

D19

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 利用光镊研究胶体凝胶的老化

作者姓名 孟炳寰

学科专业 光学

导师姓名 郭光灿 院士 李银妹 教授

完成时间 二〇〇八年五月

中国科学技术大学  
博士学位论文



利用光镊研究胶体凝胶的老化

作者姓名: 孟炳寰  
学科专业: 光 学  
导师姓名: 郭光灿 教授 李银妹 教授  
完成时间: 二〇〇八年五月四日

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



**Aging process of the bond between  
colloidal particles measured  
using laser tweezers**

Author: BingHuan Meng

Speciality: Optics

Supervisor: Prof.Guangcan Guo Prof.Yinmei Li

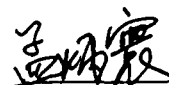
Finished time: May 4<sup>th</sup>, 2008

## 中国科学技术大学学位论文相关声明

本人声明所呈交的学位论文,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。

本人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。

保密的学位论文在解密后也遵守此规定。

作者签名: 

2008年5月8日



摘要.....	I
ABSTRACT.....	III
第一章 绪论.....	1
1.1 光镊技术.....	1
1.2 胶体体系领域的研究现状.....	2
1.3 本文研究工作的意义.....	3
1.4 本文主要内容简介.....	4
第二章 光镊的原理及其在胶体体系中的应用.....	11
2.1 光镊的历史.....	12
2.2 光镊的原理.....	12
2.2.1 光的动量.....	12
2.2.2 激光的力学效应.....	13
2.2.3 单光束梯度力光镊原理.....	14
2.3 光镊在胶体体系研究中的应用.....	17
2.2.1 粒子扩散的研究.....	18
2.2.2 流体动力学相互作用.....	18
2.2.3 静电相互作用.....	19
2.2.4 空缺相互作用和空间相互作用.....	21
2.2.5 胶体稳定性的研究.....	22
2.2.6 胶体粒子结合性质的研究.....	23
第三章 钛宝石激光光镊系统.....	31
3.1 系统概况和性能指标.....	31
3.1.1 系统概况.....	31
3.1.2 性能指标.....	33
3.2 系统设计.....	33
3.2.1 光镊光源-激光器.....	34
3.2.2 显微镜.....	34
3.2.3 操控系统.....	35

3.2.4 数据采集系统 CCD.....	35
3.3 系统使用说明.....	36
3.3.1 钛宝石激光器.....	36
3.3.2 显微镜操作步骤和注意事项.....	38
3.3.3 图像采集系统-CCD 的使用.....	39
3.3.4 电动平台.....	43
3.4 数据分析.....	44
3.4.1 CCD 图像相关运算法测量微粒的位移.....	44
3.4.2 刚度标定和力的测量.....	49
3.5 本章小结.....	52
<b>第四章 利用光镊研究胶体体系的老化.....</b>	<b>55</b>
4.1 胶体凝胶老化研究介绍.....	56
4.2 光镊测量胶体粒子间微观相互作用的研究.....	58
4.3 利用光镊研究胶体老化.....	64
4.3.1 实验研究.....	65
4.3.2 理论解释.....	68
4.4 本章小结.....	70
<b>第五章 光镊横向捕获效率提高的研究.....</b>	<b>73</b>
5.1 实验研究.....	74
5.1.1 实验方法.....	74
5.1.2 实验测量结果.....	76
5.2 理论模拟计算.....	78
5.2.1 几何光学模型计算原理.....	78
5.2.2 偏振情况的处理.....	79
5.2.3 轴向力的计算.....	81
5.2.4 横向力的计算.....	83
5.3 计算结果和讨论.....	87
5.4 本章小结.....	89

博士期间发表文章目录.....93  
致谢.....95

5

## 摘要

胶体体系与生活密切相关,对胶体体系性质的研究具有重要的科学意义和价值。对胶体体系性质的研究虽然已有很长的历史,但这些研究大多是利用胶体的宏观性质来进行的,然而关于胶体宏观性质的微观本质——胶体粒子间的微观相互作用及动力学过程,由于缺乏有效的微观研究手段而难以对这种微观本质进行实验研究。该领域的进一步发展几乎决定性的依赖于对单个微粒间相互作用过程的研究,因而找到合适的手段和方法就变得非常必要。光镊出现以后,很快就成为在粒子层次对胶体科学进行实验研究的重要工具。

光镊可以捕获和操控几十纳米到几十微米大小的粒子,它还可以作为力的探针,测量皮牛亚皮牛量级的力。对于很多胶体体系来说,其中的胶体粒子的大小恰好在这个范围,而粒子之间的微小作用力也可以使用光镊测量,因而光镊成为了研究分散体系性质的一个方便的工具,用来研究胶体粒子的性质或从粒子的层次研究各种体系宏观性质的微观机理。

在本文的工作中,将光镊技术应用于胶体体系中,对胶体粒子间的相互作用力进行了测量,并对跟踪粒子间相互作用力随时间的变化,研究了胶体凝胶的老化过程,对老化机制进行了理论分析和解释。而且研究了如何提高光镊横向捕获效率,为增大光镊测力范围,提供了参考方法。

在工作中还搭建了钛宝石激光光镊系统,该系统集自动控制、CCD 成像、图像分析等技术于一体,能够操控排布胶体粒子,测量胶体粒子间的相互作用力,为胶体研究提供了一个实验平台。

胶体体系有着较高的表面能,是非平衡体系,会往表面能较小的状态演化,称此过程为老化。在这个老化过程中,体系很多性质将会变化,并会对其应用产生影响。于是有必要对胶体凝胶老化过程机理进行了解。通过光镊把胶体粒子排布成简单的线性单链的聚集体结构,并对其力学性质进行测量,反映出胶体粒子间的相互作用状态。对力学性质随时间的变化进行测量,可得到胶体粒子间相互作用状态的变化,从而可研究胶体凝胶老化的微观机理。而且通过数据分析,对老化机理进行了理论解释。

以往改进光镊捕获效率的研究都是针对轴向捕获效率,然而进行微小力测量的实验中利用的是横向捕获效率,在这些力的测量应用中,横向捕获效率起主

要作用，而这时的轴向捕获力只要能够束缚住小球不<sub>不</sub>让其逃逸即可。本文利用未充满物镜数值孔径的具有适当光斑大小的激光高斯光束入射到显微物镜后形成光镊，使轴向仍可形成稳定捕获，却可以明显提高横向捕获效率，增大光镊测力的范围。这对光镊技术的应用具有一定的参考价值。

本论文的创新点在于利用光镊从微观粒子层次上研究了胶体体系的老化过程，结合烧结模型对老化过程的微观机理进行了解释；另外提高了光镊的横向捕获效率。

**关键词：**光镊、胶体、老化、捕获效率。

## Abstract

The colloid has significant relation with our daily life. To study the characters of colloids is of great importance on both the theory and the applications. Because the characters of colloidal are closely related to the characters of small colloidal particles, we can gain an insight into the macroscopic characters of colloid by studying the behavior of individual small colloidal particles. However, due to the lack of appropriate instruments, the experimental research of the colloid was limited largely on the macroscopic characters for a long time.

Optical tweezers is an instrument to trap and manipulate small particles utilizing the radiation pressure of light. Since it manipulates particles without mechanical contact, it has very little influence on trapped particles, and can precisely measure the small force between sub piconewton to hundreds of piconewtons. Due to this characteristic, it can be used to investigate the characters of trapped particles without interference, and measure the particle interaction. Therefore, optical tweezers was successfully applied in the investigation of colloid, soon after its invention.

Colloidal gels are out-of-equilibrium systems and usually undergo an aging process upon gelation. During the aging process the properties of the system, especially the rheological properties, frequently evolve with time. Because the rheological properties of colloidal gels are essential for many of technological applications, the aging process of the gel has been one of the focuses of the investigation.

Aging processes is generally understood as the result of restructuring of the gel network because of the limited strength of bonds between particles. Recent study shows that the time-dependent interaction between particles can directly affect the aging process and the time-dependent bonding itself plays an important role in the aging process. This observation was obtained from macroscopic experiments. However the method can not ensure there is not any change of the network structure. In order to eliminate the influence of the network structure it is necessary to directly explore the aging of the bond in the particle scales, which will give a microscopic hint to understand the aging mechanism.

In this article, linear chains of polystyrene particles, the simplest form of



aggregates, are assembled and then the aging behavior of the chain is studied by monitoring the time evolution of its bending elasticity using laser tweezers. The result from this microscopic method shows that the bond rigidity between particles evolves approximately linearly with time. And a sintering model is proposed to explain the main mechanism of the aging process. It is claimed that the microscopic method as we used is useful for getting fundamental experimental data to understand better the mechanism of the aging process.

During the work of studying the aging process of colloidal gels from particle level, we use optical tweezers to measure the interaction force of particles. Transverse trapping efficiency of optical tweezers is important in the force measurement experiment. For improving the transverse trapping efficiency, we propose a simple scheme in which the Gaussian beam does not fully cover the aperture of the objective. Both experiment and theoretical simulation qualitatively demonstrate the scheme. And the results will be useful for design of optical tweezers.

**Key words:** *optical tweezers, colloid, aging, trapping efficiency.*

# 第1章 绪论

## 1.1 光镊技术

光具有能量和动量。当光与物质发生相互作用时,如被物体吸收、反射、折射时,会把它的动量传递给物体,对物体产生力的效应,表现出光的力学特性。光镊是以激光的力学效应为基础的一种物理工具,是强会聚光场与微粒相互作用时形成的光学势阱<sup>[1]</sup>。

1968年,苏联光谱学家 Letokhov 就首先提出利用光的力学效应来限制原子的思想<sup>[2]</sup>。1969年,A. Ashkin 等人首次实现了利用激光的力学效应驱动微米大小的粒子。此后 Ashkin 又发现微粒可以在横向被吸入光束(微粒的折射率大于周围介质的折射率)。在这些研究工作的基础上,Ashkin 提出了利用光的力学效应操纵微粒的思想,并用两束相向照射的激光,实现了对水溶液中折射率比水大的小球的捕获<sup>[3]</sup>,建立了利用光的力学效应操纵微粒的实验工具。1986年,A. Ashkin 等人又发现,当单独一束高会聚激光照射到微小粒子上时,光场和粒子的相互作用可以形成稳定的三维光学势阱,它可以吸引微粒并把它束缚在焦点附近,利用这一原理操控微小粒子的装置就被生动形象地称为光镊(或光学势阱,又简称光阱)<sup>[1, 3, 4]</sup>。由于这种光镊是用一束光形成的梯度力势阱来操控粒子的,因此光镊的正式名称为“单光束梯度力势阱”(single-beam optical gradient force trap)。光镊的优势在于它可以在三维上实现对粒子的稳定的、“非接触性”的捕获和操控<sup>[4]</sup>,还可以对微小进行测量。光镊的这种非接触性的操控对粒子以及它周围的环境影响很小,这样光镊就可以在不影响粒子本身性质和周围环境的情况下操控和观察粒子,测量微小力,并对粒子的性质进行研究。

光镊的这些优势使得它在生物<sup>[5-10]</sup>、胶体科学<sup>[11-23]</sup>等领域得到了广泛的应用,而光镊在这些领域的应用也对光镊本身提出了新的要求,促进了光镊技术的发展。因此,自光镊发明以来,光镊技术和设备一直在不断发展以适应这些要求,同时也拓展了光镊的应用范围,出现了以一定频率开关的闪频光镊<sup>[17, 18]</sup>;可以限制粒子在激光束扫描轨迹上运动的扫描光镊<sup>[24]</sup>;可以同时独立操控两个或者多个粒子的双光镊<sup>[25]</sup>和多光镊;可以实现纳米精度位移测量和皮牛力监测的纳米光镊

技术<sup>[26-28]</sup>；以及拉盖尔-高斯（LG）<sup>[29]</sup>光束形成的可以转动被捕获粒子<sup>[30]</sup>，并可以操控低折射率小球<sup>[31]</sup>和金属微粒<sup>[32]</sup>的光镊等等新的光镊技术。这些新的光镊技术的出现使得光镊可以应用于更多的研究领域。

为了更清楚地认识光镊的性质，在光镊的光场与粒子间相互作用的理论分析方面，人们也开展了很多的研究工作。这些理论计算工作也为光镊技术的发展和應用提供了有益的指导。早在光镊发明之前，就已经有文献报道了使用几何光学模型(RO model)来研究激光束对粒子的作用的研究工作<sup>[33]</sup>，从一定程度上来说，最终光镊的出现也是由这些理论计算工作的结果所促成的。在光镊发明之后，光镊的理论计算工作也一直在延续，其中包括利用对比激光波长大很多的粒子适用的几何光学模型<sup>[34-36]</sup>和对比波长小很多的粒子（瑞利粒子）适用的波动光学模型<sup>[37-39]</sup>来研究光镊对捕获粒子的作用力等。对于与激光波长相当的粒子，也可以用波动光学模型<sup>[40,41]</sup>来计算光镊的作用力，但是这种尺度的粒子对光场的散射比较复杂，在具体计算中，可以利用时域有限差分法（FDTD）<sup>[42]</sup>、有限元法（FEM）<sup>[43,44]</sup>、T矩阵法<sup>[45,46]</sup>等方法来求解。

这种以激光捕获技术为核心，结合光学显微技术、纳米定位技术和图像识别技术等的光镊技术，恰好可以满足目前生物学、胶体科学等领域内研究的需求，这项技术的诞生，注定了将在生物学、胶体科学等领域内发挥重要的作用。

## 1.2 胶体体系领域的研究现状

胶体体系是相当广泛的一种物质体系。在人们的日常生活和生产活动中，人类都不断的与各种不同的胶体体系打交道，因而该领域的研究具有着非常广泛的应用意义，对胶体体系性质的研究一直是自然科学中一个活跃的研究领域。

胶体是指分散质微粒直径在几个 nm 至几个  $\mu\text{m}$  之间的分散系。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，一般人们把被分散的物质叫做分散相，而另一种物质叫做分散介质。胶体分散体系是热力学上不稳定的，但是由于胶体颗粒的布朗运动，从而能保持一定的动力学稳定性<sup>[47]</sup>。对于许多重要的分散体系，如乳状液、悬浮液、泡沫等，其质点大小虽然不符合经典的胶体标准，但体系具有很大的界面，和憎液胶体一样属于热力学不稳定体系。因此，它们也属于胶体化学讨论的范围<sup>[48]</sup>。

对胶体体系的宏观规律,在理论和实验上已经有了比较深入的研究<sup>[49-56]</sup>,并且在理论上已经提出了一些微观模型,例如对布朗运动、涨落、扩散等动力学性质,散射等光学性质,双电层模型等电学性质,胶体粒子的相互作用和体系稳定性都有一些较为深入的理论研究。

由于胶体体系中分散相微粒的大小一般从纳米量级到微米量级,它们在分散介质(液体)中不停地做布朗运动,因而很难对这些微粒个体的运动行为进行直接的实验研究。在传统的实验方法中,一般都利用胶体的电动现象和胶体粒子的光散射对胶体性质进行研究,观测的是大量粒子的群体行为,因此很难为微观理论提供充分的实验依据。与传统的实验方法不同,由于光镊具有操控微小粒子和测量微小力的功能,光镊的出现使得直接从粒子层次对胶体体系的各种性质进行实验研究成为可能,从而使人们可以更深入的理解胶体体系各种宏观性质的内在规律。

利用光镊技术,可以精确地测量在液体中处于某一特定几何条件下粒子的扩散系数<sup>[19]</sup>,粒子与粒子之间<sup>[12]</sup>、粒子与表面之间<sup>[17,18]</sup>的流体动力学相互作用,粒子之间的静电相互作用<sup>[13,20]</sup>和空间<sup>[15]</sup>、空位相互作用<sup>[21-23]</sup>等。这些研究工作往往需要限制粒子之间或者粒子与其它界面之间的距离,如果不利用光镊,就很难实现对粒子位置的控制,从而难以开展研究。利用光镊作为微小力探针的特点,还可以对粒子之间相互作用力做直接的测量。这种粒子层次的或微观的实验研究不仅可为理论提供重要的实验依据,而且很可能发现在一些特定情况下的特殊现象,为胶体体系的各种理论的发展起到重要的推动作用。在第二章中,我们将对光镊在胶体体系中的这些研究作系统的介绍。

### 1.3 本文研究工作的意义

胶体体系有着较高的表面能,是非平衡体系,会往表面能较小的状态演化,称此过程为老化。在这个老化过程中,体系很多性质将会变化,并会对其应用产生影响。于是有必要对胶体凝胶老化过程机理进行了解。

通常情况下,对胶体体系的老化的研究都是利用光散射和粘弹性测量等宏观方法进行的。然而胶体体系老化过程在本质上是由胶体粒子之间状态的演化所决定,所以从微观粒子层次上研究胶体老化是更直接有效的方法。有利于对胶体

的老化现象的微观机理的理解,对完善理论模型提供依据。本文的主要研究工作之一就是建立了利用光镊从粒子层次研究胶体老化过程的实验研究方法。

在工作中结合了光镊、自动控制、CCD 成像、图像分析等技术,搭建了钛宝石激光光镊系统,能够操控排布胶体粒子,测量胶体粒子间的相互作用力,为胶体研究提供了一个实验平台。通过光镊把胶体粒子排布成简单的线性单链的聚集体结构,并对其力学性质进行测量,反映出胶体粒子间的相互作用状态。对力学性质随时间的变化进行测量,可得到胶体粒子间相互作用状态的变化,从而可研究胶体凝胶老化的微观机理。而且通过数据分析,对老化机理进行了理论解释。

以往改进光镊捕获效率的研究主要是针对轴向捕获效率,然而微小力测量的实验中利用的是横向捕获效率,在这些力的测量应用中,横向捕获效率起主要作用,而这时的轴向捕获力只要能够束缚住小球不使其逃逸即可。本文利用未充满物镜数值孔径的具有适当光斑大小的激光高斯光束入射到显微物镜后形成光镊,使轴向仍可形成稳定捕获,却可以明显提高横向捕获效率,增大光镊测力的范围。这对光镊技术的应用具有一定的参考价值。

## 1.4 本文主要内容简介

本文在实验室原有工作基础上,继续围绕我们课题组所承担的“光镊技术及其在胶体体系研究中的应用”这一课题进行研究。我们搭建了钛宝石激光光镊系统,利用光镊技术研究了胶体凝胶的老化,提高了光镊横向捕获效率即增大了光镊测力的范围。

由于本论文的工作涉及到光镊及其在胶体体系中的应用,因此在介绍研究工作之前,我们首先在第二章中介绍了光镊的基本原理和光镊在胶体体系领域中的应用现状。

第三章到第五章为我们的研究工作。在第三章中,搭建了钛宝石激光光镊系统,对系统进行了说明。并对位移测量,光阱刚度标定,力的测量等做了介绍。为后面胶体粒子间相互作用的测量做好了准备。

第四章介绍了利用光镊从微观粒子层次研究胶体体系老化的工作。在这一章中,我们首先对胶体粒子间相互作用的测量作简单介绍,然后在此基础上作相关改进,引入我们的测量方法:把胶体粒子排布成具有简单结构的聚集体,即单条

小球直链结构，测量其力学性质，得出粒子间的相互作用状态。然后跟踪测量胶体粒子相互作用随时间的变化，来研究胶体凝胶老化过程。发现聚苯乙烯胶体小球间的结合刚度随时间线性增长，最后引入“烧结”模型，对胶体小球间的演化状态进行了描述。建立了从微观粒子层次上研究了胶体凝胶的老化过程的方法。

第五章将介绍光镊横向捕获效率的改进。光镊横向捕获效率对光镊测量微小力的应用有重要意义。我们利用未充满物镜数值孔径具有一定光斑大小的高斯光束，来形成光镊，在轴向捕获效率人能够满足捕获要求的情况下，大大提高了横向捕获效率，从而增大了测力范围，为光镊的设计提供了的参考。



## 本章参考文献

1. 李银妹, 《光镊原理、技术和应用》 中国科学技术大学出版社 1996.
2. C.Salomon, J.Dalibard, A.Aspect, H.Metcalf, and C.Cohen-Tannoudji, "Channeling atoms in a laser standing wave," *Phys.Rev.Lett.* **59**, 1659-1662 (1987)
3. A.Ashkin, "Acceleration and trapping of particles by radiation pressure," *Phys.Rev.Lett.* **24**, 156-159 (1970).
4. 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).
5. A. Ashkin, J.M.Dziedzic, and T.Yamane, "Optical trapping and manipulation of single cells using infrared laser beams," *Nature* **330**, 769-771 (1987).
6. A.Ashkin, and J.M.Dziedzic, "Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria," *Science* **235**, 1517-1520 (1987).
7. A.Ishijima, H.Kojima, T.Funatsu, M.Tokunaga, H.Higuchi, H.Tanaka, and T.Yanagida, "Simultaneous observation of individual ATPase and mechanical events by a single myosin molecule during interaction with actin," *Cell* **92**, 161-171 (1998).
8. C. Bustamante, S. Smith, J. Liphardt, and D. Smith, "Single-Molecule Studies of DNA Mechanics," *Current Opinion in Structural Biology* **10**, 279-285 (2000).
9. K.Svoboda, C.F.Schmidt, B.J.Schnapp, and S.M.Block, "Direct observation of kinesin stepping by optical trapping interferometry," *Nature* **365**, 721-727 (1993).
10. C.Veigel, L.M.Coluccio, J.D.Jontes, J.C.Sparrow, R.A.Milligan, and J.E.Molloy, "The motor protein myosin-I produces its working stroke in two steps," *Nature* **396**, 530-533 (1999).
11. J.P.Pantina and E.M.Furst, "Elasticity and critical bending moment of model colloidal aggregates," *Phys.Rev.Lett.* **94**, 138301 (2005).
12. J.C.Crocker, "Measurement of the hydrodynamic corrections to the Brownian motion of two colloidal spheres," *J. Chem. Phys.* **106**, 2837-2840 (1997).
13. J.C.Crocker, and D.G.Grier, "Microscopic measurement of the pair interaction potential of charge-stabilized colloid," *Phys. Rev. Lett.* **73**, 352-355 (1994).
14. D.G.Grier, "Optical tweezers in colloid and interface science," *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2**, 264-270 (1997).
15. 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," *Phys. Rev. E.* **64**, art. No.11401 (2001).

16. Z.W.Sun, Y.M.Li, S.H.Xu, L.R.Lou, G.L.Dai, and X.Q.Dong, "A direct test on the possibility of an aggregate in dispersion being disrupted by shear flow," *J.Colloid Interface Sci.* **242**, 158-163 (2001).
17. 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).
18. B.H.Lin, J.Yu, and S.A.Rice, "Diffusion of an isolated colloid sphere confined between flat plates," *Colloids Surf. A* **174**, 121-131 (2000).
19. J.C.Crocker, and D.G.Grier, "Methods of digital video microscopy for colloidal studies," *J. Colloid Interface Sci.* **179**, 298-310 (1996).
20. J.C.Crocker, and D.G.Grier, "When like charges attract: The effects of geometrical confinement on long-range colloidal interactions," *Phys. Rev. Lett.* **77**, 1897-1900 (1996).
21. A.D.Dinsmore, A.G.Yodh, and D.J.Pine, "Entropic control of particle motion using passive surface microstructures," *Nature* **383**, 239-242 (1996).
22. R.Verma, J.C.Crocker, T.C.Lubensky, and A.G.Yodh, "Entropic colloidal interactions in concentrated DNA solutions," *Phys. Rev. Lett.* **81**, 4004-4007 (1998).
23. 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 tweezers," *Phys. Rev. Lett.* **82**, 4352-4355 (1999).
24. K.Sasaki, M.Koshio, H.Misawa, N.Kitamura, and H.Masuhara, "Pattern-formation and flow-control of fine particles by laser-scanning micromanipulation," *Opt. Lett.* **16**, 1463-1465 (1991).
25. E.Fallman, and O.Axner, "Design for fully steerable dual-trap optical tweezers," *Appl. Opt.* **36**, 2107-2113 (1997).
26. H.T.Chen, Y.M.Li, L.R.Lou, and H.W. Wang, "High precision measurements in an optical tweezers for studying single biomolecule motion," *Proceedings of SPIE*, **4536**, 75-81 (2002).
27. 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).
28. E.L.Florin, A.Pralle, E.H.K.Stelzer, and J.K.H.Hörber, "Photonic force microscope calibration by thermal noise analysis," *Appl. Phys. A* **66**, 75-78 (1998).
29. L.Allen, M.W.Beijersbergen, R.J.C.Spreew, and J.P.Woerdman, "Orbital angular momentum of light and the transformation of laguerre-gaussian laser modes," *Phys. Rev. A*, **45**, 8185-8189 (1992).
30. H.He, M.E Fries, N.R.Heckenberg, and H.Rubinsztein-Dunlop, "Direct observation of transfer of angular momentum to absorptive particles from a laser with a phase singularity,"

Phys.Rev.Lett. **75**, 826-829 (1995).

31. K.T.Gahagan, and G.A.Swartzlander,Jr, "Optical vortex trapping of particles," Opt. Lett. **21**, 827-829 (1996).
32. A.T.O'Neil, and M.J.Padgett, "There-dimensional optical confinement of micron-sized metal particles and the decoupling of the spin and orbital angular momentum within an optical spanner," Opt.Comm. **185**, 139-143 (2000).
33. G.Roosen, "La levitation optique de spheres," Can. J. Phys. **57**, 1260-1279 (1979)
34. A.Ashkin, "Forces of a single-beam gradient trap on a dielectric sphere in the ray optics regime," Biophys. J. **61**, 569-582 (1992).
35. R.Gussgard, T.Lindmo, and I.Brevik, "Calculation of the trapping force in a strongly focused laser beam," J. Opt. Soc. Am. B **9**, 1922-1930 (1992).
36. E.Fallman, O.Axner, "Influence of a glass-water interface on the on-axis trapping of micrometer-sized spherical objects by optical tweezers," Appl. Opt. **42**, 3915-3926 (2003).
37. Y.Harada, and T.Asakura, "Radiation forces on a dielectric sphere in the Rayleigh scattering regime," Opt. Comm. **124**, 529-541 (1996).
38. K.Visscher, and G.J.Brakenhoff, "Theoretical study of optically induced forces on spherical particles in a single beam trap I: Rayleigh scatterers," Optik **89**, 174-180 (1992).
39. 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).
40. A.Rohrbach, and E.H.K.Stelzer, "Optical trapping of dielectric particles in arbitrary fields," J.Opt.Soc.Am.A **18**, 839-853 (2001)
41. A.Rohrbach, and E.H.K.Stelzer, "Trapping forces, force constants, and potential depths for dielectric spheres in the presence of spherical aberrations," Appl. Opt. **41**, 2494-2507 (2002).
42. 葛德彪, 闫玉波, 《电磁波时域有限差分方法》西安电子科技大学出版社 2002.
43. (美)金建铭 著, 王建国 译《电磁场有限元方法》西安电子科技大学出版社 1998.
44. D.A.White, "Numerical modeling of optical gradient traps using the vector finite element method," J. Comput. Phys. **159**,13-37 (2000).
45. T.A.Nieminen, H.Rubinsztein-Dunlop, N.R.Heckenberg, and A.I.Bishop, "Numerical modeling of optical trapping," Comput. Phys. Comm. **142**, 468-471 (2001).
46. T.A.Nieminen, H.Rubinsztein-Dunlop, N.R.Heckenberg, "Calculation and optical measurement of laser trapping forces on non-spherical particles," J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer **70**, 627-637 (2001).
47. 王果庭, 《胶体稳定性》科学出版社 1990.

48. 周祖康, 顾惕人, 马季铭, 《胶体化学基础》 北京大学出版社 1987.
49. J.W.Lichtenbelt, H.J.M.Ras, and P.H.Wiersema, "Turbidity of coagulation lyophobic sols," *J. Colloid Interface Sci.* **46**, 522-527 (1974).
50. Z.W.Sun, and R.L.Qiao, "An experimental study of the influence of weak convection on perikinetic coagulation," *J. Colloid Interface Sci.* **223**, 126-132 (2000).
51. G.R.Zeichner, and W.R.Schowalter, "Effects of hydrodynamic and colloidal forces on the coagulation of dispersions," *J. Colloid Interface Sci.* **71**, 237-253 (1979).
52. M.B.Einarson, and J.C.Berg, "Electrosteric stabilization of colloidal latex dispersions," *J. Colloid Interface Sci.* **155**, 165-172 (1993).
53. R.Amal, J.R.Coury, J.A.Raper, W.P.Walsh, and T.D.Waite, "Structure and kinetics of aggregating colloidal hematite," *Colloids Surf.* **46**, 1-19 (1990).
54. W.B.Russel, D.A.Saville, and W.R.Schowalter, 《Colloidal Dispersions》 Cambridge: Cambridge University Press 1989.
55. (美) P.C.Hiemenz 著, 周祖康, 马季铭 译 《胶体与表面化学原理》 北京大学出版社 1986
56. 陈宗淇, 王光信, 徐桂英, 《胶体与界面化学》 高等教育出版社 2001



## 第2章 光镊的原理及其在胶体体系中的应用

本论文的主要工作是围绕光镊在胶体分散体系中的应用,从微观粒子层次上研究胶体体系而开展的,因此在介绍我们的研究工作之前,首先介绍光镊的基本原理以及光镊在胶体体系中的应用背景。

### 2.1 光镊的历史

光镊(optical tweezers)是以激光的力学效应为基础的一种物理工具,是强会聚光场与微粒相互作用时形成的光学势阱<sup>[1]</sup>。最早在1968年,苏联光谱学家Letokhov首先提出利用光场梯度力来限制原子的思想。1969年,A. Ashkin等人首次实现了激光驱动微米粒子的实验。此后他又发现微粒会在横向被吸入光束(微粒的折射率大于周围介质的折射率)。在对这二种现象研究的基础上,Ashkin提出了利用光压操纵微粒的思想,并用两束相向照射的激光,首次实现了对水溶液中玻璃小球的捕获,建立了第一套利用光压操纵微粒的工具。1986年,A. Ashkin等人又发现,单独一束强聚焦的激光束就足以形成三维稳定的光学势阱,可以吸引微粒并把它局限在焦点附近,于是第一台光镊装置就诞生了<sup>[2,3]</sup>。也因此,光镊的正式名称为“单光束梯度力势阱”(single-beam optical gradient force trap)。

因为光镊具有非接触式操控、无机械损伤等特点,所以在细胞生物学、胶体化学领域的研究工作中,它表现了突出的优越性。近些年来,光镊技术的发展使它已不仅仅应用在细胞、亚细胞层次及胶体粒子层次,更由于它的捕获力是皮牛量级<sup>[4-9]</sup>,刚好处在大多数生物细胞或生物大分子及胶体粒子作用力的量级之内,所以常被用来研究生物样品及胶体粒子的力学行为,如肌动蛋白力学行为及胶体粒子间的相互作用力等。

目前光镊技术成功的实现了微观领域内对生物细胞或生物大分子及胶体粒子等微粒灵活多样的操作测量<sup>[10-13]</sup>,充分体现了它在微操作、微测量中的巨大优越性,成为物理<sup>[14-20]</sup>、化学、胶体体系<sup>[21-23]</sup>和生命科学、医药科学等领域中强有



力的工具。

## 2.2 光镊的原理

### 2.2.1 光的动量

光具有能量和动量。人们经常利用光的能量，却很少利用光的动量，这主要是因为普通光的动量微乎其微，几乎不能引起可觉察的宏观力学效应。而科学家们利用激光所具有的高亮度和优良的方向性，使得光的力学效应明显的显现出来。光镊技术正是以光的力学效应为基础发展起来的。

人们对光的动量的认识是从研究光压开始的。光压的提出可以追溯到开普勒和牛顿时代，但是其理论证明和实验测量则是很久以后才出现的。1873年 Maxwell 从光的波动性角度，根据电磁波理论论证了光压的存在（电磁波辐射压）并算出了垂直入射到部分反射吸收体表面的光束产生的光压——也就是动量的传递——为  $\frac{E}{c}(1+R)$ ，其中  $E$  为每秒垂直入射到  $1\text{m}^2$  上的能量， $c$  为光速， $R$  为光所照射物体的反射系数。

光子具有动量，这是光的基本属性之一。按照光的波粒二象性理论光子所携带的动量为：

$$P = h \cdot k = \frac{h}{\lambda} = \frac{E}{c}$$

其中， $h$  为普朗克常数， $k$  为光波数， $\lambda$  为光波长， $E = h\nu$  为光子的能量， $c$  为光速。光压就是光子把它的动量传给吸收壁或反射壁的结果。设单色光正入射到壁上， $N$  个光子携带能量为  $E = Nh\nu$ ， $N$  个光子传给绝对吸收壁的动量为  $N\frac{h\nu}{c}$  或传给绝对反射壁的动量为  $2N\frac{h\nu}{c}$ 。一般情况下，被照物体的反射系数为  $R$ ，则  $N$  个光子传给物体的动量和根据电磁波理论得到的结果一致，如下式：

$$(1-R)N\frac{h\nu}{c} + R2N\frac{h\nu}{c} = N\frac{h\nu}{c}(1+R) = \frac{E}{c}(1+R)$$

光压的实验测量是1901年俄国人П. H. 列别捷夫用悬在细丝下的悬体实现的<sup>[24-25]</sup>。其中悬体边上固定着一些薄而轻的小翅，其中一个小翅涂黑，另一个是光亮的。悬体放在抽空了的容器里，成为极灵敏的扭秤。用光照射小翅，使扭秤

偏转,从而测定光压。此后,美国物理学家尼科尔、霍尔也分别独立地在实验室发现并测量了光压。

### 2.2.2 激光的力学效应

激光是一种受激辐射相干光。激光束被聚焦后与物体相互作用时,能产生可观的力学效应。如功率为 10mw 的 He-Ne 激光器发射的光束若会聚到  $1\mu\text{m}^2$ 。在光束中心可产生  $10^6$  达因/平方米的压力,它可使一个微米量级的电介质小球产生约  $10^3g$  的加速度 ( $g$  为重力加速度)。因此激光的发明使得对光压的实验研究有了突破性的进展。

上世纪 70 年代初,人们开始对激光辐射压力进行了全面和深入的研究,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偏转<sup>[26]</sup>、激光冷却<sup>[27]</sup>、光子粘团<sup>[28]</sup>、原子喷泉等实验技术。与此同时,另一类有关光压的研究也在进行着,这就是激光对于宏观微粒的辐射压力研究(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。

这里简要介绍一下激光力学效应应用中的原子的激光冷却和微粒的激光悬浮。

**原子的激光冷却:**激光器的问世使得德国的 H. Walther 和他的同事们及法国的 P. Jacquinet 和他的小组在 1972~1973 年间用激光推动原子取得了成功。1970~1975 年间,贝尔实验室的 A. Ashkin、斯坦福大学的 T. W. Hansch 和 A. L. Schawlow 以及西雅图大学的 D. Wineland 和 H. Dehwelt 提出了让原子减速的建议。1985 年,贝尔实验室的朱棣文和他的小组用 6 束激光照射到通过其他方法减速下来的 Na 原子团上,结果把原子温度更进一步的降低到  $240\mu\text{K}$ 。激光制冷技术使朱棣文等获得了 1997 年诺贝尔物理学奖。

**微粒的激光悬浮:**光场中的微粒由于光压的作用,受到一个沿光传播方向的推力。而光悬浮就是以光对微粒的推力为基础的。这类光压的产生可以不用考虑构成介质材料的原子或分子内部能态的变化,而只是将宏观微粒视为一个整体,对入射光波发生经典的反射和折射过程。1970 年, A. Ashkin 首次报道了水溶液中,乳胶微球在水平方向传播的高斯激光束中的运动情况。微粒先被拉向光轴,

然后沿光束传播方向加速,达到每秒数微米的速度。用两束等强度激光相向照射,控制它们的束腰位置,可以使微粒平衡在两束腰间,实现了光悬浮。后来他把激光的传播方向取为竖直向上,使光压与微粒本身的重力相平衡,从而用单束激光实现了光悬浮。

### 2.2.3 单光束梯度力光镊原理

通常光对物体的作用力都是推力。但是,在一定条件下光也可以对物体产生拉力,或更一般的,产生束缚力。这就牵涉到光对物体作用的梯度力。

为了阐明梯度力的概念,我们以透明介质小球为模型来进一步讨论光压对物体的作用,这里小球折射率  $n$  应大于周围媒质的折射率  $n_0$ 。选用透明介质小球作为模型,是考虑到球形物体的高度对称性便于讨论,另一方面生物细胞大多数近似是透明的球状体。为了形象的揭示出光束如何产生对微粒的束缚力,采用几何光学近似,通过考察光穿过介质小球的行为来分析光作用于物体的力。

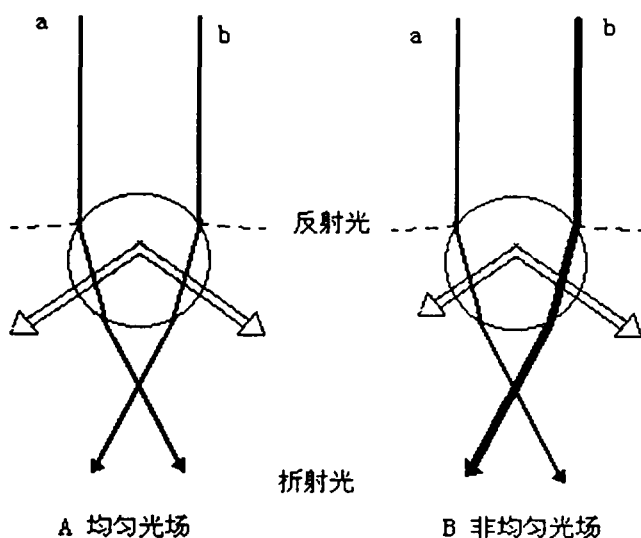


图 2.1 梯度力的起源

当一束光穿过这个小球时,由几何光学可确定光传播的路径。如图 2.1 所示,以  $a$ 、 $b$  两条光线为代表,光线在进入和离开球表面时产生折射(黑粗线表示)同时在表面也产生一定的反射(虚线表示)。若折射前所有的光线均沿  $Z$  方向传播,即光的动量是沿  $Z$  方向的,然而离开小球的光传播方向有了变化,也即光的动量有了改变。由于动量守恒,各束光施加给小球一个与它们动量改变等值,但反向的动量。与之相应的有力  $F_a$  和  $F_b$  施加在小球上。若小球处于均匀光场中,

则各束光给予小球的力在横向上将完全抵消。如果小球处在一个非均匀的光场中，小球所受到的作用力在横向上就不会完全抵消。例如，小球置于如图 2.1B 中光自左向右增强的光场中。其结果是，与左边的光线 a 相比较，右边较强的光线 b 作用于小球，使小球获得较大的动量，从而产生较大的力 ( $F_b$ )。结果，射到小球上的所有光束的合力在横向上不再完全抵消。总的合力是把小球推向右边略偏下处。小球在这样一个非均匀（即强度分布存在梯度）的光场中所受到的是一个指向光最亮点的力。这种由于光场强度分布不均匀而产生的力，我们称之为梯度力。实际上，当光束入射到小球上时，除了产生梯度力外，还有光被反射而施加在小球上的力，这个力习惯上称之为散射力。

对于强会聚的激光束，如一束经过显微物镜强聚焦的激光，照射到透明微粒上，激光束受到微粒的反射和折射作用，导致光束动量的改变。根据动量守恒原理，微粒的动量也发生相应的改变，即微粒受到光场的作用力，包括梯度力和散射力。散射力，力的方向与光的传播方向一致，它趋向于使小球沿光束传播方向运动；梯度力，小球在焦点之外时，它指向光最亮处，表现为拉力，小球在焦点之内时，它也指向光最亮处，表现为推力。因此对于强聚焦的激光光场来说，处于光焦点附近的微粒都受到一个趋向于焦点的力，光场中任何横向的偏离都会导致因横向上的梯度力而产生回复力，而任何纵向的偏离都会导致因纵向梯度力而产生回复力。故在光焦点附近的微粒将会受到该回复力而被稳定的束缚于焦点附近（如图 2.2 所示）。这样，一束高度会聚的光束便构成了三维空间的一个势场或势阱，能量最低处在焦点附近，这就是单光束梯度力光镊。单光束梯度力光镊主要靠光场梯度力作用来实现稳定捕获微粒，它的捕获条件为：光场处于强会聚状态，且光场中微粒受到的梯度力大于散射力。

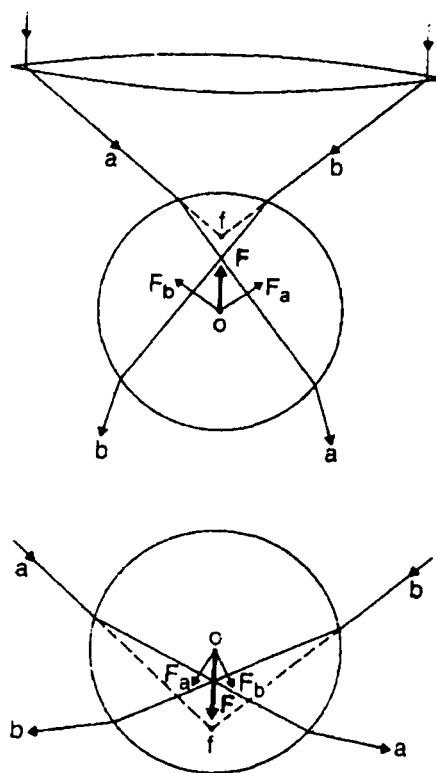


图 2.2 单光束梯度力光阱

由此可见,“光镊”其实是比拟宏观机械镊子对光势阱效应的一种形象描绘。所以当我们在研究光镊自身的物理性质时往往采用“光阱”、“光梯度力阱”或“光学势阱”等物理术语。而对利用这一物理性质形成的一种技术手段或工具,人们赋予它相应于机械镊子而又不失其本质的这样一种独特的命名—光镊。与机械镊子相比,光镊是以一种温和的非机械接触的方式来完成夹持和操纵物体的。它是一种无损伤的操作工具,不仅与机械镊子相比无明显的机械损伤,而且还可通过选用适当波长的激光,使形成的光镊对物质的热学或化学等效应也非常弱。尤为重要,在形成的光镊阱域(光镊作用区域)内,物体一旦落入这个区域就有自动移向光束中心的可能,表现出光镊具有“引力”效应。已经落入阱中的微粒,若没有强有力的外界扰动,物体将不会偏离光镊中心。由于各种外界作用或微粒自身运动等原因,微粒即使偏离了光镊中心也会很快恢复原位,所以光镊又酷似一个陷阱。简单的说,强会聚的激光光束形成了一个势能较低的区域(势阱),即从这区域内到区域外存在一个势垒,当阱中物体的动能不足以克服势垒时,它将继续停留在阱内。

## 2.3 光镊在胶体体系研究中的应用

胶体体系是存在相当广泛的一种物质体系。在人们的日常生活和生产活动中,人类都不断的与各种不同的胶体体系打交道,因而该领域的研究具有着非常广泛的应用意义,对胶体体系性质的研究一直是自然科学中一个活跃的研究领域。其中粒子的流体动力学相互作用、静电相互作用、空缺和空间相互作用、离子间结合相互作用等以及其对胶体体系性质的影响都是非常重要的研究课题。

对胶体体系性质的研究已经有很长的历史,在光镊应用到胶体科学领域之前,这些研究大多是利用胶体的宏观性质来进行的<sup>[29-33]</sup>。然而关于胶体宏观性质的微观本质——胶体粒子间的微观相互作用及动力学过程,却由于缺乏合适的微观研究工具,而难以进行实验研究。此外,由于粒子之间的相互作用一般都很微弱,也给精确测量带来很大困难。在没有合适的手段从粒子层次进行研究的时候,很多关于粒子相互作用的工作都是从理论上建立模型来进行的<sup>[34,35]</sup>。然而该领域的进一步发展几乎决定性的依赖于对单个微粒相互作用过程的研究,因而找到合

适的手段和方法就变得非常必要。光镊出现以后，很快就成为在粒子层次对胶体科学进行实验研究的重要工具。

光镊可以捕获和移动几十纳米到几十微米大小的粒子，它还可以作为力的探针，测量皮牛亚皮牛量级的力。对于很多胶体体系来说，其中的粒子的大小恰好在这个范围，而粒子之间的微小作用力也可以使用光镊测量，因而光镊成为了研究胶体体系性质的一个方便的工具。此外，由于光镊是利用高会聚激光束对粒子的力的作用来操控粒子的，是“非接触”的，对操控对象的周围环境影响很小，从而使得研究人员在不影响被操控粒子性质的情况下观察粒子，并研究粒子的性质或从粒子的层次研究各种体系宏观性质的微观机理。光镊技术基于这些特点，受到了科研人员的关注，它已经被引入到对胶体悬浮液、大分子分散体系的性质的研究中<sup>[36,37]</sup>，特别是用来对胶体体系的微观动力学过程和微粒间相互作用以及微粒与表面之间的相互作用等方面进行研究。

光镊操控、高分辨率成像以及数字图像分析一般是结合在一起的，它们的结合形成了一种强大的实验技术。在该实验技术中，光镊技术解决了对粒子的捕获、悬浮、操控或固定的关键技术，利用高分辨率成像和数字图像分析等手段，还可以对粒子的运动轨迹及粒子间的相互作用力进行测量。而光镊操控技术也在不断改进，各种新的光镊技术也拓宽了它所适用的研究范围。这些新技术包括：闪频 (blinking) 光镊、扫描光镊、双光镊和多光镊等。例如在光路中插入一个频率开关，就可以形成以一定频率不断开关的闪频光镊，它可以实现交替地捕获和释放粒子，在光镊关闭的时间中，粒子可以保持在热随机力和其它作用力的作用下的自由运动状态，再利用数字显微摄像技术<sup>[38]</sup>就可以精确的测量其自由运动的轨迹，对测量粒子的扩散以及一些相关的作用力来说，这种光镊非常实用和方便。扫描光镊<sup>[39]</sup>、双光镊<sup>[40]</sup>和多光镊等技术的发展也使得光镊适合于更加复杂的研究，扩展了光镊在胶体体系中的应用范围。总之，光镊技术可以限制粒子的运动，可以在条件被严密控制的情况下精确观测单个粒子的动力学过程，还可以测量粒子间的相互作用力，这对研究微粒的个体行为和彼此间的相互作用是非常重要的。



### 2.3.1 粒子扩散的研究

利用前面提到的以一定频率开关的光镊,可以测量布朗运动粒子的扩散系数<sup>[40]</sup>。测量方法可以通过 Einstein-Smoluchowsky 方程:

$$\frac{1}{N} \sum_{i=1}^n |\mathbf{r}_i(t) - \mathbf{r}_i(0)|^2 = 2dDt$$

其中  $t$  表示粒子每步运动的时间,  $d$  表示粒子运动的空间维数,  $\mathbf{r}_i(0)$  与  $\mathbf{r}_i(t)$  分别为粒子在第  $i$  步运动的起始和最终的位置。这样,只要测量出  $\mathbf{r}_i(t)$  和  $\mathbf{r}_i(0)$ , 就可以用来计算扩散系数  $D$ 。利用这种方法不仅可以测量扩散系数,更重要的是,它可以用来测量在某一特定几何位置的扩散系数,这在没有光镊作为操控手段的时候是无法实现的。这种在精确控制的条件下单个粒子扩散的研究可以作为更复杂的研究的基础,并可以对胶体的一些基本作用过程给出新的见解。

### §2.3.2 流体动力学相互作用

粒子的自由运动会因为与其它粒子或表面的流体动力学相互作用而受到影响,即便在与表面或者其他粒子相距比较远的地方这种影响仍然可能很大。理论上给出,与附近的表面之间的流体动力学相互作用将会抑制粒子的扩散,而且不管是在纵向还是横向上都会有这样的抑制效应<sup>[41]</sup>。要从实验验证这一抑制效应,并测量该抑制效应和粒子与表面距离的关系,就必须能够测量粒子在空间给定位置处的扩散系数,光镊正是实现这一目标的有效手段。Binhua Lin 等人<sup>[42,43]</sup>利用上述的间断性光镊以及数字成像技术,研究了表面对粒子横向和纵向扩散的

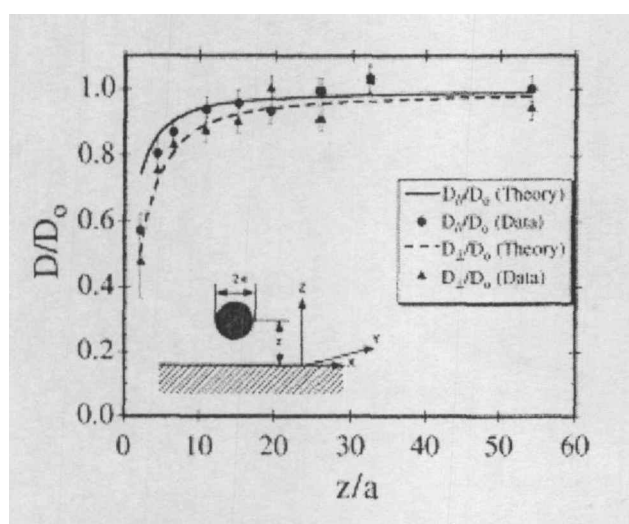


图 2.3 利用上述的闪频光镊以及数字成像技术,研究单表面对粒子横向和纵向扩散的影响<sup>[42]</sup>。

影响。他们用光镊控制粒子离表面的距离,并以 1Hz 的频率开关光镊,1 秒中光镊开关的时间均为 0.5 秒,在粒子自由运动的时间内,测量粒子在横向和纵向的扩散,从而分析得出粒子与表面距离一定的情况下表面对粒子扩散的影响,并给出了与理论定量上一致的结果,如图 2.3 所示。

Crocker<sup>[16]</sup>扩展了前面所提到的方法,采用了以一定频率开关的双光镊,用以捕获两个微米尺度粒子,并对它们在微米尺度距离下的流体动力学相互作用进行了研究。在这种情形下,粒子的扩散可以分成四个部分:两个小球的质心的扩散,也即它们整体的扩散,包括两小球连线方向和垂直两小球连线的方向的扩散两部分;还有两小球相对的扩散,也同样包括小球连线方向和垂直连线方向两部分。实验测量出来的这四个扩散系数和距离的关系与 Batchler 的预测<sup>[44]</sup>一致。Eric R. Dufresne 等研究人员还把体系变得更为复杂,除了两个小球之外,还增加了单表面的影响,他们使用双光镊捕获两个胶体小球,观察它们在单个表面附近时,小球之间的流体动力学相互作用行为<sup>[45]</sup>。其结果显示即使在小球与表面的距离比小球的半径大一个量级的时候,表面仍然会影响小球之间的相互作用。

### 2.3.3 静电相互作用

分散在分散介质中,带很高表面电荷的胶体粒子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粒子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<sup>[34,35]</sup>做对比的精度,提供了实验依据,使得人们对理论以及相互作用过程进行更深入的探讨。

Crocker 和 Grier<sup>[14,15,38]</sup>使用双光镊捕获然后释放两个分离的静电稳定的胶体粒子,然后对这种存在静电相互作用的两个粒子的布朗运动轨迹进行分析计算<sup>[34]</sup>,得出了粒子间的相互作用势,测量的空间精度为 50nm,能量精度为 2 meV。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<sup>[14,15]</sup>,其相互作用势能曲线的结果见图 2.4<sup>[15]</sup>。

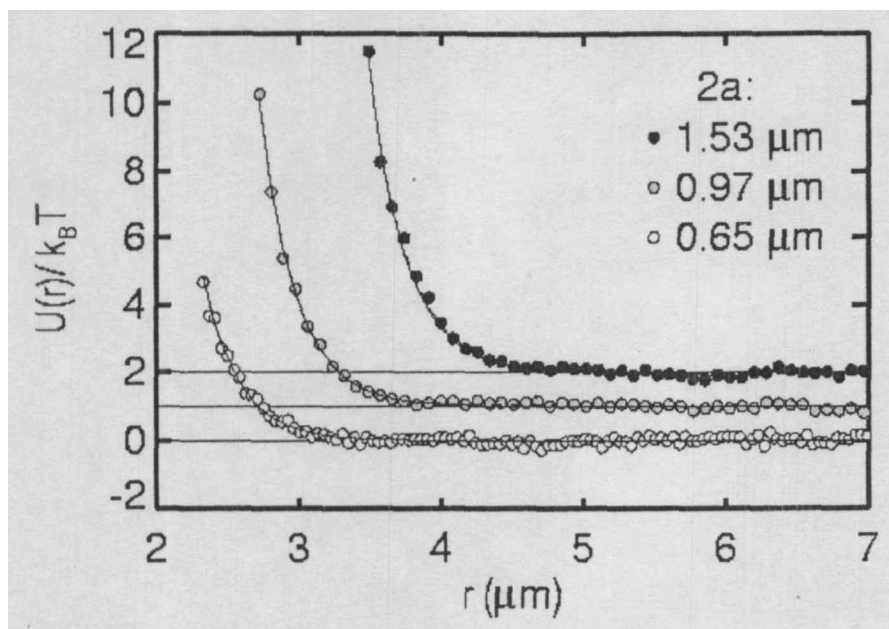


图 2.4 对三种不同直径的小球所测量的相互作用势能图，曲线为 DLVO 理论的拟合曲线，拟合参数为双电层厚度和表面有效电荷密度<sup>[15]</sup>。

但是当同样的小球被限制在两个玻璃表面间的一个薄层之内时，实验结果却显示了 DLVO 理论中所没有预示的长程吸引力部分，如图 2.5<sup>[15]</sup>。

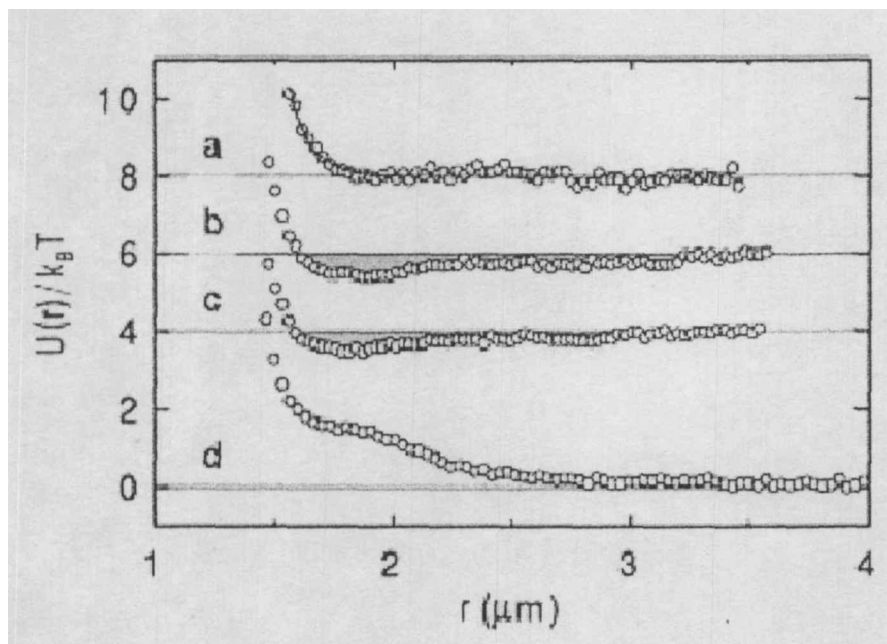


图 2.5 两个在平行表面之间的粒子的相互作用势能，粒子直径 0.97 微米，两个平面的距离分别为(a) $6.5 \pm 0.5 \mu\text{m}$ ，(b) $4.0 \pm 0.3 \mu\text{m}$ ，(c) $3.5 \pm 0.3 \mu\text{m}$ ，(d) $2.6 \pm 0.3 \mu\text{m}$ <sup>[16]</sup>。

这些研究结果使一些研究人员开始重新研究长程静电势能的具体形式。这将推动静电相互作用模型和理论的发展,增进人们对粒子之间的静电相互作用的认识。

### 2.3.4 空缺相互作用 (depletion interaction) 和空间相互作用 (steric interaction)

在胶体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<sup>[46]</sup>。空缺相互作用和空间相互作用直接影响体系的稳定性,具有重要的研究价值。这两种相互作用形式本身比较复杂,光镊在这些领域的优势是它可以直接从粒子层次研究这些复杂的相互作用。而这些研究结果也使得人们对该领域的认识更加深入。

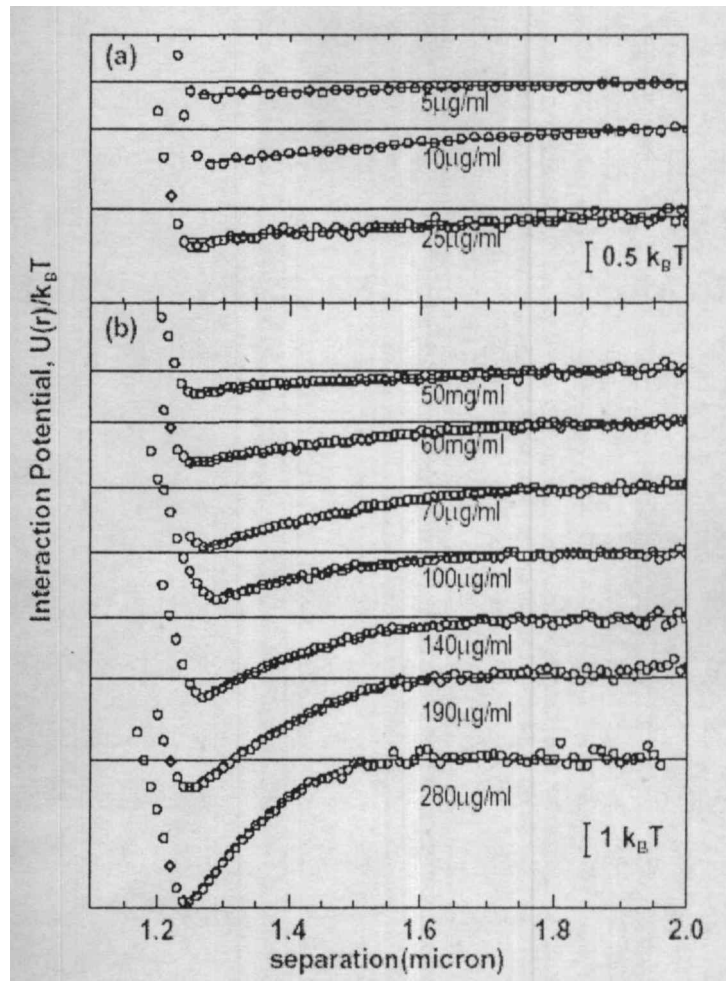


图 2.6 两直径为 1.25 微米的硅胶小球的相互作用势能图。a 表示在大分子浓度较低的情况, b 表示在大分子浓度比较高的情况。图中圆圈表示实验的数据, 实心的曲线表示理论的结果<sup>[47]</sup>。

1996年, Dinsmore, Yodh, 和 Pine<sup>[47]</sup>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, 给出了研究粒子与粒子之间空缺相互作用的微观方法。其后, Ritu Verma 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<sup>[48]</sup>, 在扫描光镊中, 粒子在光镊扫描的轨迹上可以自由运动, 而在其它方向上, 粒子被完全限制。他们用扫描光镊捕获两个粒子, 并对其运动进行分析, 得到了粒子之间相互作用势(见图 2.6)<sup>[48]</sup>, 结果可用 AO 模型<sup>[49, 50]</sup>解释。不久以后, J. C. Crocker 也利用线扫描的光镊, 对有其它粒子存在下的胶体粒子相互作用进行了研究。在他们的实验中, 胶体粒子被许多很小的粒子包围, 他们对这种体系中的胶体粒子之间的空缺相互作用<sup>[51]</sup>进行了测量, 发现在小的粒子浓度比较低的情况下, 测量出的相互作用力与 AO 模型<sup>[49, 50]</sup>给出的一致, 但是当小的粒子浓度变大时, 相互作用势能中出现了 AO 理论中所没有的排斥部分, 如果小的粒子的浓度进一步增大, 结果显示相互作用势能出现了摆动, 即吸引和排斥交替出现, 这是因为小的粒子会在胶体粒子周围形成包围层, 而小的粒子浓度增大时, 包围层的效果变得更加明显。

与空缺相互作用不同, 如果粒子吸附大分子, 也会引起相互作用的变化, 称为空间相互作用。如果粒子表面被吸附层完全覆盖, 其空间排斥作用将会使胶体体系变得稳定。R. J. Owen 等利用用线扫描光镊测量了粒子之间的空间排斥相互作用势<sup>[52]</sup>, 它与粒子之间的距离的关系呈指数衰减规律, 该研究还给出了衰减系数的值。

### 2.3.5 胶体稳定性的研究

孙祉伟等人利用光镊可捕获两个以上粒子的特性进行人工诱导碰撞, 测量体系的稳定程度, 如图 2.7。他们利用光镊先后捕获两个单个的粒子, 使得它们在光镊所形成的势阱中发生碰撞, 一段时间后观察碰撞的结果是聚集还是分散, 并进行统计, 从而可得到粒子的聚集率。利用这一方法得到了衡量分散体系稳定性的重要参数—稳定率<sup>[53]</sup>, 这是首次从粒子相互作用的层次上直接测量该参数。

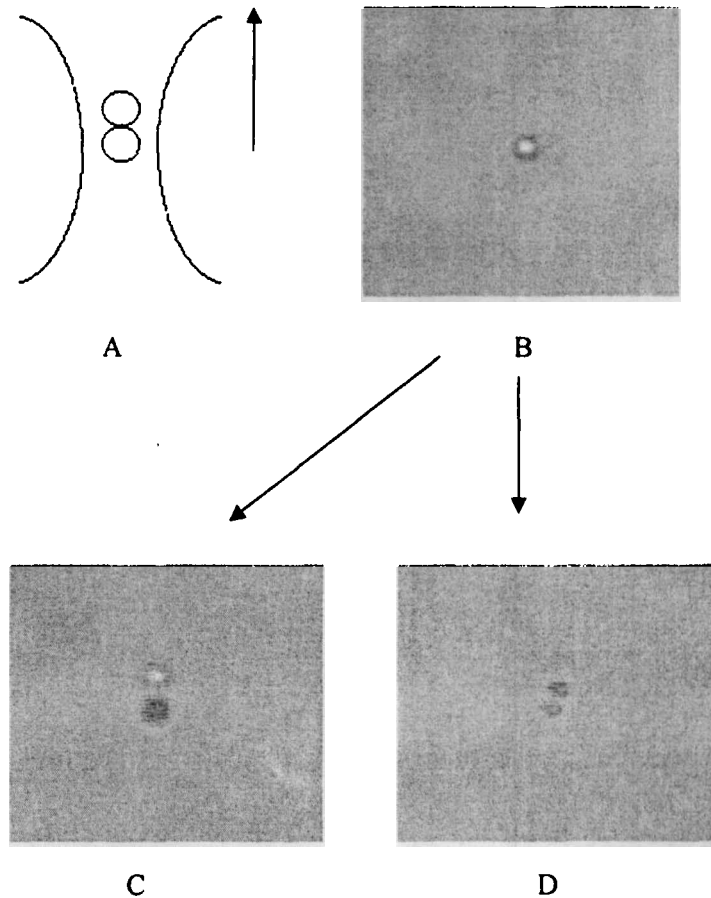


图 2.7 实验中两个粒子的状态

- A. 两个粒子在光镊中的方位示意图,  $z$  方向为垂直水平面方向, 也是激光传播方向
- B. 显微镜中看到的光镊捕获了两个粒子的图像
- C. 光镊关闭后两个粒子分开的情况下的图像
- D. 光镊关闭后两个粒子结合的情况下的图像<sup>[53]</sup>

### 2.3.6 胶体粒子结合性质的研究

2000 年, 孙祉伟等人利用光镊捕获多个粒子组成的粒子团, 通过改变流体的速度从而改变粒子所受的剪切力, 研究了聚集体的结合强度<sup>[54]</sup>, 实验现象如图 2.8 所示。作者还利用光镊测量微小力的功能得到了粒子间的结合力。具体方法是, 先利用光镊捕获一个小球使它与一个固定在底面上的小球结合, 然后再利用光镊作用于该小球, 缓慢增加激光功率, 直到在某一临界功率, 将该小球与固定小球分开, 测量该临界功率下的光镊产生的最大阱力就可以估算出粒子间的结合力。光镊可作为力探针的功能还将有可能在胶体体系中粒子间相互作用的研究中

发挥更大的作用。

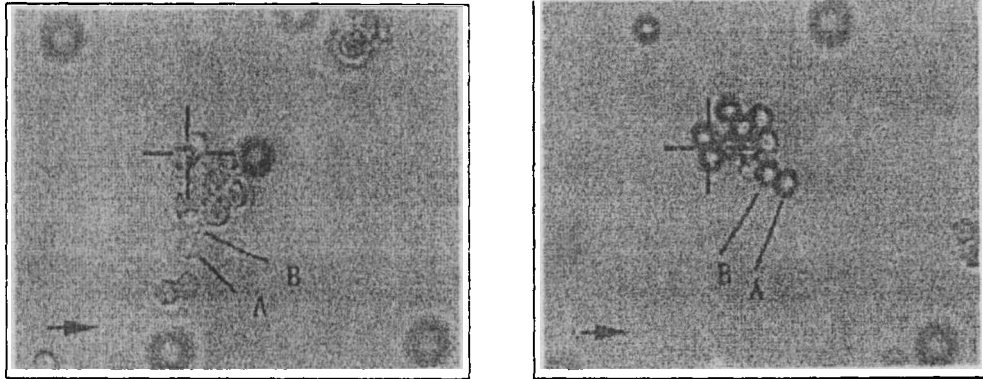


图 2.8 用光镊拖动多个粒子组成的粒子团，研究流场对聚集体的剪切作用。图中“+”表示光镊的位置，左图流速为 0，右图流速为  $15\mu\text{m/s}$ <sup>[54]</sup>

他们还利用光镊逐个操纵微粒实现了分散体系种微粒稳定的人为空间排布<sup>[55]</sup>。这种方法几乎可以涉及各种三维空间图形，因而可能在微器件，微机械的制造和组装，细胞组织工程领域发挥重要作用。

2004 年，Pantina and Furst 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粒子间的结合力（如图 2.9），发现比 DLVO 理论预言的结合力要大得多，说明在小球接触后的这种近距离相互作用的情况下，DLVO 理论不再适用，需要新的理论来描述<sup>[56]</sup>。2005 年，他们利用光镊研究了单条胶体粒子链的弯曲性质（如图 2.10），

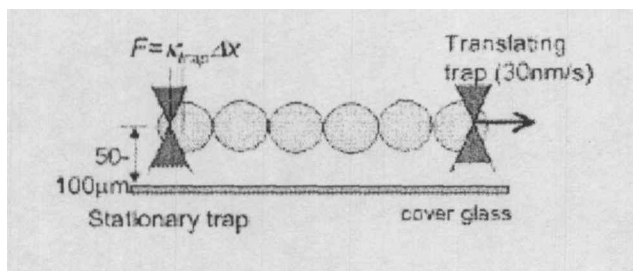


图 2.9 利用扫描光镊排布胶体粒子单链后，用光镊测量胶体粒子间的结合力<sup>[56]</sup>

证实粒子间的结合可以承受很大的力矩，并测量出了力矩的大小，发现存在一临界力矩，在临界力矩下，弯曲呈弹性，高于临界力矩，小球间会产生相对位移<sup>[57]</sup>。

2006年,他们继续研究了不同价数的盐对胶体粒子间结合能的影响<sup>[56]</sup>。为研究胶体粒子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。

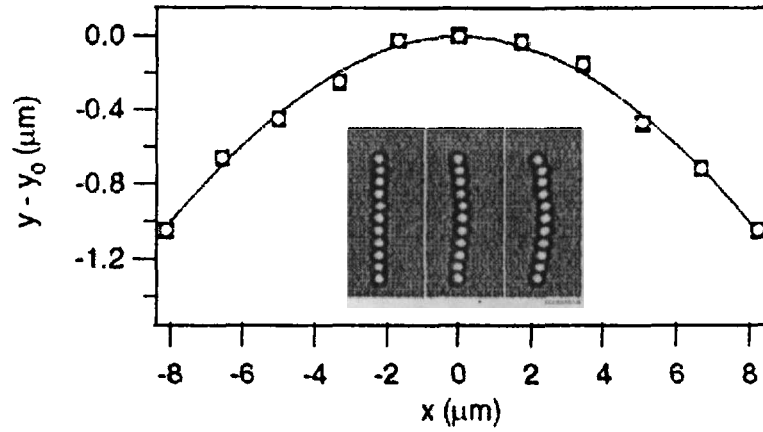


图 2.10 利用光镊测量胶体粒子单链的弯曲性质<sup>[57]</sup>



## 本章参考文献

1. 李银妹,《光镊原理、技术和应用》,中国科学技术大学出版社,1996.
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. A.Ashkin, "History of optical trapping and manipulation of small-neutral particle, atoms, and molecules," *IEEE J.Sel.Top. Quantum Elec.* **6**, 841-856 (2000).
4. L.P. Ghislain, N.A. Switz, W.W. Webb, "Measurement of small forces using an optical trap," *Rev. Sci. Instr.* **65**, 2762-2768 (1994).
5. A. Rohrbach, E.H.K. Stelzer. "Trapping forces, force constants, and potential depths for dielectric spheres in the presence of spherical aberrations." *Appl.Opt.*, **41**, 2494-2507 (2002).
6. R.I. Litvinov, H. Shuman, J.S. Bennett, J.W. Weisel. "Binding strength and activation state of single fibrinogen-integrin pairs on living cells." *Proc. Nat.Acad.Sci.*, **99**, 7426-7431 (2002).
7. F. Gittes, C.F. Schmidt. "Signals and noise in micromechanical measurements." *Methods in Cell Biology*, **55**, 129-156 (1998).
8. F. Gittes, C.F. Schmidt. "Interference model for back-focal-plane displacement detection in optical tweezers." *Opt. Lett.*, **23**, 7-9 (1998).
9. A. Pralle, M. Prummer, E.L. Florin, et al. "Three-dimensional highresolution particle tracking for optical tweezers by forward scattered light." *Microscopy Research and Technique*, **44**, 378-386 (1999)
10. K. Svoboda, P.P. Mitra, S.M. Block. "Fluctuation analysis of motor protein movement and single enzyme-kinetics." *Proc. Nat. Acad. Sci.* **91**, 11782-11786 (1994).
11. C. Bustamante, S.B. Smith, J. Liphardt, D. Smith. "Single-molecule studies of DNA mechanics." *Current Opinion in Structural Biology*, **10**, 279-285 (2000).
12. M.W. Berns, Y. Tadir, H. Liang, et al. "Laser scissors and tweezers." *Methods in Cell Biology*, **55**, 71-98 (1998).
13. G. Wright, M.J. Tucker, P.C. Morton, et al. "Micromanipulation in assisted reproduction: A review of current technology." *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, **10**, 221-226 (1998).
14. J.C. Crocker, D.G. Grier. "Microscopic measurement of the pair interaction potential of charge stabilized colloid." *Phys. Rev. Lett.*, **73**, 352-355 (1994).
15. J.C. Crocker, D.G. Grier. "When like charges attract: The effects of geometrical confinement on long-range colloidal interactions." *Phys. Rev. Lett.*, **77**, 1897-1900 (1996).
16. Y.N. Ohshima, et al. "Direct measurement of infinitesimal depletion force in a

- colloid-polymer mixture by laser radiation pressure." *Phys. Rev. Lett.*, **78**, 3963–3966 (1997).
17. J.C. Crocker, J.A. Matteo, A.D. Dinsmore, et al. "Entropic attraction and repulsion in binary colloids probed with a line optical tweezers." *Phys.Rev.Lett.* **82**, 4352–4355 (1999).
  18. R. Verma, J.C. Crocker, T.C. Lubensky, et al. "Attractions between hard colloidal spheres in semiflexible polymer solutions." *Macromolecules*, **33**, 177–186 (2000).
  19. A.G. Yodh, et al. "Entropically driven self-assembly and interaction in suspension." *Phil. Trans. Roy. Soc. A*, **359**, 921–937 (2001).
  20. G.M. Wang, E.M. Sevick, E. Mittag, et al. "Experimental demonstration of violations of the second law of thermodynamics for small systems and short time scales." *Phys. Rev. Lett.* **89**, 050601 (2002).
  21. C. Mio, T. Gong, A. Terray, et al. "Morphological control of mesoscale colloidal models." *Fluid Phase Equilibria*, **185**, 157–163 (2001).
  22. Sun ZW, Li YM, Xu SH, Lou LR, et al. "A direct test on the possibility of an aggregate in dispersion being disturbed by shear flow," *J.Colloid Interface Sci.* **242**, 158 (2001).
  23. R. Verma, J.C. Crocker, T.C. Lubensky, et al. "Entropic colloidal interactions in concentrated DNA solutions." *Phys. Rev. Lett.* **81**, 4004–4007 (1998).
  24. 母国光等《光学》人民教育出版社(1978) P628–629.
  25. 雷仕湛等《光的世界》科学普及出版社(1980) P47–57.
  26. J.E. Bjorkholm, R.R. Freeman, D.B. Pearson. "Efficient transverse deflection of neutral atomic beams using spontaneous resonance-radiation pressure." *Phys.Rev.A*, **23**, 491 {1981}
  27. W.D. Phillips, H.J. Metcalf. "Laser cooling and electromagnetic trapping of neutral atoms." *J. Opt. Soc. Am, B*, **2**, 1751. (1985).
  28. A. Aspect, J. Dalibard, A. Heidmann, et al. "Cooling atoms with stimulated emission." *Phys.Rev.Lett.*, **57**, 1688 (1986).
  29. J.W.Lichtenbelt, H.J.M.Ras, and P.H.Wiersema, "Turbidity of coagulation lyophobic sols," *J. Colloid Interface Sci.* **46**, 522-527 (1974).
  30. Z.W.Sun, and R.L.Qiao, "An experimental study of the influence of weak convection on perikinetic coagulation," *J. Colloid Interface Sci.* **223**, 126-132 (2000).
  31. G.R.Zeichner, and W.R.Schowalter, "Effects of hydrodynamic and colloidal forces on the coagulation of dispersions," *J. Colloid Interface Sci.* **71**, 237-253 (1979).
  32. M.B.Einarson, and J.C.Berg, "Electrosteric stabilization of colloidal latex dispersions," *J. Colloid Interface Sci.* **155**, 165-172 (1993).
  33. R.Amal, J.R.Coury, J.A.Raper, W.P.Walsh, and T.D.Waite, "Structure and kinetics of

- aggregating colloidal hematite," *Colloids Surf.* **46**, 1-19 (1990).
34. W.B.Russel, D.A.Saville, and W.R.Schowalter, 《Colloidal Dispersions》 Cambridge: Cambridge University Press 1989
  35. (美) P.C.Hiemenz 著, 周祖康, 马季铭 译 《胶体与表面化学原理》 北京大学出版社 1986.
  36. D.G.Grier, "Optical tweezers in colloid and interface science," *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2**, 264-270 (1997)
  37. 徐升华, 李银妹, 楼立人, "光镊--研究分散体系的新手段," *激光与光电子学进展*, **40**, 28-33 (2003).
  38. J.C.Crocker, and D.G.Grier, "Methods of digital video microscopy for colloidal studies," *J. Colloid Interface Sci.* **179**, 298-310 (1996).
  39. K.Sasaki, M.Koshio, H.Misawa, N.Kitamura, and H.Masuhara, "Pattern-formation and flow-control of fine particles by laser-scanning micromanipulation," *Opt. Lett.* **16**, 1463-1465 (1991).
  40. E.Fallman, and O.Axner, "Design for fully steerable dual-trap optical tweezers," *Appl. Opt.* **36**, 2107-2113 (1997).
  41. J.Happel, and H.Brenner, 《Low Reynolds Number Hydrodynamics》 Dordrecht: Kluwer 1991.
  42. 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).
  43. B.H.Lin, J.Yu, and S.A.Rice, "Diffusion of an isolated colloid sphere confined between flat plates," *Colloids Surf. A* **174**, 121-131 (2000).
  44. G.K.Batchelor, "Brownian diffusion of particles with hydrodynamic interaction," *J.Fluid Mech.* **74**, 1-29 (1976).
  45. 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).
  46. 郑忠, 李宁, 《分子力与胶体的稳定和聚沉》 高等教育出版社 1995.
  47. A.D.Dinsmore, A.G.Yodh, and D.J.Pine, "Entropic control of particle motion using passive surface microstructures," *Nature* **383**, 239-242 (1996).
  48. R.Verma, J.C.Crocker, T.C.Lubensky, and A.G.Yodh, "Entropic colloidal interactions in concentrated DNA solutions," *Phys. Rev. Lett.* **81**, 4004-4007 (1998).
  49. D.Asakura, and F.Oosawa, "Interactions between particles suspended in solutions of macromolecules," *J.Polym.Sci.* **33**, 183-192 (1958).
  50. 王果庭, 《胶体稳定性》 科学出版社 1990.

51. 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 tweezers," *Phys. Rev. Lett.* **82**, 4352-4355 (1999).
52. 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," *Phys.Rev.E* **64**, art. No.11401 (2001).
53. 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," *J.Chem.Phys.* **119**, 2399-2405 (2003).
54. Z.W.Sun, Y.M.Li, S.H.Xu, L.R.Lou, G.L.Dai, and X.Q.Dong, "A direct test on the possibility of an aggregate in dispersion being disrupted by shear flow," *J.Colloid Interface Sci.* **242**, 158-163 (2001).
55. S.H.Xu, Y.M.Li, L.R.Lou, H.T.Chen, and Z.W.Sun, "Steady patterns of microparticles formed by optical tweezers," *Jpn.J.Appl.Phys.* **41**, 166-168 (2002).
56. J.P.Pantina and E.M.Furst, "Directed assembly and rupture mechanics of colloidal aggregates," *Langmuir* **20**, 3940-3946 (2004).
57. J.P.Pantina and E.M.Furst, "Elasticity and critical bending moment of model colloidal aggregates," *Phys.Rev.Lett.* **94**, 138301 (2005).
58. J. P. Pantina and E. M. Furst, "Colloidal aggregate micromechanics in the presence of divalent ions," *Langmuir* **22**, 5282 (2006).



## 第3章 钛宝石激光光镊系统

为了进行微小力测量的相关研究，搭建了大功率的激光光镊，即钛宝石激光光镊系统。因为我们实验室原来光镊设备的激光功率最大只有 100mW 左右，远不能满足微小力的测量需要，所以才搭建此光镊系统，将光镊激光功率提升到瓦量级，测力范围提升到百皮牛。

本论文得工作主要部分是在钛宝石激光光镊系统上进行的，在本章中对其作一些介绍，并对一般光镊系统中位移测量、刚度标定和力的测量方法做了讨论，为后面章节的胶体粒子间相互作用力的测量研究打下基础。

### 3.1 系统概况和性能指标

#### 3.1.1 系统概况：

钛宝石激光光镊系统是以大功率的钛宝石激光器作为光镊光源搭建，能把胶体粒子排布成一定的结构，而且光镊捕获力强，可以在一定范围内（0-100pN）进行的微小力的测量。主要组成部分为：钛宝石激光器、显微镜、图像采集系统 CCD、电动平台控制系统等。

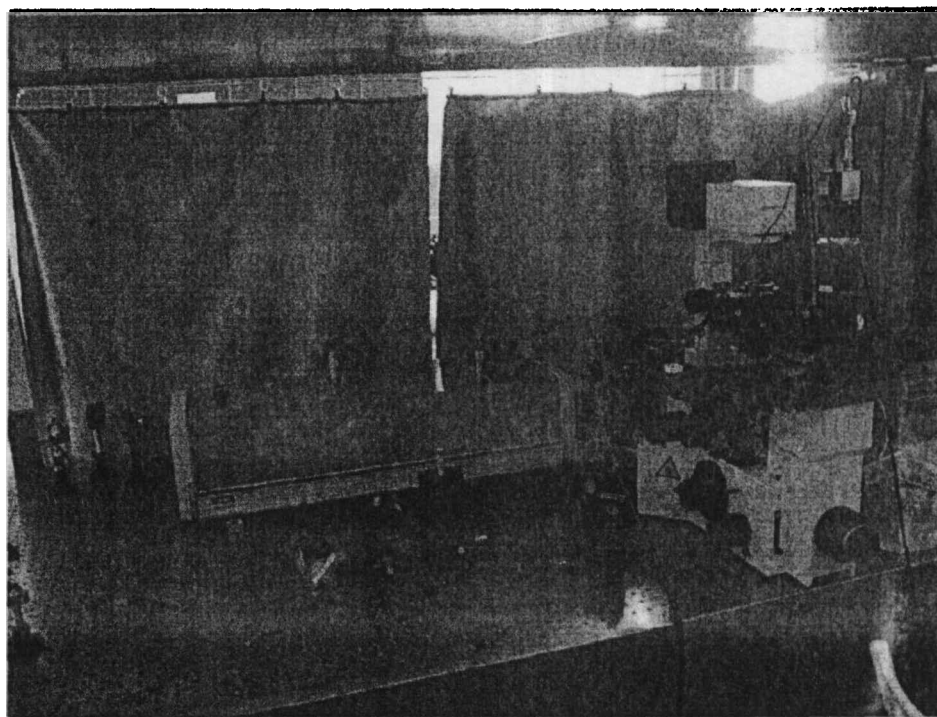


图 3.1 设备实物图

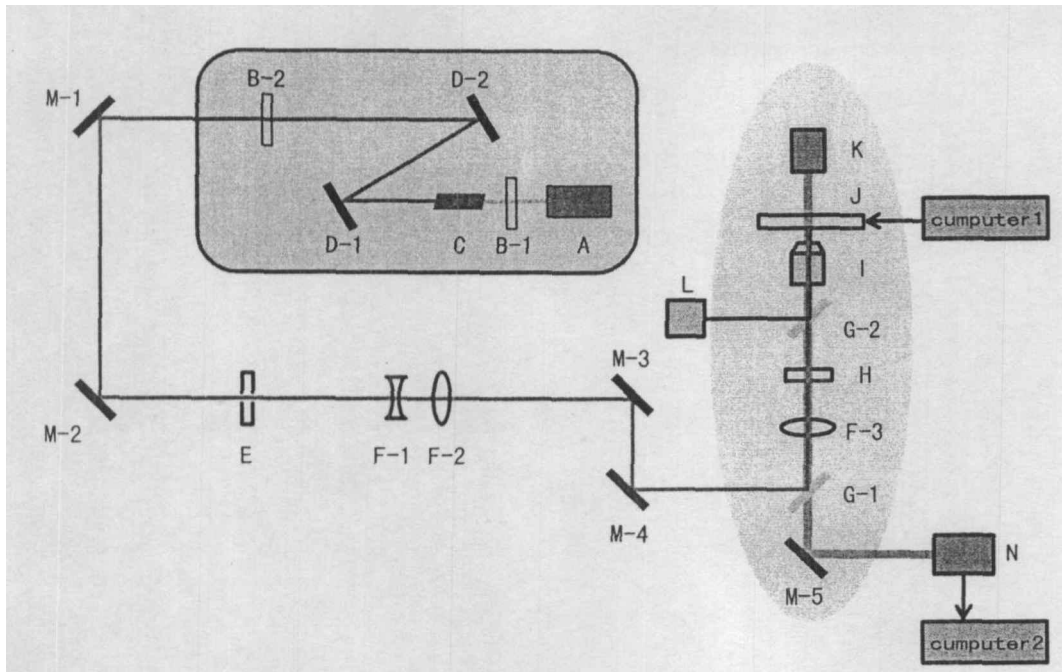


图 3.2 光路示意图

元件说明:

A	钛宝石激光器泵浦源		$\lambda = 533\text{nm}$ $P_{\text{max}} \sim 10\text{W}$
B	B-1	后腔镜	780nm 0度全反
	B-2	输出腔镜	780nm 0度部分反
C	钛宝石晶体		
D	D-1	腔内反射镜	780~810nm 全反
	D-2		
E	电子快门		
F	F-1	凹透镜	$f = -10\text{mm}$
	F-2	凸透镜	$f = 50\text{mm}$
	F-3	显微镜辅助透镜	$f = 120\text{mm}$
G	G-1	二色镜	45度反780nm, 透白光
	G-2	二色镜	45度反荧光, 透780nm
H	1.5×透镜组		

I	显微镜物镜		100×油浸物镜, NA=1.30
J	电动平台		
K	照明灯		
L	荧光光源		
M	M-1	反射镜片	780nm 45度全反
	M-3		
	M-4		
	M-2	反射镜片组	光路高度调节
	M-5	反射镜片	反射光进入 CCD
N	CCD 相机		MediaCybernetics CoolSNAP cf

### 3.1.2 性能指标:

钛宝石激光功率:  $P_{\max} \sim 1.5\text{W}$

光镊操控样品大小: 几十纳米~十几微米

光镊位移测量精度: 亚纳米

力的测量量程: 百皮牛

力的测量精度: 几飞牛

捕获力范围: 0-百皮牛

系统响应时间: 毫秒

## 3.2 系统设计

钛宝石光镊设备的主要研究对象都是微米和亚微米量级大小的各种微粒, 如胶体小球、生物细胞和生物大分子等, 肉眼是不可见的, 要想研究这样的对象, 首先应该用一些方式观察到样品或者显示出它的位置。另外, 在实验过程中样品的形态特征和运动情况等随时都可能变化, 这些现象也需要记录下来。为了满足这样的需要, 和几乎所有光镊设备一样, 这套光镊系统中也使用了一个 CCD 图像采集系统, 它的好处在于可以实时观察实验过程, 并可以保存录像。在硬件设备的基础上, 我们开发了相应的控制和分析软件, 可以对探测器得到的数据进行



分析计算,来得到我们所感兴趣的一些物理量。具体的情况在下面的章节中会进行更详细的介绍。

### 3.2.1 光镊光源——激光器

在本光镊系统中,我们选用了大功率的钛宝石激光器,此钛宝石激光器原来是以脉冲锁模输出的方式工作,由于输出的脉冲激光缝制能量很高,容易对捕获的小球或细胞形成热损伤,于是我们对其进行改造,不用原来的自动锁模系统,另外搭建谐振腔,使其以连续输出的方式工作,激光波长为 780nm,功率可达 2W。光束经过扩束准直后,耦合进入显微镜的物镜,以形成单光镊。

### 3.2.2 显微镜

我们选用倒置显微镜 Olympus IX70,所使用的物镜是 NA 值为 1.30 的 100 $\times$ 物镜。显微镜左侧下方的成像通道被改造成激光的进光通道,相应地显微镜中原有的一块分光棱镜被替换成一块二色镜,这块二色镜对激光高反射率反射,而将其它波长的照明光透射至目镜通道用来成像观察。显微镜上原有的双目镜筒也被改造,使得目镜和成像通道(安装 CCD)可以同时使用。

在实验中,为了获得适当的光镊捕获效果和更高的图像放大倍数,我们一般将显微镜中的 1.5 $\times$ 透镜组加入了光路中。在以下的几个章节中如果没有特别说明,则都是指的已加入的情况。

在这里说明一下荧光系统,有时候为了观察一些在显微镜下仍然无法直接观察到的生物分子和细胞器等,在显微镜上还装有一套荧光系统。实验前先对所感兴趣的分子或细胞器进行荧光染色,实验中衰减或关闭显微镜的照明光,打开荧光照明光,并选择合适的激发光波长,就可以使荧光染料分子发光,从而观察到所研究的对象。在使用荧光照明的时候有一个问题值得注意,由于荧光激发模块上有一个二色镜,这些二色镜都有固定的透射和反射性质,因此在使用荧光照明情况下,光镊的激光通常都无法透过这个二色镜进入物镜,也就是说荧光照明和光镊一般是无法同时使用的。

### 3.2.3 操控系统

假如只有简单的光镊，我们只能守株待兔地等待微粒自己进入光阱范围，也无法改变被捕获的微粒的空间位置。而如果在光镊系统中加入一些操控装置，来改变光阱与微粒的相对位置，操控被捕获微粒的空间位置，以及实现微粒与环境或者微粒之间的相对运动等，就可以大大地扩展光镊系统的功能。

本系统采用被动操控模式。被动操控模式指的是光束固定不动，通过控制目标粒子所在的液体环境来改变微粒与液体环境之间相对位置的操控模式，它是实验中最常用的操控模式。

实现被动操控一般是通过移动显微镜载物平台，并由此来带动样品池和池中液体的，这种方式的优点在于运动范围较广，基本上样品池的每个角落都可以呈现在 CCD 的视野中。为了对样品池进行程序化的精确的控制，可以将显微镜上原装的手动载物台替换成步进电机平台或更精确的压电扫描平台，使用自动的平台来驱动样品池运动。在钛宝石激光光镊系统中，我们使用了步进电机平台。它的横向运动范围是 1cm，精度是 1 $\mu$ m。利用这个电动平台，我们可以操控微粒与液体环境之间进行高精度的相对运动。

该平台附带有控制软件和开发平台，通过软件发出指令可以控制扫描平台进行三维的精确移动和空间定位。

### 3.2.4 数据采集系统 CCD

CCD 在钛宝石激光光镊系统中起着相当重要的作用，它可以让实验者实时观察研究对象的情况，可以记录实验的过程，CCD 的图像经过一定的分析处理还可以用来计算样品的运动轨迹。

CCD 的靶面被分割成了一个的感光元的阵列，在一定的曝光时间内，每个感光元上积累的电荷数目就对应了光强，也就对应了在图像中对应的像素的灰度等级。每个感光元的尺寸对应了图像中每个像素所代表的实际范围，也就决定了 CCD 的空间分辨能力。一方面，我们希望 CCD 的空间分辨能力更高，这样可以得到更多的对象的形状和均匀性等细节特征，这样的话要求感光元尺寸尽量小。在同样的感光元的灵敏度的前提下，感光元尺寸越小就意味着同一时间内可积累的电荷数目越少，得到的图像就越暗。尤其是在使用荧光观察一些生物分子

和细胞器时,荧光的强度是非常弱的,这时希望可以尽快地得到亮度足够的图像。而如果要图像足够亮,就需要延长曝光事件,而对于一个动态的实验过程来说,延长曝光事件就意味着损失掉许多高频信息,图像将变得模糊,这与获得清晰图像的初衷是相违背的。所以,在选择 CCD 时就出现了这样的矛盾。


目前市场上的比较平价的 CCD 的性能,基本很难同时满足以上的一些要求,因此在做选择时只能做一些取舍。首先,为了获得更小的感光元尺寸,我们放弃了彩色 CCD (每一个元由多个针对不同单色的感光元组成),而选择了更简单的黑白 CCD。在我们构建的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。这个型号的 CCD 的感光元大小是在市场上相对较小的,明场情况下的图像亮度也比较好,它的缺点是每秒拍摄的帧数(不是曝光时间)较小,但灵敏度不够高,在拍摄荧光图像需要较长的曝光时间。

与该 CCD 配套使用的软件是 Image Pro Discovery,该软件功能比较强大,界面比较友好,其它有关的 CCD 图像的分析处理方法将在后面介绍。

### 3.3 系统使用说明

#### 3.3.1 钛宝石激光器

启动

- (1) 开启泵浦源电源开关及钥匙开关,等待晶体预热 100%完成,进程在泵浦源液晶面板上有显示;
- (2) 开启水冷,冷却泵浦和红宝石晶体,等待 15 分钟;
- (3) 打开“串口调试助手 V2.2”电脑控制程序 ,发送相应命令开启激光;
- (4) 调节腔镜旋钮,优化激光模式及功率;

## 串口调试助手程序操作

(1) 打开程序，如下图：

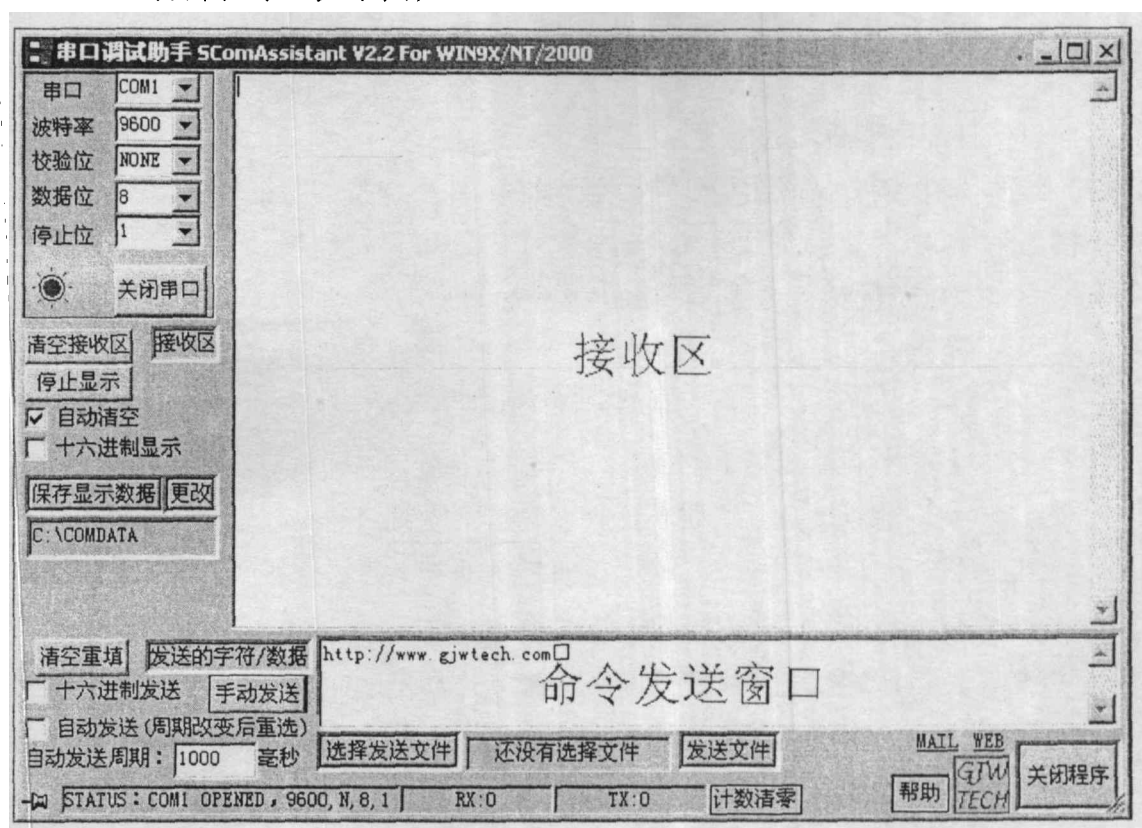


图 3.3 串口控制软件主界面

- (2) 清空命令发送窗口，每次发送新命令前都需清空；
- (3) 在命令发送窗口输入：on 并回车，然后点击“手动发送”；
- (4) 输入：shutter:1 回车 //开启快门；
- (5) 输入：p:2.0 回车 //设置泵浦功率为 2.0W；
- (6) 输入：p:3.5 回车 //改变泵浦功率为 3.5W；不能超过 10.0W；
- (7) 输入：?p 回车 //询问当前泵浦功率；
- (8) 输入：p:0.05 回车 //用完后将功率降至最低；
- (9) 输入：shutter:0 回车 //关闭快门
- (10) 输入：off 回车 //关闭泵浦光

## 关闭

实验完毕后先用串口程序将泵浦光关闭，然后关闭水冷，泵浦源不需关闭，

如果长时间(超过3天)不使用激光器,需关闭泵浦源,先关钥匙,再关闭电源。

### 3.3.2 显微镜操作步骤和注意事项

#### 操作步骤

- (1) 打开镜体后部的电源。
- (2) 将物镜转盘降至最低点,装上物镜,并将物镜转至正对聚光镜的位置。
- (3) 所用的物镜如果不是100×物镜,即可直接使用。如果所使用的是100×物镜,就需要在物镜上滴加物镜用油。此时,先将物镜转盘升至最高,把聚光镜向上翻起。将油瓶倒过来(带一定倾斜角),挤出一定的油,标准是在瓶嘴上挂上半滴。将油瓶嘴移向物镜头,使瓶嘴上的半滴油接触上物镜头,使油自然流满物镜头。最后移开油瓶嘴,并将油瓶盖上,将聚光镜放下至初始位置。
- (4) 将物镜降至最低点,将样品池轻轻放置于载物台(或压电平台)上,使样品池的中心对准聚光镜的中心。
- (5) 用粗调旋钮先将物镜升高,直到物镜顶端的油刚好接触到样品池的下表面。换用微调旋钮调整物镜的高度,并同时通过目镜或者CCD的图像观察目前的成像情况,直到找到样品池的底面。在这个过程中要注意移动要慢,不要升的过高将样品池顶起来,这样有可能对物镜造成损伤。
- (6) 进行实验。
- (7) 实验完毕后,先移走样品池,然后关闭照明光和总电源。如果使用的是油镜,最后进行物镜的清洗。

#### 注意事项

- (1) 如果通过CCD观察发现小球变成了六边形,请检查物镜上的校正环,将校正环顺时针旋到最大就可以解决。
- (2) 如果无论如何调节光路都无法捕获小球,请检查1.5×拉杆是否已经拉出。
- (3) CCD无法观察到图像。请检查显微镜观察通道上的分光拉杆。在观察通道上一共有两个分光拉杆。上面一个是一个80%分光拉杆,一共分三档:不拉出,分100%光给左通道;拉出一半,分80%光到左通道;全部拉出,全部分光给右通道。下面一个是一个50%分光拉杆,同样分三档,用来控制目镜观察通道和上通道之间的分光比。

- (4) 激光无法从侧通道引入。请检查镜体右侧的光路选择转盘，转盘上的小窗口显示的应是“SP”。
- (5) 物镜转盘无法降低。请检查左侧调焦旋钮上的预调焦手柄是否被锁定，被锁定以后就无法调节粗调旋钮。

### 3.3.3 图像采集系统——CCD 的使用

型号：MediaCybernetics CoolSNAP cf；

有效像素数：1392×1040；

像素大小：4.65 $\mu\text{m}$ ×4.65 $\mu\text{m}$ ；

最短曝光时间：1ms

控制软件：Image-Pro Discovery（以下简称 IPD）

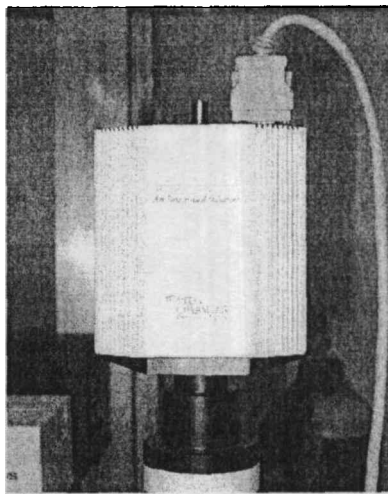


图 3.4 CCD 摄像机 (CoolsnapCF mono camera, USA)

#### 操作步骤

- (1) 打开 CCD 电源，将 power 键向 on 方向按下，指示灯变亮；
- (2) 打开 IPD 软件；
- (3) 拍摄图像；
- (4) 实验完毕后先关闭 IPD 软件；
- (5) 关闭 CCD 电源，将 power 键向 on 反方向按下，指示灯关闭。

#### IPD 软件使用

IPD 软件功能介绍。

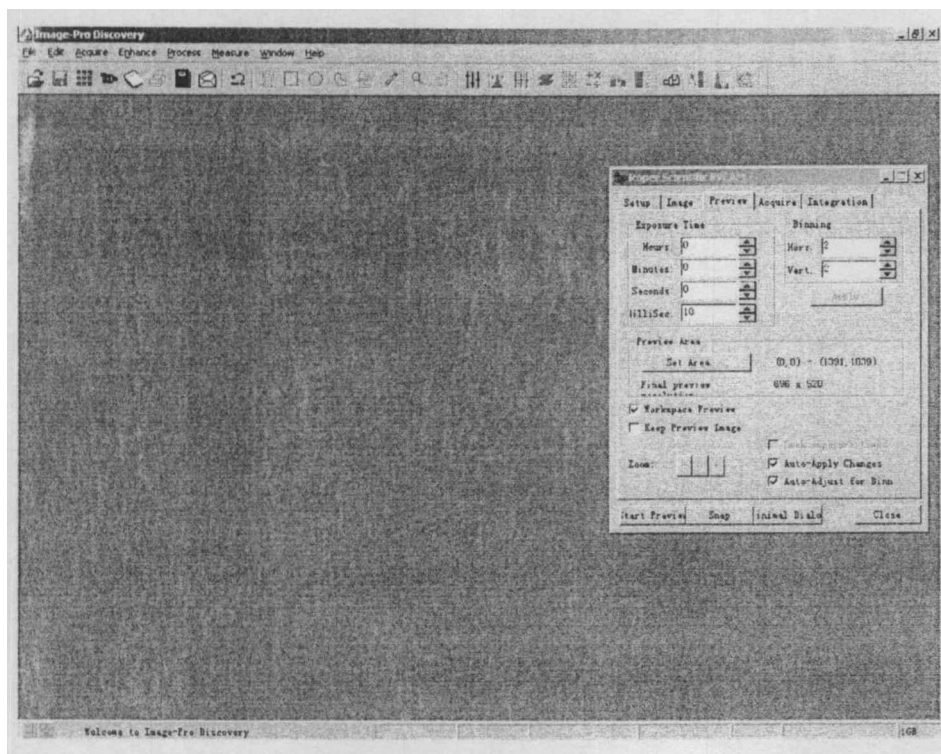


图 3.5 IPD 软件主界面

打开采集软件后，点击摄像头的图标，打开数据采集的控制面板，在该面板中包括以下几个选项卡（详见图 3.6）：

- (1) Setup 选项。Setup 选项卡中主要为设置 CCD 所使用的驱动程序和显示的制式，一般在初始设置后，无需改变。初始设置如图 3.6 (A) 所示。
- (2) Image 选项卡（图 3.6 (B)）。Image 选项卡中，四个单选框是选择采集图像的模式：New Image 为将所采集的每一帧图像作为一个文件显示和存储；Active Image 为将所采集的图像显示和存储为一段动画；Sequence 为将所采集的图像按采集的时间顺序排列显示和存储为一段\*.tif 的动态图像；File Destination 为将所采集的图像存储为指定路径指定文件名的一个或多个文件。该选项卡中右边两个复选框中 Prompt for File Save 选项为设置在存储数据之前需不需要提示；Display sequence during acquire 选项为设置在采集图像时需不需要同时显示采集区域中的图像。一般在采集图像时，我们选择不显示采集区域的图像，这样可以大大加快图像的采集速度，减少采集区域被其他粒子等干扰的机率。在选项卡中 Multiple Images 选项框，包括 Enable MultipleImage Capture 和 Use minimum possible interval 两个复选框。选中 Enable Multiple Image Capture 后，可以连续的采集多幅图像，连续采集图像的帧数可以在 Number of Images 对话框中设定。选中 Use minimum possible interval 后，在采集图像时软件会自动在采集完一帧图像后立即开始下一帧的采集；不选中 Use minimum possible interval 时，可以点击 **Set Time** 按钮（见图 3.8）以设置每两帧之间的时间间隔。

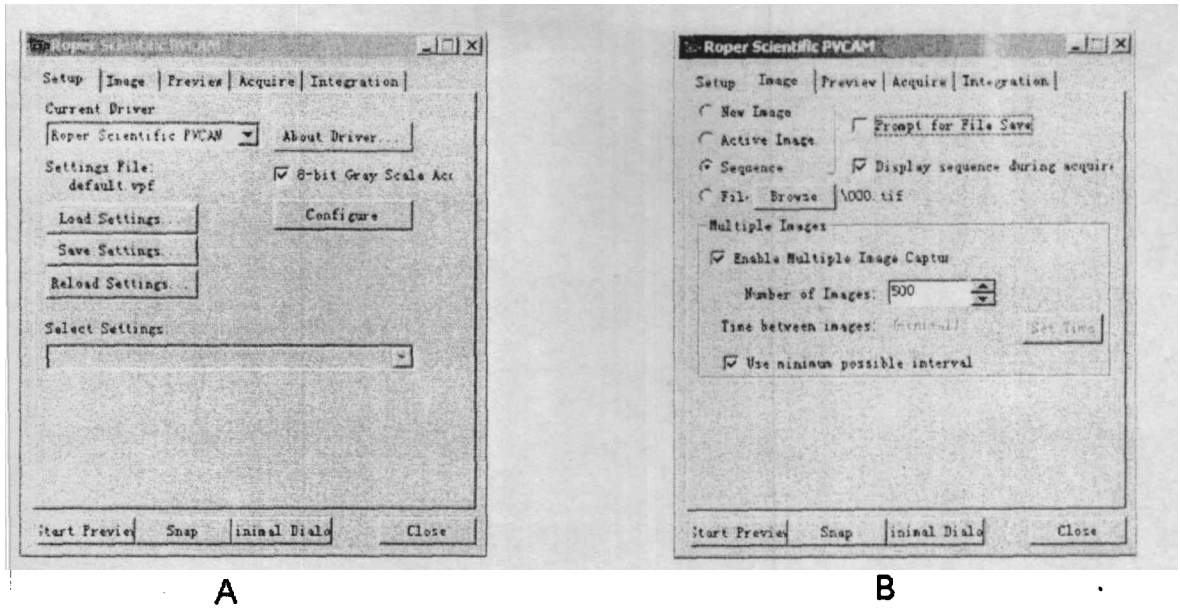


图 3.6 IPD 软件 Setup (A) 和 Image (B) 选项

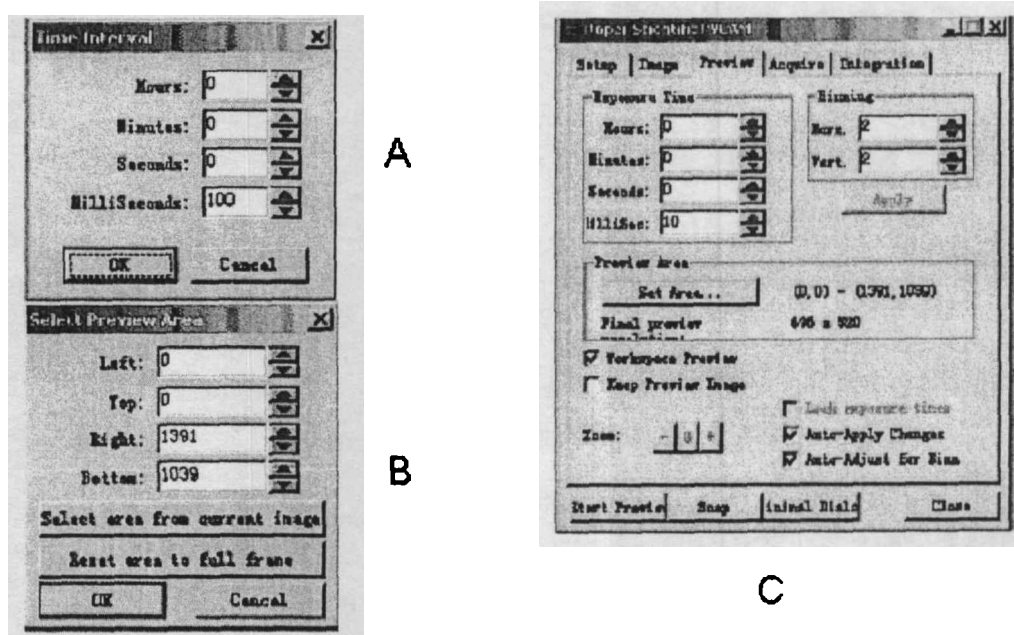


图 3.7 (A) Set time 选项 (B) Set area 选项 (C) Preview 选项卡

(3) Preview 选项卡 (图 3.7 (C))。Preview 选项卡的 Exposure Time 框中，主要是用来设置 Preview 的曝光时间长短，根据实际情况，我们设置一般在 1-20ms 之间比较合适。Binning 框中，主要是用来设置 Preview 的像素大小，在这里可以分别设置横向和纵向的像素大小，一般在 Preview 时我们设置的像素大小为 2bin。Preview Area 框主要是用来设置 Preview 的区域，点击 **Set Area** 弹出如下图对话框。一般我们点击 Reset area to full frame，将 Preview 的预览区域设置为整个 CCD 能观察到的视场。该选项卡中其他几个对话框，设置如图中所示即可，一般不需改动。



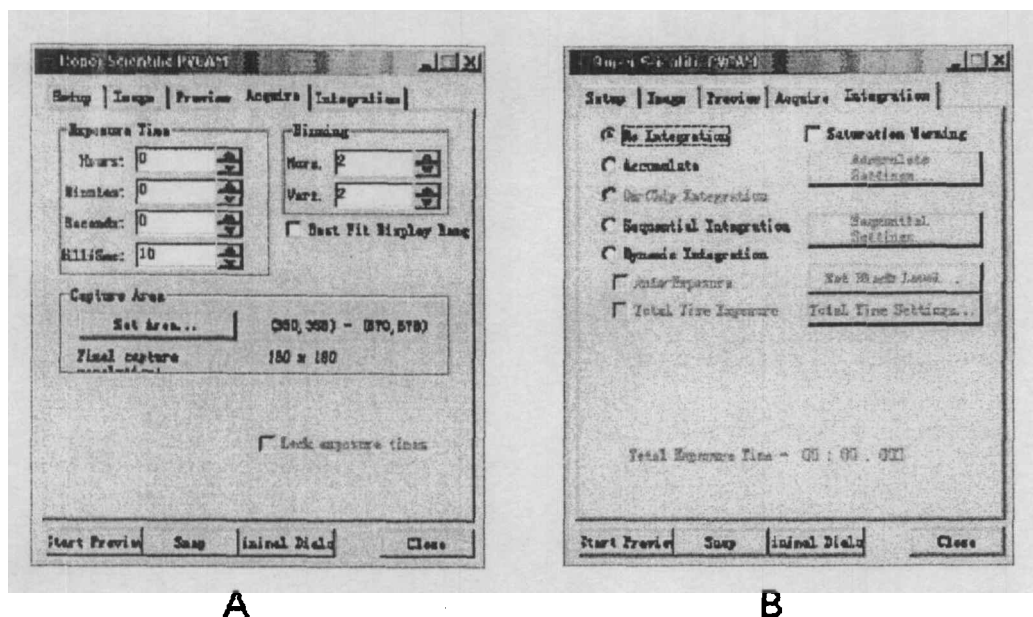


图 3.8 (A) Acquire 选项卡 (B) Integration 选项卡

- (4) Acquire 选项卡。Acquire 选项卡的 Exposure Time 框中，主要是用来设置 Acquire 的曝光时间长短，根据实际情况，我们设置一般在 1—20ms 之间比较合适。但如果是进行光阱刚度的测量实验，曝光时间只能取 1ms。Binning 框中，主要是用来设置 Acquire 的象素大小，在这里可以分别设置横向和纵向的象素大小，一般在 Acquire 时我们设置的象素大小为 2bin。Preview Area 框主要是用来设置 Acquire 的区域，点击 **Set Area** 弹出如下图对话框。一般我们点击 **Reset area to full frame**，将 Acquire 的预览区域设置为整个 ccd 能观察到的视场，并将 Acquire 的象素大小设置为 1bin，拍摄一张全视场的图象，再点击 Set Area 中的 **Select area from current image**，在所拍摄的 1bin 图象中选取我们要采集的区域。选择该区域时，应使所选择的区域包含所要拍摄的物体，并略大于所要拍摄的物体占领的区域，以便在分析中去除背景光强对采集图象所造成的影响。该选项卡中其他几个对话框，设置如图 3.7 中所示即可，一般不用改动。
- (5) Integration 选项卡。改选项卡中设置一般用默认的设置即可，不用特别设置。
- (6) 图像采集。在完成 IPD 软件的各项设置之后，即可开始采集数据图像。点击软件中的控制面板下方的 **snap** 按钮，软件就开始进行图像采集。此处应注意：在不选择 Display sequence during acquire 选项时，应在采集之前 preview 一次，否则软件将不能按照预定设置采集图像。

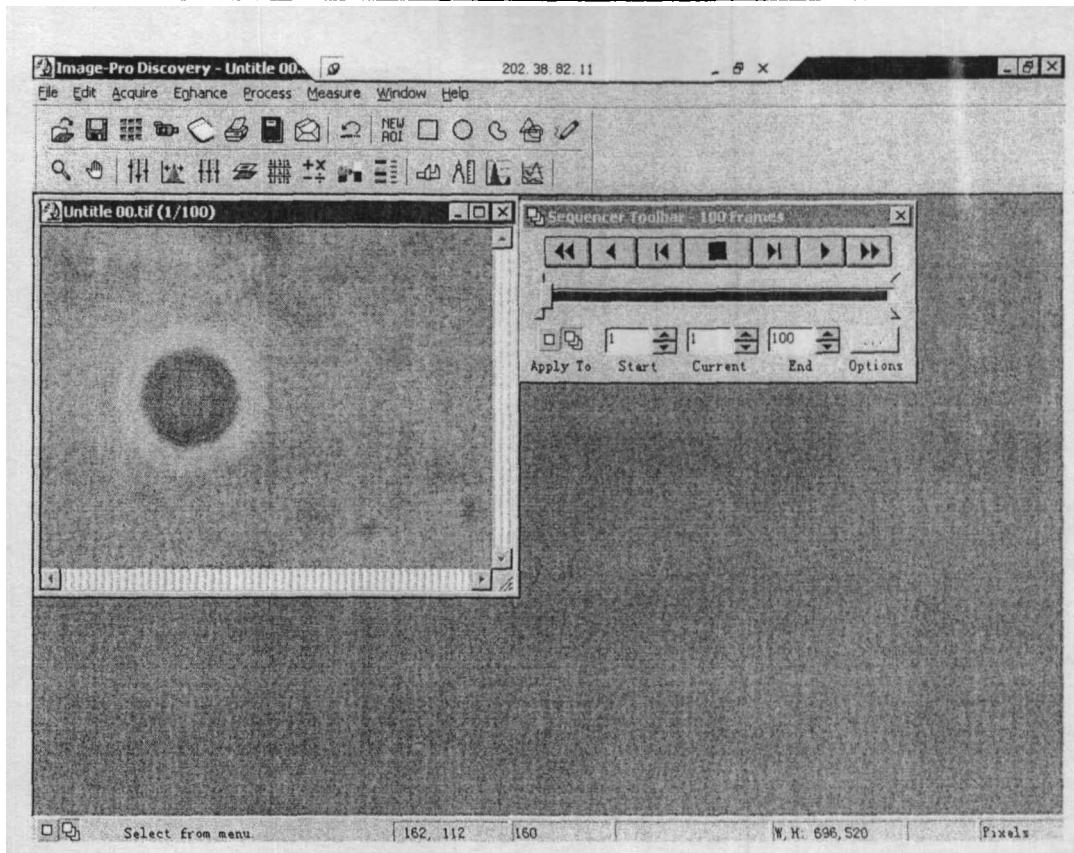



图 3.9 采集完毕后的界面

(7) 完成图像采集后，软件会自动弹出图 3.9 所示界面，此时点击快捷工具栏的  图标或者用文件菜单下 `save` 或 `save as` 命令将此采集获得的图像存储为文件。在存储文件时可以选择 \*.avi、\*.tif、\*.ipw、\*.seq 等格式，我们一般将文件存储为图像分析软件兼容的 \*.tif 格式。

### 3.3.4 电动平台

(1) 打开电动平台控制箱电源开关（面板右上方绿色开关），打开“+28V”、“+5V”两个开关；

(2) 打开平台控制计算机；

(3) 打开电动平台控制程序“Capture”，先进行系统初始化，然后才可使用；

(4) 用完后将平台移动至初始位置（使物镜处于载物台圆孔中央），然后关闭程序和计算机；

(5) 关闭控制箱面板上“+5V”、“+28V”两个开关，然后再关闭电源开关。

### 3.4 数据分析——微粒位移测量和光阱刚度标定的方法

本节主要介绍我们实验室光镊技术中高精度微粒位移测量和光阱刚度标定的方法，特别是我们发展的基于 CCD 图像分析的测量微粒位移的方法。

#### 3.4.1 CCD 图像相关运算法测量微粒的横向位移

在我们激光生物实验室的光镊系统进行生物大分子、胶体粒子等样品的位移测量时，如同操控一样，是通过微米小球作为手柄间接实现的那样，也是通过直接测量“手柄”小球的位移，来推断样品的运动行为。作为“手柄”的小球，可以看作是刚性的，因此通过图像分析方法，可以精确的分析出小球的纳米运动行为。

用 CCD 相机记录微米小球运动的过程，获得小球运动的动态图像序列，其中每一帧图像都包含了相应时刻的小球位置信息。通常利用图像测量位移是直接比较小球图像边缘的位置变动，只能达到像素精度。为了实现亚像素精度的位移测量，我们实验室采用了相关运算图像分析方法，用相关图的特征位置（如极值点或灰度重心）来表征小球的位置，明显改善了测量精度。这种方法是以前整个样品像为信息来源，充分的利用了图像所包含的位移信息，有效地抑制了杂波信号和非目标信号的影响，所以能够实现高精度的位移测量。

最早利用 CCD 拍摄的图像来测量微粒位移的方法是利用微粒的结构特征，例如粒子的中心或边缘，在每一幅图像中的位置来确定粒子的位置。这种方法现在在一些生物学的文献中仍然被用来测量一些体积较大的细胞等微粒在显微视场中的位置和位移。这种方法的精度比较低，只能达到像素精度。目前只有在一些研究生物细胞运动的实验中还在使用，这是因为细胞的形态和内部细胞器的位置随时都在变化，使用计算机进行图像分析很不方便。随着计算机软件技术的发展，有人提出了使用计算机来计算图像的灰度重心的方法，这种方法的测量精度可以达到十个纳米左右。为了充分利用 CCD 图像上的有用信息，我们在这种灰度重心法的基础上进行了改进，借鉴图像处理领域的相关运算法，提出了粒子位置和位移测量的 CCD 图像的相关运算法。该方法利用相关运算来寻找与指定的作为标准的图像元（运算中所使用的运算核）最相似的区域，用该区域的位置来

表征粒子的位置，这种方法将测量精度提高到了几个纳米的水平。下面我们对粒子位置测量的图像相关运算法做一详细介绍。

#### A. 方法流程图：

处理流程如图 3.10 所示。处理方法是选取图像序列中任意一帧图像作为标准图像，在标准图像上选出包含待测微米小球图像的区域作为模板，称为运算核，用它同每一帧图像做互相关运算。从相关处理后得到的相关图中求出的极值点或者灰度重心，精确地得到了小球像的位置。在理想条件下，可以达到百分之一的像精度。

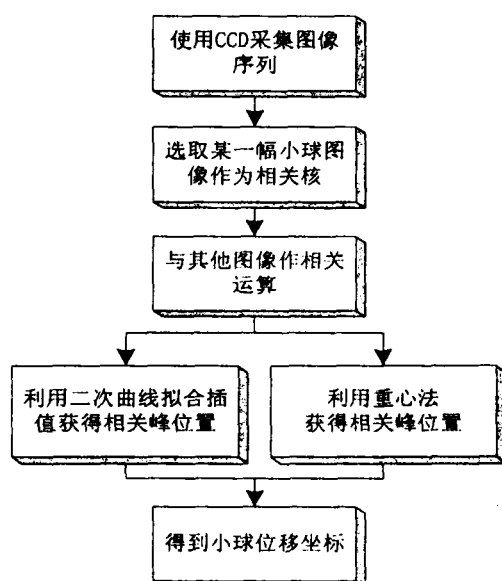


图 3.10 CCD 图像分析法位移测量流程图

#### B. 图像采集

利用前面 3.3 节介绍的 CoolSnapCF (mono camera, USA) 科研型 CCD 进行图像采集。其工作温度 5 摄氏度，靶面有 1392x1040 个像素，可作 binning，如图 3.3 所示。灰度等级可达 12bit，曝光速度可调，采集区域可调。由于我们处理的是小球的像，因此在 CCD 之前加入滤色片，用以滤去背向散射激光。CCD 所拍摄的小球图像序列由计算机进行采集、保存和处理。

#### C. 相关运算

对于采集后的图像序列，作如下处理：

1. 提取图像序列中某一帧图像中的小球像部分，通常为比小球像稍大的矩形区域，作为相关核。它的灰度矩阵  $K$ ，维数为  $m_k \times n_k$ 。
2. 对于序列中的每一幅图像，灰度矩阵  $S$ ，维数为  $m_s \times n_s$ ，做下列运算：

$$R_{x,y} = \sum_{i=1}^{m_k} \sum_{j=1}^{n_k} S_{x+i,y+j} \cdot (K_{i,j} - \bar{K})$$

其中  $R$  定义为相关矩阵，其维数为  $(m_s - m_k + 1) \times (n_s - n_k + 1)$ ， $\bar{K}$  为相关核灰度矩阵  $K$  的灰度平均值。

实际计算时，由于  $K$  和  $S$  的维数都比较大，采用上面的公式计算会耗费很长时间。我们采用了快速傅里叶变换进行相关运算，可以加快计算速度，使一个 5000 帧的图像序列、 $K$  约为  $100 \times 100$  大小、 $S$  约为  $300 \times 300$  大小的图像几分钟之内能计算完毕。具体算法如下：

对灰度矩阵  $K$  和  $S$  作如下处理，使：

$$K' = \begin{cases} K_{x,y} - \bar{K} & , 1 \leq x \leq m_k, 1 \leq y \leq n_k \\ 0 & , m_k + 1 \leq x \leq m_s, n_k + 1 \leq y \leq n_s \end{cases}$$

$$S' = S_{m_s+1-x, n_s+1-y} \quad , 1 \leq x \leq m_s, 1 \leq y \leq n_s$$

则上式变换为：
$$R' = \sum \sum S' \cdot K'$$

做作快速傅里叶变换，得到：

$$\tilde{R}'_{x,y} = F(K')_{x,y} \cdot F(S')_{x,y}$$

则：
$$R' = F^{-1}(\tilde{R}')$$

其中  $F$  和  $F^{-1}$  分别为傅里叶变换及其逆变换，最后相关矩阵  $R$  为：

$$R_{x,y} = R'_{m_s+1-x, n_s+1-y}, \quad 1 \leq x \leq m_s - m_k + 1, \quad 1 \leq y \leq n_s - n_k + 1$$

#### D. 小球像位置的计算

计算所求得的相关矩阵的重心，可以看作是 小球像的精确位置：

$$\begin{cases} x_c = \frac{\sum_x \sum_y x \cdot R_{x,y}}{\sum_x \sum_y R_{x,y}} \\ y_c = \frac{\sum_x \sum_y y \cdot R_{x,y}}{\sum_x \sum_y R_{x,y}} \end{cases}$$

其中  $x_c$  和  $y_c$  即为小球像中心的位置坐标。

通常情况下，我们对相关矩阵取一定的阈值，以减小矩阵中离小球中心位置较远处，相干度较小的点的影响，设阈值为  $T$ ，那么，

$$\begin{cases} x_c = \frac{\sum_x \sum_y x \cdot \text{Max}(R_{x,y} - T, 0)}{\sum_x \sum_y \text{Max}(R_{x,y} - T, 0)} \\ y_c = \frac{\sum_x \sum_y y \cdot \text{Max}(R_{x,y} - T, 0)}{\sum_x \sum_y \text{Max}(R_{x,y} - T, 0)} \end{cases}$$

计算小球像的位置的方法，除了上面的重心法，我们还发展了另外二种方法：二次曲线拟合法和幂权重心法。

1. 二次曲线拟合法：对相关矩阵最大值点和它周围的四个点，分别做  $x$  和  $y$  方向的二次曲线拟合，再求出拟合曲线的极值点。所得到的极值点，就代表了每帧图中小球像的位置。

2. 幂次重心法：计算相关矩阵重心的时候，对相关矩阵各点的值进行幂次运算，从而提高权重大的点的贡献。即，

$$\begin{cases} x_c = \frac{\sum_x \sum_y x \cdot \text{Max}(R_{x,y} - T, 0)^\alpha}{\sum_x \sum_y \text{Max}(R_{x,y} - T, 0)^\alpha} \\ y_c = \frac{\sum_x \sum_y y \cdot \text{Max}(R_{x,y} - T, 0)^\alpha}{\sum_x \sum_y \text{Max}(R_{x,y} - T, 0)^\alpha} \end{cases}$$

其中  $\alpha$  为幂次重心法的权重系数，当此权重系数为 1 时，即为重心法。

### E. 像素与物平面实际尺度的对应关系

上述计算得到的小球像位置均为像素单位,为了转换为小球的实际位置,还必须知道每一像素对应的实际距离。我们采用显微标尺进行标定,用 CCD 相机拍摄显微标尺的像。分析图像中显微标尺固定距离间隔条纹所对应的像素间隔即可计算出每一像素对应的实际距离。

### F. 测量精度和误差分析

对微小的位移进行高精度的测量时,实验环境、设备状态以及实验方法等都可能产生一定的误差,都会影响测量的精度。为了考察我们所用方法的测量精度,我们选了一个粘在样品池底面玻片上的直径为 $1\mu\text{m}$ 的聚苯乙烯小球(Duke Scientific, 4009A),这种小球在平常的实验中使用频率很高,具有代表性。我们首先调整光路,使得小球成一个离焦像(见图 3.11a),选用离焦像来分析的原因是此时图片中的灰度分布的峰谷值较大,小球以外区域的光强信号远小于小球像的中心部分的光强,这样的图片得到的相关矩阵信噪比较大。使用 CCD 对这个粘底的固定小球拍摄 3000 帧图像,并用图像相关法计算每一帧图像中小球的位置,这 3000 个位置的均方偏差就可以作为这种条件下 CCD 图像相关法的测量精度。在实验环境和设备状态最好的情况下,测量的精度最高可以达到 3nm,一般情况下测量精度也可以保证在 8nm 左右。

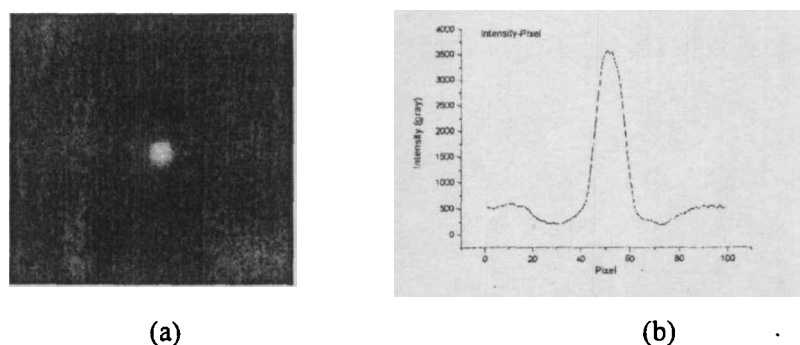


图 3.11 (a) 聚苯乙烯小球的离焦像; (b) 左图灰度分布图峰值处的横截面图。

### 3.4.2 刚度标定和力的测量

光镊的另一个重要的功能就是微小力的测量,也就是说光镊不仅是一个操控定位微粒的工具,还可以作为测量微小力的“探针”<sup>[1-3]</sup>。

利用光镊测力有两种方法,一种是测量它在液体中操控微粒进行匀速运动所能达到的最大速度—逃逸速度,速度大于此值,微粒受到的流体粘滞力将大于光阱力,因而微粒将逃逸出光阱。利用这一速度就可以计算出微粒相对周围液体运动时与光阱力相平衡的粘滞阻力。此时的光阱力称为逃逸阱力,是描述光镊捕获性能的重要参数之一;另一种测量方法是基于在一定范围内可将光镊看作一简谐势阱,利用光阱刚度(与弹簧的倔强系数类似),测量作用在微粒上的外力。后者精度较高,是微小力的测量普遍采用的方式。

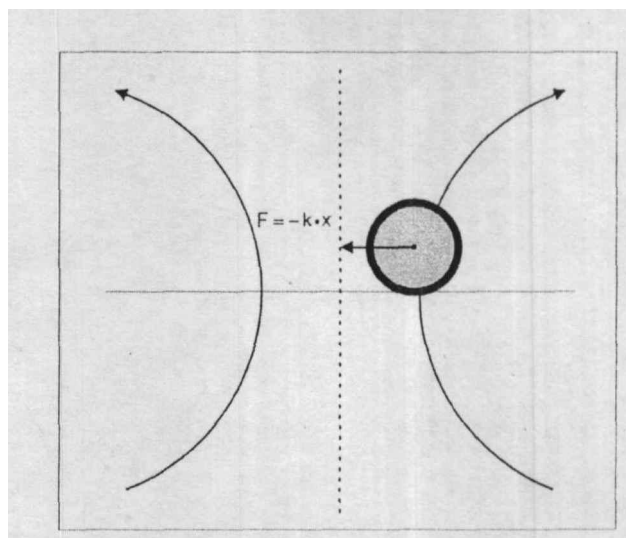


图 3.12 光镊测力基本原理

光阱中的粒子偏离阱中心时,粒子将受到一个指向阱中心的光阱力  $F_{trapping}$ ,起着回复力的作用,当光阱中的微粒同时受其它外力  $F_{external}$  作用时,微粒将会偏离光阱中心,位移到一新的位置,在那里粒子受到的光阱力与外力平衡。知道光阱力与位移的关系,就可测定外力的大小:

$$\vec{F}_{external} = -\vec{F}_{trapping}(x)$$

理论和实验研究都表明,光阱在阱中心附近的一定范围之内可以近似看成是一个简谐势阱,也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:

$$\vec{F}_{trapping} = -k_x \cdot \vec{x},$$

其中比例常数  $k_x$  称之为光阱刚度。这种线性依赖关系对于光镊测力是特别方便的。由于新的平衡位置  $x$  可以通过 3.4.1 节中所介绍的方法进行精确地测量, 因此对光阱的刚度  $k_x$  进行标定就成了光镊测力的重要环节。

标定光阱刚度的方法有许多种, 常用的有流体力学法、热运动分析法、功率谱法和外加周期驱动力法等四种方法<sup>[3-10]</sup>。在钛宝石激光光镊中, 主要标定方法为流体力学法。在这里介绍一下流体力学法。

光镊系统的阱力标定, 最直接的方法是将阱力与一个标准力进行比较。阱力标定最常用的一种实验方法是流体力学法, 它是以一定流速的稳恒流体中, 粒子受到的流体对它的粘滞力作为标准力, 这个力可由流体力学中的 Stokes 公式给出:

$$F_{Stokes} = 6\pi\eta a v,$$

其中  $F_{Stokes}$  是粘滞阻力,  $\eta$  是液体的粘滞系数,  $a$  是微粒的半径,  $v$  是流体相对微粒的速度。作用在微小粒子上的粘滞力与光阱力的大小范围相近, 而且施加这样的力不会对光阱产生干扰, 因而是理想的光阱标定用的标准力。可得出刚度的表达式为:

$$k_x = 6\pi\eta a \cdot \left(\frac{v}{x}\right),$$

在这个公式的右边, 括号外的均为常数 (同一实验条件下), 因此刚度  $k_x$  就可以通过测量流速与微粒偏离光阱中心的位移来得到。

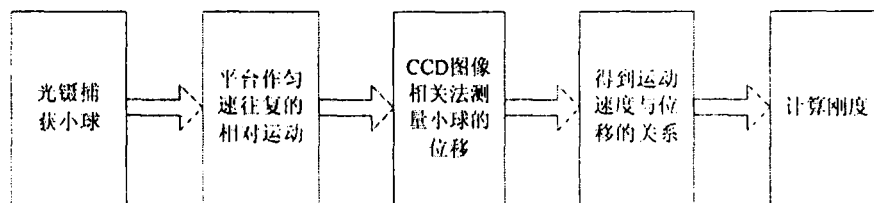


图 3.13 流体力学法标定刚度流程图。

刚度标定流程如图 3.13。在实验中, 光镊在空间的位置固定, 流体相对小球

的运动是由平台带动的,平台则由平台控制程序驱动的。在这样的条件下,平台的运动是往复匀速率运动,而粒子则在二个平衡位置间来回跳动。改变平台的运动速度,也即改变了液体相对被捕获的微粒的速度,因而粒子的二个平衡位置也随之而变。在速度一定的情况下,利用 CCD 跟踪拍摄一系列微粒运动的图片,并用图像相关运算法计算每幅图像中微粒所处的位置,这些位置分别围绕两个平衡位置起伏,对大量的位置进行统计分析可以得到这两个平衡位置,它们的距离就等于  $2x$ 。改变平台的运动速度,重复以上实验,就可以得到一条  $v \sim x$  曲线。由于并不是全部的光阱范围内都可以近似简谐,因此要将  $x$  较大曲线不再线性的部分剔除,将剩下的靠近光阱中心部分进行一次曲线拟合,并计算  $k_x$  的值。

流体力学法直观易行,是常用的方法。它需要直接测量的物理量是微粒在受恒定的流体作用力时所处的稳定位置,因此对测量系统的带宽要求较低,而且误差较小。在钛宝石激光光镊中,利用自动平台带动样品池作往复匀速率运动,通过 CCD 采集图像数据,然后进行数据分析,用最简单方便的流体力学法标定刚度。

### 3.5 本章小结

本章介绍了钛宝石光镊系统的概况、性能指标以及一些使用说明,并分析了光镊在力学参数测量中最基本的二个功能:位置的测量和力的测量。介绍了 CCD 相关图像精确测量位移的方法。在此基础上,针对我们组建的钛宝石激光光镊系统,建立了合适的位移测量方法和刚度标定方法,即图像相关法测量位移和流体力学法标定刚度。

我们采用的 CCD 图像相关分析法,提高了位移测量精度。在外界震动干扰可忽略的条件下,测量可以达到几个纳米的精度。

光镊测量微小力的功能在微小粒子体系动力学的研究中具有重要地位,在有了高精度的位移测量之后,测力需要解决的核心问题就是光阱刚度的标定了。在所组建的钛宝石激光光镊系统上建立了流体力学法的标定方法。在标定好所研究条件下的光阱刚度后,通过精确测量实验中研究对象偏离光阱中心的位移,就可以计算出这个研究对象当下所受到的阱力。实验结果表明,在钛宝石激光光镊光镊系统中,力的测量精度可达亚皮牛水平。

## 本章参考文献

1. H.T. Chen, Y.M.Li, L.R.Lou, et al. "High precision measurements in an optical tweezers for studying single biomolecule motion. C. Britton Chance. Photonics and Imaging in Biology and Medicine," Proceedings of SPIE, Vol.4536,75-81 (2001).
2. H.L. Guo, X.C Yao, Z.L Li. et al. "Measuring displacement and force applied on particles in optical tweezers," J. Science in China, 32(2), 97-102 (2002).
3. H.T. Chen, Y.M.Li, L.R.Lou, et al. "Single molecules detection in optical tweezers. Xing Zhu. Nano-Optics and Nano-Structures," Proceedings of SPIE Vol. 4923, 98-105.
4. Robert M.Simmons, J.T.Finer, S.Chu etc. "Quantitative Measurements of Force and Displacement Using an Optical Trap," J.Biophysical Journal, 70,1813-1822 (1996).
5. Karl Otto Greulich. Micromanipulation by light in biology and medicine: the laser microbeam and optical tweezers.Berlin: Birkhauser Verlag, 90-96 (1999).
6. Florin E.-L., Pralle A., Stelzer E.H.K., et al. "Photonic force microscope calibration by thermal noise analysis," J. Appl. Phys. A, 66, S75-S78 (1998).
7. John Bechhoefer and Scott WilsonFaster. "Cheaper, safer optical tweezers for the undergraduate laboratory," Am. J. Phys. 70(4), 393-400 (2002).
8. 龚鏊, 陈洪涛, 李银妹, 四种光阱刚度测量法的实验研究与比较。中国科大学报, 35: 601 (2005)。
9. Zan Gong, Hongtao Chen, Shenghua Xu, "Monte-Carlo simulation of optical trap stiffness measurement. Optics Communications," 263, 229-234 (2006).
10. G. V. Shivashankar, G. Stolovitzky, A. Libchaber, "Backscattering from a Techered Bead as a Probe of DNA Flexibility," Appl. Phys. Lett. 73, 291-293 (1998).



## 第4章 利用光镊研究胶体体系的老化

本论文的重点工作是利用光镊来研究胶体体系，光镊是一项新兴的技术，能够操控微米亚微米级的介观粒子，并可以进行微小力的测量，而胶体体系的胶体粒子恰好属于这个范围，这就可以使用光镊在微观粒子层次上对胶体体系进行研究，而以往对于胶体体系的研究都是用宏观手段<sup>[1-5]</sup>，如光散射、黏度测量、弹性测量等等，得到的数据信息都是大量微观粒子的统计平均效果，于是利用光镊研究胶体体系的优点便体现出来了，可以从粒子层次上直接进行研究，更便于揭示胶体体系中的规律。

我们实验室在这方面已经有了一些工作基础，比如受限分散体系中的粒子扩散的研究<sup>[6]</sup>，利用光镊诱导胶体粒子碰撞对分散体系稳定性的研究<sup>[7]</sup>等。我在本实验室工作基础之上，开展我的博士论文工作。我们一直想利用光镊作为微小力传感器的特点，对胶体体系中胶体粒子的微观相互作用力进行测量研究，可惜在很长一段时间内没有大功率的激光器，导致测量微小力的大小范围受到限制，即光镊能测量的力大小有限，不到 10pN，于是我们才搭建了上一章介绍的钛宝石激光光镊系统，可以进行较大的微小力的测量（量程 0-100pN），以满足我们的研究需求。而这时国外的研究小组已经利用光镊对胶体粒子结合力进行了测量，包括径向结合和切向结合强度<sup>[8-10]</sup>。

边进行实验研究，边继续调研文献的过程中，发现可以通过胶体粒子间力的测量研究胶体的老化过程。胶体是非平衡体系，它的状态参数会随时间演化，会对胶体的性质及应用有很重要的影响，比如胶体凝胶的黏弹性会在老化过程中变化，这对控制一些复杂流体的流变性有重要意义<sup>[11,12]</sup>。而且我们从实验中在微观粒子层次上也发现了胶体粒子间的相互作用力有随时间变化的现象，虽然对胶体演化过程已有相关研究报道，但都是从宏观手段上进行的，如光散射法、流变计测黏度法，在这些方法中胶体粒子的聚集结构（即空间网络结构，一般是分形结构）和胶体粒子间结合强度变化纠缠在一起，难以完全区分，不便研究。而采用光镊技术可以从微观粒子层次上研究，可以更直接的研究胶体老化过程。于是本论文的主要工作由此展开，即首次利用光镊从微观层次上对胶体老化过程进行研究，并给出了一些新的解释。

本章围绕利用光镊研究胶体老化过程这一主题,先对老化过程研究和利用光镊测胶体粒子间微观相互作用力的相关研究作些介绍,然后在这些基础之上,介绍我自己的测量方法,之后再用此方法对胶体老化过程中力随时间的变化进行测量,再而对测量得到的现象和数据进行讨论解释,最后作总结展望。

## 4.1 胶体凝胶老化研究介绍

胶体体系有着较高的表面能,是非平衡体系,会往表面能较小的状态演化。在这个演化的过程中,体系的很多状态参数都会变化,英文一般用 aging process 来表示这个过程,这里我们翻译成老化过程。在这个老化过程中,体系很多性质将会变化,而且会对其应用产生影响。比如胶体凝胶可被稀释为可以承受一定的应力的空间网络结构,经常用来控制一些复合材料的流变学性质,而胶体凝胶老化会导致其复合材料流变学性质也会变化,如要更好的控制复合材料性质,就有必要对胶体凝胶老化过程机理进行了解。

我们以胶体凝胶的黏弹性作为主要参数研究其老化过程,并体现出利用光镊从微观粒子层次上研究的优点。胶体凝胶体系是由胶体粒子在其分散介质中聚集而形成的,具有一定的空间网络结构。胶体凝胶的黏弹性即由这些空间网络的弹性性质决定。通常认为老化过程是由凝胶网络结构的改变而产生,因为胶体粒子之间的相互作用主要为范德华力,由 DLVO 理论描述,相对比较弱,对凝胶老化过程中黏弹性的变化影响较小。然而在胶体粒子的偶电层被屏蔽的情况下,共价键或高分子的纠缠都可以让胶体粒子间产生较强的相互作用,这种局部的粒子间的相互作用会随时间变化从而对空间网络结构的弹性产生影响。

在文献[11]中,研究了聚苯乙烯小球凝胶体系的老化过程,认为是由于聚苯乙烯胶体粒子间的物理粘结随时间而增强,并造成的粒子间的收缩,改变凝胶空间网络扩结构,综合起来导致凝胶弹性变化。在文献[12]中,用动态光散射的方法确定  $\text{SiO}_2$  小球的凝胶体系的空间结构的基本不变的情况下,对其弹性性质用动态光散射和滚筒黏度计进行测量,发现凝胶体系的弹性变硬,从而初步验证了在老化过程中,空间网络中局部的粒子间的结合强度会随时间变强,使凝胶的黏弹性变大。这些研究表明,胶体粒子间的结合强度随时间的变化,在胶体老化过程中扮演着重要角色,需要深入研究。

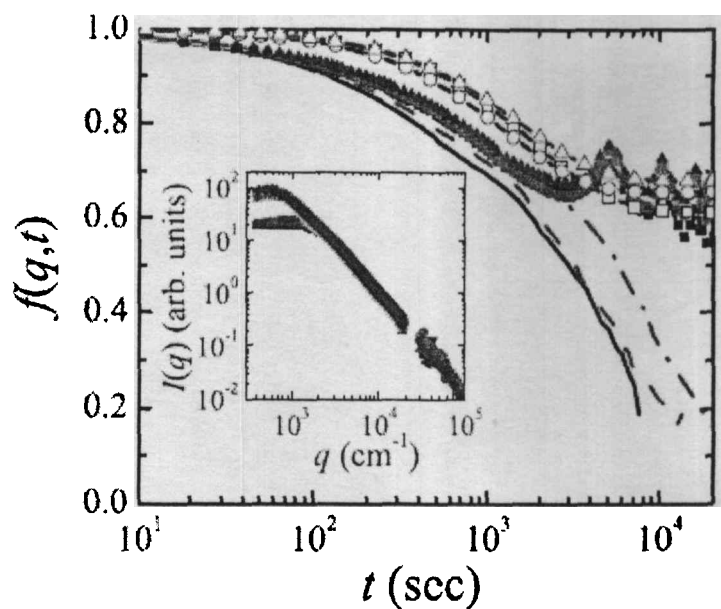


图 4.1 光散射法研究胶体凝胶老化。在静态光散射确定胶体凝胶空间结构大致不变的情况下，动态光散射结果表明其弹性随时间增加，可推论得出胶体粒子间的结合强度变大。<sup>[12]</sup>

Dynamic structure factors at  $q = 3771 \text{ cm}^{-1}$ ; raw data at 12 (solid line), 18 (dashed line), 40 (dash-dotted line), 55 (■), 69 (●), and 93 h (▲) since initialization and corrected for external temperature fluctuations at 55 (□), 69 (○), and 93 h (△). Inset: Static light scattering between 1 and 65 h after initialization. No changes are observed after ~15 h.

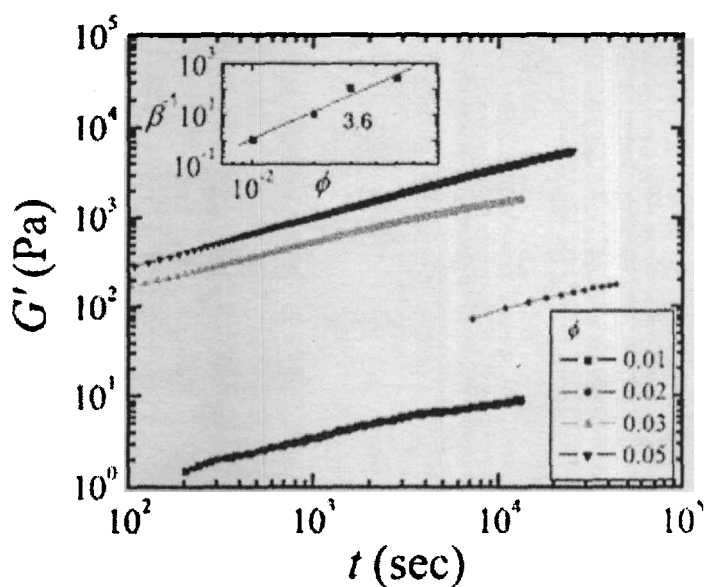


图 4.2 滚筒粘度计法测量胶体凝胶的黏弹性随时间的变化，结果呈指数增长。<sup>[12]</sup>

Growth of the linear storage modulus  $G'$  with time for different volume fractions. Scale factors  $\beta$  used to shift  $G'$  onto a single master curve (inset).



但是,文献[12]的静态光散射只能在大范围上内大致的判定空间网络结构没有变化,即不能完全排除空间网络结构变化的影响。为了能够完全消除空间网络结构变化的影响,研究胶体粒子间结合随时间的老化,就有必要从微观粒子层次上直接进行研究粒子间结合随时间演化的过程,以得到微观层次上的结果,从对胶体凝胶的老化的微观机理进行研究。

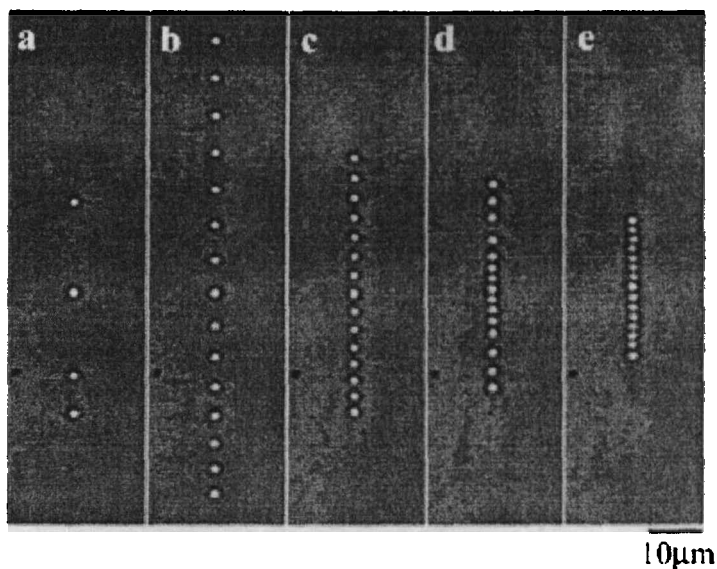
光镊可以捕获和操控几十纳米到几十微米大小的粒子,它还可以作为力的探针,测量皮牛亚皮牛量级的力。对于胶体体系来说,其中的胶体粒子的大小恰好在这个范围,而粒子之间的微小作用力也可以使用光镊测量,因而利用光镊技术,可以在微观粒子层次上研究胶体体系老化的微观机理。即可以利用光镊捕获、操控胶体粒子,排布成一定的简单聚集结构,从而便于排除空间网络结构变化的影响,以得到粒子层次上的老化情况,为老化的研究提供实验依据。

## 4.2 光镊测量胶体粒子间微观相互作用的研究

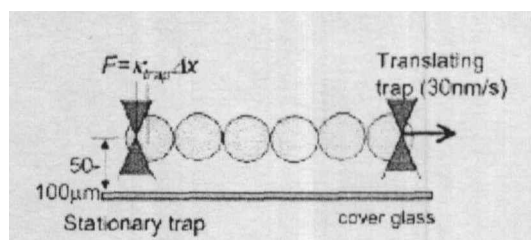
在本文中主要研究胶体粒子结合后的相互作用,即胶体聚集体或胶体凝胶中粒子之间的相互作用。在本节中对光镊测量胶体粒子间相互作用力的研究进行介绍,然后在此基础之上进行改进,引出我们的测量方法,为老化研究作基础。

通常胶体粒子间的相互作用力由 DLVO 理论描述,其中粒子间的总相互作用由粒子偶电层的排斥力和范德华吸引力的合力决定。理论的假设条件包括粒子表面是光滑的,而且是化学条件均一,这都是理想条件,实际上是不能满足的。在粒子间的距离较远时,DLVO 理论还能较准确的描述粒子间的相互作用。而近期的实验结果表明,当粒子距离较小或接触之后的作用力与 DLVO 的预言值相差很大,DLVO 理论已不再适用,需要新的理论。其中的实验数据则是利用光镊技术测量得到的。下面介绍光镊测量胶体粒子间相互作用力的实验研究。

Pantina 和 Furst 利用扫描光镊,捕获和操控多个胶体粒子,依靠粒子间自身的相互吸引力,结合成简单的线性小球链,如图 4.3。

图 4.3 利用扫描光镊把粒子排布成线性小球链<sup>[8]</sup>

然后用双光镊沿着小球链的方向拉伸小球链，直到小球链中的某处断开，这时的光镊的作用力即为此状态条件下的粒子间的结合力<sup>[8]</sup>，如图 4.4。

图 4.4 利用光镊测量胶体小球间的结合力<sup>[8]</sup>

测量结果显示实际结合力比 DLVO 理论预言值要大得多，见表格 1。

由于他们光镊的最大力为 15 pN，后面的很多较大的力测不出具体大小，所以提高光镊的测力范围就很有必要，这在下一章会加以探讨。

Table 1. Comparison of Measured Single-Bond Rupture Forces to DLVO Predictions<sup>a</sup>

floculant	concn (mM)	$\kappa^{-1}$ (nm)	DLVO			measured
			$-U_{\min}$ (kT)	$h_{\text{equilibrium}}$ (nm)	$F^R$ (pN)	$F^R$ (pN)
NaCl	10	3.04	5.07	22.70	0.60	9.68 ± 3.23
	20	2.15	8.09	14.95	1.36	>15
KCl	50	1.36	14.76	8.55	4.02	>15
	50	0.79	41.76	5.20	24.82	>15
MgCl <sub>2</sub>	100	0.56	70.99	3.40	63.92	>15
	500	0.25	154.60	1.00*	503.59	>15

\* DLVO predicts the particle to be in a primary minimum, and a 1 nm cutoff was used to calculate  $-U_{\min}$  and  $F^R$ .

表格 1 小球结合力结果与 DLVO 理论值比较<sup>[8]</sup>

以上介绍是胶体粒子间的径向结合力研究，下面介绍一下胶体小球间切向相互作用。

Pantina 和 Furst 用光镊排布胶体小球单链，并对小球链的弯曲力学性质进行测量<sup>[9]</sup>。发现胶体小球间的结合可以承受一定力矩，并直接的测量出了小球间的剪切相互作用。在临界力矩之下，小球链为弹性弯曲，超过临界力矩小球链会产生范型形变。这些研究结果对胶体体系性质的微观理解有重要意义，为光镊研究胶体体系开拓了思路，本文的工作就是以此为基础而展开的。下面是这部分的研究介绍。

用扫描光镊排布好小球链之后，用三光镊对小球链施加力矩使之弯曲，测量小球链形变量与受力大小。

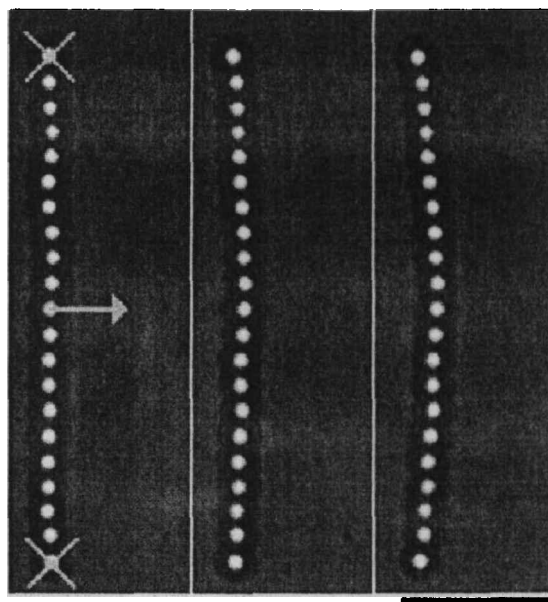


图 4.5 利用光镊弯曲小球链，测量弯曲力学性质。尺度条为  $10\mu\text{m}^{[10]}$ 。

可把小球链近似为一弹性细杆，如图 4.6，其弯曲可用挠曲线方程来描述：

$$\frac{d^2y}{dx^2} = \frac{M(x)}{EI} = \frac{F \cdot (L/2 - x)}{EI} \quad (4.1)$$

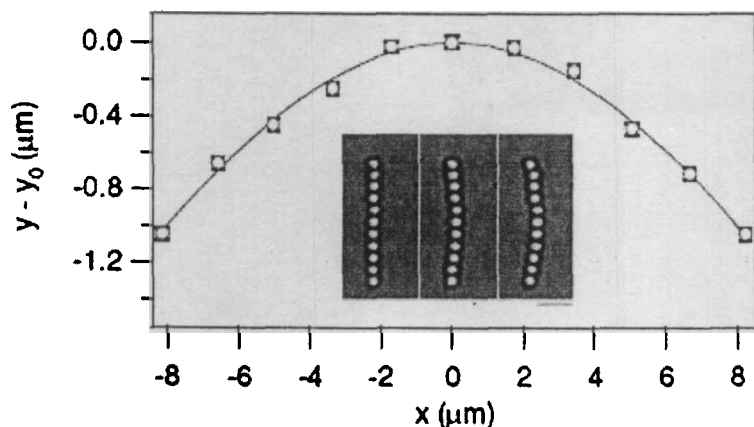
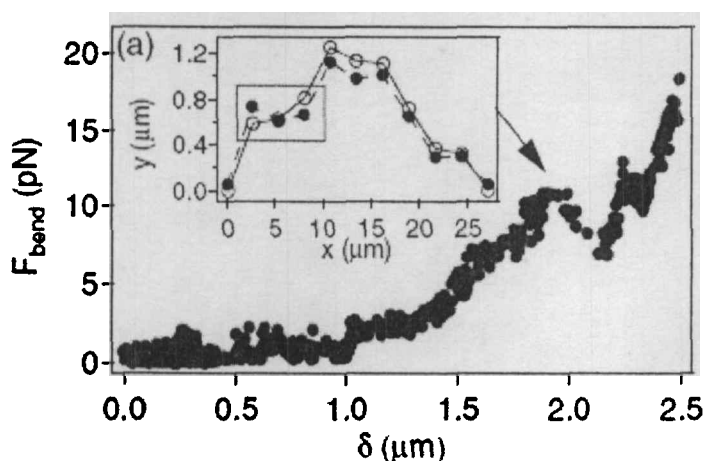
其中， $y$  为偏移量， $x$  为位置， $M$  为弯曲力矩， $E$  为杨氏模量， $I$  为面转矩， $F$  为弯曲的力， $L$  为杆的长度即小球链的长度。积分后可得粒子的偏移与位置的关系：

$$y(x) = \frac{F}{EI} \left( \frac{L \cdot x^2}{4} - \frac{x^3}{6} \right) \quad (4.2)$$

可以看出对于某个位置  $x$ ， $y(x)$  与弯曲力  $F$  成正比，因而对于链端的小球：

$$\kappa \equiv F / \delta(L/2) = 3EI / (L/2)^3 \quad (4.3)$$

并定义为小球链的刚度。而且实验证实，小球链的弯曲力学性质可由弹性杆模型及以上公式描述。相关实验数据表明了不同长度的小球链的刚度满足 4.3 式。

图 4.6 小球链弯曲形状模型<sup>[9]</sup>。图 4.7 小球链在光镊作用力弯曲时的形变<sup>[9]</sup>。

一般情况下，胶体凝胶具有分形结构，聚集体的弹性（由刚度  $\kappa$  描述）与小球间的结合刚度  $\kappa_0$ （bond rigidity）有如下关系<sup>[9]</sup>：

$$\kappa = \kappa_0 \cdot \left( \frac{a}{s} \right)^{2+d_b} \quad (4.4)$$

其中  $\kappa_0$  是结合部位的刚度，反映胶体小球之间相互作用的特征； $a$  为小球半径， $s$  为小球链的长度； $d_b$  为链的分维数，对于较直的线性小球单链，分维数为 1。于是在这种情况下，公式 4.4 可化为：

$$\kappa = \kappa_0 \cdot \left( \frac{a}{s} \right)^3 \quad (4.5)$$

$\kappa_0$  反映粒子与粒子间的结合情况，即每两个粒子间的在剪切力矩作用下的弹性性质。小球在吸引力的作用下，结合到一起，有一个结合部位。正是由于这个结合部位，使小球间能够承受力矩，表现出一定的弯曲弹性。反过来，通过测量小球间的弯曲弹性，可得到小球间结合的信息。由于球形对称，可假设两小球

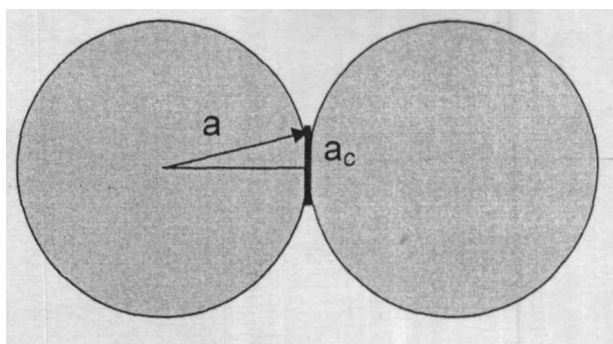


图 4.8 小球结合部位示意图

间接触部位为一个圆，圆的半径为  $a_c$ ，根据材料力学可知圆形接触部位的弯曲刚度为：

$$EI = \pi E a_c^4 / 4 \quad (4.6)$$

结合式 4.3, 4.5 和 4.6 可得，小球间的结合刚度  $\kappa_0$  为：

$$\kappa_0 = 3\pi a_c^4 E / 4a^3 \quad (4.7)$$

另外  $a_c$  可通过描述粒子间黏合的 JKR 理论由式 4.8 计算得出，

$$a_c = (3\pi \cdot a^2 W_{SL} / 2K)^{1/3} \quad (4.8)$$

其中  $W_{SL}$  是单位面积的表面结合能； $K$  为体弹性模量， $E$  为杨氏模量， $\nu$  是泊松比。由此通过接触部位面积  $a_c$ ，将弯曲力学性质与粒子之间的相互作用能联系起来。而且，代入式 4.8 式相应的参数，通过 JKR 理论计算得出的  $a_c$ ，与利用光镊技术测量得到的实验数据通过式 4.7 计算得出  $a_c$  的值，基本一致，因而这套理论得到了验证<sup>[9]</sup>。

因此通过排布胶体小球单条直链，测量小球链弯曲弹性，可得到小球间的结合面积，通过结合面积可算出小球间的结合能，从而在微观粒子层次上研究胶体

粒子的结合情况。比如,在相关文献中在具有不同盐浓度下表面结合能的情况下,对小球链进行力学测量,计算得出小球结合刚度 $\kappa_0$ ,然后用结合能与盐浓度的关系与JKR理论计算得出的理论 $\kappa_0$ 曲线相拟合,基本一致,如图4.9。

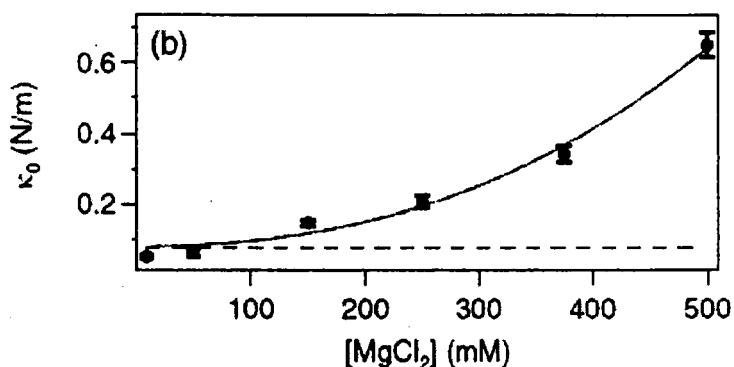


图 4.9 理论曲线的拟合不同盐浓度下实验测得小球结合刚度 $\kappa_0$ <sup>[9]</sup>。

以上介绍了在临界力矩之下,小球链弯曲力学性质测量及物理意义,并验证了其正确性。超过临界力矩小球之间会产生不可恢复的滑动,这方面的有初步研究,看参考文献[13]。我们在这里主要研究临界力矩之下的弹性弯曲性质,理论上也采用以上模型。

通过本节介绍,对胶体粒子间相互作用的测量有了一定的了解,在此基础上,展开我们的工作。

### 4.3 利用光镊研究胶体老化

以上胶体粒子间相互作用的测量都是在粒子聚集之后某一时间进行的测量,并未在一段时间内跟踪测量,即并没有研究粒子间相互作用随时间的变化。而我们对粒子间的径向结合和切向力矩随时间的变化进行测量,发现两者都有变大的趋势,与4.2节中宏观方法的测量结果一致,于是我们便进行深入研究,由此利用光镊技术从微观粒子层次上研究胶体凝胶老化过程。

由于胶体粒子聚集之后,径向结合力很大,光镊测力的最大值在百 pN 左右,在粒子结合紧密情况下用光镊拉不开,即无法测量出结合力大小。因此,我们主

要测量小球链的弯曲力学性质，由此来研究胶体凝胶老化。

### 4.3.1 实验研究

在这里，先简要介绍一下设备。如图 4.10，由钛宝石激光器产生一束激光 ( $\lambda=780\text{nm}$ ，最大功率可达 2W)，经扩束准直后耦合进入显微镜置光学显微镜 (Olympus IX-70)，经一双色镜反射进入高数值孔径的油浸显微物镜 ( $\text{NA}=1.35$ )，强聚焦到样品池后，形成光镊，通过自动平台控制及 CCD 的数据采集分析，可捕获操控胶体小球，并可对小球的位置和受力的进行测量。光镊的刚度由流体力学法标定，大小为  $50\text{pN}/\mu\text{m}$  左右。

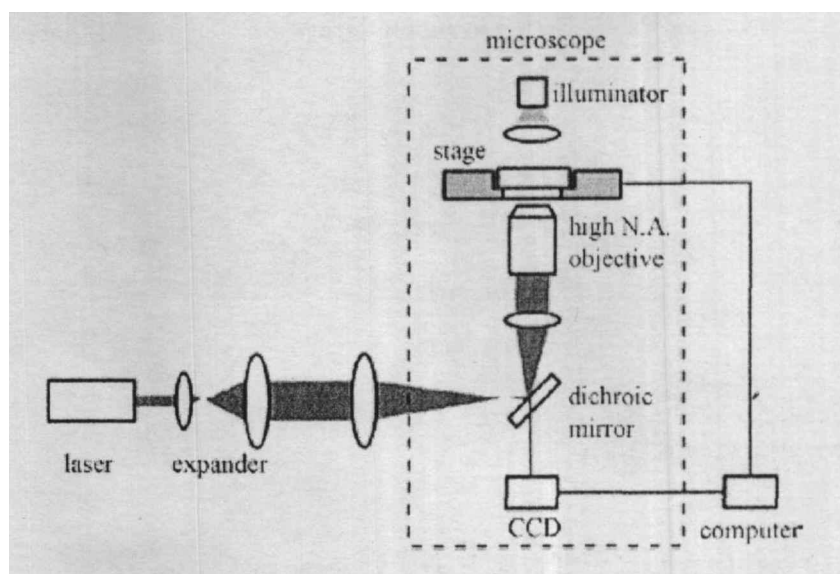


图 4.10 光镊设备示意图

实验样品为聚苯乙烯胶体小球(product of Duke Scientific Corporation, USA)，直径大小分别为  $2a = 3.005 \pm 0.027 \mu\text{m}$  和  $2a = 4.987 \pm 0.040 \mu\text{m}$ ，以后简称称  $3\mu\text{m}$  小球和  $5\mu\text{m}$  小球。实验中，通过加入 NaCl 屏蔽静电排斥力，使胶体小球结合，温度为  $25^\circ\text{C}$ 。

把  $3\mu\text{m}$  小球和  $5\mu\text{m}$  小球以一定浓度稀释到水溶液中，与 NaCl 溶液混合，放入样品池中。利用光镊捕获操控小球，排布小球链。与前面方法不一样，我们是用单光镊进行排布的，小球链并不是完全悬浮于样品池中，而是有个支点。我们先捕获一个  $5\mu\text{m}$  小球，粘在地面上，再捕获一个  $5\mu\text{m}$  小球紧靠前面那个  $5\mu\text{m}$



球，并排粘到地面上。以两  $5\mu\text{m}$  为支点，一个个依次排布  $3\mu\text{m}$  小球形成小球链，使  $3\mu\text{m}$  小球链的一端粘在两  $5\mu\text{m}$  小球中间而被固定，另一端自由悬浮于溶液中，如图 4.11 所示。此过程大约需要几分钟的时间，链长短不同需要时间也不同。

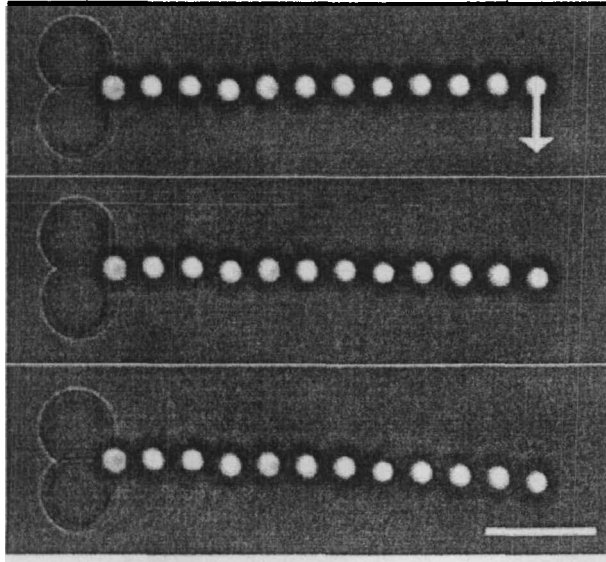


图 4.11 以粘在底面上的两  $5\mu\text{m}$  小球为支点，排布成  $3\mu\text{m}$  小球链，用光镊对链端  $3\mu\text{m}$  小球施加力使小球链弯曲。尺度条为  $10\mu\text{m}$ 。

排布好小球链之后，就可以对其力学性质进行测量了。用光镊对末端  $3\mu\text{m}$  小球沿着小球链垂直的方向施加力  $F_{\text{bend}}$ ，使小球链弯曲，如图 4.11 所示。这个过程中，使用被动操控技术，即光镊位置不动，通过移动平台使小球链相对光镊移动，而使小球链受力弯曲。小球的位移可通过 CCD 采集图像分析得出。末端小球受力的大小，可以通过末端小球偏移光镊中心的位置乘以光镊的刚度即可得出。由此可得到小球链形变和受力情况。我们在小球链的弹性范围内测量其弯曲力学性质，如图 4.12，可见弯曲力和偏移量呈线性关系，可得出一定个数小球的小球链刚度  $\kappa$ 。后面的数据分析方法和 4.2 节相同，通过计算可得小球间的结合刚度  $\kappa_0$ 。

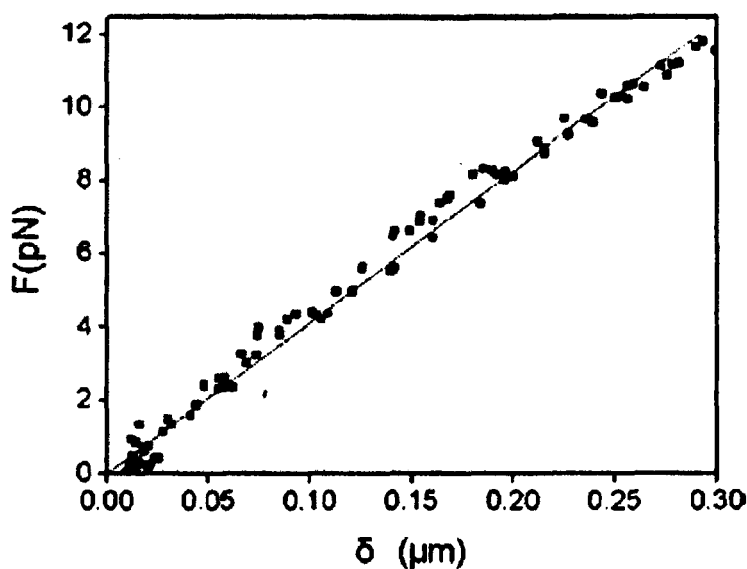


图 4.12 小球链受的弯曲力和小球偏移量的关。小球链长度为 12 个小球。NaCl 浓度为 0.5M。

之后，由跟踪测量小球链弯曲力学性质的变化，从小球链排布好开始，每隔 5 分钟测量一次小球结合刚度  $\kappa_0$ ，持续大约 3 个小时。这个过程中尽量保持环境条件不变。结果显示，在整个老化过程中，小球结合刚度  $\kappa_0$  随时间几乎呈线性增加，即  $\kappa_0 \sim t$ ， $\kappa_0$  增加速度大约为  $(1.8 \pm 0.3) \times 10^{-4} \text{ N/m} \cdot \text{s}$ 。图 4.13 给出了一个典型实验结果，小球链由 12 个小球组成。

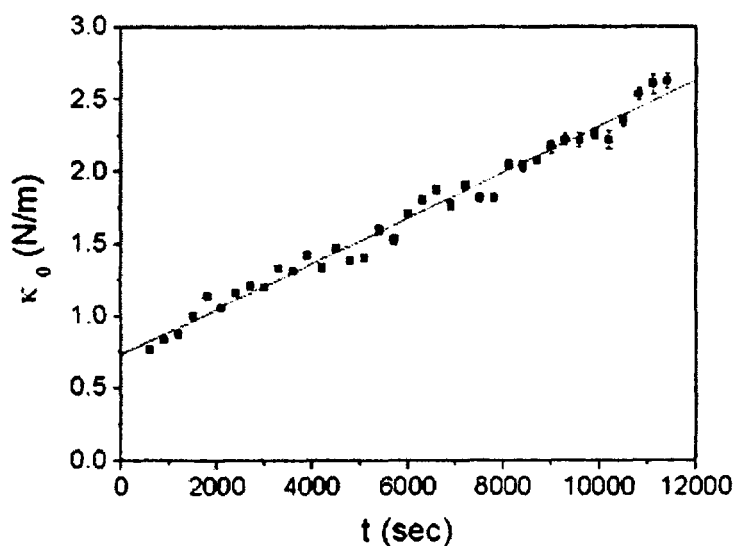


图 4.13 小球结合刚度随时间变化关系。测量间隔 5 分钟。

为了确定光镊弯曲小球链这个测量过程本身，不会对测量结果产生影响，我们采用了另外的时间间隔，每隔十分钟测量一次。测量结果和每隔5分钟测量一次的情况几乎一样，如图4.14。说明测量过程本身对测量结果产生影响，即结果反映了胶体凝胶粒子间的自然老化过程。

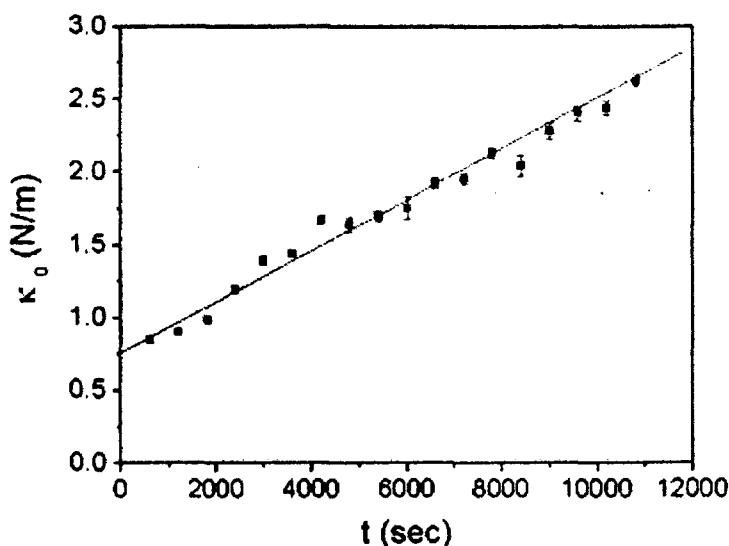


图 4.14 小球结合刚度随时间变化关系。测量间隔 10 分钟。

我们对不同 NaCl 浓度下 (0.3M、0.4M 和 0.5M) 的老化过程进行测量，粒子结合刚度随时间的关系  $\kappa_0(t)$ ，都是一样的。说明一价盐溶液浓度，对小球间的结合能及老化没有影响，在一定程度上与的 Pantia 和 Furst 的工作<sup>[10]</sup>相吻合。

### 4.3.2 理论解释

在这里强调一下，我们的测量结果与胶体小球间的结合刚度直接相关，因为使用的较直的线形单链这种简单的结构，通过合理的模型分析，完全排除了宏观实验中空间网络结构变化的影响，直接在粒子层次上反映了胶体凝胶的老化过程。初步结论为，对于聚苯乙烯小球组成胶体凝胶体系，小球结合刚度  $\kappa_0$ ，在初始的一段时间内，随时间线性增长，即  $\kappa_0 \sim t$ 。

下面我们对老化过程进行理论研究，对老化机理进行探讨解释。小球间的结合刚度  $\kappa_0$  是由小球间结合部位的大小及其性质所决定。由于球形对称，可以认

为小球间的几何部位为圆型, 设其半径为  $a_c$ , 由式 4.7 可知  $\kappa_0 \sim a_c^4$ 。小球结合刚度的增加即是由于结合部位的面积增大而导致的。有研究表明, 用电子显微镜观察发现, 经过较长时间的聚苯乙烯小球凝胶中的小球间, 有明显融合, 而新形成的凝胶中的粒子间, 边界较为清晰, 即还没有明显融合<sup>[11]</sup>。这和我们的观点一致。我们用烧结模型 (sintering) 来描述这个融合而接合面变大的过程。

下面对烧结作些介绍。烧结通常是描述高温下固体颗粒 (如金属、陶瓷、高分子等颗粒) 间的融合 (coalescence)。烧结是一种颗粒间为了减小总表面能而产生的融合, 其中主要驱动力为表面张力。一般大家所指的烧结是在高温下, 固体颗粒在溶化或变软的条件下, 有一定流变性时, 较为快速的融合。但烧结在温度较低的状态下, 可通过物质的固态扩散而进行, 使颗粒间收缩和结合部位变大, 只是这种条件下的烧结过程较慢而已, 物理过程则是一样的, 可用同一模型描述。

烧结模型的理论最早由 Frenkel 在文献[14]中提出。烧结的理论模型一般以材料的表面张力、粘性、扩散系数、粒子大小等作为参数, 描述小球颗粒间接触部位随时间变化的关系<sup>[15-17]</sup>。

在我们的实验研究中, 温度低于聚苯乙烯高分子材料的玻璃态转变温度, 是固体状态下扩散控制的烧结。固态烧结中的物质扩散有以下几种机制: 表面扩散、晶界扩散、体扩散和塑性流变。在我们的情况下, 如果认为体扩散是主要扩散机制, 由体扩散为主要机制的模型<sup>[15]</sup>可得, 结合半径  $a_c$  与时间的关系为  $a_c \sim t^{1/4}$ , 由式 4.7 可知  $\kappa_0 \sim a_c^4$ , 结合两式可得  $\kappa_0 \sim t$ , 即小球结合刚度  $\kappa_0$  随时间新型增加, 可以和实验结果符合得很好。由于缺乏具体的扩散速度等一些数据, 我们只能先作定性解释, 无法用此模型作更进一步的解释。而且我们这只是假设此情况下体扩散为主要扩散机制, 给出一个解释, 并无确切证据论断事实就是如此, 目前对这方面的研究尚不清楚, 需要结合有关烧结模型进行更深入的研究。不过我们相信引入烧结模型的这种理论解释, 能够为理解老化机制提供一定研究参考。

## 4.4 本章小结

本章实现了利用光镊技术在微观粒子层次上测量胶体粒子间的相互作用,在此基础上,通过测量粒子间相互作用随时间的变化,研究了胶体凝胶老化的微观机理。体系为了减小表面能,胶体凝胶中的粒子相互融合,结合部位变大,相互作用增强,并引入烧结模型来描述了结合部位随时间变化的过程。

## 本章参考文献

1. J.W.Lichtenbelt, H.J.M.Ras, and P.H.Wiersema, "Turbidity of coagulation lyophobic sols," *J. Colloid Interface Sci.* **46**, 522-527 (1974).
2. Z.W.Sun, and R.L.Qiao, "An experimental study of the influence of weak convection on perikinetic coagulation," *J. Colloid Interface Sci.* **223**, 126-132 (2000).
3. G.R.Zeichner, and W.R.Schowalter, "Effects of hydrodynamic and colloidal forces on the coagulation of dispersions," *J. Colloid Interface Sci.* **71**, 237-253 (1979).
4. M.B.Einarson, and J.C.Berg, "Electrosteric stabilization of colloidal latex dispersions," *J. Colloid Interface Sci.* **155**, 165-172 (1993).
5. R.Amal, J.R.Coury, J.A.Raper, W.P.Walsh, and T.D.Waite, "Structure and kinetics of aggregating colloidal hematite," *Colloids Surf.* **46**, 1-19 (1990).
6. 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).
7. 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," *J.Chem.Phys.* **119**, 2399-2405 (2003).
8. J.P.Pantina and E.M.Furst, "Directed assembly and rupture mechanics of colloidal aggregates," *Langmuir* **20**, 3940-3946 (2004).
9. J.P.Pantina and E.M.Furst, "Elasticity and critical bending moment of model colloidal aggregates," *Phys.Rev.Lett.* **94**, 138301 (2005).
10. J. P. Pantina and E. M. Furst, "Colloidal aggregate micromechanics in the presence of divalent ions," *Langmuir* **22**, 5282 (2006).
11. L. Cipelletti, S. Manley, R. C. Ball, and D. A. Weitz, "Universal aging feature in the restructuring of fractal colloidal gels," *Phys. Rev. Lett.* **84**, 2275 (2000).
12. S. Manley, B. Davidovich, N. R. Davies, L. Cipelletti, A. E. Bailey, R. J. Christianson, U. Gasser, V. Prasad, P. N. Segre, M. P. Doherty, S. Sankaran, A. L. Jankovsky, B. Shiley, J. Bowen, J. Eggers, C. Kurta, T. Lorik, and D. A. Weitz, "Time-dependent strength of colloidal gels," *Phys. Rev. Lett.* **95**, 048302 (2005).
13. E.M.Furst and J.P.Pantina, "Yielding in colloidal gels due to nonlinear microstructure bending mechanics," *Phys.Rev. E.* **94**, 050402 (2007).
14. J. Frenkel, "Viscous flow of crystalline bodies under the action of surface tension," *J. Phys.* **9**, 385 (1945).
15. R. J. Coble, Progress in sintering theory, in: G. C. Kuczynski, Sintering and Related Phenomena,

Plenum Press, New York, 1973, pp.177-190.

16. W. Koch, S. K. Friedlander, "The effect of particle coalescence on the surface-area of a coagulating aerosol," *J. Colloid Interface Sci.* **140**, 419 (1990).
17. K. Cho, P. Biswas, "A geometric sintering model (GSM) to predict surface area change," *J. Aerosol Sci.* **37**, 1378 (2006).

## 第5章 光镊横向捕获效率提高的研究

起初的研究中,为了提高光镊的捕获效率,一种常见的方法就是采用环形的激光而不是高斯光来实现光捕获。环形光能提高光镊的捕获效率的原因就是激光的中心部分对散射力部分的贡献很大,而对梯度力部分的贡献相对较小,因此去除激光的中心部分可以有效地提高梯度力而减小散射力,从而提高捕获效率。常用的作为光镊的光源的环形光有将高斯光中心部分挡掉而形成的环形光<sup>[1-3]</sup>,又称为空心高斯光;还有一种就是拉盖尔-高斯(LG)光束<sup>[4-8]</sup>。对于空心高斯光束,实验和已有的计算工作都表明纵向捕获力相对于高斯光束得到了有效提高<sup>[1, 2]</sup>; O'Neil 等人<sup>[8]</sup>也从实验上将纵向和横向捕获力和高斯光束进行了比较,他们同时还作了一些简单的计算来说明实验的结果,他们发现对于 LG 光束,轴向捕获效率提高的同时,横向捕获效率不像之前建议的那样会提高,而是没有变化。徐升华等人<sup>[9]</sup>作了环形光和 LG 光束对粒子的横向捕获力的计算,和前人一样,轴向捕获效率得到提高,但是横向捕获效率都会减小。

实际上,对于光镊的很多应用来说,轴向捕获力是为了能够将粒子束缚于光阱中,不让其逃逸即可,而恰恰是利用光镊的横向捕获力来进行微小力的测量。在这些情况下,过于高的轴向捕获力,无太多价值。可见在实际应用中,光镊的横向捕获效率是很重要的。在上第四章也提到,经常由于光镊捕获力不够大而无法对一些力进行测量。因此对于光镊两种捕获效率,即横轴和轴向需要重新认识,不能太注重于轴向捕获效率的提高,而过于忽视横向捕获效率。

研究表明,激光光束近轴的光对轴向的散射力和横向梯度力的光强梯度贡献大,即对横向捕获效率贡献也大,因而激光光束中心的光有利于提高横向捕获效率而会降低轴向捕获效率;离激光中心较远的光,会聚角较大,对轴向的梯度力贡献大,而对横向的梯度力贡献小,因而它有利于提高轴向捕获效率而不利于横向捕获效率。可见,轴向和横向捕获效率是互补的,相互消长的。通过上面的分析,可见环形光和 LG 光束与高斯光束相比,可提高轴向捕获效率而降低横向捕获效率。虽然环形光和 LG 光束对于增大轴向捕获效率,减小热损伤有一定意义,但是我们认为高斯光束在光镊应用中比环形光和 LG 光束在微小力测量应用方面有很大的优势。



为了提高光镊的横向捕获效率，我们提出了一个简单的方法。这个方法和传统光镊的设计不一样，在传统设计中高斯光束是要尽量充满甚至过充满显微物镜的数值孔径，目的是保证轴向捕获力。我们则利用未充满物镜数值孔径具有一定光斑大小的高斯光束，来形成光镊。这相当于增加了光束中心的光强比例，减少了外围光强比例，容易得知这种方法的效果，即增加了横向捕获效率，减小了轴向捕获效率。由于轴向捕获效率的会随光斑变小而减小，所以光斑不能太小，以保证轴向的稳定捕获。经过实验和理论的分析，发现光束充满物镜一定的孔径，物镜被利用的有效数值孔径大约在 0.7-0.8 之间时，效果较好。

下面介绍这部分工作的实验研究和理论计算。

## 5.1 实验研究

### 5.1.1 实验方法

先对实验研究方法作些介绍。当一个微小的外力作用在被捕获的小球上时，这个小球将会在横向上偏移至距离光阱中心  $x$  ( $x$  为一个位移值) 的位置达到新的平衡，假如光阱的刚度已知，这个外力可以由下面的公式算出：

$$F_{external} = F_{trapping} = k \cdot x。 \quad (5.1)$$

在这个公式中，小球的位移  $x$  可以由光镊系统直接测量，光镊刚度  $k$  是表征光镊力学性质的一个重要参数，它需要进行实验标定。光镊的另一个重要的参数是最大横向阱力，当小球受到的外力超过了这个最大阱力时，小球就会逃逸出光阱。最大阱力在应用中也有重要的作用，它可以被用来精确测量两个物体之间的相互作用力<sup>[10-13]</sup>。一般力的测量利用的都是光阱的横向捕获力。

前面我们已经提到过了，标定光阱刚度的最常用的方法<sup>[14]</sup>是热运动分析法和流体力学法。使用流体力学法测量刚度时，小球所受到的流体的粘滞阻力被用来作为力的标准，具体的原理和实验步骤在第三章中已经有了详细的介绍，这里就不再赘述。

流体力学法除了作为标定光阱刚度的一个方法以外，还被用来测量光阱的最大横向阱力  $F_{max}$ <sup>[15,16]</sup>。在作为这种用途时，流体的粘滞阻力被用来作为施加在小球上的外力，它的大小与液体的流速成正比。通常，我们假设小球会沿着粘滞力

的方向偏移出光阱的中心。当流速超过一个临界值时,光阱力不再能平衡粘滞力,小球就将挣脱光阱的束缚。这个临界的速度被称为逃逸速度  $v_{escape}$ , 与逃逸速度对应的临界的光阱力(见方程 5.1)被称为逃逸阱力  $F_{escape}$ , 这个力通常被认为就等于最大横向阱力:

$$F_{max} = F_{escape} = 6\pi\eta av_{escape} \quad (5.2)$$

在图 5.1 的小图就描述了这样的一个情形。

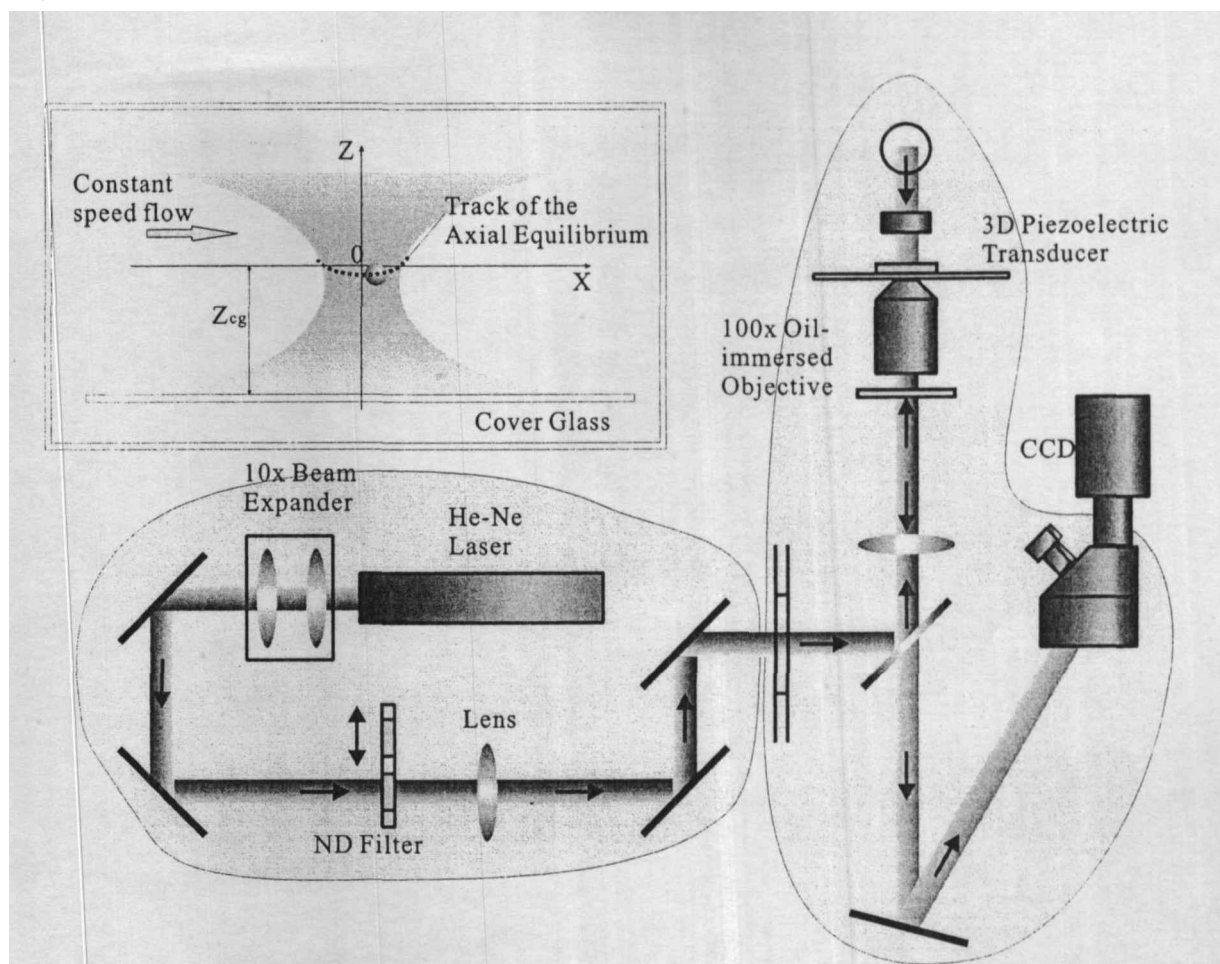


图 5.1: 实验装置示意图。小图: 流体力学法标定阱力过程示意图。

然而, 在文献<sup>[17]</sup>中已经提到了, 当使用流体力学法进行光阱刚度测量时, 液体与被捕获的小球之间存在一个不变的横向相对速率, 此时小球的平衡位置不仅在横向上偏移了光阱中心, 而且在纵向上也有一定的偏移。具体研究请参考相关文献<sup>[18]</sup>, 不作为本文重点讨论内容。在本文工作中, 流体力学法测量刚度和最大横向阱力时, 对本章工作影响不大, 小球的纵向偏移不作深入研究。可认为,

流体力学发标定的刚度即为光阱刚度；它们之间误差较小；而最大逃逸力是比最大光阱力要小很多，我们用流体力学法测量到的逃逸力来定性反映光阱的最大捕获力。

而光阱的捕获力及刚度是与形成光阱的激光光强成正比的，光阱里有另外一种写法：

$$F = Qnp/c, \quad (5.3)$$

其中  $Q$  是无量纲的捕获效率， $n$  是液体环境的折射率， $P$  是激光功率， $c$  是液体中的光速。这种写法是对于小球偏移光阱中心一定位置时的力。在光阱的简谐区也即光阱测力区，力与位移成正比。在我们的实验研究中，将测量的刚度比上激光光强（如射物镜前的激光功率值），用这个比值来衡量光阱的捕获效率，这与通常意义上的捕获效率  $Q$  有些区别，在这里说明一下。理论计算则使用捕获效率  $Q$  来衡量。最后对实验和理论结果定性的进行比较。

### 5.1.2 实验测量结果

我们利用的实验研究是为了测量小于物镜孔径的不同光斑大小的高斯光束的光阱捕获效率的变化，不同光斑大小对应物镜一定的有效数值孔径。轴向捕获效率测量方法在我们的实验条件下较难测量，我们在这里用流体力学法测量了横向刚度及横向逃逸力。

实验装置为我们实验室的另外一套系统——纳米光镊系统上进行的，装置图见图 5.1。实际上是使用了纳米光镊系统的一部分，包括倒置显微镜(Olympus IX-70; 100×油浸物镜 NA=1.35)、功率为10mW 的 He-Ne 激光器(Coherent, 31-2082-000,  $\lambda = 633nm$ ) 以及三维压电平台(Physik Instrumente, P517.3CL)，所使用的样品为直径 2 $\mu m$  的聚苯乙烯小球(Duke Scientific, 4202A)。使用流体力学法进行标定时，我们向压电平台发送一个三角波电压信号，压电平台的运动速度可以通过调节信号的幅度和频率来实现。由于液体环境被压电平台带动，被捕获的小球与液体环境之间会产生匀速率的往复相对运动。此时小球会受到液体环境施加的粘滞阻力，它会偏离光阱中心达到新的平衡位置。流体由压电平台驱动，流体的速度和小球受到的粘滞力的大小就可以通过改变压电平台的速度来实现，也就是通

过改变发送的电压信号的幅度和频率来实现。被捕获小球的运动过程由 CCD 系统来进行监控和录像，曝光时间取  $1ms$ ，然后使用图像来分析计算小球运动过程中的位移。作光阱力（等于粘滞力）和位移曲线，斜率即为光阱刚度。

随着小球与液体之间的相对速度的增加而增大，直到速度超过了临界速度小球逃逸出光阱，根据逃逸速度计算可得逃逸力大小。

在实验中，除了光束半径大小改变外，其余条件基本不变，例如光束的偏振态，测量光阱力的方向，小球离底面的高度等。强调一下，物镜不变，数值孔径 1.35，孔径大小为半径 3mm，由于光斑未充满物镜孔径，用光斑大小和有效数值孔径作为参数来描述光束状态。高斯光束的光斑大小用小孔法来确定，即认为通过小孔的光强为总光强的 86.5% 时的小孔半径，为高斯光束的光斑半径。

表格 1

光斑大小 (mm)	有效数值孔径 NA	刚度/功率 $pN/(\mu m^2 \cdot mW)$	逃逸力/功率 $pN/mW$
1.2	0.54	1.39	0.391
1.5	0.68	1.16	0.671
1.8	0.81	0.917	0.646
2.3	1.04	0.752	0.539
3.0	1.35	0.653	0.327

测量数据如表格 1 所示。结果显示，随着光斑半径的减小，横向捕获效果变好；横向逃逸力先增大，而后在光斑较小时开始减小。这是由于横向逃逸力受到轴向捕获力的一定影响，如前所述。当光斑较小，轴向捕获力也较小时，虽然此时的横向捕获效率高，但粒子却更加容易的从轴向上逃逸。这就是逃逸力后来减小的原因。还可以看出，在我的实验中，有效数值孔径为 0.7 左右时，逃逸力最大。逃逸力虽然不能准确反映最大光阱力，也可以定性反映光阱能测量的最大力。我们认为在有效数值孔径 0.7 附近，光阱状态最好，适于微小力的测量应用。

## 5.2 理论模拟计算

在上一节中介绍了实验研究，本节我们使用几何光学模型（RO 模型）<sup>[19]</sup> 来进行了理论计算。这种模型比电磁模型（EM 模型）<sup>[20]</sup> 要简单，可以定性的反映小球在光阱中的受力情况。

### 5.2.1 几何光学模型计算原理

对于粒子半径比光的波长大很多的情况下，可以把入射光看成由许多光线组成的，而光阱对粒子的作用力可以看成所有光线的作用力的和。在 RO 模型中，一束光线入射到粒子上的折射和反射情况如图 5.2 所示，具有功率  $P$  的光线以入

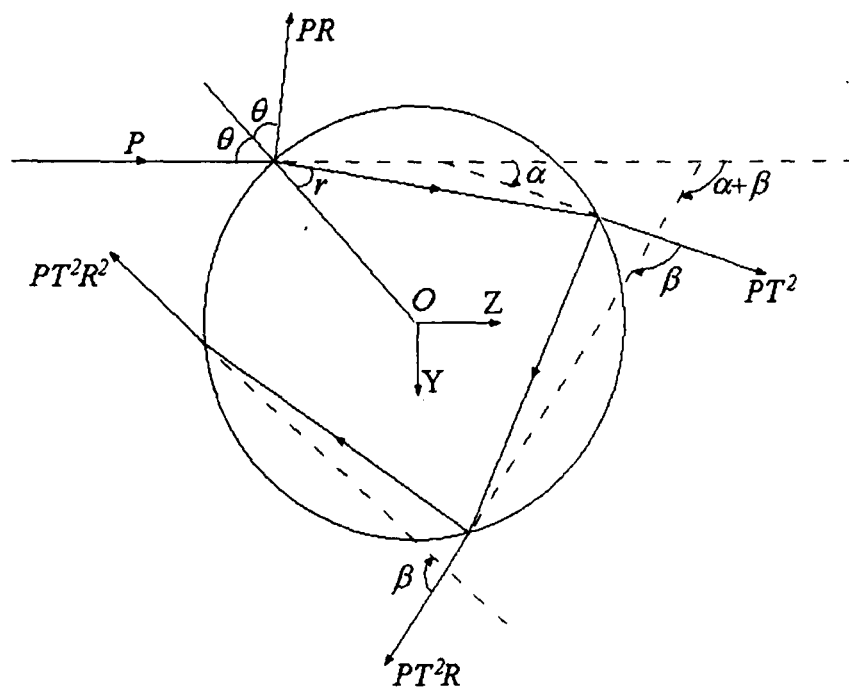


图 5.2 功率为  $P$  的一条入射光线入射到小球上之后的反射折射情况。

射角  $\theta$  入射到小球上时，将会发生部分反射和折射，折射角为  $r$ 。因此，散射光（包括反射光和球内部多次反射后的折射光）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；这些散射光与入射光方向的夹角分别为  $\pi+2\theta, \alpha, \alpha+\beta, \dots, \alpha+m\beta$ 。因此在入射光方向  $Z$  方向的单位时间内的动量变化可以表示为：

$$F_z = \frac{nP}{c} \left[ \frac{nPR}{c} \cos(\pi+2\theta) + \sum_{m=0}^{\infty} \frac{nP}{c} T^2 R^m \cos(\alpha+m\beta) \right] \quad (5.4)$$

对方程 5.4 进行化简:

$$\begin{aligned}
 & 2R \cos \beta \sum_{m=0}^{\infty} R^m \cos(\alpha + m\beta) \\
 &= \sum_{m=0}^{\infty} R^{m+1} [\cos(\alpha + m\beta + \beta) + \cos(\alpha + m\beta - \beta)] \\
 &= \sum_{m=1}^{\infty} R^m \cos(\alpha + m\beta) + \sum_{m=0}^{\infty} R^{m+2} \cos(\alpha + m\beta) + R \cos(\alpha - \beta)
 \end{aligned} \tag{5.5}$$

由此可以得到:

$$\begin{aligned}
 & (1 + R^2 - 2R \cos \beta) \sum_{m=0}^{\infty} R^m \cos(\alpha + m\beta) \\
 &= \sum_{m=0}^{\infty} R^m \cos(\alpha + m\beta) + \sum_{m=0}^{\infty} R^{m+2} \cos(\alpha + m\beta) \\
 & - \left[ \sum_{m=1}^{\infty} R^m \cos(\alpha + m\beta) + \sum_{m=0}^{\infty} R^{m+2} \cos(\alpha + m\beta) + R \cos(\alpha - \beta) \right] \\
 &= \cos \alpha - R \cos(\alpha - \beta)
 \end{aligned} \tag{5.6}$$

最终, 小球在  $z$  方向上所受到的力就可以表达为:

$$F_z = \frac{nP}{c} \left[ 1 + \cos(2\theta) - \frac{T^2 [\cos \alpha - R \cos(\alpha - \beta)]}{1 + R^2 - 2R \cos \beta} \right] \tag{5.7}$$

由几何关系  $\alpha = 2\theta - 2r$ ,  $\beta = \pi - 2r$ , 可得到:

$$F_z = \frac{nP}{c} \left[ 1 + \cos(2\theta) - \frac{T^2 [\cos(2\theta - 2r) - R \cos(2\theta)]}{1 + R^2 - 2R \cos(2r)} \right] \tag{5.8}$$

方程 5.8 给出的小球这部分的受力的方向与光线传播方向相同, 我们称之为散射力。同理, 我们可以计算出在  $y$  方向上小球受到的力的大小为:

$$F_y = \frac{nP}{c} \left[ R \sin(2\theta) - \frac{T^2 [\sin(2\theta - 2r) - R \sin(2\theta)]}{1 + R^2 - 2R \cos(2r)} \right] \tag{5.9}$$

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。

通过以上推导, 单条光线入射到小球上对小球的作用力可以用上述的解析表达式来计算, 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 偏振情况的处理

如同前面提到的那样,单条以入射角  $\theta$  入射到小球上的光线,经过小球的折射和反射之后,对小球的作用效率可以分为两个部分,一部分是与入射光平行的散射力,一部分是入射光方向垂直的,称为梯度力。结合公式  $F=QnP/c$  和公式 (5.8) 和 (5.9),可以得到散射力效率  $Q_s$  和梯度力效率  $Q_g$  的大小与入射角  $\theta$  的关系为:

$$Q_s = 1 + R \cos(2\theta) - \frac{T^2 [\cos(2\theta - 2r) + R \cos(2\theta)]}{1 + R^2 + 2R \cos(2r)} \quad (5.10)$$

$$Q_g = R \sin(2\theta) - \frac{T^2 [\cos(2\theta - 2r) + R \sin(2\theta)]}{1 + R^2 + 2R \cos(2r)} \quad (5.11)$$

其中  $\theta$  为入射角,  $r$  是折射角,  $R$  和  $T$  分别为反射和透射的菲涅尔系数。图 5.2 已经显示了单条光线入射到均匀折射率介质中的小球上之后的光线传播过程以及散射力梯度力的方向等。

虽然这两个式子中有四个参数,但是这些参数都是由  $\theta$  决定的,其中  $r$  和  $\theta$  的关系由折射率公式  $n \sin \theta = n_{bead} \sin r$  相联系,其中  $n_{bead}$  为小球的折射率。而  $R$  和  $T$  都只与  $\theta$  和  $r$  有关,对  $s$  偏振和  $p$  偏振的入射光来说,  $R$  和  $T$  分别可以表示为:

$$\left. \begin{aligned} R_p &= \frac{\tan^2(\theta - r)}{\tan^2(\theta + r)} \\ R_s &= \frac{\sin^2(\theta - r)}{\sin^2(\theta + r)} \\ T_p &= \frac{\sin 2\theta \sin 2r}{\sin^2(\theta + r) \cos^2(\theta - r)} \\ T_s &= \frac{\sin 2\theta \sin 2r}{\sin^2(\theta + r)} \end{aligned} \right\} \quad (5.12)$$

这样,在同样的入射角下,如果偏振方向不同,  $R$  和  $T$  也不同,这样  $Q_s$ ,  $Q_g$  的结果也不同。对于某一条入射光线来说,为了得到最终的  $Q_s$  和  $Q_g$ ,需要对不同的偏振情况分别处理。在我们的计算工作中,先将入射光分解成  $s$  光和  $p$  光,分别求出  $s$  光和  $p$  光的  $Q_s$  和  $Q_g$ ,然后再进行求和。

## 5.2.3 轴向力计算

在我们的光镊系统中，用的大都是大数值孔径的物镜，这样的物镜一般都是油浸的，这样在光线在进入样品池中的水（或其它溶液）溶液之前，都要先通过折射率匹配油和玻璃。如果认为油和玻璃有相同的折射率  $n_g$ ，而水的折射率为  $n_w$ ，由于水的折射率比油的折射率要小，这种折射率的不同将会导致球差的产生。在计算使用的模型是 RO 模型的情况下，由于对每条光线都需要进行追迹，因而我们可以直接将这种球差的影响考虑进去。

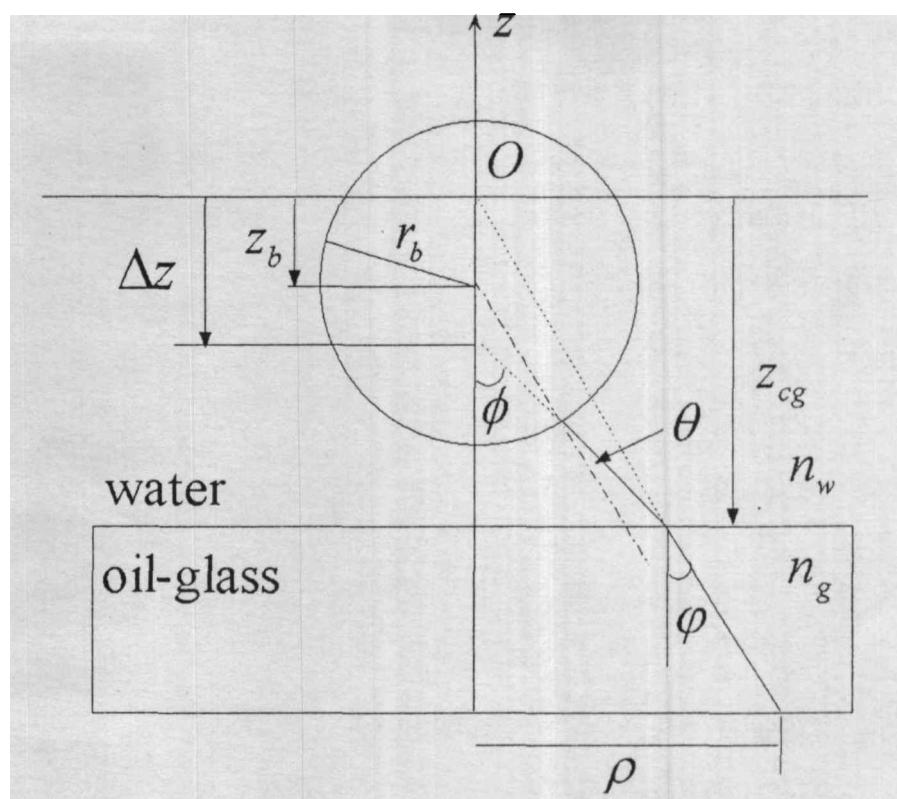


图 5.3 光线通过油和玻璃层进入溶液中并入射到小球上的示意图

为了对光镊粒子的轴向受力情况进行研究，当光线从油—玻璃层进入水中并入射到粒子上时，这一情形可以用图 5.3 来描述。在图中， $z$  方向是光线传播的方向，它与水和玻璃的界面是垂直的。粒子的半径为  $r_b$ ，光线与光轴在一个平面上，它以  $\phi$  的入射角入射到玻璃和水的界面，在水中的折射角为  $\phi$ ，光线从物镜的出光孔出射的位置距离光轴（也即出光孔中心）的距离为  $\rho$ 。如果光线传播的介质的折射率是均一的  $n_g$ ，那么此时不存在球差，所有的光线都会会聚到一个理想的焦点  $O$  上，这个点在图 5.3 中作为整个坐标系的原点。水和玻璃的界面与



原点  $O$  的距离为  $z_{cg}$ 。在油和玻璃介质中的入射光线经过玻璃和水的界面折射后的光线在没有小球存在的情况下会入射到  $z$  轴上，它和  $z$  轴的交点与原点  $O$  的距离设为  $\Delta z$ 。粒子中心和原点  $O$  的距离为  $z_b$ 。这些参数都在图 5.3 中标出。

这样，我们就可以对入射的光线进行分析得到光线的入射角。利用图中的几何关系，用正弦定理可以得到  $\frac{\sin(\theta)}{z_b - \Delta z} = \frac{\sin(\phi)}{r_b}$ ，因而有

$$\sin(\theta) = \frac{z_b - \Delta z}{r_b} \sin(\phi) \quad (5.13)$$

再由图 5.3 中的几何关系可以得到

$$\frac{z_{cg} - \Delta z}{z_{cg}} = \frac{\text{ctg } \phi}{\text{ctg } \phi} = \frac{\sin \phi \cos \phi}{\cos \phi \sin \phi} \quad (5.14)$$

由折射率公式可以得到：

$$\frac{\sin \phi}{\sin \phi} = \frac{n_w}{n_g} \quad (5.15)$$

引入油浸物镜的数值孔径  $NA = n_g \sin \phi_{\max}$ ，其中  $\phi_{\max}$  为最大孔径角，从而有  $\sin \phi_{\max} = \frac{NA}{n_g}$ 。对于数值孔径比较大的油浸物镜，一般认为物镜的出射光是

球面波前，物镜符合正弦条件 (sine condition)。此时有  $\sin \phi = \frac{\rho}{\rho_p} \sin \phi_{\max}$ ，其

中  $\rho_p$  为物镜出光孔的半径， $\rho$  为考虑的单条光线从物镜出射时与  $z$  轴的距离。如

果再引入相对参数  $\eta = \frac{\rho}{\rho_p}$ ，就可以得到  $\sin \phi = \eta \frac{NA}{n_g}$ ，再利用公式 (5.15)，又

可以得到  $\sin \phi = \eta \frac{NA}{n_w}$ 。公式 (5.14) 变为：

$$\frac{z_{cg} - \Delta z}{z_{cg}} = \frac{\sin \phi \cos \phi}{\sin \phi \cos \phi} = \frac{\sin \phi}{\sin \phi} \left( \frac{1 - \sin^2 \phi}{1 - \sin^2 \phi} \right)^{\frac{1}{2}} = \frac{n_w}{n_g} \left[ \frac{1 - \eta^2 \left( \frac{NA}{n_w} \right)^2}{1 - \eta^2 \left( \frac{NA}{n_g} \right)^2} \right]^{1/2} \quad (5.16)$$

这样,  $\Delta z$  可以写为<sup>[8]</sup>:

$$\Delta z = z_{cg} \left\{ 1 - \frac{n_w}{n_g} \left[ \frac{1 - \eta^2 \left( \frac{NA}{n_w} \right)^2}{1 - \eta^2 \left( \frac{NA}{n_g} \right)^2} \right]^{1/2} \right\} \quad (5.17)$$

这样, 利用  $\sin \phi = \eta \frac{NA}{n_w}$  和公式 (5.17) 给出的  $\Delta z$  的表达式, 就可以带入到公式 (5.13) 中得到入射角  $\theta$  的值。利用公式 (5.10) 和 (5.11), 再对轴向进行分解, 就可以计算得到光镊中的粒子轴向受力情况。

在计算过程中, 除了入射角之外, 还需要知道光束的光强分布, 以便能够得到每一条光线对小球的作用力在整个光束中的贡献。激光束的在物镜出光孔处的光强分布可以看成是一个被物镜的出光孔截断的高斯分布, 它可以用下式表示<sup>[8]</sup>:

$$I(\rho) = \begin{cases} I_0 \exp(-2\rho^2 / \omega_0^2) & \rho \leq \rho_p \\ 0 & \rho > \rho_p \end{cases} \quad (5.18)$$

其中  $I_0$  是光束中心的光强,  $\omega_0$  是物镜出光孔处的束腰半径。

通过以上分析可知, 利用系统参数和光线的参数可以对单条光线对小球的纵向的作用力进行计算, 总的纵向力可以通过对所有光线的作用力积分得到。

#### 5.2.4 横向力计算

与轴向捕获力的计算不同, 计算横向捕获力时, 小球并不在光轴上, 因此计算更为复杂。按照 RO 模型, 我们同样利用光线追迹, 并考虑油和水的折射率不匹配引起的球差效应。这样, 一条光线入射到偏轴上的粒子的情况由图 5.4 给出, 一些相关的参数也在图中表示出。

和上节的一些参数相同, 油和玻璃有相同的折射率  $n_g$ , 而水的折射率为  $n_w$ 。 $z$  方向是沿着光线传播的方向, 它与水和玻璃的界面是垂直的,  $x$  方向为粒子偏离轴线的方向。粒子的半径为  $r_b$ , 球心为  $O'$ , 在玻璃和水的界面的投影为 B 点, 小球偏离光轴的距离为  $x$ 。光线与光轴在一个平面上, 它以  $\phi$  的入射角入射到玻

璃和水的界面，在水中的折射角为  $\phi$ ，光线从物镜的出光孔出射的位置距离光轴

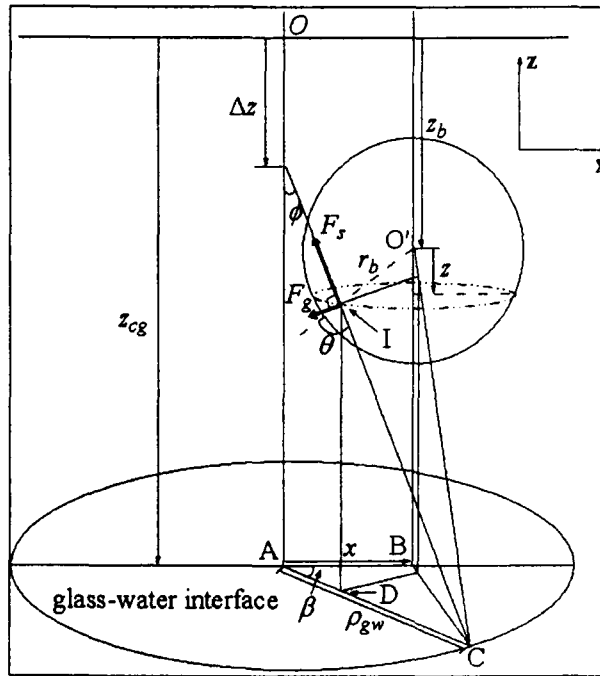


图 5.4 一条光线入射到一个离轴小球上后求得受力情况。

(也即出光孔中心) 的距离为  $\rho$ ，它入射到玻璃和水的界面处的 C 点，它与光轴的距离为  $\rho_{gw}$ 。光线入射到小球上的 I 点，I 点在玻璃和水的界面的投影为 D，I 点和球心  $O'$  点在  $z$  轴方向的距离为  $z$ 。 $O$  点为油和玻璃介质中的光线的理想焦点，这个点在图 5.4 中作为整个坐标系的原点，它在油和玻璃的界面上的投影点为 A。水和玻璃的界面与原点  $O$  的距离为  $z_{cg}$ 。在油和玻璃介质中的入射光线经过玻璃和水的界面折射后的光线和  $z$  轴的交点与原点  $O$  的距离为  $\Delta z$ 。粒子中心  $O'$  和原点  $O$  在  $z$  轴方向上的距离为  $z_b$ 。和上节情况不同的是，本节中考虑的是光镊对粒子的横向捕获力，这样，不同的角度入射到小球上的光线的横向作用力不同，因此这里需要引入的另外一个参数就是入射光线在玻璃和水的界面上的投影与  $x$  轴的夹角  $\beta$ 。

考察图 5.4 中玻璃和水的界面上的三角形 ABC，如图 5.5 所示，实线和一些相应参数与图 5.4 相同。

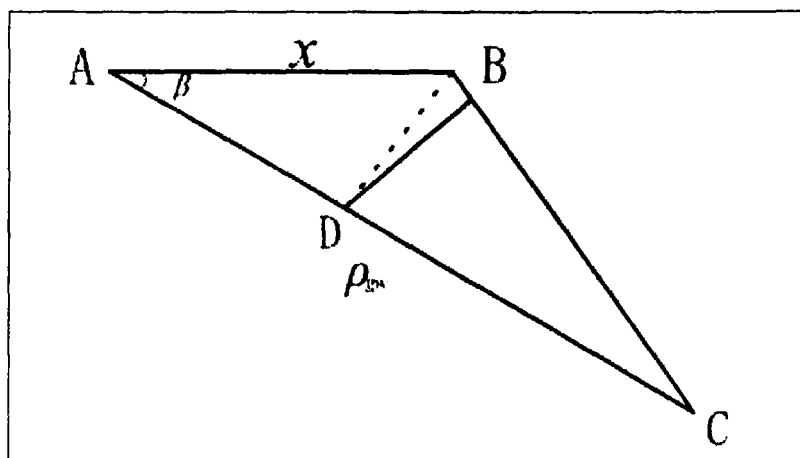


图 5.5: 玻璃和水界面上的三角形 ABC。

从图 5.4 中可以容易看出, AD 的长度为  $(\Delta z - z - z_b) \tan \phi$ , 在图 5.5 种用余弦定理可以得到:

$$BD^2 = [(\Delta z - z - z_b) \tan \phi]^2 + x^2 - 2x(\Delta z - z - z_b) \tan \phi \cos \beta \quad (5.19)$$

在图 5.4 中没有画出 BD 这条线段, 但在图 5.5 种可以看出 BD 的长短, 就等于通过入射光线与小球表面交点的水平面与小球表面相交所得的小圆 (图 5.5 中用虚线表示) 的半径, 根据勾股定理有:

$$z^2 + BD^2 = r_b^2 \quad (5.20)$$

将方程 5.19 代入方程 5.20 可以得到:

$$[(\Delta z - z - z_b) \tan \phi]^2 + x^2 - 2x(\Delta z - z - z_b) \tan \phi \cos \beta + z^2 = r_b^2 \quad (5.21)$$

将上式改写成  $z$  的一元二次方程的形式后为:

$$\begin{aligned} & (\tan^2 \phi + 1)z^2 + [2(z_b - \Delta z) \tan^2 \phi + 2x \tan \phi \cos \beta]z + \\ & [(z_b - \Delta z)^2 \tan^2 \phi + x^2 + 2x(z_b - \Delta z) \tan \phi \cos \beta - r_b^2] = 0 \end{aligned} \quad (5.22)$$

从几何学角度来看, 光线与小球表面有两个交点, 因此  $z$  有两个解。但从物理上说, 光线只有一个入射点, 考虑到光是沿  $z$  方向传播, 我们应取较小的解, 即:

$$\begin{aligned} z = & -\frac{1}{2}(\tan^2 \phi + 1)^{-1} \text{sqrt}([2(z_b - \Delta z) \tan^2 \phi + 2x \tan \phi \cos \beta]^2 \\ & - 4(\tan^2 \phi + 1)[(z_b - \Delta z)^2 \tan^2 \phi + x^2 + 2x(z_b - \Delta z) \tan \phi \cos \beta \\ & - r_b^2]) - \frac{[2(z_b - \Delta z) \tan^2 \phi + 2x \tan \phi \cos \beta]}{2(\tan^2 \phi + 1)} \end{aligned} \quad (5.23)$$

利用方程 5.23 得到的  $z$  值，我们就可以得到光线的入射角  $\theta$ 。再来看看图 5.4 中的另一个三角形（如图 5.6 所示），三个顶点分别是球心  $O'$ ，光线在玻璃和水的界面上的折射点  $C$ ，以及光线与小球的交点  $I$ 。

从图 5.4 中的几何关系可以得到  $IC = (z + z_b - z_{cg}) / \cos \phi$ ， $IO'$  为球的半径  $r_b$ 。要知道  $CO'$  的大小，就需要知道直角三角形  $BCO'$  中另外两条直角边  $BC$  和  $BO'$  的长度，其中  $BO'$  的长度很容易从图 5.4 中看出来为  $(z_b - z_{cg})$ ， $BC$  的值可以从图 5.5 中由余弦定理得出。在三角形  $ABC$  中，角度  $\angle BAC$  的值为  $\beta$ ， $AB$  的长度为  $x$ ，而  $AC$  的长度可以从图 5.4 中的几何关系得到，为  $(\Delta z - z_{cg}) \tan \phi$ 。接下来，利用余弦定理可以得到  $BC$  的长度，再利用勾股定理就可以计算  $CO'$  的长度。由于三角形  $ICO'$  的三条边的长度都可以计算出来，那么再利用余弦定理就可以求得  $\theta$  角的值。

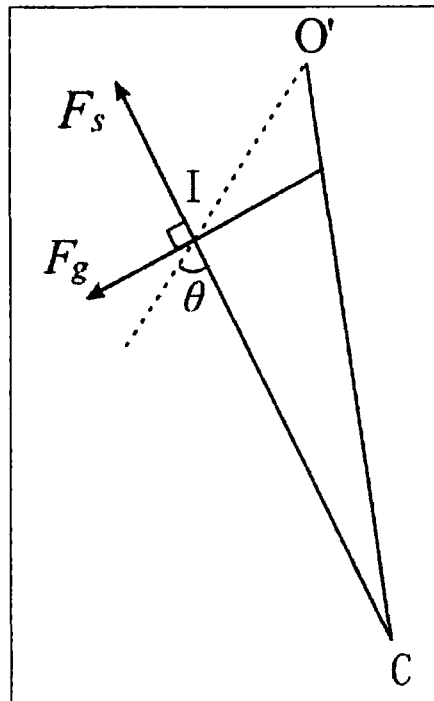


图 5.6 三角形  $ICO'$  示意图，其中  $IO'$  为法线， $CI$  为入射光线， $\theta$  为入射角。

入射角  $\theta$  求出来以后，我们就可以利用公式 5.10 和 5.11 来计算  $F_{scattering}$  和  $F_{gradient}$  的值了。把  $F_{scattering}$  和  $F_{gradient}$  对  $x$  方向做投影就可以得到该条光线对粒子横向受力的贡献。考虑光场是轴对称的，因此我们只需要计算在  $x-z$  平面内的阱力

的分布。

通过以上分析可知,利用系统参数和光线的参数可以对单条光线对小球的横向的作用力进行计算,考虑光强分布后,总的横向力可以通过对所有光线的作用力积分得到。

通过以上分析,可得到小球的轴向和横向受力情况。我们先计算周详的平衡位置,确定  $z$  值,然后计算这个  $z$  平面的横向力场的分布。在理论计算中所使用的各种参数都与实验系统中的一致:聚苯乙烯小球和水的折射率  $n_{particle}$  和  $n$  分别为 1.55 和 1.33;物镜用油的折射率为 1.516。激光的理想焦点距离样品池地面之间的高度  $z_{cg}$  设为  $-10r_b$ ,  $r_b$  为小球的半径。

### 5.3 计算结果和讨论

对于小于物镜孔径,不同光斑大小或不同有效数值孔径的高斯光束,我们对其轴向和横向捕获效率都作了计算。其中先计算轴向捕获效率,并确定轴向平衡位置,再计算此平衡位置的横向捕获效率,结果如图所示。

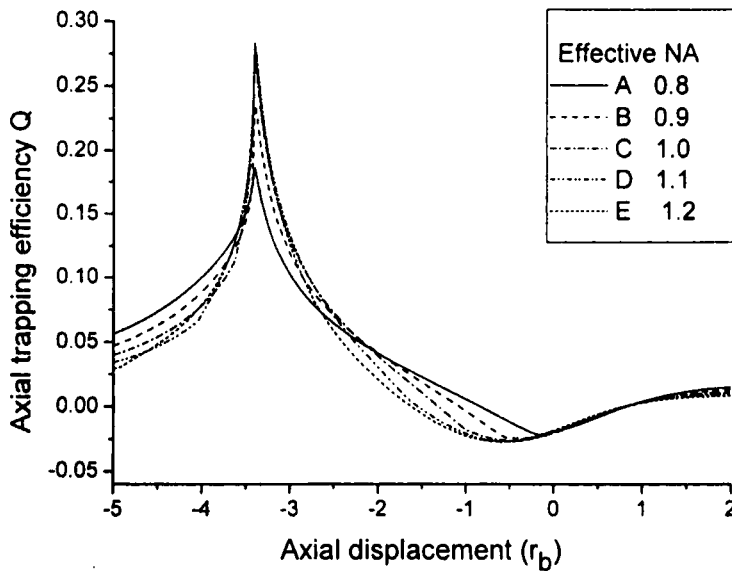


图 5.7 轴向捕获效率与轴向位移之间的关系。有效数值孔径: A, 0.8; B, 0.9; C, 1.0; D, 1.1; E, 1.2。入物镜前的光斑半径 (mm): A, 1.78; B, 2.0; C, 2.22; D, 2.44; E, 2.67。

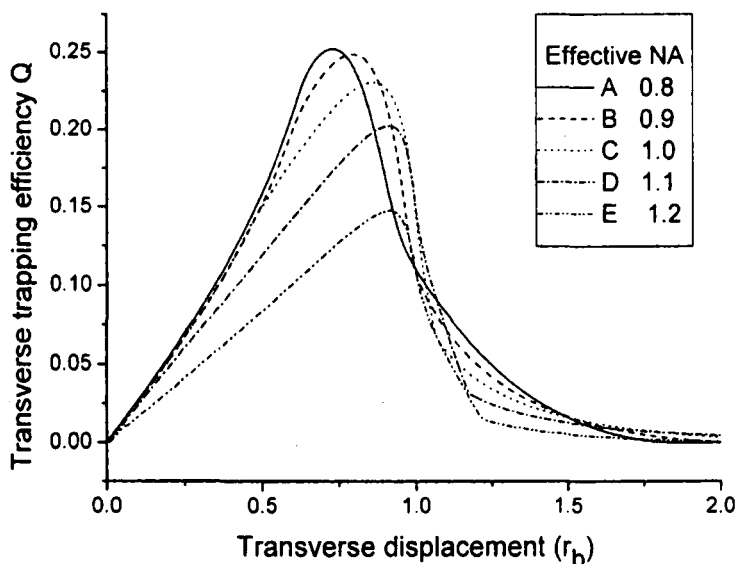


图 5.8 横向捕获效率与横向位移之间的关系。有效数值孔径: A, 0.8; B, 0.9; C, 1.0; D, 1.1; E, 1.2. 入物镜前的光斑半径 (mm): A, 1.78; B, 2.0; C, 2.22; D, 2.44; E, 2.67.

计算结果表明随着有效数值孔径或光斑半径的减小, 轴向捕获效率单调减小, 横向捕获效率单调增加, 和实验结果基本相同。还可以看出, 随着有效数值孔径的减小, 轴向捕获效率下降很快, 而横向捕获效率在有效数值孔径 0.9 以下后下降趋于缓慢。因此比较理想的有效数值孔径为 0.8 左右, 和实验结果 0.7 较为接近。

对于以上结果可以用几何光学模型这样理解: 对于轴向捕获, 光束中心附近的光线与离光束中心较远的光线相比, 前者对轴向的梯度力贡献较小, 对散射力贡献较大。因此较大光斑的光束具有较高的轴向捕获效率。考虑球差的影响, 较大有效数值孔径的光斑的轴向捕获效率不是很好<sup>[23]</sup>。对于横向捕获, 粒子在横向上偏离平衡位置后, 光强由于梯度分布, 光线作用于小球上对小球产生一个指向平衡位置的回复力。如果光束中心的强度分布较小, 其强度梯度也将较小, 因而横向捕获效率较小, 反之光束中心强度分布大, 梯度大, 横向捕获效率则较高。因此, 高斯光束的光斑越小, 或有效数值孔径越小, 则横向捕获效率越大。

## 5.4 本章小结

本章工作表明,可利用未充满物镜孔径的具有合适光斑较小的高斯光束来形成光镊,以提高光镊的横向捕获效率。在光镊的具体应用中,需要综合考虑光镊的横向捕获效率、轴向捕获效率及最大捕获力等参数。对于光镊的力的测量应用来说,我们建议采用的有效数值孔径为0.7-0.8。对于不同的应用则需要根据具体需求来设计光镊。本研究从理论和实验两方面分析了光镊横向和纵向捕获的关系,给出了提高光镊横向捕获效率的方法,该方法能对光镊的设计和应用提供具体参考。



## 本文参考文献:

1. 尹良红, 李银妹, 楼立人, 张达, 陈洪涛, “空心新型光阱的实验研究,” 中国激光 **30**, 211-215 (2003).
2. 崔国强, 李银妹, 翁明琪, 楼立人, “环形光对光阱有效捕获力的提高,” 中国激光 **28**, 89-92 (2001).
3. M.Gu, D.Morrish, and P.C.Ke, “Enhancement of transverse trapping efficiency for a metallic particle using an obstructed laser beam,” *Appl.Phys.Lett.* **77**, 34-36 (2000).
4. L.Allen, M.W.Beijersbergen, R.J.C.Spreew, and J.P.Woerdman, “Orbital angular momentum of light and the transformation of laguerre-gaussian laser modes,” *Phys. Rev. A*, **45**, 8185-8189 (1992).
5. H.He, M.E Fries, N.R.Heckenberg, and H.Rubinsztein-Dunlop, “Direct observation of transfer of angular momentum to absorptive particles from a laser with a phase singularity,” *Phys.Rev.Lett.* **75**, 826-829 (1995).
6. K.T.Gahagan, and G.A.Swartzlander,Jr, “Optical vortex trapping of particles,” *Opt. Lett.* **21**, 827-829 (1996).
7. A.T.O’Neil, and M.J.Padgett, “There-dimensional optical confinement of micron-sized metal particles and the decoupling of the spin and orbital angular momentum within an optical spanner,” *Opt.Comm.* **185**, 139-143 (2000).
8. A.T.O’Neil, and M.J.Padgett, “Axial and lateral trapping efficiency of Laguerre-Gaussian modes in inverted optical tweezers,” *Opt. Commun.* **193**, 45-50(2001).
9. Xu S H, Li Y M and Lou L R , “Systematical study of trapping forces of optical tweezers formed by different types of optical ring beams,” *Chin. Phys.* **12**, 1009 (2006).
10. Tadashi Fujii, Yu-Long Sun, Kai-Nan An, et al., “Mechanical Properties of Single Hyaluronan Molecules,” *Journal of Biomechanics*, **35**, 527 (2002).
11. Steven B. Smith, Yujia Cui, Carlos Bustamante, “Overstretching B-DNA: The Elastic Response of Individual Double-Stranded and Single-Stranded DNA Molecules,” *Science*, **271**,795 (1996).
12. Keir C. Neuman, Steven M. Block, “Optical Trapping. Review of Scientific Instruments,” **75**, 2787 (2004).
13. Shen Weimin, Li Yinmei, Yue Jiachang, et al., “Measuring the Adhesion of

- Biomacromolecules by Optical Tweezers,” *Chinese Applied Optics*, **24**, 233 (2004).
14. Karl Otto Greulich. *Micromanipulation by light in biology and medicine: the laser microbeam and optical tweezers*, Basel, Birkhauser, 1999.
  15. S. Reihani, Mohammad Charsooghi, Hamid Khalesifard, et al., “Efficient In-depth Trapping with an Oil-immersion Objective Lens,” *Optics Letters*, **31**, 766 (2006).
  16. S. Reihani, H. Khalesifard, R. Golestanian, et al., “Measuring Lateral Efficiency of Optical Traps: The Effect of Tube Length,” *Optics Communications*, **259**,204 (2006).
  17. J. H. Bao, Y. M. Li, L. R. Lou, “Information Entropy Method for measuring the axial displacement of a bead and its application to analyzing the trapping force of optical trap,” *Proceedings of SPIE*, **5637**, 305 (2005).
  18. Zan Gong, Zhong Wang, Yinmei Li, Liren Lou and Shenghua Xu, “Axial deviation of an optically trapped particle in trapping force calibration using the drag force method,” *Optics Communications*, **273**(1), 37-42, (2007).
  19. Shenghua Xu, Yinmei Li, Liren Lou, “Axial Optical Trapping Forces on Two Particles Trapped Simultaneously by Optical Tweezers,” *Applied Optics*, **44**, 2667 (2005).
  20. J. P. Barton, D. R. Alexander, and S. A. Schaub, “Theoretical Determination of Net Radiation Force and Torque for a Spherical Particle Illuminated by a Focused Laser Beam,” *Journal of Applied Physics*, **66**, 4594 (1989).
  21. A. Ashkin, “Forces of a Single-beam Gradient Laser Trap on a Dielectric Sphere in the Ray Optics Regime,” *Biophysical Journal*, **61**, 569 (1992).
  22. Erik Fällman, Ove Axner, “Influence of a Glass-Water Interface on the On-Axis Trapping of Micrometer-Sized Spherical Objects by Optical Tweezers,” *Applied Optics*, **42**, 3915 (2003).
  23. 谷勇强, 龚鏊, 楼立人, 李银妹. “光镊中油浸物镜数值孔径利用率的研究,” *应用激光*, **27**(2), 98-103 (2007).



## 博士期间发表论文目录

1. **BingHuan Meng**, JianGuang Wu, YinMei Li, LiRen Lou, “Aging process of the bond between colloidal particles measured using laser tweezers”, Colloids and Surfaces A. 已接收
2. **BingHuan Meng**, JinHua Zhou, MinCheng zhong, YinMei Li, JianGuang Wu, HongLiang Ren, “Improvement of transverse trapping efficiency of optical tweezers”, Chinese Physics Letters., **25** (6), (2008) .已接收
3. 张文静, 李银妹, 楼立人, 徐升华, 孟炳寰, “应用光镊技术测量液相微区温度,” 中国激光, **33**, 663-666, (2006)



## 致谢

本论文的工作是在导师郭光灿教授和李银妹教授的亲切关怀和悉心指导下完成的。在实验室的这些年中，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。郭老师学识渊博，思想深邃，每次和郭老师讨论问题，我所获得的知识总能高于我的期望，让我能够在学习和研究上快速地进步。李老师工作极其敬业，她总是教育我在工作上要勤奋认真，不能有任何的马虎，她很关心我们的学习生活，给了很多关切帮助，从她身上我也学到了很多为人处世的道理。在此，谨向两位导师表示崇高的敬意和衷心的感谢。

特别要感谢楼立人教授。每次向楼老师请教问题，他总是和蔼耐心、孜孜不倦的跟我讲解。在一段时间我研究工作受到挫折，楼老师不断的开导和鼓励我，并给予了我很大的帮助，让我顺利地度过了难关。楼老师学术渊博，治学严谨，为人和蔼可亲，在此我向他表示衷心的感谢和尊敬。

我还要特别感谢特别要感谢中国科学院力学研究所孙祉伟教授和已经毕业的徐升华博士，是他们将我引入我原本很陌生的胶体体系领域，给予我很多指导和帮助，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，在理论和实验上都有深厚的功底，他也让我学到了很多新的思考方式和研究方法。徐升华师兄基础知识扎实，实验技能强，思维敏捷，也让我学到了很多的东西。

感谢量子信息实验室的黄运锋老师和项国勇师兄，他们在实验设备方面给了我很大的帮助。

在实验室的这五年来，师兄姐妹在研究上都给了我很多关心和帮助，实验室融洽的工作和生活氛围让我在这一段时间里感受到了大家的真诚，缓解了我的工作压力。感谢和我一同工作过的任洪亮、吴建光博士、周金华博士、钟敏成博士，没有他们的配合，我的毕业论文将无法完成，特别感谢吴建光师弟，为我的工作做了很多贡献。感谢姚焜老师，王自强老师，已经毕业的龚鋈博士、张文静硕士、王忠硕士、谷勇强硕士等同学，在我的研究过程中，他们都给了很多帮助，提了很多宝贵的建议。

感谢我的父母以及其他家人，特别是我的姐姐们，是他们给了我最最无私的关心、帮助和鼓励，没有他们我不可能顺利完成我的工作。

感谢我的未婚妻和岳父母，他们非常关怀我的生活学习，我研究中遇到任何问题，他们都能给予我勇气和力量，给了我很大的帮助。

感谢 9902 所有的同学，尤其是阿蔡、方律、陆小松、张辉、张沛、王炜华、

王波东、邬融、钟声、邓锐、刘强……………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。

感谢那些所有我应该感谢但却无法在这里一一列出的人。

祝愿实验室蓬勃发展！祝愿教授们身体健康！祝愿各位同学学有所成、工作顺利！祝愿所有的朋友心想事成！

孟炳寰

二零零八年四月于中国科学技术大学