Vladimir Petrović i Marija Janković

Konstrukcija optičkih pinceta

Cilj ovog rad bila je konstrukcija aparature koja bi omogućila proizvoljno manipulisanje mikročesticama pomoću laserskog snopa, odnosno optičkog sistema poznatog kao optičke pincete. Providne sferne čestice prečnika 1.02 i 3.01 µm uspešno su zarobljene u fokus laserskog snopa i proizvoljno pomerane u odnosu na ostale čestice u uzorku, u horizontalnoj ravni. Za fokusiranje Gausovskog laserskog snopa sa početnom snagom od 14.4 mW i istovremeno za posmatranje uzorka, korišćen je mikroskopski objektiv uvećanja 40 puta, a zarobljavane čestice nalazile su se u vodenom rastvoru etanola. Izmerena je i minimalna snaga na izlazu iz objektiva neophodna za uspešno pomeranje čestica. Za čestice veličine 1.02 µm ona je iznosila 1 mW, a za čestice od 3.01 µm bila je 1.2 mW. Značaj projekta leži u jednostavnosti konstrukcije i nekarakterističnim laboratorijskim uslovima za ovu obično komplikovanu i zahtevnu aparaturu.

Uvod

Optičke pincete predstavljaju optički sistem koji služi za manipulisanje mikro i nano čestica. Manipulisanje česticama postiže se zarobljavanjem čestica u žiži fokusiranog laserskog snopa.

Artur Aškin, dvanaest godina nakon otkrića lasera, 1970. godine, primenio je pritisak svetlosti za ubrzavanje i zarobljavanje mikročestica. Koristio je isprva jedan, a zatim dva laserska snopa uperena jedan prema drugom i fokusirana u istoj tački – tamo gde je trebalo zarobiti česticu. Kako bi čestica pod naletom fotona jednog snopa bila ubrzavana dok je podloga ne zaustavi, idući korak bilo je vertikalno zarobljavanje čestice uz pomoć sile gravitacije. Konačno, 1986. godine predstavljene su optičke pincete, eksperimentalna postavka kojom je bilo moguće pomerati mikročestice duž sve tri prostorne dimenzije samo zarobljavanjem čestice u fokus laserskog snopa. Godinu dana kasnije Aškin je slobodno manipulisao pojedinačne bakterije i viruse, a lista uspešno zarobljenih objekata do danas je obimna: dielektrične sfere, metalne čestice, aerosoli, veliki organski molekuli, alge, ćelije gljiva, crvena krvna zrnca i mnoge druge

Vladimir Petrović (1991), Požega, Miloša Obilića 12, učenik 4. razreda Gimnazije "Sveti Sava" u Požegi

Marija Janković (1991), Beograd, Ratnih vojnih invalida 23/13, učenica 4. razreda Računarske gimnazije u Beogradu

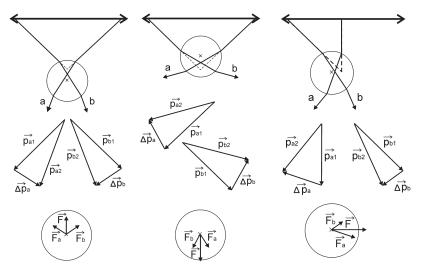
MENTORI:

Uroš Delić, student Univerziteta u Beču

Jelena Pajović, student Fizičkog fakulteta Univerziteta u Beogradu žive ćelije, ćelijske organele, a proizvoljno su pomerani čak i krajevi DNK i pojedinačni hromozomi. Prvobitni problem oštećenja živih ćelija zbog ogromnog intenziteta svetlosti u fokusu rešen je korišćenjem infracrvenih lasera. Optičke pincete danas imaju široku primenu u fizici, hemiji i naročito biofizici.

Sile koje česticu zadržavaju u fokusu su reda veličine femto do nanonjutna, a njihove tačne analitičke interpretacije još uvek su deo aktuelnih istraživanja. Međutim, teoretski jeste pokazano da će svetlost u fokusu na česticu delovati tako da je tu zadrži bez obzira na to da li su čestice veće, manje ili približno jednake talasnoj dužini korišćene svetlosti.

Za providne objekte (bar približno) sfernog oblika veće od korišćene talasne dužine, osnovni princip rada optičkih pinceta može se objasniti korišćenjem zakona geometrijske optike. Raspodela intenziteta duž prečnika najčešće korišćenog laserskog snopa je Gausova raspodela, ali se u praksi mogu koristiti i neke druge vrste snopova. Svetlost se optičkim elementima fokusira tako da veličina realnog fokusa bude minimalna moguća. Prema zakonima prelamanja svetlosnih zraka, fotoni snopa kroz sferu prolaze na takav način da promena impulsa skrenutih fotona zakonom akcije i reakcije dovodi do potiskivanja centra sfere ka mestu geometrijskog fokusa. Na slici 1 prikazano je kako drugačije prelamanje svetlosti kroz sferu zbog malog relativnog pomeraja centra sfere u proizvoljnoj ravni i proizvoljnom smeru rezultuje odgovarajućom silom koja sferu vraća u ravnotežni položaj. Ukoliko u obzir uzmemo određeni procenat refleksije svetlosti o sferu, ravnotežni položaj biće pomeren duž ose snopa u smeru u kom se svetlost prostire. Ključnu ulogu u svemu ovome ima činjenica da zraci u centru snopa sa Gausovom raspodelom intenziteta jesu jačeg intenziteta nego zraci pri obodu snopa.



Slika 1.

Prelamanje zrakova fokusiranog laserskog snopa kroz sferu, vektorski prikaz promene impulsa fotona i rezultujuća sila koja deluje na sferu za pomeraje sfere u različitim smerovima

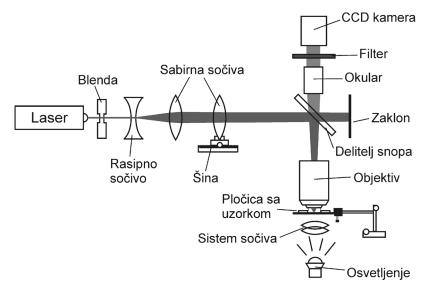
Figure 1.

Refraction of a focused laser beam through a transparent sphere, change of photons momentum and a resulting force acting upon the sphere, illustrated for the sphere moved in different directions

Aparatura i metod

Da bi se konstruisale optičke pincete potrebno je da se snop lasera fokusira što je bolje moguće. Zato je laserski snop prvo raširen sistemom sočiva, a zatim fokusiran objektivom za svetlosni mikroskop. Šema aparature je data na slici 2.

U eksperimentu je korišćen He-Ne laser talasne dužine 633 nm i snage 14.4 mW, čiji je snop prvo raširen rasipnim sočivom, a zatim sabirnim usmeren tako da ide paralelno optičkoj osi. Širina raširenog snopa u prečniku je bila 8 mm. Objektiv kojim je fokusiran laserski snop, uvećanja 40 puta, korišćen je i za posmatranje čestica koje su zarobljavane, pa je zbog toga korišćen i delitelj snopa postavljen kao na slici 2. Ispod delitelja snopa objektiv je postavljen tako da deo snopa koji se odbije pada ortogonalno na sočiva objektiva, a iznad okular uvećanja 10 puta, zatim zeleni filter. Filter smanjuje intenzitet crvene svetlosti lasera, što je bilo neophodno da bi se kroz okular golim okom ili kamerom mogao posmatrati lik fokusa laserskog snopa na uzorku. Ispred dela snopa koji prolazi kroz delitelj snopa je postavljen crni zaklon kako bi spoljašnji izvori svetlosti što manje ometali posmatranje.



Slika 2. Šema aparature

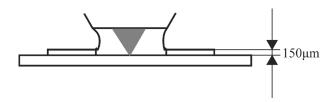
Figure 2. Experimental setup

Ispod objektiva se nalazila pločica sa uzorkom koja je mogla da se pomera u sva tri pravca. Kao osvetljenje za uzorak je korišćena LED lampa čija je svetlost fokusirana sistemom sočiva za osvetljavanje iz svetlosnog mikroskopa. često je bilo teško podesiti da se kroz okular vidi jasna slika i da istovremeno fokus laserskog snopa bude tačno na česticama koje su zarobljavane, pa je zbog toga pre delitelja snopa

postavljeno treće sočivo kojim je omogućeno da se fokus pomera u vertikalnom pravcu tako što bi se sočivo pomeralo duž šine na koju je postavljeno.

Nakon uspešnog zarobljavanja čestica, ispred rasipnog sočiva je postavljen analizator kojim je menjana snaga laserskog snopa, kako bi bilo određeno koje su minimalne snage potrebne da bi se zarobile čestice.

Čestice koje su zarobljavane su transparentne sfere prečnika 1.02 i 3.01 μm. Pločica na koju je sipan uzorak je napravljena od stakla, tako da mesto za uzorak bude ograđeno pločicama debljine 150 μm. Time je onemogućeno razlivanje uzorka po celoj pločici. I jedne i druge čestice su se nalazile u apsolutnom etanolu u zapreminskom odnosu 1 : 1000 i na pločicu su nanošene pipetom, a zatim je u uzorak dodavana voda pošto je etanol lako isparljiv i ima vrlo mali koeficijent površinskog napona. Pošto je pojava površinskog napona kod vode znatno izraženija nego kod etanola bilo je moguće postići da objektiv bude uronjen u suspenziju (slika 3). Ovim je izbegnuto dodatno prelamanje svetlosti na ulasku u suspenziju iz vazduha jer laserski snop ulazi direktno u suspenziju po izlasku iz objektiva.



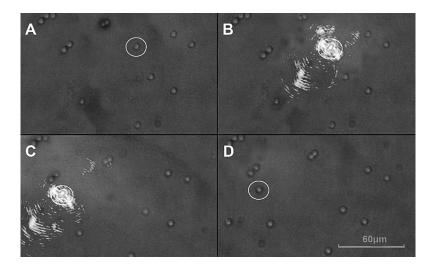
Slika 3. Pločica sa uzorkom i deo objektiva

Figure 3. Plate with particles and part of objective

Pomeranjem pločice sa česticama bilo je moguće podesiti da se neka od čestica nalazi tačno u fokusu laserskog snopa. Ako bi se zatim pločica pažljivo pomerala po dvema horizontalnim osama čestica bi ostajala zarobljena u fokusu snopa dok bi se ostale čestice i druge nečistoće na pločici pomerale zajedno sa njom.

Rezultati i diskusija

U fokus laserskog snopa uspešno su u horizontalnoj ravni zarobljene čestice prečnika 1.02 i 3.01 μm. Na slici 4 su prikazane različite faze u pomeranju čestice veličine (čestice prečnika 1.02 μm je bilo teško snimiti, jer su znatno sitnije od čestica sa slike). Na slici 4A su prikazane čestice i zaokružena ona koja je zarobljena kada se na nju fokusira laserski snop (slika 4B). Nakon što je čestica zarobljena, pločica je lagano pomerana kako bi se ostale čestice pomerile u odnosu na onu koja je ostala zarobljena. Na slici 4C se vidi promenjen položaj fokusa, a samim tim i čestice koja je zarobljena. Na kraju, slika 4D prikazuje česticu pomerenu za oko 60 μm u odnosu na ostale čestice.



Slika 4. Faze u zarobljavanju čestice

Figure 4. Phases of trapping particles

Minimalna snaga laserskog snopa da bi se zarobila čestica prečnika 3.01 μm iznosila je 1.2 mW, a za čestice veličine 1.02 μm iznosila je 1 mW. Snaga snopa je merena vatmetrom u vazduhu po izlasku snopa iz objektiva. Međutim, svetlost prolazi kroz vrlo tanak sloj vode i apsorpcija ne utiče mnogo na snagu snopa na samoj pločici, pa se može smatrati da skoro ista snaga pada na površinu pločice, tj. na čestice.

Ovako male snage potrebne za zarobljavanje čestica pokazuju da se optičke pincete mogu napraviti i u skromnim uslovima sa laserima relativno male snage. Po istom principu bi se u takvim uslovima verovatno mogle zarobiti i neke transparentne bakterije i druge čestice.

Sila otpora sredine u nekoj tečnosti za sferno telo srazmerna je poluprečniku tela, pa je očekivano da minimalna snaga neophodna za zarobljavanje manjih čestica bude manja. Međutim, prilikom zarobljavanja manje čestice fokus je nekoliko puta veći od nje i velika količina fotona i ne prolazi kroz čestice, već prolazi pored njih. Kod većih čestica taj presek laserskog snopa i čestice je veći, te je veći i broj fotona koji se prelama kroz kuglicu. Iz toga sledi da je razlika od samo 0.2 mW razumljiva. Ovo bi se moglo rešiti smanjivanjem prečnika fokusa, tj. korišćenjem sočiva sa manje izraženim aberacijama. Tada bi svakako za zarobljavanje obe vrste čestica bila potrebna manja snaga.

Brojna vrednost rezultante sila koje deluju na česticu zahvaćenu laserskim snopom zbog prelamanja svetlosti kroz nju direktno je proporcionalna snazi lasera. Jačine tih sila moraju biti dovoljno velike da se prevaziđe sila otpora sredine tokom kretanja čestice kroz rastvor, kao i sila trenja, budući da se čestice vuku po dnu. Stoga je snaga lasera jedan od ključnih faktora u konstrukciji optičkih pinceta i teži se korišćenju izuzetno snažnih lasera. Dok se relativno mala snaga korišćenog lasera iznenađujuće pokazala kao sasvim dovoljna za stabilno zarobljavanje i

manipulisanje mikrometarskim česticama u ravni u opisanim uslovima, važno je istaći neophodnost posedovanja kvalitetne šine za pomeranje pločice sa uzorkom. Korišćenje šine sa mikrometarskim pomerajem značajno bi olakšalo rad sa opisanom postavkom optičkih pinceta.

Zaključak

Od raspoloživih optičkih elemenata u skromnim laboratorijskim uslovima uspešno su konstruisane optičke pincete – uobičajeno složena aparatura za manipulisanje mikroobjektima u prostoru. Minimalistički osmišljena i izvedena eksperimentalna postavka uspešno je poslužila za pomeranje transparentnih sfernih čestica približnih veličina od jednog, odnosno tri mikrometra u prečniku, u horizontalnoj ravni. Pomeranjem pločice sa uzorkom tih čestica u rastvoru etanola, pojedinačno su čestice dovođene do fokusa laserskog snopa. U fokusu su čestice bivale zarobljene u fokusu pod dejstvom sila rezultirajućih iz promene impulsa fotona tokom prelamanja svetlosti snopa kroz česticu. Daljim pomeranjem pločice zarobljena čestica mogla je biti relativno pomerana u odnosu na ostale čestice u uzorku u proizvoljnom smeru u trajanjima i od po nekoliko minuta. Nije primećen ni samostalni pomeraj čestice iz ravnotežnog položaja u fokusu u toku dužih vremenskih intervala.

Ograničenja koja su se javljala bila su čisto tehničke prirode. Put koji čestica ovakvim pomeranjem može preći u jednom potezu, tokom jednog zarobljavanja, mogao bi se višestruko povećati korišćenjem preciznije šine za pomeranje uzorka. Takođe, korišćenje jačeg lasera potencijalno bi omogućilo i pomeranje većih i čestica nepravilnijeg oblika.

Međutim, bez obzira na tehničke probleme, pokazano je da se u uslovima optičke laboratorije namenjene srednjoškolcima mogu uspešno konstruisati i koristiti jednostavne optičke pincete, u čemu leži ključni značaj ovog projekta. Postoji čvrsto uverenje da se ovakva aparatura može koristiti i samo kao metod u nekim budućim naprednijim srednjoškolskim projektima na poljima fizike mikročestica i mikrobiologije.

Zahvalnost. Zahvaljujemo se svojim mentorima na ovom projektu, Urošu Deliću i Jeleni Pajović, saradnicima seminara fizike u IS Petnica, na obimnoj pomoći tokom teorijskih priprema, odnosno tokom konstrukcije eksperimentalne postavke, kao i Vladimiru Jovanoviću, vođi seminara biologije u IS Petnica na tehničkoj pomoći tokom izvođenja eksperimenta.

Literatura

- Ashkin A. 1970. Acceleration and trapping of particles by radiation pressure. *Phys. Rev. Lett.*, **24**: 4.
- Ashkin A., Dziedzic J. M. 1976. Optical levitation in high vacuum. *Appl. Phys. Lett.*, **28**: 6.
- Ashkin A. 1997. Optical trapping and manipulation of neutral particles using lasers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94** (10): 4853.
- Lu F. 2007. Introduction to biological applications of optical trapping science and technology. Dostupno na: http://people.ee.duke.edu/~flu/index_files/Introduction%20to%20optical%20trapping%20science%20and%20technology.pdf
- Cydylo K., Sridhar H., Noe J., Cohen M., Metcalf H. 2006. Construction of an inverted optical tweezers. U *REU Physics Abstract Collection* 2006. Stony Brook: Stony Brook University, 5.
- Dholakia K., Reece P., Gu M. 2008. Optical micromanipulation. *Chem. Soc. Rev.*, **37** (1): 42.
- Smith S. P., Bhalotra S. R., Brody A. L., Brow B. L., Boyda E. K., Prentiss M. 1999. Inexpensive optical tweezers for undergraduate laboratories. Am. J. Phys., 67: 26.

Vladimir Petrović and Marija Janković

Construction of Optical Tweezers

The purpose of this project was the construction of an experimental setup which would enable the manipulation of microparticles using a laser beam. Such an optical system is usually called Optical tweezers. Transparent spheres, 1.02 and 3.01 μm in diameter, were successfully trapped in the focus of a laser beam and moved in a horizontal plane (Figure 4).

The laser beam used for this experiment was a Gaussian beam with an initial power of 14.4 mW, and a wavelength of 633 nm. It was focused with a 40x objective microscope, which also served for viewing particles. Particles were trapped in a water-ethanol solution. The minimal power of a beam that exits the objective when particles can still be trapped and manipulated with the described setup was also measured. The minimal measured power for $1.02~\mu m$ was 1~mW, and for $3.01~\mu m$ it was 1.2~mW.

The significance of this paper lies in the fact that the constructed experimental setup is uncommonly simple, compared to the great majority of usually complicated and technicaly demanding Optical tweezers setups. It is believed that such a simple experimental setup may easily be used in some future advanced high-school students' projects in the fields of physics, as well as in microbiology.

