

G. レーザートラッピング

提出者	: 08A17153	羽田充宏
共同実験者	: 08A17179	牧野将之
	: 08A17205	森本拓実

実験実施日 : 2019年12月2日

実験実施日 : 2019年12月9日

実験実施日 : 2019年12月16日

実験実施日 : 2019年12月23日

実験実施日 : 2020年1月6日

実験実施日 : 2020年1月20日

実験目的

- 光学顕微鏡の取り扱い方法を身に付ける。
- 光の放射圧について理解し、レーザートラッピングの原理を理解する。
- 溶媒の粘性と粒子の運動について理解する。

使用する実験器具

光学装置

- 光学顕微鏡（ニコン倒立顕微鏡 TE-2000S）
- Nd:YAG レーザー (DPGL-2150F Photop Suwtech,Inc. 波長 532nm, 出力 160W)
- 対物レンズ（浸水,NA1.15, 倍率 ×40）
- 対物レンズ（NA0.95, 倍率 ×60）
- ビームエキスパンダー
- ビームステアリング
- ミラー

画像機器

- CCD カメラ
- テレビモニター

ステージ

- XY 軸ステッピングモーター (UG0348 駿河精機, 4nm/pps)

資料

- 微粒子: ポリスチレン球（直径: 0.5-10 μm）
- ガラスポットムティッシュ
- サンプル管
- 純水
- 界面活性剤
- スポイト

1 光学系の構築 (1日目)

1.1 実験目的

今回の実験目的は光学系のアライメントを正確に行うことと、構築した光学系を用いてビーズのトラッピングを行うことである。

1.2 実験手順

まずダイヤルを回して出力電流を変えることでレーザー光の強さを調節した。次にミラーを2枚用いてレーザー光を光学顕微鏡へ導入し、顕微鏡後側と対物レンズリボルバーに貼り付けられた的の真ん中にレーザー光が通過するようにミラーの位置と角度を調節した。次にステージにスライドガラスを置いた後、リボルバーに水浸対物レンズを装着し、その上に蒸留水を2滴垂らした。またこのとき補正環は0.17に設定した。さらに顕微鏡に入射した光がダイクロイックミラーによって試料ステージに反射されるように設定した。その後CCDカメラによってレーザーがスライドガラス上に集光されることを確認した。同心円状に集光できているかを確認し、モニターで映し出される集光スポットの中心にシールで目印を付けた。次にミラーと顕微鏡の間にビームエキスパンダーを挿入し、同心円状に集光するまでビームエキスパンダーの位置の調整を行った。完成した光学系は図1のようになった。

1.3 結果

光学系の調整を行った図2のような同心円状の集光パターンが得られた。また対物レンズの位置をスライドガラスを置いた試料ステージに近づけていくと2箇所で集光した。

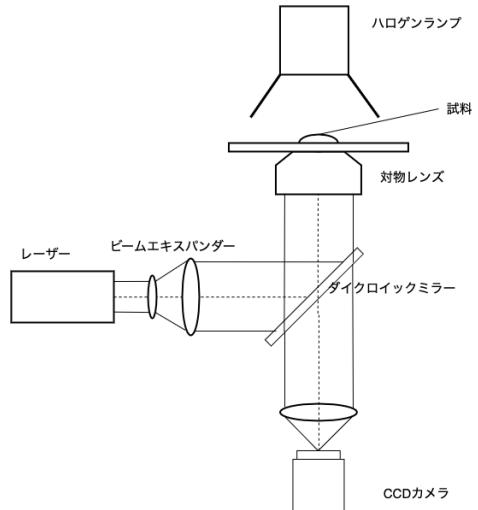


図 1: 実験の光学系



図 2: 同心円状パターン

1.4 考察

まずビームエキスパンダーを設置した理由について考察する。レーザー光は凸レンズに入射する事で一点に集光するがある程度の広がりを持つ。この時のスポット径を d_0 , レンズの焦点距離 f , レーザー波長 λ , 開口の直径を D , 媒質の屈折率を n とすると以下の式で表せる。

$$d = \frac{1.22 f \lambda}{n D} \quad (1)$$

よってビームエキスパンダーによって D の値を大きくする事でより集光スポットを小さくする目的があると考えられる。

さらに水浸対物レンズを用いる理由は対物レンズを抜けた光が進む媒質を水 ($n=1.33$) にすることで集光スポット径をさらに小さくするためだと考えられる。

顕微鏡に入射した光をダイクロイックミラーで反射させたのは、ダイクロイックミラーが 523nm 以下の波長の光を透過して、それ以上の波長の光を反射させる性質を利用して、スライドガラスに反射したレーザー光によって試料が観測できなくなる事を防ぐ目的であると考えられる。

また、光学顕微鏡へレーザー光を導入するときにミラーを 2 枚使った理由は任意の座標に任意の方向から光を入射させるためにはミラーが 2 枚必要であるからだと考えられる。

集光した際に図 2 のような同心円状パターンが得られた理由は対物レンズで集光した際にレンズの外側を通過する光と内側を通過する光で光路差が異なるために干渉をおこしレンズ中心からの距離に応じて明線、暗線が生じたためだと考えられる。

2 レーザートラッピング (2 日目)

2.1 実験目的

今回の実験目的は検量線を作成することとレーザーによるトラッピング強度の測定である。

2.2 実験手順

まず、ポリスチレン球 (直径 $4.78\mu m$) と界面活性剤 1 滴をサンプル管に入れた後、純水を加えて分散させた。ガラスボトムディッシュに作成した溶液を適量入れ、顕微鏡のステージに置いた。次に、顕微鏡のハロゲンランプのスイッチを入れて焦点を調節しながら、モニターでポリスチレン球の様子を観察した。ステッピングモーターの電源を入れてコントローラーでステージを移動させてレーザー光をポリスチレン球に近づけて球がトラッピングされる様子を観測した。さらにレーザー駆動電流値を変化させながらレーザー光強度をパワーメーターで測定し、電流値と光強度の関係を調べた。ここでレーザーとパワーメータの間の距離は 10cm で固定した。

2.3 結果

ハロゲンランプのスイッチを入れるとポリスチレン球を観測することができた。ポリスチレン球に焦点を合わせた際レーザー光の集光スポットは広がった。またステッピングモーターをコントロールすることによってポリスチレン球を捕捉して移動させることができた。さらにレーザー光がポリスチレン球に当たった瞬間にポリスチレン球がレーザー光の中心に引き寄せられた。レーザー駆動電流とレーザー光強度の関係は図 3 のようになった。

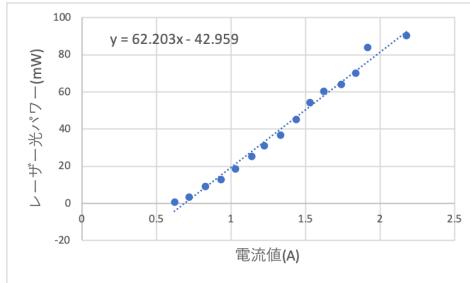


図 3: 検量線

2.4 考察

まずレーザートラッピングの原理について考える。対物レンズでポリスチレン球にレーザー光を集光した時レーザーの光路は図 4 のようになる。ポリスチレン球の周りの媒質が水なのでポリスチレン球に入ったレーザー光はスネルの法則に従って屈折して透過することになるがこの時ポリスチレン球は屈折した光によって反作用が働き F_1, F_2 のような力積を受ける。それぞれの合力を考えると F のようになるためレーザーの放射圧とつり合う箇所でポリスチレン球は水中で静止することができる。同様にレーザー光がつりあいの位置から微小に左右にずれた際にも焦点位置に向かって反作用により力が働くためにレーザー光にトラップされたようにポリスチレン球が捕捉されることとなる。レーザー光がポリスチレン球に入った瞬間にレーザー光に引き寄せられたのは球がレーザーから力を受ける際に図 4 のように安定の状態を取ろうとした結果であると考えられる。

また、この現象はポリスチレン球の屈折率が溶媒よりも大きい時に起こり溶媒よりも屈折率が小さくなると屈折の反作用が反発力となって働きトラップすることができなくなると予想される。さらに金属のように反射率が高い物質に対しても屈折よりも反射による反作用の寄与が大きくなることによって力がつり合わずトラッ

普できないと予想される。したがって今回の実験ではレーザー集光の分解能を上げるために油侵レンズを使うなどの方法が考えられるが、その場合ポリスチレン球と媒質との屈折率が等しくなりトラップできなくなると考えられる。

次にレーザー駆動電流とレーザー光強度の関係については図 3 より概ね比例関係があると考えられる。そこで二つの値は最小二乗法によって求めた式 $y=62.203x+42.959$ の関係に従うと考えられる。ここでデータのばらつきが生じたのはレーザー駆動電流が安定せず測定途中に上昇してしまったことが考えられる。特に 2A 付近では安定した値を示さなかったので実際の値よりも大きい値を観測してしまった可能性が高い。

さらにポリスチレン球に焦点を合わせた際にレーザーの集光スポットが広がったのはポリスチレン球がガラスディッシュよりも上に位置しているためにポリスチレン球に焦点が合う位置ではガラスの底で反射された光はある程度の広がりを持つてしまうためだと考えられる。

3 光放射圧の測定 (3日目)

3.1 実験目的

今回の実験目的はレーザーによるビーズの捕獲力をストークスの式を利用して求めることである。

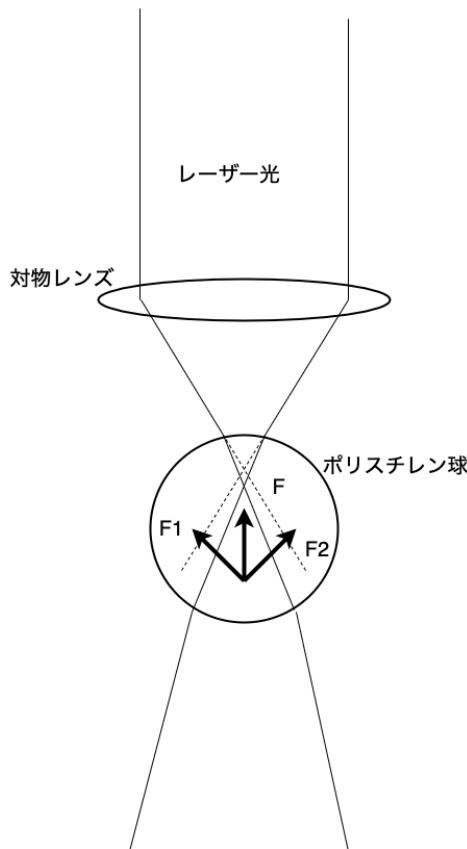


図 4: トラッピング原理

3.2 実験手順

まず、前回同様にレーザー光によって直径 $10\mu m$ ポリスチレン球が捕捉できることを確認した。このときビーズを左右に動かしても捕捉が外れずに引きずっていないことに注意した。次にステッピングモーターの終端測度を早くしていきトラッピングの限界速度を測定した。最後に測定結果より式2に示す、ストークスの式を用いてレーザートラッピングの力を算出した。ここで流体の粘度を η 、粒子直径を a 、粒子速度を v とした。また今回は溶媒に純水を使用したので $\eta = 1.002$ として計算を行った。

$$F = 3\pi\eta av \quad (2)$$

3.3 結果

測定の結果、最大速度は表1のようになった。このときレーザー駆動電流は $1.452A$ であった。また測定結果からトラッピング力は $8.688 \times 10^{-12}[N]$ となった。

LPPS	FPPS	Rmsec	結果
100	2300	2000	✓
100	2400	2000	✗
9999	2300	2000	✓

表 1: トラッピング限界速度の測定

3.4 考察

まず表1のLPPSが9999のときにもトラッピングが成功していることより静止状態から動かした時の慣性力はポリスチレン球のトラッピングに影響を与えておらず流体の粘性による抵抗力のみが寄与していることが考えられる。

また実験においてはじめにステッピングモータで上下左右に移動させた際に他の沈んだポリスチレン球に当たってもトラップが外れずに通過させることができたので、トラップ状態においては水中でつり合った状態で浮遊しておりガラス底に押し当てて引きずった状態ではないと考えられる。

ステッピングモータの移動速度を上げて行った際にトラッピングできなくなるのは空気抵抗のように、溶媒が粘度を持っており速度に比例した進行方向逆向きの力が働くためだと考えられる。

高速にステッピングモータを駆動させてもトラッピング状態を続けるためには式2よりレーザー光強度を上げる、粒径を小さくする、粘度の小さい溶媒を用いるなどが考えられる。

さらに式2を用いるためにはレイノズル定数 $R = \rho av/\eta$ が十分小さい必要があるが今回の実験では $R=7.8\times10^{-8}$ であるので十分小さいと言え、今後の実験においてもストークスの式を用いることは妥当であると言える。ここで ρ は溶媒の密度を表す。

4 光放射圧のレーザー光強度依存性、粒子との関係(4日目)

4.1 実験目的

今回の実験目的はポリスチレン球の粒径、レーザー光強度の二つのパラメータとトラップ力の関係性について確かめる。

4.2 実験手順

まず直径 $4.78\mu m$ のポリスチレン球を水に分散させレーザー光強度を3段階に変化させながら前回同様にトラップできる最大速度を測定した。次に同様の実験を直径 $10\mu m, 2\mu m$ に対して行い、レーザー強度を横軸、トラップ力を縦軸にグラフを制作する。

4.3 結果

測定の結果 $4.78\mu m, 10\mu m, 2\mu m$ 、最大速度、レーザー光強度はそれぞれ表2、表3表4のようになった。またそれぞれのレーザー強度、トラップ力の関係は図5のようになった。各測定におけるレーザー光強度は実験2で求めた直線近似の一次式に代入することにより求めたが電流出力強度が $0.69A$ を下回ると光強度が負になるため、その際は測定データと近い値を使った。

レーザー強度	FPPS	トラップ力
0.623	1500	2.833^{-13}
21.73	2200	4.155^{-12}
51.65	6000	1.133^{-11}
81.45	8500	1.605^{-11}

表2: $4.78\mu m$ の測定結果

レーザー強度	FPPS	トラップ力
19.56	12000	4.533×10^{-12}
50.97	32000	1.209×10^{-11}
84.87	43000	1.162×10^{-11}

表 3: $10\mu m$ の測定結果

レーザー強度 [mW]	FPPS	トラップ力 [N]
19.24	30000	2.266×10^{-12}
50.35	80000	6.044×10^{-12}
82.32	110000	8.310×10^{-12}

表 4: $2\mu m$ の測定結果

4.4 考察

実験結果よりレーザー光強度とトラップ力の関係は比例の関係があると言える。さらに2日目の実験結果よりレーザー光強度と出力電圧の間にも比例の関係があったと考えられるのでトラップ力は出力電圧に比例すると考えられる。

また結果より粒径が $10\mu m$, $5\mu m$ の際はレーザー光強度とトラッピング力の関係が同じ傾きを示したのに対し、 $2\mu m$ の時に傾きが小さくなったのはレーザーの集光スポットよりもポリスチレン球の大きさが小さくなりレーザー光の力を十分に受けることができなかつた可能性が考えられる。1日目の考察よりレーザー光の分解能は $d = \lambda / 2NA$ で与えられ、今回使用した水侵レンズの開口数 $NA=1.15$ 、レーザー波長 $\lambda = 532nm$ を代入すると $d=1.89 \times 10^{-7}nm$ となりポリスチレン球よりも小さいが、2日目の考察よりガラススポットムディッシュ上のポリスチレン球でのレーザー光で考えると10倍の大きさになりポリスチレン球よりも大きくなっている可能性は十分考えられる。

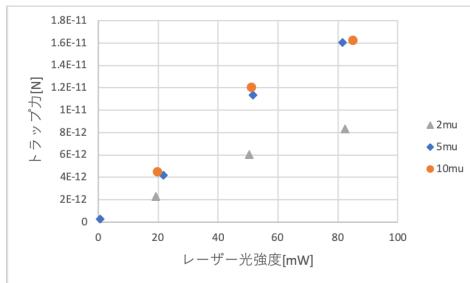


図 5: レーザー強度とトラップ力の関係

5 溶媒粘性と橿円球にかかる放射圧の測定 (5日目)

5.1 実験目的

今回の実験目的はポリスチレン球のトラッピングによりエタノールの粘性を計算し、その値を理科年表と比較することと橿円型のポリスチレン球を用いたトラッピングを行い球形とどのような違いがあるのかを観察することである。

5.2 実験手順

ポリスチレン球をエタノールに分散させ、前回と同じくトラッピングできる最大速度を求めたのち4日目の結果を参考にして式3よりエタノールの粘性を求めた。この時トラップ力Fを図5の直線近似から求め代入した。

次に橿円型のポリスチレン球を純水に分散させて同様にトラッピングできる最大速度を求める。この際に橿円粒子のアスペクト比によるトラッピング性能の違いを観察する。

$$\eta = \frac{F}{3\pi av} \quad (3)$$

5.3 結果

それぞれの大きさにおける測定結果とエタノール粘性推定値は表5、表6、表7のようになつた。室温におけるエタノールの粘性理想値は 1.08×10^{-3} であるから全体的に理想値よりも大きい値を出した。

また橿円粒子のトラッピングは出力電流が0.8Aから1.0Aの時捕捉でき、それ以外の電流の時はトラップ力が強すぎたり弱すぎたりしたためにトラップすることができなかつた。またモニターで確認した際のアスペクト比が1.36:1の橿円粒子はトラッピングに成功した一方で2:1の橿円粒子のトラッピングはできなかつた。ま

たどの橿円粒子もトラッピングした直後にモニター上で円形に変形した。

光強度 [mW]	FPPS	トラップ力 [N]	エタノール粘性
19.56	13000	4.111×10^{-12}	1.678×10^{-3}
49.72	32000	1.0147×10^{-11}	1.681×10^{-3}
81.45	50000	1.649×10^{-11}	1.750×10^{-3}

表 5: $5\mu m$ の粘性測定

光強度 [mW]	FPPS	トラップ力 [N]	エタノール粘性
19.741624	8000	5.948×10^{-12}	1.972×10^{-3}
49.847876	23000	1.197×10^{-11}	1.380×10^{-3}
86.42324	36000	1.928×10^{-11}	1.421×10^{-3}

表 6: $10\mu m$ の粘性測定

光強度 [mW]	FPPS	トラップ力 [N]	エタノール粘性
20.48806	27000	2.749×10^{-12}	1.350×10^{-3}
50.034485	74000	5.703×10^{-12}	1.022×10^{-3}
92.332525	101000	9.933×10^{-12}	1.304×10^{-3}

表 7: $2\mu m$ の粘性測定

5.4 考察

エタノールの粘度が全体的に大きな値を出したことについてはサンプルポリスチレン球の粒径がそれぞれ異なっていたことやトラッピング成功の判定基準が曖昧であったために実際の最大速度よりも小さな値を採用してしまったことなどが考えられる。より正確な粘度を推定するためには粒径の大きさの精度を高くする、トラッピング判定を複数回行う、検量線を作る際のサンプル数を増やすなどが考えられる。また今回の実験では溶媒がエタノールだったので揮発による水面の揺れによるノイズが加わった可能性が考えられる。そのためガラスボトムディッシュ

よりも密閉性の高い容器に入れて測定する方法などが考えられる。

次に楕円粒子のトラッピングの際にモニター上で楕円粒子が円になったのは楕円内をレーザーが通過した際に対称性が最も高くなるのが楕円粒子が直立した時であるためだと考えられる。そのため横向きの楕円粒子についてもレーザー光が入射した瞬間に直立するような方向のモーメントが働きトラップ状態では常に直立状態あると考えられる。またアスペクト比が大きくなるにつれてトラッピングが難しくなった理由はアスペクト比の増加に伴い球に比べて力が等方的に加わらなくなり不安定になるために台の揺れやトラッピングの移動によってトラッピング状態がすぐ解除されるためだと考えられる。

6 マクロファージのトラッピング (6日目)

6.1 実験目的

今回の実験目的はマクロファージのトラッピングを通して微生物を任意の場所に移動させることである。

6.2 実験手順

前回までの実験と同様にマクロファージの入った溶液をガラスボトムディッシュに設置しマクロファージのトラッピングが行えるかを確認した。次にマクロファージをトラップした状態での最大速度を求めその時の様子を観察した。またその時の対物レンズ上でのレーザー光強度を測定した。

6.3 結果

トラッピングの最大速度はFPPSが4000でこの時レンズ付近のレーザー光強度は4.51mWであった。またレーザー光強度が7.03mWの時も測定を行ったがこの時はマクロファージがガラス底にくっつきトラップすることができなかつた。またトラップする際は上下左右でトラップ力がことなつた。さらに、マクロファージをトラップして移動させた際に移動する方向に応じてマクロファージの向きが変わった。

6.4 考察

トラップ力がポリスチレン球に比べて著しく弱くなったのはマクロファージ内部の屈折率が一様では無くレーザー光による力が等方的に働くかなかったためだと考えられる。さらにトラップして動かした際にマクロファージの向きが変わったのは屈折率の変化に加えてマクロファ-

ジの細胞自体が伸び縮みしたためだと考えられる。またマクロファージは細胞であるのでポリスチレン球と比べガラス底にくっつきやすいためにポリスチレン球に比べてトラップが困難であつと考えられる。実際にマクロファージなどの細胞をトラップした状態でラマン顕微鏡などで分析する際には、レーザー光強度が大きすぎると観測前に細胞が死んでしまうことが考えられるのでより小さいレーザー光強度でトラッピングする必要があると考えられる。

参考文献

- [1] 石飛 秀和 他 「応用物理学実験」
- [2] 国立天文台 「理科年表」
- [3] 小原 実 他 「レーザー応用光学」
- [4] 櫛田 孝司 「光物理学」