{rand}(f), \quad (6.2)$$

则双向的功率谱为:

$$|X(f)|^2 = \frac{|F_{rand}(f)|^2}{4\pi^2\gamma^2(f_c^2 + f^2)}, \quad (6.3)$$

其中

$$f_c = k_x/2\pi\gamma. \quad (6.4)$$

$F_{rand}(t)$  的自相关函数是:

$$G(t) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_{-T/2}^{T/2} F(\tau)F(\tau+t) d\tau, \quad (6.5)$$

由于随机力对微粒的作用是瞬时和完全独立的, 因此  $G(t) = G_0\delta(t)$ 。根据 Wiener-Khinchin 定理,  $|F_{rand}(f)|^2 = G_0$  是常数, 所以功率谱函数可以简化为:

$$|X(f)|^2 = \frac{A}{f_c^2 + f^2}, \quad (6.6)$$

其中  $A = \frac{|F_{rand}(f)|^2}{4\pi^2\gamma^2}$  为常数。



功率谱法测光阱刚度的流程如图 6.2 所示。只要对被光镊捕获的微粒的位移进行大量的测量，得到微粒位移随时间变化的关系，并对微粒的位移进行傅立叶变换计算功率谱，然后与理论功率谱函数进行拟合，就可以得到  $f_c$ ，并进而得到光阱刚度  $k$ 。

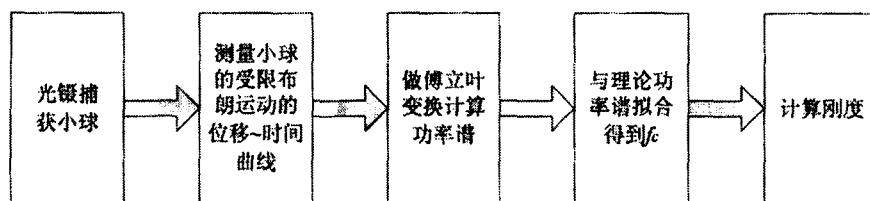


图 6.2 功率谱测量光镊刚度流程图

在实验中，QD 采集的小球的位移信号如图 6.3 (a)所示，不需要将电压信号变换成位移信号，直接对电压信号做傅里叶变换，然后对其功率谱曲线进行洛伦兹拟合，如图 6.3 (b)，图中的  $f_c=254.8\text{Hz}$ 。

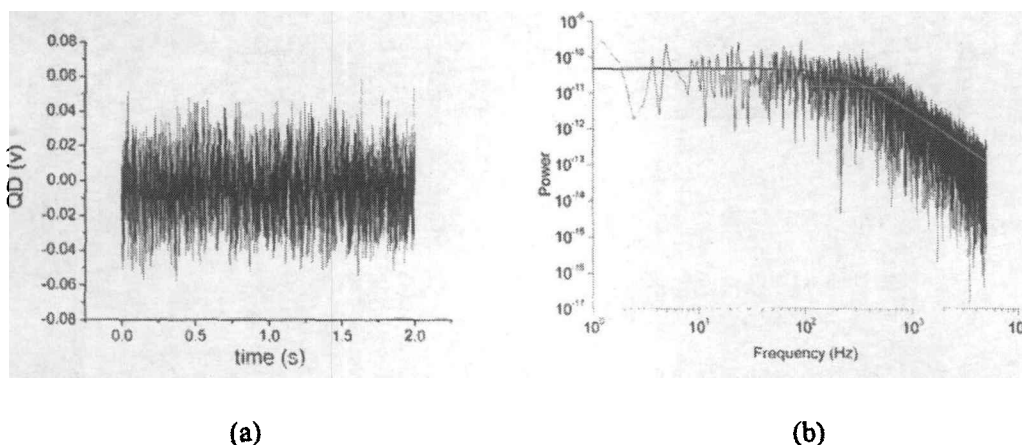


图 6.3: 功率谱法测量光阱刚度。(a): 小球位移信号 (b): 对其功率谱进行洛伦兹拟合。

刚度测量中 QD 的测量频率为  $10\text{kHz}$ ，重复测量了 10 组数据，测得光阱刚度值为  $k=13.5\pm 0.8\text{pN}/\mu\text{m}$ 。

根据光阱刚度的大小和小球直径，可以推断所用光镊能够施加的最大力约为  $F_{max}\approx k\times r=13.5\times 0.5=6.3\text{pN}$ 。

## 6.4 实验结果与分析

### 6.4.1 结合力的大小

聚苯乙烯被光阱俘获，细胞粘附固定在玻片表面，移动压电平台使得细胞与微球接触并结合，然后反方向移动压电平台使二者分开，直到二者分开，在此过程中光阱中的小球将离开激光捕获中心，利用其离开光阱中心的距离可以得到细胞和微球之间的作用力。如图 6.4(a)所示，细胞靠近小球之后，小球与细胞连接在一起。通过压电平台移动细胞，直至两者分离，如图 6.4(b)所示。

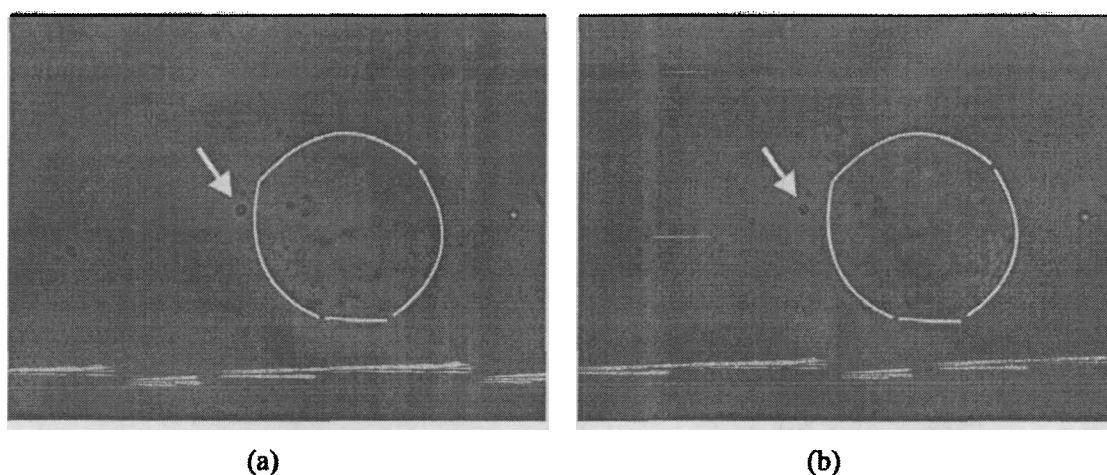


图 6.4: 小球与细胞结合力测量实验图。(a): 小球与细胞结合 (b): 小球与细胞被分离。图中箭头所指的是被光阱捕获直径为  $1\mu\text{m}$  的聚苯乙烯微球。

小球的运动轨迹如图 6.5 所示。在压电平台的移动过程中，光阱中心被认为是初始原点，小球的位置随着压电平台的移动而朝相同方向移动，直至光阱力将小球与细胞的黏结破坏，小球重新被拉回光阱中心。实验中都能够拉断两者之间的结合力，重复次数大于 5 次。图 6.5 中第 7.5s 附近小球出现来回走的数据是因为实验中怀疑小球并未黏结上，平台来回移动了一段时间。

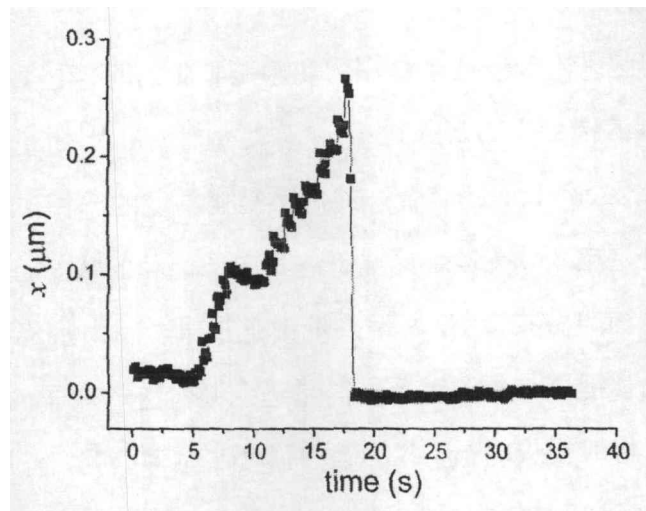


图 6.5: 小球被拉离光阱中心直至被拉断的过程。

根据图 6.5 可以得出,  $\Delta x = 2.26 \mu\text{m}$ , 带入公式  $F = -k \cdot \Delta x$ , 即可求得断裂力  $F = 3.6 \text{pN}$ 。从图 6.5 可以看出, 由于 CCD 的拍摄速度有限, 在断裂的瞬间无法清楚的观察其断裂过程, 在压电平台运动拉断两者结合的过程中, 还使用了 QD 对小球的位置进行监测, 两者断裂的过程如图 6.6 所示, 小球与细胞相连时, 小球的布朗运动幅度很小, 而断裂后小球的布朗运动幅度相比就大很多。根据图 6.6 中的内嵌图, 可以算得, 本次测量中小球与细胞断裂的时间是 1ms。

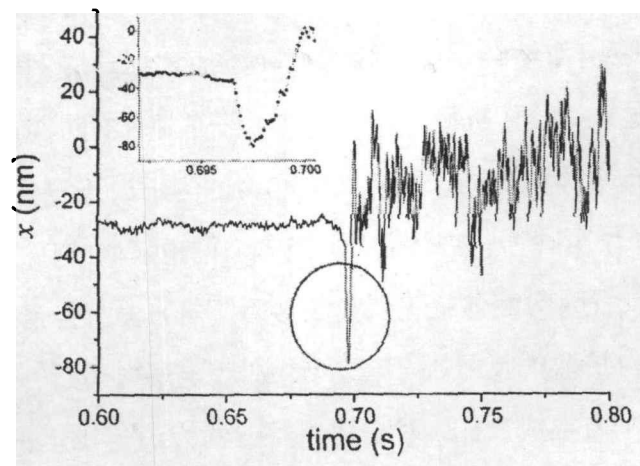


图 6.6: 粘附小球与细胞被分离过程中 QD 采集的小球位移。

### 6.4.2 结合力的起源分析

下面先介绍细胞黏附分子相互作用力实验测量中有可能出现的各种力,然后分析实验测量得到的结合力的来源。

(1)共价键 (covalent bonds)结合: 共价键是化学键的一种,两个或多个原子共同使用它们的外层电子,在理想情况下达到电子饱和的状态,由此组成比较稳定和坚固的化学结构叫做共价键。所谓共价键是指原子间由于成键电子的原子轨道重叠而形成的化学键。与离子键不同的是进入共价键的原子向外不显示电性,因为它们并没有获得或损失电子。共价键的强度比氢键要强,与离子键差不太多或甚至比离子键强。在单分子相互作用力测量实验中需要将蛋白修饰在带电的小球上,应用的就是共价键结合。共价键结合力为 nN 量级[12],而实验中测得的力远远小于这个量级,所以该结合不是共价键结合。

#### (2)抗体抗原结合

抗原和抗体的结合是互补性的特异性结合,但并不形成牢固的共价键,只是通过非共价键结合。抗原与抗体结合力的来源主要是氢键结合力和疏水作用力两种。氢键结合力是供氢体上的氢原子与受氢体原子间的引力。在抗原抗体反应中,羧基、氨基和羟基是主要供氢体,而羧基氧、羧基碳和肽键氧等原子是主要受氢体。两个疏水基团在水溶液中相互接触时,由于对水分子排斥而趋向聚集的力。当抗原抗体反应时,抗原决定簇与抗体上的结合点靠近,互相间正、负极性消失,由静电引力形成的亲水层立即失去,排斥了两者之间的水分子,从而促进抗原与抗体的相互吸引而结合。疏水作用力在抗原抗体反应中的结合是很重要的,提供的作用力最大。抗体抗原的结合力大小一般是 10pN~300pN[1],而且实验中也并没有特意修饰抗体和抗原,所以实验测得的力不属于抗体抗原结合力。

(3)静电引力: 多数出固体和液体物质,当它们同电解液(例如水溶液)接触时,由于表面分子电离或者吸附液体中正负离子数目不等,表面会带某种电荷。此带电表面会吸引液体内扩散的反号离子云,形成“双电层”。双电层的厚度(Debye 长度)与电解质浓度平方根成反比,对于弱电解液约为  $10^{-2}\sim 10^{-6}\mu\text{m}$  数量级。在离表面大于 Debye 长度的距离处,表面电荷的影响很微弱。

(4) 范德华力: 该又称分子短程作用力,当粒子相距很近时,由于分子的极化作用而出现的引力。在胶体化学中对于粒子聚集有重要影响。

(5)在溶液中有其它的粒子或者大分子存在的情况下,如果粒子或者大分子不吸附于胶体粒子表面,而引起的效应称为空缺相互作用。如果粒子或大分子吸附于粒子表面,引起的效应则称为空间相互作用。

Ps 小球加入培养基后,小球表面吸附一定量的培养基,将导致空间相互作用的出现。同时在弱酸性的培养环境中小球和细胞会吸附相反的电荷,因此也会存在静电引力。根据以上的分析,认为实验中测量得出的结合力是空间相互作用和静电力共同作用的结果。

## 6.5 本章小节

用光镊测量了直径为  $1\mu\text{m}$  的聚苯乙烯小球与 HeLa 细胞的结合力,测得其断裂力约为  $3.6\text{pN}$ 。实验中还采用 QD 探测系统对其断裂过程进行监测,观察其断裂过程的精确过程。通过分析,认为该结合力是空间相互作用和静电力共同作用的结果。通过该测量结合力,为实验室研究大分子之间的特异性结合力的提供一种实验方法。

## 参考文献

1. J. W. Weisel, H. Shuman, and R. I. Litvinov, "Protein-protein unbinding induced by force: single-molecule studies," *Curr Opin Struc Biol* **13**, 227-235 (2003).
2. D. E. Leckband, F. J. Schmitt, J. N. Israelachvili, and W. Kröll, "Direct Force Measurements of Specific and Nonspecific Protein Interactions," *Biochemistry-U S* **33**, 4611-4624 (1994).
3. M. Long, H. Zhao, K. S. Huang, and C. Zhu, "Kinetic measurements of cell surface E-selectin/carbohydrate ligand interactions," *Ann Biomed Eng* **29**, 935-946 (2001).
4. K. K. Sarangapani, T. Yago, A. G. Klopocki, M. B. Lawrence, C. B. Fieger, S. D. Rosen, R. P. McEver, and C. Zhu, "Low force decelerates L-selectin dissociation from P-selectin glycoprotein ligand-1 and endoglycan," *J Biol Chem* **279**, 2291-2298 (2004).
5. E. Evans, A. Leung, D. Hammer, and S. Simon, "Chemically distinct transition states govern rapid dissociation of single L-selectin bonds under force," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98**, 3784-3789 (2001).
6. N. Ribeck, and O. A. Saleh, "Multiplexed single-molecule measurements with magnetic

- tweezers," *Rev. Sci. Instrum.* **79**, 094301 (2008).
7. G. Knöner, B. E. Rolfe, J. H. Campbell, S. J. Parkin, N. R. Heckenberg, and H. Rubinsztein-Dunlop, "Mechanics of cellular adhesion to artificial artery templates," *Biophys. J.* **91**, 3085–3096 (2006).
  8. A. L. Stout, "Detection and characterization of individual intermolecular bonds using optical tweezers," *Biophys. J.* **80**, 2976-2986 (2001).
  9. K. C. Neuman, and A. Nagy, "Single-molecule force spectroscopy: optical tweezers, magnetic tweezers and atomic force microscopy," *Nature Methods* **5**, 491-505 (2008).
  10. M. Capitanio, G. Romano, R. Ballerini, M. Giuntini, F. S. Pavone, D. Dunlap, and L. Finzi, "Calibration of optical tweezers with differential interference contrast signals," *Rev. Sci. Instrum.* **73**, 1687-1696 (2002).
  11. 龚鋈, 陈洪涛, 李银妹, 楼立人, and 邱俊, "四种光阱刚度测量法的实验研究与比较," *中国科学技术大学学报* **35**, 601-607 (2005).
  12. M. Grandbois, M. Beyer, M. Rief, H. Clausen-Schaumann, and H. E. Gaub, "How strong is a covalent bond?," *Science* **283**, 1727 - 1730 (1999).

## 第7章 背散光分辨光阱捕获的粒子个数

微粒的布朗运动是其基本性质之一,对微粒布朗运动行为的研究一直引人关注。研究粒子的布朗运动,可以确定某些物理基本量,或研究粒子与周围物质的性质[1-4]。利用光阱中微粒的布朗运动,可以研究光阱的本身性质[5-6]、膜表面性质[7-8]、高分子材料的流变学性质[9-10]等。光阱中布朗粒子的散射光能够用于测量光阱刚度[11]、研究周围高分子材料的流变学性质[12]等,在本章的工作中利用其背散光分辨光阱中的粒子个数的实验方法。

光镊的特点是有选择的捕获目标粒子,但实际上光镊有可能捕获一个或多个粒子的,在实际情况中也有不同的应用。例如在功率谱法测光阱刚度的研究[13]中,光镊捕获单个粒子,获得小球位移的功率谱,通过拟合得到光阱的刚度。在微观测量分散体系稳定性实验[14]中,需要光阱能够捕获两个粒子,测量两个粒子的结合率,以了解分散体系的稳定性。在实验研究之前必须知道光阱中的粒子个数,确保是我们实验设计所需要的情况,这样才能保证实验的准确性。因此明确光阱中的粒子个数,是光镊在微观层次开展实验研究的前提。

在本章中,利用光阱的背散光强度分辨光阱中的粒子个数[15],并利用背散光随粒子布朗运动变化研究光阱本身的物理性质。本章的安排如下:第一节首先介绍目前分辨光阱中粒子个数的方法,第二节介绍光阱中粒子的背散光理论。第三节从实验上分辨光阱中的粒子个数。第四节根据粒子背散光的强度变化对光阱参数、粒子的排布状态等进行讨论。第五节小结。

### 7.1 分辨光阱中粒子数的现有方法

随着光镊技术应用的推广,光镊现在也广泛应用于捕获纳米颗粒[16],如应用于胶体团簇的形成过程[17]、纳米器件组装[18]和纳米自组装[19]。由于显微镜的分辨率极限,一般直径小于 200nm 的微粒在光学显微镜中无法观察,因此当光阱捕获多个纳米粒子时,只使用光学显微镜无法分辨光阱中的粒子个数。目前已有通过实时测量光阱中纳米粒子的 Raman 光谱[20],双光子激发的荧光谱强度的变化[21]等方法,能够分辨光阱中的纳米粒子个数。

近年来,光镊技术被应用于捕获量子点[22]。量子点三个维度的尺寸一般都

在 100 nm 以下, 因此多个量子点被光阱捕获时无法通过 CCD 成像进行分辨。通过量子点发光的强度变化可以判断光阱中量子点的个数[22], 如图 7.1 所示。

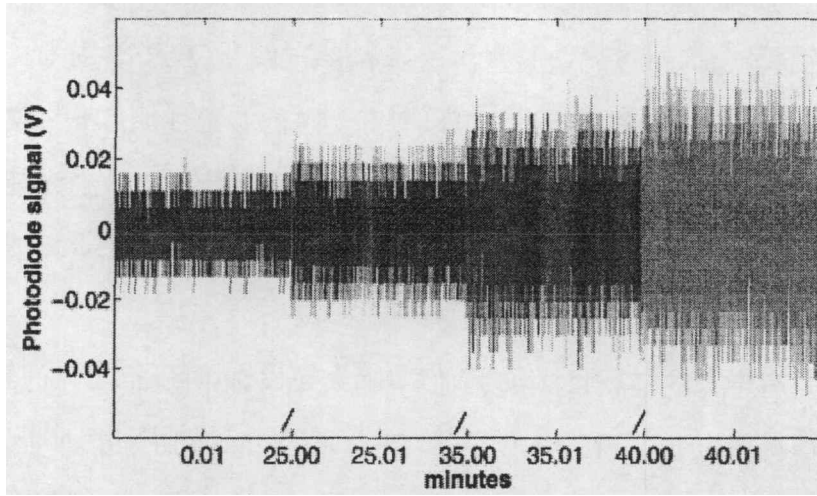


图7.1 光阱中捕获不同个数量子点时, 其光电探测器的信号变化[22]。不同的强度分别代表着1个、2个、3个和4个或以上的量子点发光强度。

## 7.2 背散光强度分辨原理

一束波长为  $\lambda$ , 光强为  $I_0$  的光照射在半径为  $a$  的小球时, 如图 7.2 所示, 小球中心处于坐标原点  $O$ , 在  $P$  点探测到小球的散射光强[23]为

$$I = \frac{c}{4\pi} KK^* FF^* \quad (7.1)$$

其中  $c$  为光速,  $F$  为光散射结构因子,  $K$  为常数 (与散射体的性质无关)。  $F$  的表达式为

$$F = V(\alpha_0 - \alpha_s)\Phi(U) \quad (7.2)$$

其中  $V$  是圆球的体积, 圆球的散射函数  $\Phi(U)$  为

$$\Phi(U) = \frac{3}{U^3}(\sin U - U \cos U) \quad (7.3)$$

$$U = 4\pi \frac{a}{\lambda} \sin \frac{\theta}{2} \quad (7.4)$$



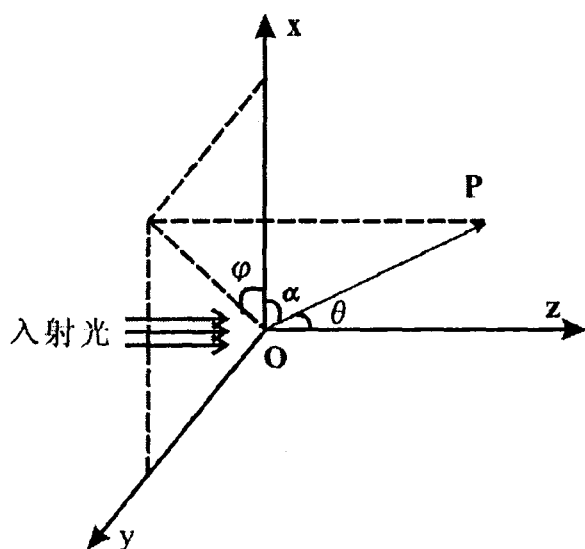


图 7.2 微粒的散射模型图。

两个粒子体系中，总的散射光强是两粒子各自的散射加上一个附加项，后者依赖于两粒子间的相对位置，即

$$I = I_1 + I_2 + \frac{c}{2\pi} KK^* F_1 F_2^* \cos k(\mathbf{R}_2 \cdot \mathbf{s}) \quad (7.5)$$

$\mathbf{s}$  为能流方向， $\mathbf{R}_2$  是两个粒子球心连线矢量。公式(7.5)可以推广到多粒子情况，总光强  $I$  为

$$I = \sum_{i=1}^N I_i + \frac{c}{2\pi} KK^* \sum \sum_{i \neq j} F_i F_j^* \cos k(\mathbf{R}_{ij} \cdot \mathbf{s}) \quad (7.6)$$

当光阱中只有一个粒子时，粒子对激光的散射是瑞利散射或米氏散射，粒子的背散光信号都不为零。根据公式(7.5)和(7.6)，当光阱中的粒子个数产生变化时，其背散光的强度必然会改变，因此通过探测背散光强度的变化，可以知道光阱中粒子的个数。

### 7.3 光阱中粒子个数区分实验

本方法的实验设备采用如第二章中所描述的纳米光镊系统中的 He-Ne 光镊系统。实验采用的样品是聚苯乙烯小球(PS, product of Duke Scientific Corporation, USA), 直径分别为  $1\mu\text{m}$  ( $0.997 \pm 0.021\mu\text{m}$ )、 $0.5\mu\text{m}$  ( $498 \pm 5\text{nm}$ )、 $0.2\mu\text{m}$  ( $200 \pm 6\text{nm}$ )、 $100\text{nm}$  ( $102 \pm 3\text{nm}$ )、 $73\text{nm}$  ( $73 \pm 2.6\text{nm}$ )。

### 7.3.1 实验流程

光阱中没有粒子时，首先用 QD 测量背景的反光强度。用光镊捕获一个 PS 小球，用 QD 探测并采集此时的背散光信号，然后使光镊再捕获第二个 PS 小球，此时光阱中同时存在两个小球，再次开启 QD 采集系统，探测并采集光阱中有两个粒子时的背散光信号。依次增加光阱捕获的粒子个数，然后相应地测量粒子的背散光。

### 7.3.2 微米粒子个数的分辨

当光阱中有 2 个直径为  $1\mu\text{m}$  的粒子时，实验得到功率谱图与光阱中只有 1 个粒子时的功率谱形状类似，如图 7.3 所示。两者的功率谱相似会对功率谱测量刚度造成误差，但是通过小球的成像可以区分它们的区别。

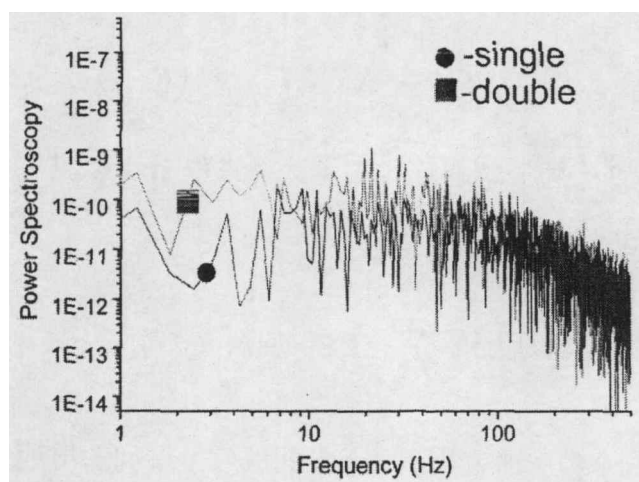


图 7.3 光阱中存在不同个数的粒子时，QD 探测器输出的位移信号的功率谱。

当被捕获粒子直径为微米量级时，由 CCD 拍摄的显微镜成像就可以直接辨别光阱中的粒子个数的状况。先用光镊捕获一个直径为  $1\mu\text{m}$  的 PS 小球，使用 CCD 拍摄其图像，QD 采集其背散光信号，然后使光镊再捕获第二个直径为  $1\mu\text{m}$  的 PS 小球，此时光阱中同时存在两个  $1\mu\text{m}$  小球，再次使用 CCD 拍摄其图像，QD 采集其背散光信号。

通过 CCD 成像的区别可以识别光阱中的 PS 小球个数，如图 7.4 所示。光阱先捕获 1 个  $1\mu\text{m}$  粒子，成像如图 7.4(a)所示，接着光阱再捕获第 2 个粒子时，由于 2 个粒子是沿垂直观察面排列，CCD 观察到的粒子离开了焦平面，其成像与

捕获 1 个粒子时不同, 如图 7.4(b)所示。根据两者成像的不同, 可以判断出光阱中粒子个数。

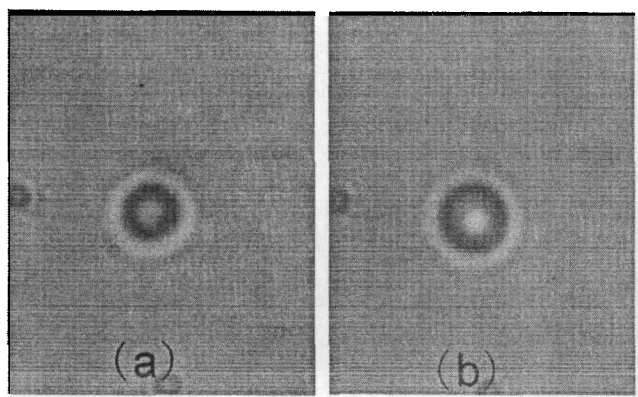


图 7.4 光阱中不同个数微米粒子的成像。(a) 1 个  $1\mu\text{m}$  PS 小球。(b) 2 个  $1\mu\text{m}$  PS 小球。

通过分析背散光信号, 也可以分辨出光阱中的 PS 微米小球个数, 如图 7.5 所示。按照实验流程, 分别对直径为  $1\mu\text{m}$ 、 $0.5\mu\text{m}$  和  $0.2\mu\text{m}$  的 PS 小球的背散光进行分析, 分辨了光阱中的粒子个数, 如图 7.5 所示。

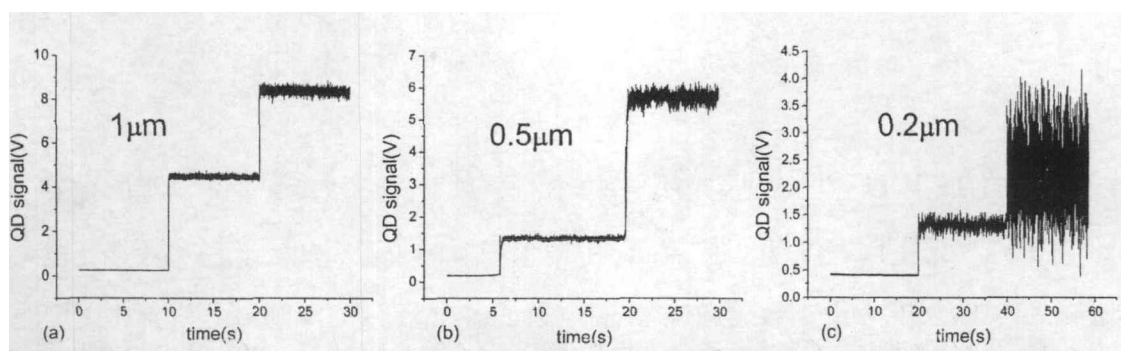


图7.5 光阱中不同粒径微米粒子的背散光强度随捕获粒子个数(1个和2个)的变化。(a) $1\mu\text{m}$ 、(b) $0.5\mu\text{m}$ 、(c) $0.2\mu\text{m}$ 。横坐标为信号采集时间, 纵坐标为背散光的强度。

如图 7.5(a)所示的实验结果, 其中第一个台阶为当光阱中没有粒子时的光强, QD 信号主要是玻片表面的反射光; 当光镊捕获一个粒子时, 背散光光强增大到第二个台阶; 光镊继续捕获第二个粒子以后, 背散光光强继续增大至第三个台阶。一个微米粒子的背散光强度与两个微米粒子的背散光强度不同, 两个粒子时的强度比一个粒子时的强度大。根据强度的不同与粒子个数的对应关系, 可以得出光阱中微米粒子的个数。

### 7.3.3 纳米粒子个数的分辨

当粒子的直径降到 200nm 以下，由于显微镜的光学分辨能力和放大率的限制，此时已无法通过显微镜清晰成像并借助 CCD 监测捕获的实时情况以分辨此时被捕获粒子的个数。对于纳米粒子，可以通过测量阱域的背景散光强度的变化来辨别光阱中的粒子个数。

本研究对直径分为 100nm 和 73nm 的 PS 小球的背散光进行了实验测量，当光阱中的粒子个数不同时，所记录的背散光强度如图 7.6 所示。

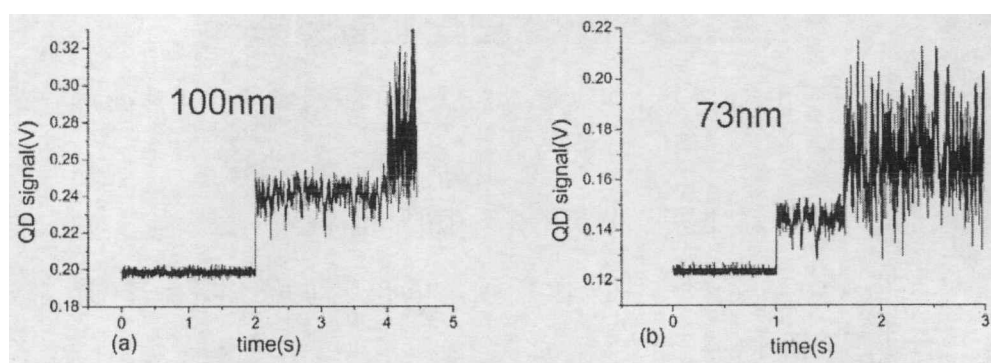


图7.6 光阱中不同粒径纳米粒子的背散光强度随捕获粒子个数(1个和2个)的变化。(a)100nm、(b) 73nm。横坐标为信号采集时间，纵坐标为背散光的强度。

根据图 7.6 可以看出，光阱中纳米粒子的个数不同时，其背散光的强度也不同。由于强度的不同，可以反推出光阱中纳米粒子的个数。此实验结果表明，当被捕获粒子的尺度小于光学显微镜分辨极限而无法借助 CCD 监测并辨别光阱中粒子个数时，可以通过测量阱域的背景散光强度变化来分辨光阱中的粒子个数。实验中我们成功的区分了直径为 100nm 和 73nm 的纳米粒子在光阱中的个数，如图 7.6 所示。

用测量阱域的背景散光强度来分辨光阱中的粒子个数的方法也可以分辨光阱中的多个粒子，以粒子直径为 73nm 为例，如图 7.7 所示。光阱中从没有粒子的背景强度的第一个台阶，依次捕获 1 个粒子、2 个粒子、3 个粒子和 4 个或以上的粒子，粒子的个数越多其背散光的强度越大，强度台阶越高。

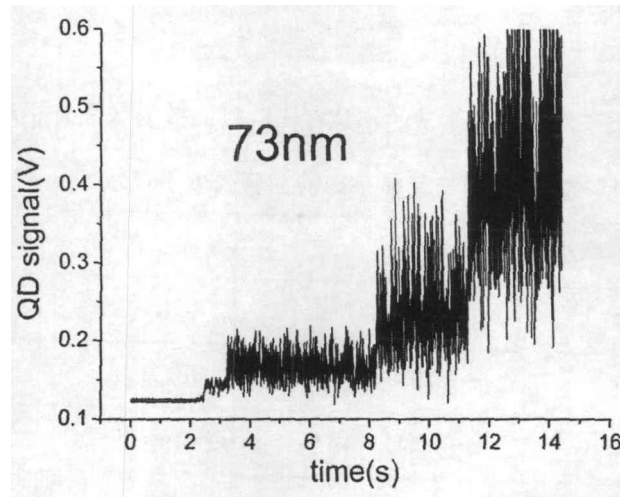


图7.7 光阱中73nm的PS小球的个数分别为1个、2个、3个、4个或以上时的背散光强度。横坐标为信号采集时间，纵坐标为背散光的强度。

#### 7.4 实验结果讨论

散射光强度的变化反应了光阱中粒子的运动情况。不同大小和不同个数的小球在光阱中的散射光强、小球布朗运动引起的光强变化以及两者的比值列于表1中，光强用 QD 输出的电压信号值表示，其中  $2\mu\text{m}$  小球与其他小球的捕获高度不一致。

当光阱只捕获一个粒子时，由表 7.1 可知，一、背散光强度随着粒子直径变小而变小。二、粒子直径越小，其散射光强的相对误差越大，主要原因是小球直径减小其布朗运动加剧，布朗运动越剧烈，散射光强的变化也越大。三、当小球的大小和形成光镊的激光束的束腰  $\omega$  相近时，光镊的捕获效果最佳[24]，根据表 7.1 可得实验所用设备的光阱束腰  $\omega \approx 1\mu\text{m}$ 。

当光阱捕获两个大粒子时，文献[25]的研究结果表明，两个小球是被捕获在一个共同的平衡位置附近，在这个平衡位置，两个小球相互接触，光镊对两个小球的作用力大小相等，方向相反。忽略粒子之间 DLVO 相互作用[26]导致小球之间的距离，这时公式(7.5)变为

$$\begin{aligned} I &= I_1 + I_2 + \frac{c}{2\pi} KK^* F_1 F_2^* \cos k(\mathbf{R}_2 \cdot \mathbf{s}) \\ &= I_1 + I_2 + \frac{c}{2\pi} KK^* F_1 F_2^* \cos \frac{2\pi}{\lambda} d \end{aligned} \quad (7.7)$$

其中  $d$  是粒子直径， $\lambda$  是激光波长，当  $d=\lambda$  时光强比  $I_{double}/I_{single}$  最大，在  $1\mu\text{m}$ 、

0.5 $\mu\text{m}$  和 0.2 $\mu\text{m}$  小球的实验中, 在  $d=0.5\mu\text{m}$  时  $d$  最接近  $\lambda=0.633\mu\text{m}$ , 因此其光强比最大。

表 7.1 不同大小和不同个数的小球在光阱时的散射光强及相对误差。其中 2 $\mu\text{m}$  小球与其他小球的捕获高度不一致。

粒子直径	粒子个数	强度(v)	强度变化 (v)	$I_{\text{change}}/I$ (%)
2 $\mu\text{m}$	1	1.2613	0.0929	7.3
	2	4.5487	0.4695	10.3
1 $\mu\text{m}$	1	4.2141	0.0606	1.44
	2	8.1049	0.1174	1.45
0.5 $\mu\text{m}$	1	1.3196	0.0491	3.72
	2	5.1616	0.1322	2.56
0.2 $\mu\text{m}$	1	0.9107	0.0726	7.97
	2	1.8260	0.4668	25.56
100nm	1	0.0419	0.0057	13.70
	2	0.0721	0.0186	25.86
73nm	1	0.0192	0.0047	24.90
	2	0.0439	0.0129	29.31

当粒子半径  $a$  远小于  $\lambda$  激光波长时, 光镊捕获瑞利粒子的情况已经有相关研究[27-28]。光阱捕获单个瑞利粒子时, 其散射力和梯度力的公式为[27]

$$F_{\text{scat}} = \frac{I_0}{c} \frac{128\pi^5 a^6}{3\lambda^4} \left( \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right) n_b \quad (7.8)$$

$$F_{\text{grad}} = -\frac{n_b^3 a^3}{2} \left( \frac{m^2 - 1}{m^2 - 2} \right) \nabla E^2 \quad (7.9)$$

散射力  $F_{\text{scat}} \propto a^6$ , 梯度力  $F_{\text{grad}} \propto a^3$ ,  $F_{\text{scat}}$  和  $F_{\text{grad}}$  都随着粒子半径  $a$  的减小而很快变小。当  $a \ll \omega$  时, 只要小球在阱域内, 可以认为粒子做自由布朗运动, 因此粒子可以任意改变它们之间的相对位置, 则公式(7.6)中  $\mathbf{R}$  的空间取向是完全无

规的,  $\cos k(\mathbf{R} \cdot \mathbf{s})$  项的平均值为 0, 而有  $I = \sum_{i=1}^N I_i$ 。

本文提出的方法需要测量小球的背散光强度,粒子的背散光强度跟小球的直径、入射激光的功率、小球捕获位置等因素有关。在不同的捕获高度,相同直径粒子的背散光强度并不一致,同理不同个数粒子的背散光强度在不同的捕获高度也不一样,因此在实际应用中,要在不同的捕获高度下分辨光阱中粒子个数,需要标定不同捕获高度的背散光强度。当  $d \ll \lambda$  时,粒子对入射光的散射为瑞利散射,其散射光强[26]

$$I = A \frac{V^2}{\lambda^4} I_0 \propto a^6 \quad (7.10)$$

其中  $A$  为常数,  $V$  是单个粒子的体积。随着  $\lambda$  的减小,  $I$  急剧减小,如果想探测到粒子的散射光,需要比较高的激光功率。当粒子直径非常小时,则粒子总的散

射光强  $I = \sum_{i=1}^N I_i$ , 要想分辨光阱中的粒子个数, QD 的探测精度必须达到探测单个粒子的散射光精度。

由于光阱中的小球受到周围液体中分子的撞击作布朗运动,观察到的散射光强度将不断地随时间起伏涨落。分析这些散射光强度随时间涨落的函数可获得与粒径有关的分散小球的相关信息,可用于研究纳米粒子的动力学行为 [11, 29]。

## 7.5 本章小结

本章根据光散射原理,提出通过测量粒子的背散光的光强,实时动态分辨光阱中的纳米粒子个数,实验上分别对光阱中所捕获的直径为 100nm, 70nm 的粒子的背散光进行了测量,成功地分辨了光阱中的纳米粒子个数,在现有设备上明确分辨了光阱中有 3 个 70nm 粒子。对光阱中有两个粒子时的状态进行了讨论,探讨光阱中两个粒子的排布状态。本研究成果结合纳米粒子的超显微观测手段 [30], 对将光镊的应用研究扩展到纳米尺度提供了技术支持,可应用于生物科学和胶体化学等研究领域。

## 参考文献

1. J. H. van Zanten, S. Amin, and A. A. Abdala, "Brownian motion of colloidal spheres in aqueous PEO solutions," *Macromolecules* **37**, 3874-3880 (2004).
2. J. T. Lee, C. Y. Chou, G. Chao, D. R. Pilaski, and M. Robert, "Two-dimensional diffusion of colloids in polymer solutions," *Molecular Physics* **103**, 2897-2902 (2005).
3. A. J. Levine, and T. C. Lubensky, "One- and two-particle microrheology," *Phys. Rev. Lett.* **85**, 1774-1777 (2000).
4. L. Starrs, and P. Bartlett, "One- and two-point micro-rheology of viscoelastic media," *J. Phys.-Condes. Matter* **15**, S251-S256 (2003).
5. K. Berg-Sørensen, and H. Flyvbjerg, "Power spectrum analysis for optical tweezers," *Rev. Sci. Instrum.* **75**, 594-612 (2004).
6. K. Berg-Sørensen, E. J. G. Peterman, T. Weber, C. F. Schmidt, and H. Flyvbjerg, "Power spectrum analysis for optical tweezers. II: Laser wavelength dependence of parasitic filtering, and how to achieve high bandwidth," *Rev. Sci. Instrum.* **77**, 063106 (2006).
7. E. Helfer, S. Harlepp, L. Bourdieu, J. Robert, F. C. MacKintosh, and D. Chatenay, "Microrheology of biopolymer-membrane complexes," *Phys. Rev. Lett.* **85**, 457-460 (2000).
8. P. Cicuta, S. L. Keller, and S. L. Veatch, "Diffusion of liquid domains in lipid bilayer membranes," *Journal of Physical Chemistry B* **111**, 3328-3331 (2007).
9. K. M. Addas, C. F. Schmidt, and J. X. Tang, "Microrheology of solutions of semiflexible biopolymer filaments using laser tweezers interferometry," *Phys. Rev. E* **70**, 021503 (2004).
10. B. Schnurr, F. Gittes, F. C. MacKintosh, and C. F. Schmidt, "Determining microscopic viscoelasticity in flexible and semiflexible polymer networks from thermal fluctuations," *Macromolecules* **30**, 7781-7792 (1997).
11. N. B. Viana, R. T. S. Freire, and O. N. Mesquita, "Dynamic light scattering from an optically trapped microsphere," *Phys. Rev. E* **65**, 041921 (2002).
12. B. R. Dasgupta, S. Y. Tee, J. C. Crocker, B. J. Frisken, and D. A. Weitz, "Microrheology of polyethylene oxide using diffusing wave spectroscopy and single scattering," *Phys. Rev. E* **65**, 051505 (2002).



13. K. Berg-Sorensen, and H. Flyvbjerg, "Power spectrum analysis for optical tweezers," *Review of Scientific Instruments* **75**, 594-612 (2004).
14. Z. W. Sun, S. H. Xu, G. L. Dai, Y. M. Li, L. R. Lou, Q. S. Liu, and R. Z. Zhu, "A microscopic approach to studying colloidal stability," *Journal of Chemical Physics* **119**, 2399-2405 (2003).
15. 钟敏成, 张文静, 周金华, 李银妹, 田来科, and 白晋涛, "背散光实时分辨光阱中的纳米粒子个数," *中国激光* **37**, 398-403 (2010).
16. M. Dienerowitz, M. Mazilu, and K. Dholakia, "Optical manipulation of nanoparticles: a review," *J. Nanophoton.* **2**, 021875 (2008).
17. C. Hosokawa, H. Yoshikawa, and H. Masuhara, "Cluster formation of nanoparticles in an optical trap studied by fluorescence correlation spectroscopy," *Phys Rev E* **72**, 7 (2005).
18. P. J. Pauzauskie, A. Radenovic, E. Trepagnier, H. Shroff, P. D. Yang, and J. Liphardt, "Optical trapping and integration of semiconductor nanowire assemblies in water," *Nature Materials* **5**, 97-101 (2006).
19. H. Yoshikawa, T. Matsui, and H. Masuhara, "Reversible assembly of gold nanoparticles confined in an optical microcage," *Phys Rev E* **70**, 061406 (2004).
20. K. Ajito, and K. Torimitsu, "Single nanoparticle trapping using a Raman tweezers microscope," *Applied Spectroscopy* **56**, 541-544 (2002).
21. C. Hosokawa, H. Yoshikawa, and H. Masuhara, "Optical assembling dynamics of individual polymer nanospheres investigated by single-particle fluorescence detection," *Physical Review E* **70**, 051410 (2004).
22. L. Jauffred, A. C. Richardson, and L. B. Oddershede, "Three-Dimensional Optical Control of Individual Quantum Dots," *Nano Letters* **8**, 3376-3380 (2008).
23. (美) R.S.斯坦 (R.S.Stein) 讲授; 徐懋等译, *Application of Scattering and Birefracton on the Study of Polymer Morphology(散射和双折射方法在高聚物织构研究中的应用)* (Beijing, 1983).
24. A. Rohrbach, and E. H. K. Stelzer, "Trapping forces, force constants, and potential depths for dielectric spheres in the presence of spherical aberrations," *Appl. Optics* **41**, 2494-2507 (2002).
25. S. H. Xu, Y. M. Li, and L. R. Lou, "Axial optical trapping forces on two particles trapped simultaneously by optical tweezers," *Appl. Optics* **44**, 2667-2672 (2005).
26. 江龙, *胶体化学概论* (科学出版社, 北京, 2002).
27. A. Ashkin, J. M. Dziedzic, J. E. Bjorkholm, and S. Chu, "Observation of a single-beam gradient

force optical trap for dielectric particles," *Opt. Lett.* **11**, 288-290 (1986).

28. Y. Harada, and T. Asakura, "Radiation forces on a dielectric sphere in the Rayleigh scattering regime," *Optics Communications* **124**, 529-541 (1996).

29. R. BarZiv, A. Meller, T. Tlusty, E. Moses, J. Stavans, and S. A. Safran, "Localized dynamic light scattering: Probing single particle dynamics at the nanoscale," *Physical Review Letters* **78**, 154-157 (1997).

30. J. H. Zhou, L. J. Qu, K. Yao, M. C. Zhong, and Y. M. Li, "Observing nanometre scale particles with light scattering for manipulation using optical tweezers," *Chinese Physics Letters* **25**, 329-331 (2008).

## 论文的总结与展望

本论文的主要工作是利用光镊技术研究分散体系中微粒的运动、光镊操控界面中的微粒以及围绕该主题相关的模拟计算和实验研究。

在研究工作中,首先研究了光阱中微粒的布朗运动、旋转运动,这部分内容主要是测量微粒扩散系数和研究控制微粒旋转速度的方法。在研究过程中,为了更好的利用光镊的优点,对光镊的参数和实验方法进行了相关研究。微粒在光阱中布朗运动的理论研究已经研究得比较透彻,现在关于光阱中微粒运动的研究主要是应用研究。例如通过研究微粒的扩散,反演周围高分子材料的结构等。微粒在光阱中旋转时可以看做一个微型的流变仪,将在测量微小区域内流体的流变学性质得到重要应用。

微粒在胶体界面和细胞表面的力学行为是目前光镊在胶体领域应用的一个重要方向。论文使用几何光学模型计算微粒处于界面时的光阱力,并对空气—水界面上的微粒进行了操控和移动;在研究微微球与细胞表面的结合力方面做了尝试和方法学的研究,为研究抗体抗原结合力做了技术准备。

综上所述,本工作利用光镊技术对分散体系中微粒的运动进行了理论和应用研究。工作充分利用了光镊的特点,从流体力学角度研究了某些分散体系的微粒的动力学性质,为深入研究胶体分散体系的性质提供了有效手段,相关的研究结果也增进了人们对光镊本身特性的认识。

经过20多年的发展,光镊已经发展成为一项较为成熟的技术,人们对光镊本身的物理性质和参数都研究得已经比较透彻。目前对光镊技术的研究主要是应用研究。光镊的应用主要分为两个方向:分散体系的应用和生物学领域的应用。

光镊在分散体系中的应用经过上世纪主要是研究胶体体系的稳定性、微粒的相互作用势能,之后在流变学领域得到众多应用。光镊具有可以研究微区或界面的性质等优点,将继续在研究界面内胶体粒子之间的相互作用、界面粒子的动力学行为、液滴运动、囊泡内部等研究中得到重要应用。

研究细胞内部的分子运动规律,是流变学的一个研究前沿,称为生物微流变学。光镊技术在单分子操控以及单分子力谱测量方面的优势,结合超高分辨率的成像技术,将生物微流变学的研究中得到广泛应用,揭示更多的生命科学规律。

## 博士期间发表文章目录

1. **Min-Cheng Zhong**, Jin-Hua Zhou, Yu-Xuan. Ren, Yin-Mei Li, Zi-Qiang Wang, "Rotation of birefringent particles in optical tweezers with spherical aberration," *Applied Optics* **48**, 4397-4402 (2009).
2. **Min-Cheng Zhong**, Jin-Hua Zhou, Jian-Guang Wu, Yin-Mei Li, "Determination of the axial stiffness of an optical trap with information entropy signals," *Proc of SPIE* **7507**, 75070J (2009).
3. 钟敏成, 张文静, 周金华, 李银妹, 田来科, 白晋涛, "背散光实时分辨光阱中的纳米粒子个数," *中国激光* **37**, 398-403 (2010).
4. **Min-Cheng Zhong**, Jin-Hua Zhou, Yin-Mei Li, "Calculation of Optical Trapping Forces on Dielectric Spheres at an Oil-Water Interface with Ray-Optics Model," *Chinese Optics Letters* **8** (2010). 接收
5. Kuo Han, Wei Su, **Min-Cheng Zhong**, Qing Yan, Yan-Hua Luo, Qi-Jin Zhang, Yin-Mei Li, "Reversible Photocontrolled Swelling-Shrinking Behavior of Micron Vesicles Self-Assembled from Azopyridine-Containing Diblock Copolymer," *Macromolecular Rapid Communications* **29**, 1866-1870 (2008).
6. Bin-Huan Meng, Jin-Hua Zhou, **Min-Cheng Zhong**, Yin-Mei Li, Jian-Guang Wu, Hong-Liang Ren, "Improvement of transverse trapping efficiency of optical tweezers," *Chinese Physics Letters* **25**, 2300-2302 (2008).
7. Jin-Hua Zhou, Lian-Jie Qu, Kun Yao, **Min-Cheng Zhong**, Yin-Mei Li, "Observing nanometre scale particles with light scattering for manipulation using optical tweezers," *Chinese Physics Letters* **25**, 329-331 (2008).
8. Yu-Xuan Ren, **Min-Cheng Zhong**, Jian-Guang Wu, Zi-Qiang Wang, Yin-Mei Li, "Experimental investigation on how sampling frequency affects the measured stiffness of an optical trap," *IEEE Symposium on Photonics and Optoelectronics*, 1-4 (2009).
9. Jin-Hua Zhou, Run-Zhe Tao, Zhi-Bin Hu, **Min-Cheng Zhong**, Zi-Qiang Wang, Jun Cai, Yin-Mei Li, "Manipulation of Nanoparticles Using Dark-Field-Illumination Optical Tweezers with Compensating Spherical Aberration," *Chinese Physics Letters* **26**, 068701 (2009).
10. Yu-Xuan Ren, Jian-Guang Wu, **Min-Cheng Zhong**, Yin-Mei Li, "Monte Carlo simulation of effective stiffness of time-sharing optical tweezers," *Chinese Optics Letters* **8**, 170-172 (2010).

## 致谢

本工作是在导师郭光灿教授、李银妹教授的亲切关怀和悉心指导下完成的。在实验室的这些年里，导师们严肃的科学态度、严谨的治学精神，精益求精的工作作风，诲人不倦的师道品格深深地感染和激励着我。导师们严以律己、工作极其敬业、思路开阔，具有深厚的理论和实验功底，在具体的学习和工作中都给予我极大的帮助和指导。在此，谨向两位导师表示崇高的敬意和衷心的感谢。同样要感谢中国科学院力学研究所孙祉伟教授和徐升华师兄，是他们在光镊研究分散体系领域的工作与坚持，让我能够在这一领域进行研究，完成我的毕业论文。孙老师思路开阔，理论功底深厚，也让我学到了很多新的思考方式和研究方法。

感谢王自强老师、姚焜老师、蔡俊老师，他们在我的研究工作中给了很大的支持。感谢山东大学徐桂英教授和孙德军教授，与他们的讨论给了我很多启发。

感谢实验室兄弟姐妹们对我的帮助和支持，实验室融洽的工作氛围和良好的科研环境让我在这一段时间里感受到了大家的真诚，也感受到了科研的乐趣所在。感谢曾经一起工作过的孟炳寰师兄、任洪亮师兄和庄礼辉师兄，正是跟他们一起工作中，我才打下了扎实的实验技能基础，这将是我一生的财富。感谢张文静师姐，论文中单双粒子区分的研究工作就是共同合作的成果。感谢吴建光师兄，他给我提出了很多宝贵的建议。特别感谢同时毕业的周金华博士，在我的整个研究工作中给予了鼎力支持，界面粒子光阱力的程序就是在他的帮助下完成的。

感谢在实验室工作过的楼立人老师和王浩威老师，感谢已经毕业的龚鋈博士、王忠硕士、谷永强硕士和周程硕士，感谢任煜轩博士、李煌硕士、薛国胜硕士、高红芳硕士等同学，在我的研究过程中，他们都提了很多宝贵的建议。

感谢从本科班一直陪伴我的那些的朋友们，他们陪伴我度过了在科大九年的美好生活，给过我许多帮助，留下了美好的欢笑与回忆。

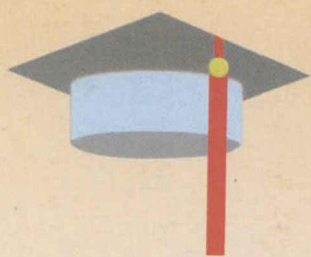
感谢我的父母，他们在我的成长过程给了我无数的关心、鼓励和最大的理解。

感谢那些所有我应该感谢但却无法在这里一一列出的人。

在我即将毕业之时，祝愿实验室永远充满生机，蓬勃发展，祝愿师长和同学们工作顺利，事事顺意。

钟敏成

二零一零年四月于中国科学技术大学



**USTC**

中国科学技术大学博士学位论文

---