

硕士学位论文

光镊设计及其捕陷特性分析与仿真

龙海峰

燕山大学

2004年10月

国内图书分类号:TH744 国际图书分类号:681

工学硕士学位论文

光镊设计及其捕陷特性分析与仿真

硕士研究生: 龙海峰

导 师: 史锦珊教授

申请学位级别: 工学硕士

学 科 、 专 业 : 测试计量技术及仪器

所 在 单 位: 电气工程学院

授予学位单位: 燕山大学

Classified Index: TH744

U.D.C.: 681

Dissertation for the Master Degree in Engineering

DESIGN OF OPTICAL TWEEZERS AND ANALYSE OF TRAPPING AND SIMULATION

Candidate: Long Haifeng
Supervisor: Prof. Shi Jinshan

Academic Degree Applied for: Master of Engineering

Speciality: Measurement Technology

& Instrumentation

University: Yanshan University

摘要

随着激光生物学的发展,以激光微束的光阱效应为基础的光镊技术逐渐成为生命科学和生物工程研究的有力工具。由于光镊可以实现对生物活体样品的非实体接触和无损伤操作,它已经成为当前生物物理学中新方法和新仪器的研究热点之一。本文以光镊的设计为目的,设计了一套单光源双光阱光镊,分析了该系统的稳定性以及操纵的有效性,并在此基础上对激光微束光阱力的定量计算进行了深入的分析。

首先,在仪器的设计方面,本文在单光阱光镊的基础之上设计了单光源双光阱光镊。在双光阱光镊微操纵系统对光阱的位置进行三维方向上的独立调节过程中,对光阱的质量、系统的稳定性以及操纵的有效性进行了深入的分析和论证。

其次,在光阱力的定量计算方面,本文基于几何光学模型,对几何尺寸远大于激光波长的米氏球形微粒所受的光阱力进行了定量计算;基于电磁场模型,对几何尺寸远小于激光波长的瑞利粒子所受的光阱力进行了定量计算。并在设定的参数条件下对光阱力进行了数值仿真,根据数值仿真的结果,讨论了微粒的相对折射率、光束的束腰半径、激光功率以及激光波长等主要系统参数与光阱力的关系。

本文在理论上和技术上为三维独立可调式双光阱光镊的开发做了前期的工作,对于光镊仪器的设计以及在生命科学和生物技术上的推广应用具有参考价值。

关键词 光镊;双光阱;激光微束;光阱力;数值仿真;微操纵

Abstract

With the development of Laser Biography, the optical tweezers technology based on microbeam laser becomes an effective tool in the research of life science and bioengineering little by little. Because optical tweezers can be used to manipulate biological animate specimens without physical contact and invasion, Now it has become one of the research hot spots of new methods and instruments in biophysics. With the purpose of designing the optical tweezers, the optical tweezers with two optical traps is designed. The stability and effectivity of the system are also analyzed. Based on that, The quantitative calculation of optical trapping force caused by microbeam laser is studied more.

Firstly, in the aspect of the apparatus design, on the basis of the optical tweezers with one optical trap, the optical tweezers with dual optical traps is designed, which uses a single light. The stability and effectivity of the system together with the quality of the optical traps are demonstrated when the optical tweezers with two optical traps steers the optical traps in three dimensions independently.

Secondly, in the aspect of the quantitative calculation of optical trapping force, based on Ray-Optics Model, the optical trapping force is calculated quantitatively on the microsphere which is much bigger than the laser wavelength. By using Electromagnetic Model, the quantitative calculation is also presented, which is about the optical trapping force of Rayleigh particle much smaller than the laser wavelength. Under given parameters, the numerical simulation of the optical trapping force is demonstrated, from which the relation is obtained between the optical trapping force and the main systemic parameters including the relative refractive of particle, the radius of the beam waist, the laser power and the laser wavelength.

In this paper, a preparatory task for making a fully dual optical traps tweezers in terms of theory and technology. It is of important reference value to optical tweezers research in design of instruments and wider application in life science and biography technology.

Keywords Optical tweezers; Dual optical traps; Microbeam laser; Optical trapping force; Numerical simulation; Micromanipulation

燕山大学工学硕士学位论文

目 录

| 摘要 | I |
|-------------------------|----|
| Abstract | II |
| | |
| | |
| 第1章 绪论 | |
| 1.1 本课题的科学背景及意义 | |
| 1.2 国外光镊技术的发展与研究现状 | 2 |
| 1.2.1 光学微操纵技术的产生与发展 | 2 |
| 1.2.2 光镊技术的发展状况 | 5 |
| 1.2.3 光镊技术的理论研究概状 | 6 |
| 1.2.4 光镊技术的应用 | 7 |
| 1.3 国内光镊技术的发展与研究现状 | 8 |
| 1.4 课题研究目的及内容 | 9 |
| 1.4.1 课题研究目的 | 9 |
| 1.4.2 课题来源和研究内容 | 10 |
| 第 2 章 光镊技术概述 | 11 |
| 2.1 光镊的定义 | 11 |
| 2.2 光镊的原理 | 11 |
| 2.2.1 光辐射压力 | 11 |
| 2.2.2 光镊的梯度力与散射力 | 13 |
| 2.2.3 光学势阱 | 15 |
| 2.3 光阱力捕陷微粒子的条件 | 17 |
| 2.4 本章小结 | 18 |
| 第 3 章 单光源双光阱光镊设计及三维操纵分析 | 20 |
| 3.1 单光阱光镊的基本组成 | 20 |
| 3.2 单光阱光镊的结构选取原则 | 22 |
| 3.2.1 激光器 | 22 |
| 3.2.2 激光光路调节系统 | 23 |
| 3.2.3 光路耦合器 | 24 |
| 3.2.4 倒置显微镜 | 24 |
| 3.2.5 光阱微操纵系统 | 25 |
| 3.2.6 实时监测与图像处理系统 | 26 |
| 3.3 单光源双光阱光镊的设计及操纵分析 | 27 |
| 3.3.1 设计的基本原则及结构组成 | 27 |
| | |

目 录

| 3.3.2 横向微操纵系统的分析 | 29 |
|-------------------------|----|
| 3.3.3 纵向微操纵系统的分析 | 33 |
| 3.4 本章小结 | 37 |
| 第 4 章 激光微束光阱力的分析与计算 | 38 |
| 4.1 米氏粒子所受光阱力的分析 | 38 |
| 4.1.1 几何光学模型 | 38 |
| 4.1.2 激光微束强发散光场中的光阱力计算 | 41 |
| 4.1.3 激光微束强会聚光场中的光阱力计算 | 45 |
| 4.2 激光微束光强分布对光阱力的影响 | 46 |
| 4.3 瑞利粒子所受光阱力的分析 | 49 |
| 4.3.1 电磁场模型 | 49 |
| 4.3.2 瑞利粒子所受光阱力的计算 | 50 |
| 4.4 光阱力计算的其它方法 | 53 |
| 4.5 本章小结 | 54 |
| 第 5 章 激光微束光阱力的数值仿真与结果分析 | 55 |
| 5.1 强发散光场中光阱力的数值仿真与结果分析 | 55 |
| 5.2 强会聚光场中光阱力的数值仿真与结果分析 | 59 |
| 5.3 瑞利散射区光阱力的数值仿真与结果分析 | 61 |
| 5.4 本章小结 | 61 |
| 结论 | 63 |
| 参考文献 | 65 |
| 攻读硕士学位期间承担的科研任务与主要成果 | 71 |
| 致谢 | 72 |
| 作者简介 | 73 |

第1章 绪论

1.1 本课题的科学背景及意义

当今,科学正以惊人的速度向前发展,单一学科的研究已经不能适应 科学自身的发展和满足生产发展的需要。大学科之间的多学科、多角度的 交叉联合研究已经成为当今自然科学发展的大趋势。尤其是生命科学的研究,不断向数学、物理、化学等学科提出更多更深层次的新问题,要求发 展新概念和开拓新研究领域。开发新的实验技术、方法和手段是其重要的 方面。激光生物学是一个重要的多学科交叉的新兴学科,其中以激光微束 光阱效应为基础的光镊技术是生命科学和生物工程研究的有力工具,已经 成为当前生物物理学中新方法和新仪器的研究热点之一。

纳米科技产生于 20 世纪 90 年代,它所研究的物质具有亚微米、纳米尺度的结构特征。纳米科技和生命科学被公认为是 21 世纪最有发展前途的领域,纳米生物学正是这两大领域交叉的产物。所研究的纳米生物体系主要是生物大分子及其复合体,生命科学的发展已经深入到生物大分子层次,提出了对具有生命活性的单个生物大分子在生命过程中的行为进行研究,即从生物大分子群体行为的研究深入到对生物单个大分子及其聚集体行为的研究,从而更深入地认识生命科学的本质。已经提出了一些急待解决的、具有重要科学意义的生物单分子水平的科学问题。此外,物质在纳米尺度常具有所谓的介观特性,它既不同于宏观性质,也不同于微观性质,这在生物大分子层上同样会有充分的表现。生物单分子的研究将会促进生命科学革命性的发展,成为 21 世纪生命科学领域的一个重要研究方向。

对生物大分子个体行为的研究就是要搞清楚其结构和功能。光学显微术、电子显微术、X 射线分析术、激光共焦显微术以及扫描探针技术等,让人们对生物对象的空间结构有了越来越精细的了解。目前,人们已经可以"看到"它的静态原子排布,乃至电子的分布图像。然而,要在生物大分子个体水平上搞清它们在生命过程中的行为和功能,这些手段则有相当

大的局限性。例如电镜,必须将细胞及相关分子经化学方法处理固定后才能进行观察研究,此时,"生命活动"大都已经"终止",展现的只是各阶段的非连续性片断,更无法观察反应体系作用的过程。

要对生物大分子在生命过程中的行为和功能进行实验研究,包括构象变化、相互识别、相互作用等,以及在此基础上对生命过程的调控,必须要有合适的实验手段。这些手段首先要能如我们所愿操纵和排布生物分子,又不对它们造成损伤,不对它的周围环境产生干扰,从而可以跟踪观察它们在真实生命活动中的元过程。同时又能对过程中的有关参量进行定量测量。光镊技术恰恰在这点上比以往众多的实验手段具有不可比拟的优势。

现代光学技术的进步促进了激光生物技术的发展。光镊是美国科学家 A.Ashkin 等人于 1986 年发明的 (1),它的出现使显微活体的研究看到了希望。正如 A.Ashkin 所说的那样,光镊"将细胞器从它们正常位置移去的能力,为我们打开了精确研究细胞功能的大门"。光镊是利用高度聚焦的激光微束所形成的光学梯度力势阱来实现对微米及亚微米级样品的束缚与操纵的。由于光镊具有精确定位、可实现对生物活体样品的非实体无损伤操作以及经过定标的光镊系统能够实现对皮牛顿级的生物微作用力及纳米级的微小位移的定量测定 (2),因此,这种技术迅速应用到多种生命科学和生物工程研究领域,在生物学中的应用得到了人们的热切关注。目前,人们可用光镊实现对细胞、细胞器及染色体进行捕获、分选、操纵、弯曲细胞骨架、克服分子马达力引起的细菌旋转动力、测定马达蛋白作用力、及对膜体系进行定量研究。此外,光镊技术还可用于微小颗粒的捕获、排列与显微制造等领域。总之,光镊为科学家们探索神秘的生命推动力的本原拉开了壮丽而神圣的序幕。

1.2 国外光镊技术的发展与研究现状

1.2.1 光学微操纵技术的产生与发展

所谓"光学捕陷"(Optical Trap),是指利用光压(Optical Pressure)对微小物体施力,从而捕陷、操纵这些微粒。光学捕陷于 1970 年被发明,经历

30 多年的发展,目前已经被应用于细胞生物学、分子生物学、微机械与微测量技术,甚至低温物理、量子物理等领域,是一项强有力的新型研究工具。然而,光学捕陷本身仍存在许多性质尚未被完全了解,新的应用方式和范围也在陆续的被发现。

对光压的最早认识要属德国天文学家开普勒,他于 17 世纪初提出,慧尾之所以背向太阳的原因是其受到太阳辐射的作用力。到 1873 年,麦克斯韦根据他的电磁学理论说明光本身可以产生光辐射压。爱因斯坦为了解释光电效应提出了"光子"模型,伴随着量子力学和量子电动力学的发展,光压的概念已经被广为接受。但是,由于光所产生的作用力与日常生活中所见到的各种作用力相比非常的薄弱^[3],因此如何显示光压、测量光压成为科学家努力实现的目标之一。1969 年,Ashkin 经过估算,认为聚焦的激光极有可能推动数 μm 大小的微粒,于是他利用氩离子激光聚焦至水中,并在水中置入直径为 0.6~2.5 μm 的透明塑胶微粒,结果发现,这些微粒果然被沿着光轴加速推离。这个实验是光压的作用首次被明显观测到[4]。

除了光轴方向的推力——轴向推力, Ashkin 同时还发现了另外一个意外的现象:接近光束的微粒也会被"横向"吸入光束中, 然后再被推离。 Ashkin 改用气泡与液滴重新做光压的实验, 并归纳出一个结论: 光束对折射率比周围介质高的微粒具有横向吸力, 但是对折射率比周围介质低的微粒的作用则表现为横向推力。这种横向作用力的存在, 使 Ashkin 尝试将两束激光相对入射,聚焦于同一处,希望在两束激光的轴向作用力相抵消之处产生一个可以将微粒横向吸入并固定不动的势能阱(Potential Well)。实验结果非常成功,它成为日后"双光束捕陷"的雏形,同时也是"光学捕陷"的首次实现。

在光压与光学捕陷实验之后,Ashkin以及许多科学家们于 1970 至 1980 年间,陆续发表了许多相关的研究论文,其中包括"光学悬浮"(Optical Levitation)的发明与应用、Donut-Mode Laser Beam 的使用、利用不同材质形状的微粒作为捕陷对象等。

1978 年, Ashkin 提出了一种单光束梯度力陷阱的方案^[5]。1985 年, 在研究以单束激光捕陷原子的同时, Ashkin 尝试用类似的装置来抓取较大

的微粒(约 25 nm),结果意外发现:仅仅将单束激光高度聚焦,也可以稳定地捕陷这些微粒。经过多次尝试与修正,Ashkin 与 J.Dziedzic、J.Bjorkholm、S.Chu 等科学家于 1986 年共同发表论文,指出将单束激光高度聚焦,在焦点处即能产生与光传播方向相反的轴向吸力,加上原有的横向吸力,可以将微粒稳定地捕陷。这种单束激光的光学捕陷被称为"光镊"(Optical Tweezers),它可以抓取直径数 nm 到数十 μ m 的微粒。如图 1-1 所示,当一束强会聚的 Gauss 光场作用于一个透明的物体时,如果微粒的折射率大于周围介质的折射率,无论它是在光的传播方向 z 轴上,还是在垂直于 z 轴的 x-y 平面内,光束所产生的梯度力都将把粒子推向光场强度的最强处,即激光焦点。

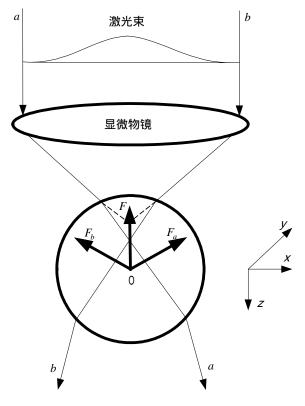


图 1-1 单束激光的光阱

Fig.1-1 Optical trap of a single laser light

1987年,在尝试用光镊抓取烟斑病毒时,为了能清楚观察病毒的反应,

Ashkin 与其同僚将光镊嵌入显微镜之中,制成了第一步光镊显微镜。同时,由于原来使用的氩离子激光会杀害微生物,他们就试着改用 1064 nm的 YAG 激光作为光源,结果激光对微生物的破坏大幅降低,甚至可以将大肠杆菌及酵母菌捕陷数小时,观察它们进行细胞分裂的过程。1987 至 1989年间,光镊被陆续用来抓取血红细胞、藻类、植物细胞、原生动物、甚至细胞器内部的细胞器微粒,这些改进与尝试促使光镊登上生物医学研究的舞台,成为一种极为有用的无破坏性工具,为细胞生物学的研究开创了一条崭新的途径。

1.2.2 光镊技术的发展状况

光镊作为一种崭新的光学微操纵手段,其广泛的用途使光镊技术得到了足够的重视。近年来,国际上对光镊技术的应用基础研究主要集中在欧美国家的一些著名大学和实验室,如美国的哈佛大学、普林斯顿大学、芝加哥大学、华盛顿大学和贝尔实验室^[6-10],瑞典的 Umea 大学,丹麦的哥本哈根大学,德国的 Regensburg 大学,瑞士的 Fribourg 大学和法国的居里研究所^[11-14]等。目前,已发展了各式各样的基于显微物镜的光镊系统^[15-29]和基于光纤的光镊系统^[30-34],并已有国外公司推出了这方面的产品(Cell Robotics, Inc.,Albuquerque,NM,SL.Inc)。尽管已经有了商业化的光镊系统,但是出于经济性的考虑,特别是由于研究者所开展的工作和所研究的具体对象不同,对光镊系统的配置及特点都有着不同的要求,所以众多具有仪器研制能力的实验室都在竞相研制符合自己要求的光镊系统。

常规单光阱光镊仪器都是将从激光器发出的激光束,经扩束器和光强调节器后进入倒置的生物显微镜系统,被双向色分束器和高倍显微物镜会聚后形成光焦点——光阱,由于梯度场光阱的作用将样品中的微粒捕获于焦点附近。该样品在显微镜照明光源的照射下,经显微物镜、双向色分束器、减光器和目镜后,可用于人眼观察样品。经双向色分束器透射后的光束,再经普通分束器后部分被反射,并经透镜将样品成像于 CCD,实现实时观测与控制。

双光镊仪器系统在生物特性研究中有着举足轻重的作用。目前国际上

光镊技术研究的焦点是双光阱或多光阱光镊^[20-22]仪器,已经在实验研究阶段的多光阱仪器结构各有特色,但大多采用快速扫描时分法^[20,21]或者一个激光源只产生一个光阱^[22]。前者由于光阱位置调节互相牵动,使光阱在显微镜视场上的三维独立调节发生困难,后者用多个激光器实现多光阱,使仪器复杂、笨重,并且使用和操纵起来也不方便。

人们还将微位移及微作用力测量装置组合到光学系统,以进行定量的生物学力学特性研究。CCD 光能重心提取法、四象限光电二极管和 CCD "虚拟四象限探测器"法,均可实现精确的位移测定。布朗运动记录分析法、流体力学法可用于光阱力与位移关系,即光阱刚度的标定。

为了扩展光镊应用的范围,人们还将它与其它依赖于激光的显微成像技术,如荧光成像、微分干涉衬成像、激光刀、激光共焦扫描、探针扫描等技术相结合。此外,仪器设备的实用化、小型化、经济化也是人们关心的主要问题。

1.2.3 光镊技术的理论研究概况

从 Ashkin 于 1970 年首次发表论文以来,有关光学捕陷的理论模型已经陆续建立,并应用在光学捕陷力的模拟计算上。由于光学捕陷现象是激光与微粒之间复杂的交互作用,若要仔细探究其成因,则激光的聚焦角度、波长、强度分布以及微粒的形状、吸收率、折射率和周围介质特性等都具有决定性的影响。目前,光捕获理论还处于发展之中,某些方面还存在不足,因此,还没有一种可广泛适用于所有状况的理论模型。这从计算模型的选取和近似条件的限定就可以看出。尽管如此,只要加以评估选择,仍然可以利用理论模型对光捕陷现象进行预测,并应用于实际操作上。光阱力的计算对象多采用球形介质模型,这是因为其它形状的电磁模型难于计算,另一个原因就是常用操作柄的聚苯乙烯球体和硅球都是球形的。

目前为止被提出的理论模型主要有两种:几何光学模型(Ray-Optics Model:RO 模型)^[35]和电磁场模型(Electromagnetic Model:EM 模型)^[36], RO 模型以几何光学与光子动量转移为基础,适用于微粒直径比光波波长大的情况(这种微粒称为 Mie Particle), EM 模型根据 Maxwell 电磁场理论与微

粒极化的原理,适用于微粒直径比光波波长小的情况(这种微粒称为 Rayleigh Particle)。参考文献[21]表明,当作用对象尺寸比所选光波波长大一个数量级时,实验结果同 RO 模型吻合较好,而当作用对象尺寸小于所选光波波长时,实验结果同 EM 模型吻合较好。

基于 RO 模型和 EM 模型,人们对光镊系统参数及操纵对象的结构对光阱力的影响进行了广泛的研究^[37-41]。除了对空心介质球体、环状、柱状结构样品的可操作性进行了理论分析^[42-45]和实验研究^[46-48],人们还对金属颗粒的可操作性进行了理论分析和实验研究^[49,50]。结果发现,同介质球体受力情况相反,金属颗粒所受横向光作用力随物镜数值孔径的提高而增加^[50]。金属颗粒的可操作性将扩展光镊系统的应用范围,对研究生物抗体和有机耦合剂具有积极意义。

1.2.4 光镊技术的应用

目前,光镊技术的应用研究热点主要集中在生物学方面。A.Ashkin 首先将光镊技术应用到了生物领域,实现了对病毒、细菌的捕获与操纵^[51]。为了减少对生物样品的损伤,他又将红外激光器应用到光镊系统,实现了对活体细胞的无损伤操纵^[15]和进行了微管内细胞器运输力的研究^[52]。随后,人们逐渐将这一技术广泛地运用到了生物学的研究中。如图 1-2 所示,利用光镊可以排列塑胶微粒,以研究神经轴突对空间讯号的反应^[53]。

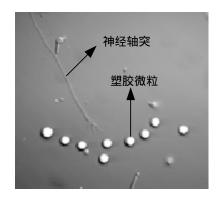


图 1-2 光镊排列塑胶微粒示意图

Fig.1-2 Plastic particles arranged by optical tweezers

光镊与其它激光微束技术相结合可拓宽光镊的应用范围。目前光镊与 光刀的耦合系统得到人们的普遍重视和广泛应用[54-56]。其中, Beckman 研 究中心利用这种装置实现了激光诱导细胞融合,并用此方法研究人类精子 的游动[57]。光镊完成细胞内微手术的微操纵功能,其优点是其它任何微操 纵物理方法无可比拟的。德国的 Heidelberg 大学也利用这一技术实现了染 色体的精细切割、高效收集及植物原生质的融合,探讨了光镊在免疫学、 分子遗传学中的应用。对细胞内应力的作用及某些微重力效应作了有益探 索[57]。光镊与光解剖(穿刺)技术相结合,也成功地应用于生物细胞研究之 中[58,59]。此外,目前光镊技术还被广泛的应用到了免疫、遗传、膜体系等 众多生物领域的研究。当然,光镊的应用并不局限于生物领域,目前它已 在表面科学及凝聚态物理等领域得到了应用与发展[59,60]。金属颗粒由于具 有反射特性,所以一向认为不便于利用光镊对其进行有效操纵。现在理论 和实验都已证明了光镊可以有效地操纵金属微粒。目前关于光镊操纵金属 颗粒作为探针在纳米技术中的应用正在探索中。除此之外,光镊技术在基 础物理学、大气物理、重力场和流体场等精密测量领域的应用也正在研究 之中。

总之,由于光镊的微操纵功能无需侵入生物体细胞,无损伤作用,更没有使生物体发生化学和电学的有害反应,所以光镊技术有广泛的应用前景。光镊技术已经受到世界各国,特别是技术发达国家和地区科技工作者的广泛关注,这一技术已经被广泛地应用于生物学和仪器科学等众多领域的研究。随着光电器件性能的提高和光镊技术的进步,光镊技术必将得到越来越广泛的应用。

1.3 国内光镊技术的发展与研究现状

在生命科学和生物工程的某些基础性研究中,我国也进入了世界先进行列。但是,在激光生物技术方面与先进国家的差距都很大,比如用激光微束穿刺法导入外源基因已做了卓有成效的工作^[61-63],但还没有达到与光镊技术结合,实现真正意义上的目的基因和目标染色体的导入。光镊技术的基础研究和基于国产化光学器件的先进光镊仪器的研制是制约生命科学

和生物工程进一步发展的瓶颈。

我国在近些年来已经有几个研究组先后开展了光镊仪器及其应用的研究工作^[64-67]。如中国科技大学^[42,61,62]和云南师范大学^[64-66]的光镊技术研究,清华大学的光阱基础研究^[68,69]和中国科学院物理研究所^[70-73]以及中科院遗传所的激光微束穿刺的外源基因导入等应用研究^[63]。其中,中国科技大学光镊微操作研究是国内最早(1989年)研究光镊及其生物应用的单位。其研制的激光微操作系统已通过安徽省科委科技成果鉴定和中国科学院技术成果鉴定。中国科学院物理研究所在光镊微位移测量系统方面的"虚拟四象限探测器"位移测量方面也取得很大成果^[73]。此外,扬州工学院、南开大学、南昌大学等单位也分别对光镊的机理与应用进行了分析与阐述。目前,中科院化学所也在着手准备进行光镊系统的研制与应用研究。

我国虽然也是较早涉足光镊研究的国家,并取得了一定的研究成果,但是与国外相比,光镊技术在国内的应用面还很窄、研究者相对较少、研究成果尚缺乏新颖性与创新性。原因之一是我国对光镊技术的宣传较少,许多学者还不了解这一悄然兴起的交叉领域;原因之二是相关学科的制约和科研经费的投入力度不足。不过,近年来光镊技术已逐渐得到我国学者的重视。我国的激光器、显微镜和其它精密光学仪器以及 CCD 摄像机和计算机技术都已有相当高的水平。基于国产化和知识产权的期望目标,本课题旨在实施单光源双光阱三维独立可调光镊技术方案,促进具有中国知识产权的光镊仪器发展,扩大光镊技术在生命科学与生物工程领域的应用范围。

1.4 课题研究目的及内容

1.4.1 课题研究目的

当前,对生命科学的研究相对落后于其它学科,其根本原因在于生物体本身的复杂性,但更重要的是在很长一段时间里一直没有十分令人满意的技术手段供人们研究生命的结构和功能。而光镊的出现真是科学家们梦寐以求的,它使我们今天有可能研究活体动态生命的过程。

学科不断地向前发展,要求深入到微观单体行为的研究。人们认识水平的提高,需要借助于能精细操纵和测量的工具。光镊以其精确的选择性以及皮牛量级的作用力等功能,必将成为研究微观世界的得力工具。光镊对微粒的操纵不是刚性的,而是像弹簧,它可以在操作过程中实时测量微粒间微小的相互作用力,因而光镊又是粒子相互作用过程中力的传感器。这样,对光阱力的计算便成为光镊技术研究的一个重要组成部分,它对于光镊实验中参数的选择具有重要的意义。

伴随着人们对光镊研究的不断深入,光镊技术与其它技术的组合应用 将会引申出更多的新研究方法和研究领域,这必将会促进生命科学、材料 科学、物理学、化学、医学及纳米技术等领域的交叉研究和发展。

1.4.2 课题来源和研究内容

本课题来源于河北省自然科学基金"单光源双光阱三维独立可调红外光镊技术及应用基础研究"(批准号:602163)和国家自然科学基金"单模光纤光捕陷、光悬浮和光微操纵技术及其应用基础"(批准号:60378038)。

本课题的研究内容主要包括以下几个方面:光镊技术的概述、单光源 双光阱光镊的设计以及三维操纵的分析、激光微束光阱力的分析与计算方 法以及数值仿真分析。

论文的第一章介绍了光镊技术的发展过程以及国内外光镊技术的研究现状,指明了本课题研究的目的和意义;第二章介绍了光镊的基本原理,解释了梯度力、散射力、光学势阱等相关的基本概念;第三章介绍了光镊仪器的基本系统构成,并且在此基础上提出了单光源双光阱光镊系统的设计方案,并且详细讨论了在三维方向上对光阱位置进行操纵的过程中,系统稳定性和操纵有效性的关键的技术问题;第四章首先以几何光学模型为基础,对 Mie 散射区的微粒所受的光阱力进行了定量计算。其次,基于电磁场模型,对瑞利粒子所受的光阱力的计算进行了定量计算;第五章是基于理论推导并利用 MATLAB 软件,对激光微束光阱力进行数值仿真研究,并根据结果分析了各个系统参数对光阱力的影响。

第2章 光镊技术概述

2.1 光镊的定义

光镊,即单光束梯度力光阱,是由一束高度聚焦的激光而形成的三维势阱。高度聚焦的激光束称为激光微束,光镊就是利用激光微束的动力学效应实现的。把具有一定强度和模式的激光束会聚到微米量级,形成激光微束,则激光微束对在其焦点附近的大小从 nm 到 μm 级的电介质材料的中性粒子,不仅产生沿光束传播方向上的散射力,同时还产生一指向激光微束焦点的力,该力的大小正比于光的强度梯度,因而称之为梯度力。应用该力,在一定条件下,可以使微小物体稳定在光束焦点附近,随光束焦点的移动而移动。这就像一把无形的镊子,把物体镊住了,故形象地称之为光镊。

光镊是利用光的物理性质,实现传统机械镊子挟持和操纵微小物体的一种工具。它使物体受到光的束缚达到"钳"的效果,然后通过移动光束来迁移或翻转物体。与机械镊子相比,光镊是以一种温和的非机械接触的方式完成挟持和操纵微粒的。在以形成光镊的光为中心的一定区域内,微粒一旦落入这个区域内,就有自动移向光束几何中心的可能。已经落入阱中的微粒,若没有强有力的外界扰动,将不会偏离光学中心。由于各种外界作用或粒子自身运动等原因,粒子偏离了光学中心也会很快恢复原位。因此,光镊酷似一个陷阱,也就是说光造成了一个势能较低的阱域,从这个阱域到阱域外存在一个势垒。所以,光镊是比拟宏观机械镊子,对光的势阱效应的一种形象而通俗的描绘。

2.2 光镊的原理

2.2.1 光辐射压力

光的本质是电磁波。电磁波不仅携带能量,而且也携带动量。光的动量是光的基本属性,携带动量的光与物质相互作用伴随着动量的交换,从

而表现为光对物体施加一作用力,该作用力引发物体的速度和位移的变化,称之为光的力学效应。它主要表现为对物体的压力,所以称之为光辐射压力或者光压。光携带的能量U与动量P之间有一简单关系,即沿一定方向传播的光,其动量大小为P=U/C(C是光速),方向沿光传播方向。光是由光子组成的,光压也可以看成是光子流产生的压强。一束平行光照射到物体上,其动量变化为 ΔP ,历经时间为t秒。由动量守恒原理可知,物体得到的动量为 $-\Delta P$ 。根据牛顿第二定律,作用在物体上的力等于光引起的单位时间内物体动量的变化。由此可得光作用在物体上的力为 $F=-\Delta P/t$ 。如果光束作用面积为S,则单位面积上受到的力即为光压P=F/S。

根据以上的讨论,我们可以估算,当日光垂直照射时,地球表面的光压约为 p=0.5 达因/平方米。这个光压是非常微小的,以至于我们根本感觉不到它的存在。有史以来,人们充分研究利用光的能量造福于人类,却难以挖掘光的动量为人类服务。这个禁区直到 20 世纪 60 年代激光的问世以后才被打开,光具有动量的属性才充分得到展示。

激光是一种亮度高,方向性极好的单色光源。激光的光束发散角只有毫弧度量级,而一般的光源,包括太阳发出的光是射向空间各个方向的,激光辐射在空间方向上的高度集中,使得其在该方向上有很高的亮度。对于一台光强呈高斯分布,功率为 10 mW 的氦氖激光器所发射的激光束,若光束发散角为 2′,由此获得光束方向上的辐射亮度是太阳光的一万倍。若把激光聚焦到光学衍射极限光斑(约10⁻⁸ cm),其单位面积的光功率密度将是太阳光的10⁸倍,把一个微米量级的电介质小球置于此氦氖激光焦点处,小球将受到10⁶ 达因的辐射压力,从而产生约10⁵g 的加速度(g 为重力加速度)。每个光子的动量虽小,但在这样的高密集能流密度下就可以显示出它的力量。因此,随着激光这种高亮度新光源的诞生,激光动力学的开发应用便成为可能。

我们以图 2-1 的例子来说明利用激光光压如何捕陷微粒。将一束自下而上的激光聚焦,并将一个直径为数 μm 的塑胶微粒置于焦点处,则不断向上发射的光子在撞击微粒的同时,将施予微粒一个微弱的作用力。若微粒的质量足够轻,光子流的密度足够大,那么微粒就有可能因为光子的作

用力而"悬浮"在空中,如图 2-1(a)所示。如果更进一步,利用两束相对入射的激光对准、聚焦在微粒上,当两束激光的强度相当,光子的作用力相等时,便可以夹住微粒。我们可以通过操纵激光来任意移动微粒,这种现象就是"光夹持",如图 2-1(b)所示。

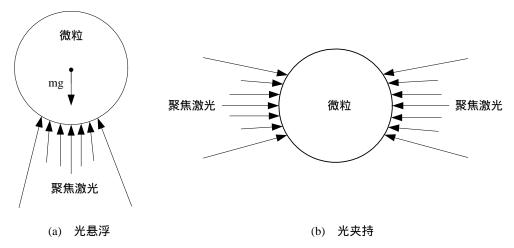


图 2-1 光压作用微粒示意图

Fig.2-1 Optical pressure operating particle

由于粒子对光都具有一定的吸收,激光就有可能灼伤物体,所以光镊作用的微粒都是浸入液体中的,微粒被周围的液体冷却,此时的热传导方程式与扩散方程式相同。因此微粒吸收光而产生的热能可迅速向周围环境中扩散。

2.2.2 光镊的梯度力与散射力

我们以透明电介质小球为模型进一步来讨论光与生物微粒的相互作用。选用一透明电介质小球为模型,是考虑到球形物体的高度对称性便于分析,而且生物细胞大多数(特别是脱了壁的原生质体)近乎是透明的球状体。我们采用几何光学近似,通过考察光穿过介质球的行为来分析光作用于物体力。对与尺寸大于几微米的小球,几何光学是近似成立的。设小球折射率n,大于周围介质折射率n)。

如图 2-2 所示, 当一束光穿过小球时, 由几何光学可确定光线传播的

路径。以a、b 两条光线为代表,光线在进入和离开球表面时发生折射(实线表示),同时在表面也产生一定的反射(虚线表示)。我们首先来分析光在小球中的折射而引起的施加在小球上的力。在一个均匀光场中,如图 2-2(a) 所示,各束光给介质小球的作用力在横向将完全抵消。在一个非均匀光场中,如图 2-2(b)所示,小球处于自左向右增强的光场中。那么,与左边的光线a 相比较,右边较强的光线b 与小球折射作用时使小球获得的动量较大,从而也就产生较大的力 F_b 。结果,散射到小球上的所有光束的合效应在横向也不再完全抵消,总的合力是把小球推向右下方。动量的变化如图 2-2(c)所示。因此,由于光场强度分布不均匀(存在梯度),光束在介质小球处折射时动量发生改变时,由于折射作用给介质小球相应产生的力是一个指向光最亮处的力,我们将这个力称之为梯度力。

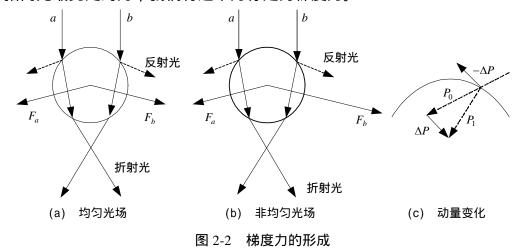


Fig.2-2 Formation of the gradient force

这一结论可以推广到更一般的光场强度分布不均匀的情形,特别是存在光场强度最大点的情形,例如被透镜会聚的光束焦点附近。在合适的条件下,在一存在光场强度分布的光场中的微粒(其折射率 n_2 大于周围介质的折射率 n_1)将受到一指向最亮点的力,也就是说光对粒子不仅有推力还可以有拉力。这样,微粒就可能被约束在最亮点附近。

在实际材料中,微粒由于反射、散射以及吸收等还产生一些作用力, 这些作用力方向都是沿光传播方向,都趋向于使粒子沿光轴方向运动,从 而有可能使粒子逸出阱域,我们称之为散射力。因此,微粒与光作用后受到的力有两种。一种是梯度力,使小球趋向于光强度梯度最大处,一种是散射力,使小球沿光束传播方向运动。当梯度力大于散射力时,介质小球就能在光强度梯度最大处被捕获。因此,光镊是利用微粒与光折射作用产生的梯度力来工作的。

2.2.3 光学势阱

我们对图 2-2(b)光场中的小球进行受力分析可以得出:小球在垂直于光线传播方向 z 的 x-y 平面内受到一个横向梯度力,小球在这个横向梯度力的作用下的运动趋向于光最强处。即小球在 x-y 平面内受到了光的束缚。我们称此情形为二维光学势阱。可以产生横向梯度力的二维光学势阱的光源较容易得到。

高斯光束本身具有形成二维光学势阱的条件,它在垂直于光轴的平面内存在光强度的梯度分布。图 2-3 为一个典型的 TEM_{00} 激光高斯光束的光场分布,在垂直于光传播方向的 x-y 平面上,光强随偏离光轴的距离 r 增大而减小,如图 2-3(b)所示。

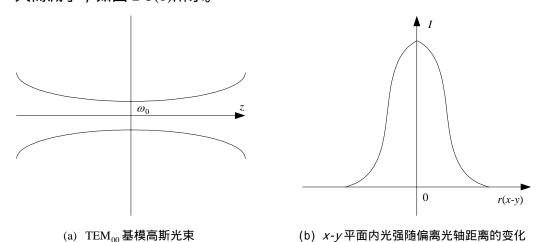


图 2-3 高斯光束的光场分布

Fig.2-3 The distribution of optical field of Gauss beam

因此,在高斯光束的光场中,当微粒在横向偏离光轴时,微粒将受

到一个指向光轴的回复力,即微粒将被束缚在 z 轴上。由于此力只能限制 微粒在垂直于光轴的平面内的运动,所以在沿光轴方向微粒依然可以自由 运动。二维光学势阱在某些条件下也可以用于捕获粒子。

1970年,Ashkin 首次报导了水中微粒在水平方向高斯激光束中运动的观察结果^[4]:实验中的微粒先被拉向束轴,然后沿光束传播方向加速,达到每秒数微米的速度。当光束被遮断时,微粒因布朗运动而离开。后来,Ashkin还试用了两束等强激光相向照射,控制它们的束腰位置,使微粒平衡在两个束腰之间,并称之为光夹持^[73]。此后,他又将激光的方向取为竖直向上,使微粒所受沿光束传播方向的光压与粒子自身的重力相平衡,从而微粒被悬浮于某一高度^[74]。以上几种情况下,在垂直于光束传播方向的*x-y*平面内,都是靠高斯光束的横向梯度力把微粒束缚在光轴处的。这些方法都具有一定的实用性,但并不理想。由于二维光学势阱在光束传播方向上不能束缚粒子,导致捕获器都比较复杂。

利用高斯光束形成的二维光学势阱虽然实现了对粒子在垂直于光传播方向上的 x-y 平面内的束缚,但是粒子在光束传播方向上还受到散射力的作用,在这个方向依然是不稳定的。1986 年,Ashkin 利用一束强聚焦的激光实现了在 x-y 平面和沿 z 轴方向上同时形成梯度力势阱,从而稳定的俘获了生物粒子^[2]。由于该光阱仅仅只用了一束激光,所以称之为单光束梯度力光阱,也就是现在我们通常所说的光镊。

三维光学势阱与二维光学势阱的区别在于,形成二维光学势阱的光源是激光高斯光束,而形成三维光学势阱的光源是激光微束。实际中可以由一束激光通过一个短焦距透镜会聚来实现。例如用一个高数值孔径(NA)的显微物镜,将激光会聚成光波长量级的衍射极限光斑,产生足够陡的梯度场。为了阐明光镊的轴向俘获能力,下面具体分析一下激光微束产生的三维梯度光场对处在轴上焦点附近的粒子的作用。

入射的高斯光束经过透镜,形成高度会聚的激光微束作用在介质小球上,如图 2-4 所示。激光微微束的轴外光线具有一定的横向动量和轴向动量。如图 2-4(a),介质小球处于激光束焦点下方。当轴外光线(如图中的 a、b 光线)无损耗地穿过小球时,它被折射,折射后的传播方向趋向更平行于

光轴,即光线增加了纵向动量。根据动量守恒原理,小球相应地获得了沿负z方向的动量,则小球受到的纵向力为拉力。即图中光束a、b施加在小球上的力为 F_a 、 F_b ,其合力沿负光轴方向。所有照射到小球上的光被小球折射后都贡献一份逆轴向的力,其合力趋向于把小球拉向焦点。这就是光束对处于激光束焦点下方的介质小球产生与光束传播方向相反的拉力的来源。对于球心处在光束焦点上方和光束焦点右方的小球,见图 2-4(b)和图 2-4(c),运用类似分析方法可以得到,光通过小球折射后,小球将分别受到指向正光轴和偏向左的光作用力,这都使小球趋向于光束焦点移动。

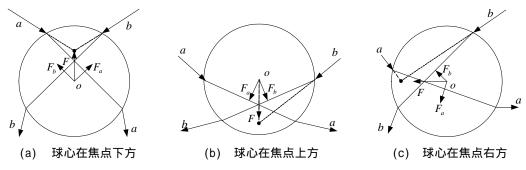


图 2-4 小球在会聚的高斯光场中的受力示意图

Fig.2-4 The force of the sphere in a focused Gauss beam optical field

因此,处于单光束梯度力光阱中,焦点之前、后或左或右的介质小球,都将受到一个趋向于焦点的力。梯度力阱中任何横向(x-y 平面)偏离都会导致横向上梯度力产生回复力,而任何纵向(z 方向)的偏离都会导致纵向梯度力产生回复力。梯度力起着使小球停止在焦点附近的类似弹簧力的作用,所以在焦点附近的小球将会受到这三维空间的回复力而稳定地被束缚于光阱中。逆光束传播的负向梯度力更为重要,它主宰着轴向平衡的稳定性。俘获强度是稳定俘获可能的范围内的最大力来估计,具有大数值孔径且会聚角大的场合,可实现大俘获力、大弹簧刚度,进而实现大的俘获范围。

2.3 光阱力捕陷微粒子的条件

光镊若要在三维方向上稳定地俘获住粒子,其首要基本条件就是光强

的分布需要有大的光强梯度。这从前面的分析中我们可得知。高度聚焦的 激光束形成的激光微束就具有大的强度梯度。这样,才能产生足够的梯度 力来捕获住微粒。

在本章及后面章节的讨论中,我们都是假设粒子的折射率 n_2 大于周围介质的折射率 n_1 ,这是激光微束捕获粒子的基本条件之一。因为如果一个低折射率的粒子处在一高折射率的介质中,即 $n_2 < n_1$ 时,光线穿过粒子时其折射光线是与 $n_2 > n_1$ 时反向的。此时,粒子将被从光场强度高的地方推向光场强度低的地方,显然粒子将被踢出光场。而且, $n_2 > n_1$ 这也是符合一般生物粒子及实验情形的,我们可以从所有光镊捕获生物粒子的研究论文中证实这一点。

另外,我们都是以透明的球体作为模型来讨论的,因为透明球体的对 光的折射大于对光的反射,这样光与其折射作用引起的梯度力才能大于反 射和吸收作用引起的散射力,才能够稳定捕获微粒。而且大多数的细胞、 寄生虫及其它生物样品均对某一波段或全部可见光谱透明。

在满足上述的基本条件后,微粒能否被稳定地捕获住还涉及到一定的物理与生物方面的性质。如激光微束的光波长、功率、束腰半径、生物微粒的大小、粒子与周围介质的相对折射率,以及球心与光轴的距离和球心与束腰的距离等等,这些因素都不同程度的影响着束缚效果。所以,对光阱力的定量计算就非常重要,能够为实验中各参数的选择提供重要的依据。但是,激光微束与粒子的作用力对粒子的尺寸与形状是非常敏感的,其理论研究仍在发展之中。与波长尺寸相比,不同尺寸大小散射区的微粒,其所受光阱力定量计算的方法是不一样的。对于尺寸比波长大得多的 Mie 散射区的微粒,采用几何光学计算的方法进行近似定量计算。对于尺寸比波长小得多的 Rayleigh 散射区的微粒,采用电磁场模型进行近似定量计算,对于尺寸与波长相近的球状微粒和一些非球状微粒的光阱力的计算也正在发展之中。后面的章节中我们将做进一步的具体分析。

2.4 本章小结

本章介绍了光镊技术的定义,定性地分析了激光微束的梯度力的产生

第2章 光镊技术概述

原理。描述了二维光学势阱和三维单光束梯度力光阱及其工作原理,并且 总结了光阱的形成以及光阱力捕陷微粒子的基本条件。

第3章 单光源双光阱光镊设计及三维操纵分析

3.1 单光阱光镊的基本组成

在生物研究领域,光镊仪器的主要功能是利用其形成的光阱来捕获生物微粒。通过对光阱的微操纵,实现对生物微粒的捕获、翻转、移动等各种操作来研究生物微粒。单光阱光镊通常是将激光器发出的激光束经扩束准直器,调整送入倒置的生物显微镜,然后经过大数值孔径物镜聚焦后形成激光微束(其焦点就是光阱),最终在显微镜的载物台上产生捕获力。通常一个单光阱光镊仪器主要包括以下几个基本部分:激光器光源、光路调节系统、光路耦合器、显微镜光阱微操纵系统以及实时监测与图像处理系统。

通常把激光器与生物显微镜结合使用,以保证激光束会聚光斑的质量和操纵简便。在显微镜的物镜与目镜间加入光路耦合器,借助生物显微镜的物镜头会聚激光束而不影响原光路成像。光镊微操纵系统的基本组成如图 3-1 所示。

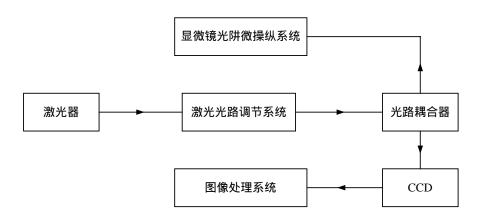


图 3-1 光镊仪器的基本组成框图

Fig.3-1 Structure of the instrument of optical tweezers

单光阱光镊仪器各部分的主要功能如下:

(1)激光器 激光器发出的激光束经显微物镜聚焦后形成激光微束,激

光微束与生物粒子相互作用形成光阱,因此激光器是形成光阱的光源。为了实现对生物样品精确可靠的无损伤操作,应选择波长、功率合适,性能稳定、可靠的激光器作为光源,目前使用的多是连续工作、发出 TEM_{00} 模式的单模激光束的激光器。

- (2)激光光路调节系统 从激光器发出的激光束还是有一定发散度的,同时为了形成大的光场梯度,从激光器发出的激光束需要扩束、准直后,再经物镜会聚,才能保证会聚光斑的质量。在某些情况下,激光光路调节系统还包括偏振器或滤波片等光学器件。其中,偏振器用来控制光束的偏振方向。
- (3)显微镜光阱微操作系统 单光束梯度力光阱的形成是使激光束通过生物显微镜的高数值孔径(NA)物镜强聚焦后形成激光微束,激光微束能够产生较强的光场梯度分布,从而就满足了形成三维光学阱的需要。实验中当生物活体进入激光微束焦点的附近区域时,由于梯度力的作用,生物活体将被捕获于单光束梯度力光阱中。另外,以显微物镜为核心的显微镜的光学成像系统正是光镊微米级操纵的显微观察所必备的装置。光镊对生物微粒的微操纵,常用的方法一是保持光阱的位置不变,移动载物平台,使光阱对被捕获的生物活体做相对运动;二是保持载物平台不动,通过移动激光微束,来改变单光束梯度力光阱的位置,从而实现对生物微粒的操纵。
- (4)光路耦合系统 光路耦合系统利用光路耦合器件将激光器光源、CCD 摄像等系统与显微镜的光学系统相耦合。光路耦合器是连接这三个系统的核心部件,在光学及机械性能上均有特殊要求,它的质量将直接影响到实验的结果。光耦合器要求不影响显微镜原来的成像系统保持其分辨率和清晰度的同时实现各光路自己的功能。
- (5)CCD 及图象处理系统 在通常的光镊系统中,要求具有较高的时空分辨率来捕捉和分解瞬息变化的生物粒子的动态过程。显然,仅仅依靠显微镜的观察系统是远远不够的,所以,一个具有能够实时观察、连续记录和随时可进行参数调整功能的监测与图象处理系统就成为光镊微操纵系统的一个重要组成部分。CCD 及图象处理系统利用 CCD 摄像头,摄取显微

图象送入计算机,由计算机的图象处理软件对所需图片进行剪辑、测定目标大小及捕获物体操纵的速度等,从而实现对实验过程的动态监视与记录等。

3.2 单光阱光镊的结构选取原则

3.2.1 激光器

激光器作为光镊系统中光阱形成的光源,对形成光阱的质量和整个光镊系统的稳定性都具有十分重要的作用。总体分析,激光器的选取主要考虑到以下三个方面,即出射激光束的功率、激光的波长以及激光器的稳定性。

- (1)功率方面 在稳定捕获下,激光功率与粒子受力成正比。激光功率大小的选择一方面要考虑能够产生稳定的捕获和操作,这依赖于粒子的个体性质,对于不同种类或同一种类不同条件下制备的样品,其阀值功率是不一样的;另一方面,在满足稳定捕获的前提下,功率应尽量降至最小,以减小光损失。几毫瓦到几十毫瓦的能量在微米级尺寸上将产生几十到几百皮牛的力。这足以克服微米级粒子的重力、布朗运动或鞭毛动力原和原动蛋白产生的几皮牛的力。所以在很多实际应用中只需要一个小功率激光器就能满足要求。实用中还需要输出功率比较稳定,因为功率的波动过大时,太强的光可能对粒子造成损伤,光太弱又将使势阱变浅而导致已束缚的粒子的逃逸。
- (2)波长方面 捕获微粒所需要用激光的最优波长依赖于被捕获微粒的尺寸。光阱的刚度,即光阱力的大小同被捕获颗粒偏离光阱中心距离的比值,它是通常所关注的重要指标。从一般意义上讲,激光束可达到的最小束腰半径大致与激光波长相当,当同样尺寸的微粒被光阱捕获时,光阱的刚度达到最强。若捕获微粒的直径相对光波长减小的话,光阱刚度将急剧减小;而若被捕获微粒尺寸相对光波长增大的话,光阱刚度只是逐渐地减小[24]。

自然界中各物质之间由于其组织和结构的差异,使得对光的吸收波段

和吸收强弱也不尽相同,故每一种物质都有其特征的吸收光谱。对于光阱这样大的光通量,粒子在阱中可能会因为光吸收而变得过热而受到损害,Ashkin 等人发现当氩离子激光器在 514.5 nm 的光波长处工作时,很小的功率便会使所操纵的细菌爆裂^[52]。因此避开所要操作的粒子的吸收带,是选择激光器波长的又一个重要依据。

实际上,短波折射率大,聚焦光斑较小,更有利于捕获粒子,但是波长越短,单个光子的能量也越大,吸收的影响也就越大,而且容易引起不利于细胞的化学过程。在后来的实验工作中,人们发现用近红外光作为光阱光源是比较理想的。

(3)激光器的稳定性方面 激光器的可靠性势必同光镊的稳定性及线性度有着直接的关联。要求激光要有较好的指向精度,因为光束 mrad 级的变化将引起光镊在样品面 nm 级的移动。

用作光阱光源的激光器有 He-Ne(632.8 nm)激光器和氩离子(514 nm、488 nm)激光器,它们的特点是价格相对低廉、容易得到,而且由于采用可见光作为陷阱,光线可见,光路的调节就较容易,但是其光波长在可见光范围是其不足之处。另外还有 Nd:YAG(1064 nm)激光器,它的特点是工作波长范围宽、功率大小适中、稳定性好,是理想的光镊光源,但是其价格昂贵,设备复杂。

本系统中采用的是掺钛蓝宝石激光器,它是一种可调谐固体激光器,输出连续工作方式的 TEM_{00} 模激光束,波长调谐范围在 580~nm 到 1050~nm,预定工作波长在 720~nm 左右,输出的是功率最大值为 2~w,稳定性较好。由于 720~nm 的光波为可见红光,所以其有利于光路的调节,不需要为光路调节而耦合进其它的光束。

3.2.2 激光光路调节系统

激光器发射的激光束的扩束和准直可以通过光束扩束镜来完成。光束扩束镜的主要作用是压缩激光的空间发散角,扩大或缩小激光光束的直径,使激光束满足孔径要求。通常使用反射扩束镜,扩束镜一般是由物镜和目镜组成的,旋转调节手轮可改变扩束镜物镜和目镜的间距,使输出光束准

直。本系统中采用变倍扩束镜,可对 720 nm 激光进行连续可调变倍,提供高质量的光束。

3.2.3 光路耦合器

光路耦合器中的光学器件,包括扩束后的激光束与显微镜物镜之间、 CCD 摄像头与显微镜物镜之间、光镊微操纵系统的耦合器件。主要的耦合 器件就是双向色分束器,它能透过工作波长的光而将其它光反射。双向色 分束器上面镀有对一定波长反射和透射的光学膜,所镀膜的要求根据实际 所用波长和透光比设计。本系统采用三个双向色分束器。

3.2.4 倒置显微镜

激光器所发出的激光束通过显微物镜会聚而形成激光微束,利用激光 微束即可产生所需的光阱。因此,显微镜在整个光镊仪器中占据着非常重要的位置。它的选取主要考虑以下几个方面:

- (1)为了使激光束获得大的会聚角度,需要大数值孔径物镜的显微镜,因为数值孔径决定了光线与光轴能形成的最大角度。为了达到大的数值孔径,大多数显微镜物镜都采用一种特殊的油浸或水浸物镜,油或水可直接进入透镜与样品间的间隙。由于大多数生物样品一般都是悬浮于水中的,油浸物镜可方便地直接插入样品池中,所以一般采用油浸物镜。
- (2)由于大数值孔径物镜的工作距离短,特别是垂直入射式显微镜不利于生物样品的放置、无菌操作以及其它辅助设施的组合运用。所以往往选用配有可适用于紫外到近红外波段的大数值孔径(*NA* > 1.25)、高放大倍率 (100×)物镜的倒置式相衬生物显微镜。
- (3)显微镜应有良好的机械稳定性,以保证光镊系统的操纵精度和可重复性。要求光学系统能够较好地透射成像光线和形成光阱的激光,以保证成像及光阱质量,提高照明光和激光的利用效率。

我们选用莱卡 DMIRB 倒置研究型显微镜。其配有明场、微分干涉、 荧光和相差成像部件,以及摄像附件;具有马达自动调焦装置,其调焦液晶显示分辨率为 $1~\mu m$;配备了数值孔径分别为 NA=1.35、NA=1.40的油

浸物镜和聚光镜;具有底摄像口,可用于激光束的引进和附加成像光路的 出口,如图 3-2 所示。

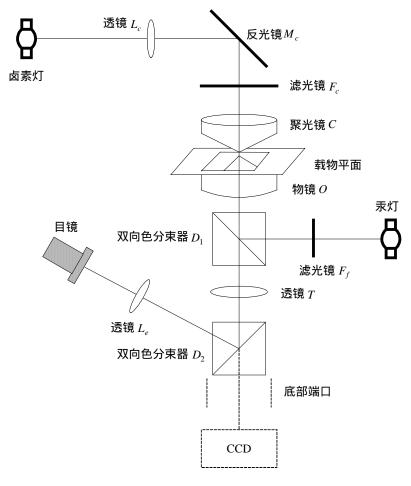


图 3-2 显微镜光学结构示意图

Fig.3-2 The optical structure of microscope

3.2.5 光阱微操纵系统

(1)移动载物台操纵粒子 为了证实生物微粒被捕获与否,经常使用的方法是固定激光微束的焦点不变,即保持光束不动,光阱的位置不变,慢慢地移动载物平台,并观察视场中的所有其它的生物微粒相对于被捕获生物微粒的运动。通过这种方法,能够对光学捕获现象和光阱力的作用得到一个直观的感受。载物平台在 x-y 平面和沿光轴的方向都可以连续地调节,

可以用来调节光阱与待捕获粒之间在三维空间上的相对位置。普通的显微操作平台在z方向的精度为 2 μ m(即调焦精度),在x-y 平面的操作精度更低,当满足一般的光镊捕获生物细胞的实验演示或定性分析,对粗略的操纵来说是合适的。但是,如果要对光阱力的参数进行调整以及对光阱操作细胞的过程作定量测量,则必须在操作精度上有大的提高才能满足要求。提高阱台操作精度的方法通常是采用精密机械传动机构配以高精度步进电机来驱动平台,实现小于 2 μ m的操作精度。使用步进电机驱动还可以使得整个设备实现计算机自动化控制,提高了设备的工作效率和多功能操作。

(2)移动激光微束操纵生物粒子 对生物微粒进行操纵的另一种途径是保持载物平台相对静止不动,移动激光微束,也就是通过移动陷阱位置实现光阱与生物样品的相对位置,从而达到操作生物微粒的目的。但是我们知道,当光束充满物镜后瞳时,移动激光束就很容易使光束被物镜后瞳挡掉从而减弱光阱的强度,改变其稳定性。因此,用移动激光微束来操纵生物微粒时就必须设计一个合适的光路耦合器。

在本光镊系统中,对轴向光阱位置操作我们采用前一种方法,即通过物镜调焦的方法来实现。所采用的莱卡 DMIRBE 倒置型显微镜具有马达电动调焦功能,其液晶显示精度为 $1~\mu m$ 。对于垂直于光束传播方向的横向取样平面光阱的操作我们采用后一种方法。即通过稍微转动转镜 M,使得横向平面光阱位置改变。由于采用了耦合器件透镜 L_3 ,光阱质量保持不变。

3.2.6 实时监测与图像处理系统

CCD 摄像与图象处理系统可以对粒子进行实时观察、连续记录,也可以随时进行系统参数调整。要求 CCD 摄像系统具有很高的时间和空间分辨率,能够进行静态和动态记录;图像处理系统完成对采集图像的相应处理与分析。此外,CCD"虚拟四象限探测器"位移测量法是基于 CCD 光敏元光积分量随目标位移而变化的机理,从摄取的 CCD 数字图像提取目标位移信号,该方法很好的改善 CCD 中心提取方法的一些不足之处。本系统选用罗技公司的CCD 摄像头,拍静止画面时最大分辨率为1280×480,拍动画时最大分辨率为640×480。

3.3 单光源双光阱光镊的设计及操纵分析

3.3.1 设计的基本原则及结构组成

基于单光阱光镊的设计,本系统使用一个激光器,由两个宽带偏振分光棱镜来实现双光阱。一个分光棱镜将扩束后的平行激光束分成两束,在到达物镜之前,经过另一个偏振分光棱镜将两束光重新耦合,形成两个光阱。两个光阱在三维方向上的操纵分别由各自的微操作系统来完成。

光镊形成的光阱力是由物理学相同种类的所有光力所组成的,主要分为散射力和梯度力。散射力正比于光本身的光强,而梯度力正比于光强空间的变化率。散射力作用方向为光传播的方向,而梯度力为光强度变化梯度的方向。光捕捉工作处于稳定态时,梯度力要大于散射力。实际上,由于光在被研究物体中的变形越大,产生的梯度力越大,所以当显微镜物镜的数值孔径 NA 尽量最大时,产生的梯度力的那部分光线也越多,就越能稳定可靠地对粒子起捕获作用。当物镜的入瞳被激光束完全充满时,激光束经物镜会聚后的束腰半径达到最小。对光阱位置进行操纵的过程中,要保证光阱稳定的强度,需要始终保持对显微镜物镜入瞳相同的填充程度,不随激光束的移动而改变。同时,由于激光的模式具有中心对称性,所以当激光束的中心光线偏离物镜入瞳中心时将引起物镜入瞳内光强分布的变化,特别是在物镜入瞳内光强分布将失去中心对称性。所以,在对光阱进行操纵的过程中,需要激光束的中心光线始终穿过物镜入瞳中心。为了创建一个在三维方向上可以独立移动的双光阱光镊微操纵系统,并保证其稳定可靠工作,需要具备以下几个条件:

- (1)物镜入瞳中心必须置于转镜旋转轴上。以保证激光束的中心光线始终穿过物镜入瞳的中心。
- (2)操纵光阱纵向位置时,激光束要始终保持充满显微物镜入瞳,以保证相同的捕获功率。
- (3)操纵光阱横向位置时,激光束也要始终保持充满显微物镜入瞳来保证捕获功率相同。

基于上述设计原则设计了一个单光源双光阱光镊微操作系统,具体情

况如图 3-3 所示,此图为系统的光路示意图。

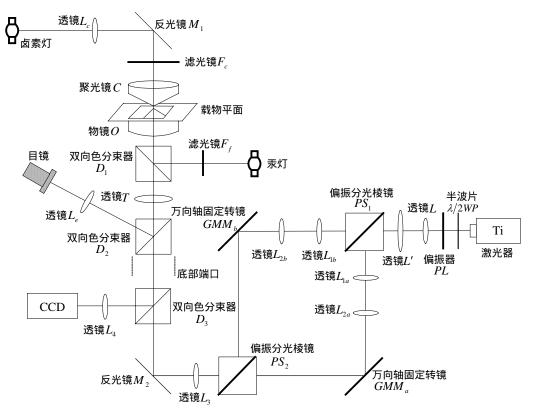


图 3-3 双光阱光镊微操纵系统光路图

Fig.3-3 The optical schematic structure of the micromanipulation system with two optical trap

图 3-3 中, $\lambda/2WP$ 为一半波片,用于控制激光的线偏振方向,PL 为一个起偏振器。当激光通过 $\lambda/2WP$ 时,它的线偏振方向发生改变,再经过 PL 后,激光的功率将发生改变,功率关系如下式所示

$$P = P_0 \cos^2 \theta$$

式中,P 为透过 PL 后的功率, P_0 为激光的初始功率, θ 为激光经过 $\lambda/2WP$ 后,偏振方向与 PL 的夹角。

因此,通过调整 $\lambda/2WP$ 来改变 θ ,即可连续地改变激光功率。

透镜 L , L' 构成激光扩束准直系统 , 出来的激光束忽略其极小的发散 , 看作是平行激光束。 PS_1 、 PS_2 为宽带偏振分光棱镜 , 入射激光束通过 PS_1

偏振分光镜后被分成两束互相垂直偏振的光束,考虑到分光镜的反射损耗,我们选择镀膜的分光反射镜。 GMM (GMM_a/GMM_b)为万向轴固定转镜,万向轴固定转镜即为反射镜能够在其中心位置周围被倾斜活动。透镜 L_3 和辅助物镜 T (焦距分别为 f_3 和 f_T)将物镜入瞳成像在万向轴固定转镜上,这也就说明物镜入瞳中心同万向轴固定转镜的中心是共轭点,物镜入瞳和万向轴固定转镜是共轭平面。因此稍微转动转镜来实现对光阱横向位置进行操纵时,能够满足上述的条件(1)和(3)。另外,辅助物镜 T 的另一个重要作用是使光阱和显微镜系统齐焦,保证其正常的视野能力,否则被光阱捕获的粒子无法用通常的方法观察到。透镜 L_1 (L_{1a}/L_{1b})和 L_2 (L_{2a}/L_{2b})组成了另一个共轴共焦光学系统,透镜 L_1 的微小移动来实现光阱在纵向位置即取样平面焦点处沿 z 轴方向的移动。 PS_2 完成两光束的重新耦合,以便将其共同引入显微镜系统,形成双光阱。本系统选择 L_1 和 L_2 等焦距,大小为 $f_1=f_2=60$ mm,显微镜物镜的有效焦距 $f_0=1.7$ mm,辅助物镜 T 的焦距 $f_t=170$ mm,T 与显微镜物镜入瞳 D 的距离 D0 的距离 D10 mm。

3.3.2 横向微操纵系统的分析

在双光阱光镊的微操纵系统中,需要精确定量地控制和改变两个光阱间的相对距离。一些文献提及过用平移反射镜来实现对光阱横向位置的操纵。但是,对平移反射镜系统而言需要对两个独立的反射镜进行平移操作才可实现二维操纵。移动反射镜时,激光束的中心光线不再保持通过物镜入瞳中心光线,光强分布发生变化,不能保证光阱质量。而一个万向轴固定转镜可实现对光阱横向位置的二维操纵,并且保证光阱的稳定性。较平移反射镜而言,转镜结构简单,降低了系统成本,也提高了操纵的速度。双光阱光镊微操纵系统中,两光阱的横向阱位分别由各自的光学系统来调整。由于调节机理相同,在此只对单个光阱的阱位操纵系统进行分析。

物镜入瞳中心的共轭点也被称为出射点。出射点也就是射入显微镜的高斯激光束的束腰位置。这个出射点是放置万向轴固定转镜的最佳位置,以便将激光束耦合进显微镜。图 3-3 中的透镜 L_3 和辅助物镜 T 将物镜入瞳成像在万向轴固定转镜上,使得物镜入瞳中心与转镜旋转轴中心是共轭点,

物镜入瞳和万向轴固定反射镜是共轭平面。分束后的激光束分别投向两个万向轴固定转镜,即投射在物镜入瞳的像上,光束就通过光学系统进入到显微镜物镜上。当转镜围绕它的标定正常位置也就是旋转轴稍有倾斜时,就可以操纵光阱的横向位置。标定正常位置(即旋转轴)定义为激光束进出显微物镜完全沿着光轴z的方向。在这个过程中,激光束在万向轴固定转镜处的光束尺寸大小没有改变,由于万向轴固定转镜与物镜入瞳是共轭平面,那么激光束对物镜入瞳的填充程度就没有改变,仍是充满物镜入瞳的。那么进入物镜入瞳的光束的强度就没有改变。而且物镜入瞳中心与万向轴固定转镜中心(即旋转轴中心)是共轭点,那么激光束的中心光线也是始终穿过物镜入瞳中心,物镜入瞳处激光束光强分布也就没有变化。所以通过稍微倾斜转镜来移动光阱横向位置(x-y 取样平面)时,光束的强度和强度分布都没有改变,从而保证了光阱的稳定性。

在具体设计时,辅助物镜T是安装在显微镜内部的,其位置保证显微镜的正常视野能力。辅助物镜T与显微镜物镜入瞳O之间的距离 d_{Io} 是一定值。万向轴固定转镜GMM与透镜 L_3 之间的距离用 d_{G3} 来表示,透镜 L_3 与辅助物镜T之间的距离用 d_{3i} 来表示。系统中的各个透镜都视为薄透镜。根据薄透镜共轴共焦系统成象可以推导透镜间的距离关系,规定距离的符号规则为:轴向距离从基准点量起,顺入射光方向(自左向右)为正,逆入射光方向为负;垂直距离高度在主光轴之上为正,在主光轴之下为负。规定角度的符号规则为:从基准线向光线转一锐角,旋转方向为顺时针的为正,反之为负。

根据高斯公式 $\frac{1}{s'} - \frac{1}{s} = \frac{1}{f'}$, 其中 s' 为象距 , s 为物距 , f' 为象方焦距。可得推导过程如下:

$$s_1 = -d_{to}$$

$$\frac{1}{s'} - \frac{1}{d_{to}} = \frac{1}{f_t}$$

$$s' = \frac{f_t d_{to}}{d_{to} - f_t}$$

$$-30 -$$

$$s_{2} = -(d_{3t} - s') = \frac{f_{t}d_{to} - d_{to}(d_{3t} - f_{t})}{d_{to} - f_{t}}$$

$$\frac{1}{s''} - \frac{1}{s_{2}} = \frac{1}{f_{3}}$$

$$s'' = f_{3} \frac{f_{t}d_{3t} - d_{to}(d_{3t} - f_{t})}{f_{t}(d_{3t} - f_{3}) - d_{to}(d_{3t} - f_{3} - f_{t})}$$

$$d_{G3} = s''$$

$$d_{G3} = f_{3} \frac{f_{t}d_{3t} - d_{to}(d_{3t} - f_{t})}{f_{t}(d_{3t} - f_{3}) - d_{to}(d_{3t} - f_{3} - f_{t})}$$
(3-1)

选择透镜 L_3 与辅助物镜 T 之间的间距 d_{3t} 为两透镜焦距 f_3 和 f_t 之和,即 $d_{3t}=f_3+f_t$,光学系统是一个共轴系统。在这种条件下,万向轴固定转镜与透镜 L_3 的距离 d_{G3} 就可简化为

$$d_{G3} = \frac{f_3}{f_t} \left(f_3 + f_t - \frac{f_3}{f_t} d_{to} \right)$$
 (3-2)

因此,万向轴固定转镜与透镜 L_3 的距离 d_{G3} 就由公式(3-2)确定。 如图 3-4 所示,此图描述的是光阱横向位置的移动。

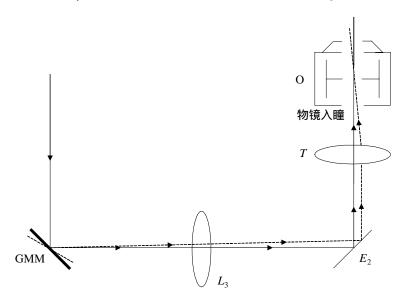


图 3-4 光阱横向位置移动示意图

Fig.3-4 The movement of optical trap in transverse plane

万向轴固定转镜绕其标定位置稍微倾斜时,仅引起激光束在物镜入瞳处绕轴做转动,即激光束只是方向发生改变,尺寸大小没有改变,还是充满物镜入瞳,也就是说对物镜入瞳的填充程度与其不倾斜状态保持相同,光束的强度没有改变。激光束中心光线仍然穿过物镜入瞳中心,光束的强度分布也没有改变,从而保证了光阱的高稳定性。

万向轴固定转镜实现光阱横向位置的移动时,光束中心光线的追踪示意图如图 3-5 所示。从图中我们可以看出,当万向轴转镜倾斜角 θ_1 时,激光束的中心光线仍然是穿过物镜入瞳中心的,激光束光强分布不会改变。我们把激光束在物镜入瞳处相应方向改变角度设为 θ_2 。利用薄透镜共轴共焦系统角放大率公式可以计算出 θ_2 与 θ_1 的关系为

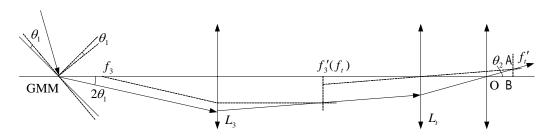


图 3-5 中心光线追踪示意图

Fig.3-5 The propagation of the center beam

$$\gamma_{1} = \frac{s_{1}}{s'}$$

$$\gamma_{2} = \frac{s_{2}}{s''}$$

$$\gamma = \gamma_{1} \cdot \gamma_{2} = \frac{s_{1}s_{2}}{s's''} = -\frac{f_{3}}{f_{t}}$$

$$\theta_{2} = -2\frac{f_{3}}{f_{t}}\theta_{1}$$
(3-3)

在三角形 OAB 中,可得到光阱在横向位置即取样平面 x-y 方向上的移动值 Δd 与 θ ,关系为

$$\Delta d = f_o t g \theta_2 = f_0 \theta_2 \tag{3-4}$$

式中 , f_a 为物镜的有效焦距。

我们还可以由薄透镜共轴共焦系统成象垂直放大率与角放大率的倒数关系,可以得出激光束在物镜入瞳上的尺寸 h_a 与在万向轴固定转镜上的尺寸 h_a 的关系为:

$$\beta = \frac{1}{\gamma} = -\frac{f_t}{f_3}$$

$$h_o = -\frac{f_t}{f_2} h_G \tag{3-5}$$

因此,当稍微倾斜万向轴固定转镜时,可以实现光阱在横向位置(x-y 平面)独立的移动。其移动的大小与万向轴固定转镜倾斜角的关系可以由公式(3-3)和公式(3-4)来确定。

3.3.3 纵向微操纵系统的分析

利用透镜 L_1 和 L_2 组成的共轴共焦光学系统能够实现对光阱纵向位置独立的操纵,并且操纵方便有效。在单光源双光阱光镊微操纵系统中,两光阱轴向阱位的移动分别由各自的光学系统来调整。由于两个光阱的阱位调节机理相同,在此只对单个光阱的阱位操纵系统进行分析。

由透镜 $L_1(L_{1a}/L_{1b})$ 和 $L_2(L_{2a}/L_{2b})$ 组成的另一个共轴光学系统用来调节单光阱纵向位置的移动。两透镜间距也近似等于两透镜焦距之和。把激光束视为平行激光束,沿激光束方向轻微地移动两透镜中的一个,激光束就会轻微的发散或汇聚,这样就会移动光阱在显微镜取样平面上的景深,即调节了光阱轴向(沿 z 轴方向)的位置。

光阱景深的调节是利用透镜 L_1 沿光轴方向绕标称位置的微小移动来实现的。如前文所述,要保持光阱的高稳定性和轴向操纵的有效性,必须满足当透镜 L_1 作微小移动时,激光束对物镜入瞳要保持相同的填充程度,即激光束在物镜入瞳处的尺寸大小不能随 L_1 的微小移动而改变。由于物镜入瞳和万向轴固定转镜是共轭平面,所以要满足物镜入瞳处相同的填充程度的必要条件是:必须使万向轴固定转镜处的激光束尺寸大小与激光束的发散或汇聚无关。下面就满足这一条件的要求作具体分析。

设入射激光束大小为 h_{in} ,透镜 L_2 与万向轴固定转镜的距离为 d_{2G} ,透镜 L_1 与 L_2 的距离为 d_{12} ,用薄透镜共轴共焦系统成象垂直放大率公式可以求出万向轴固定转镜处激光束大小 h_G 和入射激光束大小 h_{in} 的关系式为

$$h_G = \left(\frac{(d_{12} - f_1)(d_{2G} - f_2)}{f_1 f_2} - \frac{d_{2G}}{f_1}\right) h_{in}$$
 (3-6)

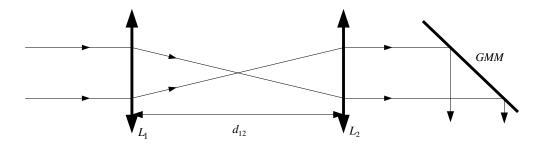
由式(3-6)可知,若满足万向轴固定转镜处激光束尺寸大小与透镜 L_1 的移动无关,即与透镜 L_1 和 L_2 的间距 d_{12} 的变化无关。其必要条件是选择透镜 L_2 和万向轴固定转镜之间的距离 d_{2G} 等于透镜 L_2 的焦距 f_2 ,即 $d_{2G}=f_2$,则万向轴固定转镜处的激光束大小 h_G 与入射光束大小 h_{in} 之间的关系可以简化为

$$h_G = -\frac{f_2}{f_1} h_{in} (3-7)$$

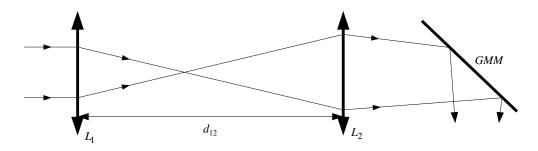
则万向轴固定转镜处激光束尺寸大小仅与透镜 L_1 和 L_2 的焦距有关,不随透镜的 L_1 移动而改变。因此,光阱轴向阱位的调节也保证了光阱的高稳定性。

为了进一步说明以上的分析,如图 3-6 所示。当透镜 L_2 和万向轴固定转镜之间的距离 d_{2G} 等于透镜 L_2 的焦距时,从图 3-6 中可以的出以下结论:当透镜 L_1 和 L_2 之间的距离 d_{12} 等于两个透镜的焦距之和时,入射到万向轴固定转镜处的激光束是近似于平行的光束,如图 3-6(a)所示;移动透镜 L_1 ,使 L_1 和 L_2 之间的距离 d_{12} 大于两个透镜的焦距之和,此时在万向轴固定转镜处的激光束表现为轻微的会聚,如图 3-6(b)所示;再移动透镜 L_1 ,使 L_1 和 L_2 之间的距离 d_{12} 小于两个透镜的焦距之和,在万向轴固定转镜处的激光束表现为轻微的发散,如图 3-6(c)所示。透镜 L_1 的微小移动使得光束会聚或是发散,改变光阱景深,从而调节了光阱轴向的位置,但是激光束在万向轴固定转镜处的尺寸大小并没有改变。

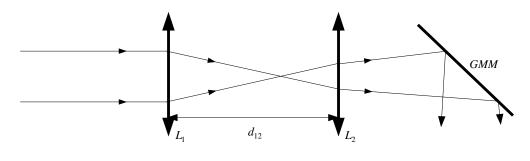
因此,选择透镜 L_2 和万向轴固定转镜之间的距离 d_{2G} 等于透镜 L_2 的焦距 f_2 ,是设计双光阱光镊微操纵系统对光阱轴向位置能够独立进行操纵的关键所在。它使得物镜入瞳处激光束尺寸大小不随透镜 L_1 的移动而改变,从而保证光阱轴向位置的高稳定性。



(a) $d_{12} = f_1 + f_2$ 的情况



(b) $d_{12} > f_1 + f_2$ 的情况



(c) $d_{12} < f_1 + f_2$ 的情况

图 3-6 光束在 GMM 处的尺寸与透镜 L_1 平移的关系图

Fig. 3-6 The relations between the beam size in GMM and the movement of lens L_1

通过移动 L_1 来调整 z 方向光阱景深时,如图 3-7 所示。利用薄透镜共轴系统中纵向放大率的概念,即纵向放大率为像距与物距商的平方,可以得出平行光束经透镜组后在光轴上聚焦点的相应移动 Δz 与透镜 L_1 和 L_2 的距离变化 Δd_1 ,的关系式为

$$\Delta z_1 = \left(\frac{f_3}{f_2}\right)^2 \Delta d_{12}$$

$$\Delta z_2 = \left(\frac{f_0}{f_t}\right)^2 \Delta z_1$$

$$\Delta z = \Delta z_1 \cdot \Delta z_2 = \left(\frac{f_0}{f_t}\right)^2 \left(\frac{f_3}{f_2}\right)^2 \Delta d_{12}$$
(3-8)

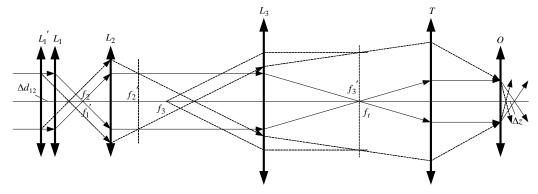


图 3-7 L_1 的移动调节轴向光阱景深示意图

Fig.3-7 Change of the depth caused by the movement of lens L_1

由式(3-5)和式(3-7),可以得出激光束在物镜入瞳处的尺寸 h_o 与入射激光束大小 h_m 的关系为

$$h_o = \frac{f_2 f_t}{f_1 f_3} h_{in} \tag{3-9}$$

因此,通过 $L_{\rm l}(L_{\rm la}/L_{\rm lb})$ 沿标称位置作微小移动就可以使光阱在轴向位置独立地移动。

分别调节 L_{1a} 和 L_{1b} 可以操纵双光阱中每个单光阱纵向方向的位置。如果我们想同时移动两个光阱,可以用移动透镜 L_3 来实现,因为透镜 L_3 是对两束光路都起作用的。但是同样要满足激光束始终充满物镜入瞳这一条件。基于这种原因,要保持激光束尺寸不变,则需要辅助物镜 T 与物镜入瞳之间的距离 d_{1o} 应该等于辅助物镜 T 的焦距 f_t 。通常情况下,一般显微镜中 d_{1o} 和 f_t 是不相等的。另外,透镜 L_3 的移动,使透镜 L_3 和 T 之间的距离不能精确等于两透镜焦距之和,即 $d_{3t} \neq f_3 + f_t$,那么,当稍微倾斜万向轴固定转

镜来操纵光阱横向位置时,光阱的稳定性即质量得不到保证。然而由透镜 L_3 的微小移动来使两束激光阱联合移动还是可以实现的,因为这时激光束 对物镜入瞳的填充程度变化非常小。透镜 L_3 位置变化时,光阱在 z 轴方向的改变 $\Delta z'$ 随 Δd_3 的变化的关系式为

$$\Delta z' = \left(\frac{f_o}{f_t}\right)^2 \Delta d_{3t} \tag{3-10}$$

当使用高倍显微镜物镜时,可以发现,通过移动 L_3 实现光阱轴向位置移动与移动 L_1 相比,操纵精度有所提高,但需要透镜 L_3 做相当大的调整。

3.4 本章小结

基于单光阱光镊仪器的基本组成,本章完成了单光源双光阱光镊仪器的设计,并且详细分析了单光源双光阱光镊微操纵系统在三维方向上独立调节光阱位置的条件。从理论上证明了如果满足此条件,则可以对每个光阱的阱位在三维方向上进行独立有效地操纵,与此同时,光阱效应的稳定性能够得到保证。与以往的光镊仪器相比较,本文所设计的光镊仪器结构简单,操纵灵活,具有良好的应用前景。

第4章 激光微束光阱力的分析与计算

激光微束光阱力的理论计算与分析对于实验中操纵对象的大小、仪器参数等的选择与改善都有着不可忽视的指导作用,通过对实验结果与理论估算的比较,还可用于实验结果可靠性的分析与评价。因此,对光阱力的理论研究具有十分重要的意义。本章基于几何光学模型和电磁场模型,对几何尺寸远大于光波长(Mie 散射区)的米氏粒子以及尺寸远小于光波长的瑞利粒子所受的光阱力进行了数学推导。

4.1 米氏粒子所受光阱力的分析

4.1.1 几何光学模型

由于非球形粒子所受的激光微束光阱力难于计算,而大多数生物细胞和细胞壁都是球形的,常用作操作柄的聚苯乙烯小球和硅球也都是球形的,所以一般将光阱力的作用对象理想化为均匀透明的介质小球。聚苯乙烯小球有各种各样的尺寸供选择,而且可保存的寿命较长,能够被各种波长的激光微束捕获且不受损害,是进行光镊实验研究很好的作用对象。在 Mie 散射区,即对尺寸远大于光波长($2\pi r/\lambda \ge 100$, r为微粒半径, λ 是波长)的微粒所受的光阱力进行计算时,可采用几何光学模型(Ray-Optics Model:RO 模型)来解释微粒的受力原理,它主要是以几何光学和光子动量转移为基础。

在几何光学模型中,激光被视为几何直线光束。当光束折射进入微粒表面,由于光子运动方向发生改变,根据动量守恒原理,会有垂直于光轴的横向动量转移给微粒,则光束将对微粒施以横向力的作用,如图 4-1(a) 所示。距离光轴近的光束强度较高,对微粒的作用力较大;反之,距离光轴远的光束强度低,对微粒的作用力较小,因此,位于光束外围的微粒将受到指向光轴的横向净力。与此同时,由于介质的折射率与微粒的折射率不同,光进入微粒时将有一部分光子被反射,被反射的光子对微粒则施以

轴向推力,如图 4-1(b)所示。

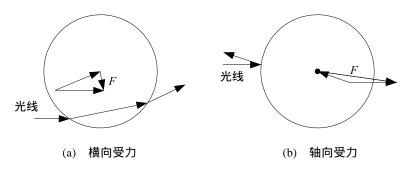


图 4-1 光线产生的力

Fig.4-1 Force produced by ray

光束除了在界面处有部分反射外,其余光线将折射进入球体,并在球体内部不断循环反射、折射。如图 4-2 所示,设光束功率为P,界面反射率为R,折射率为T。z 轴为光束前进方向,y 轴垂直于光束前进方向,自球体反射、折射出的光线功率依次为:PR、 PT^2 、 PT^2R 、 PT^2R^2 ,反射和折射的光线与z 轴的夹角在图中已经详细标出。

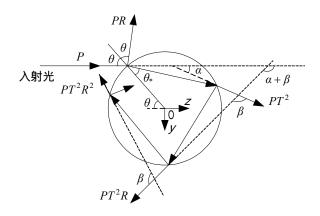


图 4-2 几何光学计算模型

Fig.4-2 Ray-Optics model of calculation

由量子理论可知,单个光子所带的能量为 $h\gamma$,所带的动量为 h/λ ,若光束功率为 P,则它每秒钟传送的动量为

$$\frac{P}{h\gamma} \left(\frac{h}{\lambda} \right) = \frac{P}{\lambda \gamma} = \frac{n_1 P}{c} \tag{4-1}$$

式中, n_1 为介质的折射率,c为真空中光波的速度。

根据动量守恒原理,每秒钟光束与小球的总动量在y轴上应为零,在z 轴上应为入射光的总动量,因此可以得出

$$\frac{\Delta P_{y}}{\Delta t} + \left[\frac{n_{1}PR}{c} \sin(\pi + 2\theta) + \sum_{m=0}^{\infty} \frac{n_{1}P}{c} T^{2}R^{m} \sin(\alpha + m\beta) \right] = 0$$
 (4-2)

$$\frac{\Delta P_z}{\Delta t} + \left[\frac{n_1 PR}{c} \cos(\pi + 2\theta) + \sum_{m=0}^{\infty} \frac{n_1 P}{c} T^2 R^m \cos(\alpha + m\beta) \right] = \frac{n_1 P}{c}$$
 (4-3)

由于动量的变化率 $\Delta P_y/\Delta t$ 、 $\Delta P_z/\Delta t$ 就是球体所受的作用力,因此可得光束对球体所施的力,即

$$F_{y} = -\left[\frac{n_{1}PR}{c}\sin(\pi + 2\theta) + \sum_{m=0}^{\infty} \frac{n_{1}P}{c}T^{2}R^{m}\sin(\alpha + m\beta)\right]$$
(4-4)

$$F_z = \frac{n_1 P}{c} - \left[\frac{n_1 PR}{c} \cos(\pi + 2\theta) + \sum_{m=0}^{\infty} \frac{n_1 P}{c} T^2 R^m \cos(\alpha + m\beta) \right]$$
(4-5)

把 F_y 、 F_z 映射到复数平面上,令 $F'=F_z+iF_y$ (i 为虚数单元),并把无穷等比级数进一步化简得

$$F' = \frac{n_1 P}{c} \left(1 + R \cos 2\theta \right) + i \frac{n_1 P}{c} R \sin 2\theta - \frac{n_1 P}{c} T^2 \left(\frac{e^{i\alpha}}{1 - \operatorname{Re}^{i\beta}} \right)$$
(4-6)

根据平面几何可以求出 $\alpha=2(\theta-\theta_*)$ 、 $\beta=\pi-2\theta_*$, 代入上式化简 , 把 实部与虚部分离 , 可得

$$F_{y} = \frac{n_{1}P}{c} \left\{ R \sin 2\theta - \frac{T^{2} \left[\sin 2(\theta - \theta_{*}) + R \sin 2\theta \right]}{1 + R^{2} + 2R \cos 2\theta_{*}} \right\}$$
(4-7)

$$F_{z} = \frac{n_{1}P}{c} \left\{ 1 + R\cos 2\theta - \frac{T^{2}[\cos 2(\theta - \theta_{*}) + R\cos 2\theta]}{1 + R^{2} + 2R\cos 2\theta_{*}} \right\}$$
(4-8)

以上两式为 RO 模型计算光阱力的基本公式。光作用力与光功率的关系可以表示为

$$F = \frac{Qn_1P}{C} \tag{4-9}$$

式中, Q为一个无量纲系数。

对于固定的作用对象及激光功率,光作用力F的大小可以用Q来表

征,所以 F_v 、 F_z 可以分别由 Q_v 、 Q_z 来表征。其表达式为

$$F_{y} = \frac{Q_{y} n_{1} P}{c} \tag{4-10}$$

$$F_z = \frac{Q_z n_1 P}{c} \tag{4-11}$$

式中, Q_v 、 Q_z 分别为

$$Q_{y} = R \sin 2\theta - \frac{T^{2} [\sin 2(\theta - \theta_{*}) + R \sin 2\theta]}{1 + R^{2} + 2R \cos 2\theta_{*}}$$
(4-12)

$$Q_z = 1 + R\cos 2\theta - \frac{T^2 [\cos 2(\theta - \theta_*) + R\cos 2\theta]}{1 + R^2 + 2R\cos 2\theta_*}$$
(4-13)

上述模型忽略了激光微束的发散和会聚,激光束在经过透镜会聚后, 其强发散区域和强聚焦区域光场的描述是不一样的,因此,我们对激光微 束强发散光场和强聚焦光场的光阱力分别进行了定量计算,并且设计了一 个计算程序,明确考虑了光束的发散和会聚。

4.1.2 激光微束强发散光场中的光阱力计算

在小球的尺寸远大于光波波长时,反射、折射和衍射可以看作是相互独立无关的过程,三者产生的作用力可以相互叠加,在大尺寸粒子情况下,衍射属于二阶效应,可以忽略。当入射光有一部分反射,一部分透射时,我们可以把它的传播过程描述为:首先光被完全吸收,然后在反射方向和透射方向上都有部分光辐射。因此,散射面所受到的总作用力就是这三种辐射产生的作用力之和。

在几何光学中,可以先计算某一条光线(定义为入射到 ds 上的光线)作用在面元 ds 上的轴向力 f_z ,然后对全部辐射到球面上的光线积分。如果将半径为 r ,折射率为 n_2 的各向同性无吸收的小球置于折射率为 n_1 的介质中 $(n_2 > n_1)$ 。与 z 轴夹角为 α 的光线,入射到小球表面的 $P(r, \theta)$ 点上,如图 4-3 所示。各入射、反射、折射光线在单位时间内使小球动量改变量,即为各光线作用于小球的光压力,它们沿 z 轴的分量和即为小球所受沿 z 轴方向的光阱力的大小。因此我们可得面元 ds 上的轴向力 f_z ,即

$$f_z = dF_z / ds = \sum_{n=0}^{x} \left(f_{za_n} + f_{zr_n} + f_{zt_n} \right)$$
 (4-14)

式中, f_{za_n} 、 f_{zr_n} 、 f_{zt_n} 分别是光线第n次入射到界面时,由吸收、反射、和透射引起的力在轴向上的分力。

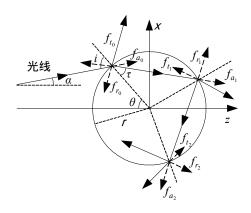


图4-3 单光线在小球上的传播示意图

Fig.4-3 Propagation of a single ray on the microsphere

由图4-3单光线在小球上的传播示意图可以得出

$$f_{zt_0} + f_{za_1} = 0 (4-15)$$

$$f_{zr_{(n+1)}} + f_{za_{(n+2)}} = 0 (4-16)$$

将式(4-15)和式(4-16)代入式(4-14),可得出

$$f_z = f_{za_0} + f_{zr_0} + \sum_{n=0}^{x} f_{zt_{(n+1)}}$$
 (4-17)

根据电磁场理论,坡印廷矢量 $\vec{S} = \vec{E} \times \vec{H}$ 的大小代表单位时间流过与之垂直的单位面积的电磁能量,其方向为能量传播的方向,也就是光动量的方向。而 \vec{S}/c (c 为光速)是单位时间光传递给与之垂直面积的动量大小。因此,当光在小球表面发生反射和折射时,小球在单位时间、单位面积上的动量改变为 ($\vec{S}_A + \vec{S}_R - \vec{S}_T$)/c ,其中, \vec{S}_A 、 \vec{S}_R 、 \vec{S}_T 分别为光入射、反射和折射的光坡印廷矢量。实际上, \vec{E} 和 \vec{H} 都随时间快速变化,用平均能流密

度 S=EH/2 表示坡印廷矢量的大小。又因为 $H=\sqrt{\varepsilon_0/\mu_0}E$, $\varepsilon_0=1/\mu_0\,c^2$,

因而 , $\bar{S}=E^2/2\mu_0c$ 。这样 ,当光传播方向与单位面积平面的法向夹角为 i 时,其作用力为

$$F = E^2 \cos i / 2\mu_0 c^2 \tag{4-18}$$

因此,可以得出关系式为

$$f_{za_0} = -\frac{n_1^2 E^2 \cos i}{2\mu_0 c^2} \cos(i - \theta)$$
 (4-19)

$$f_{zr_0} = -\frac{{n_1}^2 E^2 \cos i}{2\mu_0 c^2} R \cos(i + \theta)$$
 (4-20)

$$f_{zt_{(n+1)}} = \frac{n_1^2 E^2 \cos i}{2\mu_0 c^2} T^2 R^i \cos[(i+\theta-2\tau) + i(\pi-2\tau)]$$
 (4-21)

$$\sum_{n=0}^{x} f_{zt_{(n+1)}} = \frac{n_1^2 E^2 \cos i}{2\mu_0 c^2} \cdot \frac{T^2 \left[\cos(i+\theta-2\tau) + R\cos(i+\theta)\right]}{1 + R^2 + 2R\cos 2\tau}$$
(4-22)

式中,E 为该点处的电场强度, μ_0 为真空中的磁导率,c 为真空中的光速,R、T 分别是反射和透射的费涅耳系数。将以上各式代入(4-14)式可得

$$f_z = -\frac{n_1^2 E^2 \cos i}{2\mu_0 c^2} \left\{ \cos \alpha + R \cos(i + \theta) - \frac{T^2 \left[\cos(i + \theta - 2\tau) + R \cos(i + \theta) \right]}{1 + R^2 + 2R \cos 2\tau} \right\}$$
(4-23)

在球坐标系中进行积分得

$$F_z = \int_0^{2\pi} d\varphi \int_0^{\pi/2} f_z r^2 \sin\theta \cdot d\theta \tag{4-24}$$

这时只要求得某一 θ 角,P处的入射角i,也就是 α 角可求且唯一时,轴向光阱力大小便可以求出。

我们认为激光微束强发散区域的光场分布仍然是基模高斯分布,利用高斯光束波前的性质,可以计算出 $\sin \alpha$ 。以激光微束焦点处为原点 O,光线实际象从 O' 点发出来的。设球心在光轴z上A点处,距离焦点的距离为 z_0 ,高斯光束中入射到M点的光线的波前是球面波,其曲率半径为 R。如图4-4 所示,此图为高斯光束波前示意图,由其数学关系以及高斯光束的性质,我们可以得到的关系有

$$x_m = r\sin\theta$$
$$z_m = z_0 - r\cos\theta$$

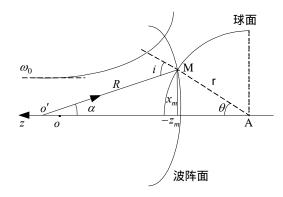


图4-4 夹角几何关系

Fig.4-4 The geometric relations of the angles

$$n_{1} \sin i = n_{2} \sin \tau$$

$$i = \alpha + \theta$$

$$E^{2}(x_{m}, z_{m}) = E_{0}^{2} \exp\left(\frac{-2x_{m}^{2}}{\omega^{2}(z_{m})}\right)$$

$$E_{0}^{2} = \frac{4p_{0}\mu_{0}c}{\pi\omega_{0}^{2}n_{1}}$$

$$\omega(z_{m}) = \omega_{0} \left[1 + \left(\frac{\lambda z_{m}}{\pi\omega_{0}^{2}}\right)^{2}\right]^{1/2}$$

$$R(z) = z \left[1 + \left(\frac{\pi\omega_{0}^{2}}{\lambda z}\right)^{2}\right]$$

$$\sin \alpha = \frac{x_{m}}{R(z_{m})}$$

为了拟合大多数实验条件,设入射光为单色,自然偏振的基模 TEM_{00} 高斯光束。那么菲涅尔反射系数 R 与透射系数 T 为

$$R = \frac{1}{2} \left[\frac{\sin(i-\tau)^2}{\sin(i+\tau)^2} + \frac{\tan(i-\tau)^2}{\tan(i+\tau)^2} \right]$$
$$T = 1 - R$$

将以上各式代入(4-24)求积分,便可以计算出激光微束强发散光场中的

轴向光阱力的大小。利用上述的单光束追踪法同样可以计算横向光阱力的大小,本文不再作重点分析。

4.1.3 激光微束强会聚光场中的光阱力计算

对于 Mie 散射区的大尺寸微粒,在激光微束焦点的强会聚光场所受的轴向光阱力的计算,依然可以按照上一节所提到的方法进行,但是其光场不能用高斯光场来描述。高数值孔径物镜使电磁场的计算复杂化,近轴和标量理论已经不再有效^[45]。正确计算大数值孔径物镜焦点附近的单光束轴向光阱力,要利用电磁场矢量散射理论来描述焦点附近的电磁场,考虑电磁场的偏振特性,由此可以算出反射和折射效应施加在微粒球上的轴向力的大小,不考虑粒子所产生的衍射。

在这种条件下,假设高菲涅尔数可以解基尔霍夫衍射积分,入射到透镜上的光线被取作沿 *x* 方向的线偏振光,电磁场可表示为

$$E(x) = \iint_{s} (ik(n \times B_{s})G + (n \times E_{s}) \times \nabla G + (n \cdot E_{s}) \times \nabla G) d\sigma$$
 (4-25)

式中, E_s 和 B_s 是高斯参照球上场的空间分量,n是参考球外法向,G是与 亥姆霍兹方程相联系的格林函数,在高菲涅尔情形下,它可近似为

$$G = \frac{\exp(iks)}{4\pi s} \approx \frac{\exp(ikr)}{4\pi r} \exp(-ikn \cdot x)$$
$$\nabla G = ikG_n$$

式中,s是 X 点与高斯参照球上一点 S 间的距离。对理想的消象差透镜 $n \cdot E_s = 0$ 。焦点附近的电场矢量 \vec{E} 和坡印廷矢量 \vec{S} 的分量为 [39]

$$\vec{E} = A(-i(I_0 + I_2 \cos 2\phi), -iI_2 \sin 2\phi, -2I_1 \cos \phi)$$
 (4-26)

$$\vec{S}_x = \frac{cA^2}{4\pi} \cos \phi [I_1 (I_2 - I_0)] \tag{4-27}$$

$$\vec{S}_{y} = \frac{cA^{2}}{4\pi} \sin \phi [I_{1}(I_{2} - I_{0})]$$
 (4-28)

$$\vec{S}_z = \frac{cA^2}{8\pi} \cdot (|I_0|^2 - |I_2|^2) \tag{4-29}$$

式中, ϕ 是方位角,A 是一个常数, $A=\pi /E_{inc}/\lambda$, E_{inc} 是当假定入射场在透镜整个表面均匀分布时入射偏振光场的振幅因子。利用 $E_{inc}=(4\pi I/c)^{1/2}$, $I=2p/\pi h^2$ ($h=f\sin\beta$ 是透镜半径, β 是透镜半孔径角,P 是入射激光功率),那么

$$A = \frac{\pi}{\lambda \cdot \sin \beta} \sqrt{8p/c} \tag{4-30}$$

$$I_0 = \int_0^\beta (\cos \alpha)^{\frac{1}{2}} \sin \alpha \times J_0(kr \sin \alpha) d\alpha$$
 (4-31)

$$I_{1} = \int_{0}^{\beta} (\cos \alpha)^{\frac{1}{2}} \sin \alpha \times J_{1}(kr \sin \alpha) d\alpha \qquad (4-32)$$

$$I_{2} = \int_{0}^{\beta} (\cos \alpha)^{\frac{1}{2}} \sin \alpha \times J_{2}(kr \sin \alpha) d\alpha$$
 (4-33)

式(4-31)、式(4-32)、式(4-33)中, J_0 、 J_1 、 J_2 分别为第一类零阶、一阶和二阶贝塞尔函数,k为波数,且

$$\frac{k}{n} = \frac{2\pi}{\lambda} \tag{4-34}$$

由反射和折射产生的作用于球状粒子表面元 ds 上的轴向力为

$$dF_z = \frac{\vec{S}_z \cos i}{c} \, \vec{f}_z^{\ \prime} \tag{4-35}$$

$$\vec{f}_{z}' = \cos(i - \theta) + R\cos(i + \theta) - \frac{T^{2} \left[\cos(i + \theta - 2\tau) + R\cos(i + \theta)\right]}{1 + R^{2} + 2R\cos 2\tau}$$
(4-36)

在球坐标系中积分得

$$F_z = \int_0^{2\pi} d\Phi \int_0^{\pi/2} dF_z \, r^2 \sin\theta d\theta \tag{4-37}$$

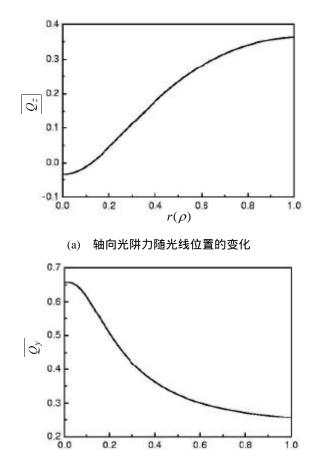
通过计算图 4-4 中 M 点的坡印廷矢量以及 α 的大小,即可求出球状粒子在激光微束强会聚光场中所受到的轴向光阱力。

4.2 激光微束光强分布对光阱力的影响

在光镊应用于生物研究的过程中,通常需要在垂直于激光束光轴的二

维空间移动生物微粒,从而对生物微粒来进行操作。这就使得在保证光镊系统轴向稳定性的前提下,应尽量提高横向光作用力,以保证光镊系统在横向具有足够的强度,实现对生物样品的快速操作,以及有效的抑制布朗运动等噪声的影响,保证测试精度的提高。

在物镜入瞳内光束光强关于物镜入瞳中心对称分布时,各条光线的轴向光阱力和横向光阱力随其距物瞳中心距离的变化而变化,其变化曲线如图 4-5 所示[71]。



(b) 横向光阱力随光线位置的变化

 $r(\rho)$

图 4-5 光阱力随光线位置的变化曲线图

Fig.4-5 The change of optical trapping force along with the situation of rays

从图中可以得知:靠近物镜入瞳中心的光线对横向光作用力的贡献较

大,而靠近物镜边缘的光对纵向的光作用力贡献较大。因此,要提高纵向 光作用力就需要将光能尽量分布于入瞳的边缘,而横向光作用力的提高要 求光能尽量集中于中心。因此,物镜入瞳内光强的分布应根据实际情况, 综合考虑。

目前,光镊系统的激光模多采用呈高斯分布的 TEM_{00} 模。实验结果表明,利用 TEM_{00} 模可实现对介质微粒的束缚。在保证 z 轴最大光阱力前提下,将尽可能多的光能集中于物镜入瞳中心来提高横向光作用力。高斯模的光强分布可表示为

$$I(r) = I_0 \exp(\frac{-2r^2}{\omega_0^2})$$
 (4-38)

在实际工程中,可利用二元光学对高斯模式进行改进,以满足对光能分布的要求。为了使光能尽可能地分布于入瞳边缘中心和边缘,可将高斯模改进为双高斯模,其光强分布可表示为

$$I(r) = \begin{cases} mI_0 \exp(-2r^2/\omega_0^2) & 0 \le r \le 0.5D\\ I_0 \exp\left[-2(1-r)^2/\omega_0^2\right] & 0.5 \le r \le 1.0D \end{cases}$$
(4-39)

式中,m为无量纲系数, ω_0 为束腰半径,D为物镜如瞳直径。

由式(4-39)可知,光束的光强分布仅与m和 ω_0 有关。其中, ω_0 决定光能分布的集中程度。设光束束腰中心同物镜入瞳中心重合,若 ω_0 远小于入瞳直径D,则m决定光能在入瞳中心及边缘的分配比例。理论计算表明,随着系数m值的增大, $Q_{y\max}$ 不断增加, $Q_{z\max}$ 则不断减小。此外,系数m不太大时,随着光束束腰半径 ω_0 的增大,所对应 $Q_{z\max}$ 减小, $Q_{y\max}$ 增大。随着m的增大,将有较多的能量分布于入瞳中心, ω_0 对光能集中程度的影响也逐渐明显。

总之,通过改善激光束的光强分布,使光能分布尽量集中分布于物镜入瞳中心和边缘可有效提高光阱横向稳定性。当 ω_0 =0.1D时,在保证轴向稳定性前提下 横向光作用力的最大值可达到0.40,与通常所用的 TEM_{00} 模相比,横向光阱力大约可以提高14%。这样,光镊系统的横向稳定性、系统噪声的抑制程度及系统对操作对象位置变化的响应速度将大大提高。

4.3 瑞利粒子所受光阱力的分析

4.3.1 电磁场模型

在 Rayleigh 散射区域,当介质微粒的尺寸远远小于光波的波长时,即 $2\pi r/\lambda\langle\langle 1$ 时,可以用电磁场模型(EM)来解释介质微粒的受力原理。激光的本质是电磁波,在激光范围内的微粒可看作是在一均匀时变电场内,且微粒本身被电场所极化,如图 4-6 所示。被极化的微粒受电场力的吸引有移向电场较强区域的倾向,对于激光微束而言,这种倾向就是朝向焦点的梯度力。

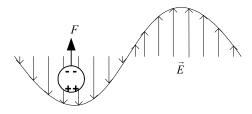


图 4-6 电磁场模型

Fig.4-6 Electromagnetic model

参照文献[39],Rayleigh 散射微粒所受梯度力为

$$F_g = \frac{n_1 \alpha}{2} \nabla (E^2) \tag{4-40}$$

式中, $\nabla \left(E^2\right)$ 为光强度坡度, n_1 为周围介质的折射率, α 为样品浸液中散射微粒的电偶极子极化率, α 同散射微粒半径 r 的关系为

$$\alpha = n_1^2 \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} r^3 \tag{4-41}$$

式中 , m 为相对折射率 , $m=n_2/n_1$, n_2 为散射微粒的折射率 散射力 F_s 可以表示为

$$F_s = n_1 \frac{\langle S \rangle C_s}{c} \tag{4-42}$$

式中, $\langle S \rangle$ 为时域平均波印廷矢量, C_s 为散射截面, $\langle S \rangle$ 和 C_s 的表达式分别用下面两式表示为

$$\langle S \rangle = \frac{16I_0\pi^4}{c} \tag{4-43}$$

$$C_s = \frac{8\pi}{3\lambda^4} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2}\right)^2 r^6 \tag{4-44}$$

为了达到稳定的光捕获,梯度力必须比散射力大,因此用数值孔径 NA大的透镜来聚光使 ∇E^2 大,并且选择使微粒极化率大的介质材料。设轴向的逆向梯度力与前向散射力之比为 δ ,单光束阱中 Rayleigh 区域轴向稳定性的判据为:在轴向强度梯度最大处 δ > 1。对束腰半径为 ω_0 的高斯光束,轴向位置 $z=\pi\omega_0^2/\sqrt{3}\,\lambda$ 处,轴向强度梯度最大。即上述判据满足

$$\delta = \frac{F_g}{F_s} = \frac{3\sqrt{3}}{64\pi^5} \frac{n_2^2}{\left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2}\right)} \frac{\lambda^5}{r^3 \omega_0^2}$$
(4-45)

这一条件仅使用于瑞利体系,即粒子直径 $2r \le 0.2\lambda \approx 80\,$ nm 时。在实验中我们要求 $\delta > 1$ 。例如聚苯乙烯小球在水中时 m = 1.65/1.33 = 1.24 ,且 $2\omega_0 = 1.5\lambda = 0.58\,$ µm ,若要求 $\delta \ge 3$,则有 $2r \le 95\,$ nm 。因此,对这样选择的焦斑大小,就能在整个瑞利区间满足稳定性的判据。当 $2r > 95\,$ nm 时,超过此公式适用的范围,这时 $\delta < 3$ 也并不表示这种较大一点的粒子一定缺乏稳定性。事实上在趋向于米氏散射的过渡区,预期几何光学下的前向散射力图象逐渐的有效。正如在实验中将看到的,从瑞利体系经过渡区,到完全米氏体系时系统都具有稳定性。

4.3.2 瑞利粒子所受光阱力的计算

使高斯光束垂直入射到一个平面镜表面,则光束被镜面反射,此结果所形成的光波就是高斯驻波。如图 4-7 所示,此时 z 轴的方向为反射光的光轴方向,与入射光轴传播方向相反。

在此特殊光场中, Rayleigh 粒子所受的轴向光阱力的计算可以做如下几点近似处理:

- (1)被作用的微粒足够的小。
- (2)此偶极子对光波没有任何干扰。

- (3)所采用的激光模是呈高斯分布的TEM m 模。
- (4)镜子的反射面不影响光场的分布,它的作用只是改变反射光波的振幅和相位。

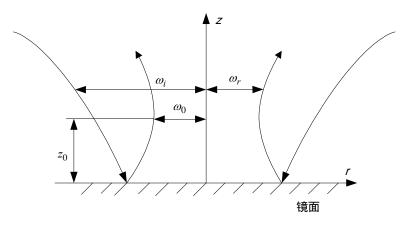


图 4-7 入射光束被镜面反射示意图

Fig.4-7 Incident beam reflected by the mirror

入射光和反射光的电场可以描述为

$$E_{i}(z,r) = E_{0} \frac{\omega_{0}}{\omega_{i}} \exp\left(-\frac{r^{2}}{\omega_{i}^{2}}\right) \exp\left[ik(z+z_{0}) - \frac{i}{2}\frac{kr^{2}}{R_{i}} - i\arctan\left(\frac{z+z_{0}}{z_{R}}\right)\right]$$
(4-46)

$$E_r(z,r) = E_0 \rho \frac{\omega_0}{\omega_r} \exp\left(-\frac{r^2}{\omega_r^2}\right) \exp\left[-ik(z-z_0) - \frac{i}{2}\frac{kr^2}{R_r} + i\arctan\left(\frac{z-z_0}{z_R}\right) - i\varphi\right]$$
(4-47)

式中, ω_0 为束腰半径, ω_i 为入射波宽, ω_r 为反射波宽, z_0 为束腰的高度, z_0 为 为法利长度($z_R = k\omega_0/2$)。

入射波宽与反射波宽有如下关系

$$\omega_i = \omega_0 \sqrt{1 + \frac{\left(z + z_0^2\right)}{z_R^2}}$$

光强分布可以用下式表示

$$I(z,r) = \frac{n_1 \varepsilon_0 c}{2} |E_i(z,r) + E_r(z,r)|^2$$

$$= I_0 \frac{\omega_0^2}{\omega_i^2} e^{-2r^2/\omega_i^2} + 2\rho I_0 \frac{\omega_0^2}{\omega_i \omega_r} e^{-r^2/\omega_i^2} e^{-r^2/\omega_r^2} \cos\phi + \rho^2 I_0 \frac{\omega_0^2}{\omega_r^2} e^{-2r^2/\omega_r^2}$$
(4-48)

$$\phi(z,r) = 2kz - \frac{kr^2}{2} \left(\frac{1}{R_i} - \frac{1}{R_r} \right) - \arctan\left(\frac{z + z_0}{z_R} \right) + \varphi$$
 (4-49)

式中, ρ 为菲涅尔反射系数, φ 为反射后的相位偏移, I_0 为束腰半径位置的轴上光强, R_i 为入射波前曲率半径, R_i 为反射波前曲率半径。

 R_i 与 R_i 之间的关系可表示如下

$$R_i = -(z + z_0) \left[1 + \frac{z_R^2}{(z + z_0)^2} \right]$$

梯度力可以表示成如下形式

$$F_{g}(z,r) = \frac{2\pi n_{1} a^{3}}{c} \left(\frac{m^{2} - 1}{m^{2} + 2}\right) \nabla I(z,r)$$
 (4-50)

将式(4-48)代入式(4-50),并经过轴向近似得

$$F_{g,z}(z,r) = -\frac{8n_1a^3}{c} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2}\right) \frac{P\omega_0^2}{z_R^2} \left\{ \frac{(z + z_0)e^{-2r^2/\omega_i^2}}{\omega_i^6} \left(\omega_i^2 - 2r^2\right) \right\}$$

$$+ \rho \frac{k^2 z_R e^{-r^2/\omega_r^2} e^{-r^2/\omega_r^2}}{\omega_r \omega_i} \sin \phi + \rho^2 \frac{(z - z_0) e^{-2r^2/\omega_r^2}}{\omega_r^6} (\omega_r^2 - 2r^2) \right\}$$
(4-51)

当束腰十分靠近镜面,即 $z_0\langle\langle z_R$ 时,可以得出如下关系式

$$\omega \approx \omega_i \approx \omega_r$$

$$R \approx R_i \approx -R_r \approx -z \left[1 + \left(\frac{z_R}{z} \right)^2 \right]$$

因此,式(4-51)可以化简为

$$F_{g,z}(z,r) = -\frac{16n_1 a^3}{c} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2}\right) \frac{P}{\omega^2} k \rho e^{-2r^2/\omega^2} \sin \phi$$
 (4-52)

其中,
$$\phi(z,r) = 2kz - \frac{kr^2}{R} - 2\arctan\left(\frac{z}{z_n}\right) + \varphi$$

若微粒接近于镜面,即 $z \le 0.1z_R$ 时, $\omega \approx \omega_0$,相位可简化为

$$\phi(z,r) = 2kz + \varphi$$

对轴向光阱力的数值仿真我们采用 Matlab 编程实现,数值计算的结果可以直观地表示出各个参数对轴向光阱力的影响。数值仿真的结果以及光 阱稳定性与各个参数的关系将在第 5 章中讨论。

4.4 光阱力计算的其它方法

在前几节中,我们定量计算和讨论了尺寸比光波长大得多的米氏粒子和尺寸比光波长小得多的 Rayleigh 粒子在单光阱中所受的光阱力。然而,在自然界中还存在着大量与光波长尺寸相近的生物微粒,已经证明这些与波长尺寸相近的微粒也能被稳定的捕获。此外,在上述讨论中我们都是把微粒看作是理想的均匀球体,并且各向同性。然而在自然界中,存在许多非球体粒子和各向异性的粒子。例如,许多生物结构通常都是非球体和各向异性的,对于这些粒子所受光阱力的精确计算十分困难。因此,发展一种对所有粒子成分(包括透明的、传导性的、吸收性的等等)、大小和形状以及对任意捕获场通用理论就显得非常重要[75]。

总动量的传递可以通过解决电磁散射问题来获得,而电磁散射问题的解决就需要解麦克斯韦方程。入射场与散射场可以用矢量球面波函数(VSWFs)表示,通过在散射体表面上的边界条件能够找到散射场的扩展系数,具体的方法包括点匹配法和 T 矩阵法。T 矩阵最先是用来计算基于惠更斯原理的由单一均匀非球面粒子发生的电磁散射的技术[76]

对由单一或复合的非球面粒子产生的电磁散射进行精确计算时,T矩阵法是一种非常有效且广泛使用的工具。在效率、精度和尺寸参数范围上,T矩阵法与其它常用的方法(如离散偶极子近似法)相比,具有很好的优越性,而且它是基于对大量随机取向上的粒子的计算,因此它是唯一用于系统测量非球面散射的方法。一旦粒子在某一取向上的T矩阵被确定,那么依据矩阵间的转换可求出任意取向上对应的T矩阵,然后就能计算出特定入射场下各个取向上的散射场。因此,对一个给定的散射体和波长,T矩阵法只需计算一次,而且能够用于重复计算[77]。由于T矩阵法的这个重要特征,在诸多光学力的计算方法中,T矩阵法被用来计算非球体微小粒子上的光捕获力。

对光阱中的粒子在不同位置和取向上进行重复计算才能描述光阱的特性。若采用一般方法,则需要计算入射的每个角度的散射平面波,找到所需位置的捕获光的平面波谱,再找出对每个波谱成分的散射,然后将其合成为总散射场,,最后在粒子表面积分。此计算过程相当的繁琐。

T 矩阵法要求入射光用矢量球面波函数表示。这可以直接完成,或者通过中间平面波扩展完成。一般的方法需要重复计算,一旦入射光发生改变,整个计算过程必须重新开始。在这种情况下,要用平面波谱表示捕获光,并且对平面波照射的不同角度的散射进行计算来减少总计算量。这表明,计算粒子在光阱中某一位置各个方向上的散射具有最佳的效果,并且通过计算的结果可以找到所有点和所有方向上的散射。T 矩阵法的计算过程可以描述如下:首先,找出光阱中特定位置方向上光的矢量球面波函数;然后,计算T矩阵;再根据矢量球面波函数找到散射场;最后,在粒子的表面上积分。

4.5 本章小结

本章首先对米氏粒子所受的光阱力计算建立了数学模型,基于该数学模型,对米氏粒子处在激光微束强发散区域和强聚焦区域受到的光阱力,分别进行了详细的推导,并分析了光强分布对光阱力的影响。然后基于电磁场模型,对瑞利粒子所受的光阱力力进行了计算,并且简要介绍了其它一些光阱力计算的方法。

第5章 激光微束光阱力的数值仿真与结果分析

数值仿真与分析对于光镊实验中操纵对象的大小、仪器参数等因素的选择与改善有着重要的指导意义。通过对实验结果与理论估算的比较还可用于实验结果可靠性的分析与评价。在第4章中,我们对激光微束作用于尺寸较大的 Mie 散射区的微粒所受的光阱力以及作用于尺寸较小的Rayleigh 散射区的微粒所受的光阱力分别进行了定量计算。在本章中,我们对一定参数下的光阱的大小进行了数值仿真与结果分析。

5.1 强发散光场中光阱力的数值仿真与结果分析

在此,利用 Matlab 对激光微束强发散光场中微粒所受轴向光阱力进行了数值仿真,并根据仿真的结果,分析了系统参数对轴向光阱力的影响。

设轴向力 F_z 是光束焦点与微粒中心距离 z 与微粒半径 r 的比值 z/r 的函数。当微粒半径 $r=10~\mu\mathrm{m}$,波长 $\lambda=530~\mathrm{nm}$,束腰半径 $\omega_0=0.22~\mu\mathrm{m}$,激光功率 $P=10.2~\mathrm{mW}$,相对折射率 $n=n_2/n_1$ 分别为 1.33、 1.52 和 1.004 时, F_z 随 z/r 的变化曲线如图 5-1 所示。

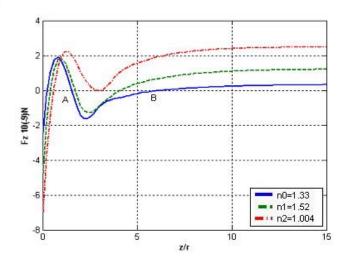


图 5-1 F_z 与n的关系曲线

Fig.5-1 The relation beween F_z and n

从图 5-1 中可以得出:势阱大小随相对折射率的不同有着明显的变化。 当相对折射率大于 1.33 时,势阱变浅。但当相对折射率趋近于 1 时,势阱 也趋于消失。势阱随相对折射率而变化并不是简单的随相对折射率增大(减 小)而变深(变浅)的关系,其变化关系较为复杂。存在一个最佳势阱的相对 折射率范围。大于或小于这个范围的相对折射率都引起势阱变浅。因此在 针对不同捕获对象的具体实验中,应该选择合适的相对折射率。

当 n=1.33 , 其它参数与图 5-1 中相同 , 束腰半径 ω_0 分别在 $0.22~\mu m$ 、 $0.33~\mu m$ 和 $0.52~\mu m$ 时 , F_z 随 z/r 的变化曲线如图 5-2 所示。

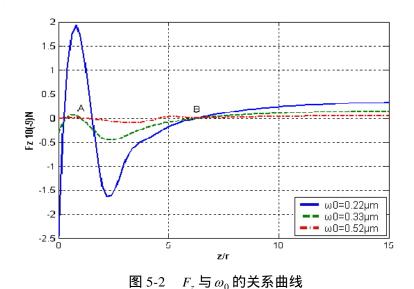


Fig.5-2 The relation between F_z and ω_0

从图 5-2 中可以得出:在 A、B 之间的区域内,粒子受到负 z 方向的力,A 点处的曲线斜率是负的,是粒子的稳定平衡点,稳定平衡点均在距离焦点约r 处;B 点处的曲线斜率是正的,是粒子的不稳定平衡点。A、B 之间的区域即为粒子的稳定捕获域。光阱刚度是描述光阱稳定性的一项重要指标。光阱刚度定义为 dQ/ds,即光阱中心偏离作用对象单位距离所对应光作用力的变化量。由此可知光作用力曲线斜率的大小是光镊系统刚度大小的标志。平衡点附近曲线斜率越大,表明捕获对象越容易被束缚在平衡点。

另外,随着束腰半径 ω_0 的增大,势阱变浅,光阱刚度也减小。对于 $r=10~\mu m$ 的粒子,在 $\omega_0=0.52~\mu m$ 时,势阱已经很浅,达不到最小捕获力,当束腰半径 $\omega_0>0.52~\mu m$ 时,势阱消失。因为把一个比束腰半径尺寸小的粒子置于此光束中心时,它遇到的大体是一束平行光线,轴外光线很少,小球受到的是推力,即小球会沿光线传播方向被辐射压力推出焦点以外。在相同的光场下,一个直径大于焦斑的粒子则会受到轴外的光线产生的梯度力的作用而被捕获。这说明仿真结果同理论符合。因此,在实验中,我们尽可能要选择比粒子半径光斑尺寸小的激光微束,才能有更好的捕获效率。但是由于衍射的存在,这同时又对试验装置提出了更高的要求。

当 n = 1.33 , 其它参数与图 5-1 中相同 , 激光功率 P 分别为 1.1 mW、 10.2 mW 和 15.1 mW 时 , F_z 随 z/r 的变化曲线如图 5-3 所示。

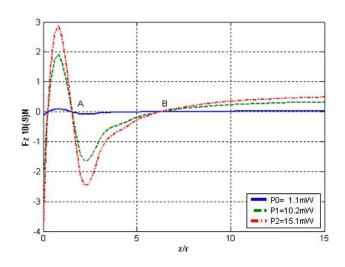


图 5-3 F_z 与功率 P 的关系曲线

Fig.5-3 The relation between F_z and P

从图 5-3 中可以得出:激光功率越大,势阱越深, P 为 1.1 mW 时,势阱消失。但因激光功率过大也可能会对生物粒子造成损伤,因而在实验中不能选择太大功率的激光微束。

当 n = 1.33 , 其它参数与图 5-1 中相同 , 激光波长 λ 分别为 1066 nm、530 nm和 633 nm时 , F_z 随 z/r 的变化曲线如图 5-4 所示。

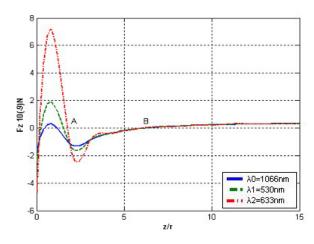


图 5-4 F_z 与波长 λ 的关系曲线

Fig.5-4 The relation between F_z and λ

从图 5-4 中可以得出:与波长 λ 为 633 nm 相比,当 λ 为 530 nm 和 1066 nm 时,势阱均变浅。因为在短波长段,吸收对势阱影响很大。在正常的色散领域中,长波长段的折射率降低,俘获梯度力减小,势阱也变浅。所以我们在实验上应选择恰当的光波长减少吸收的影响,获得较深的势阱。

在同样的参数下,微粒的半径分别取 $10~\mu\mathrm{m}$ 、 $20~\mu\mathrm{m}$ 和 $40~\mu\mathrm{m}$ 时, F_z 随 z/r 的变化曲线如图 5- $5~\mathrm{fh}$ 示。

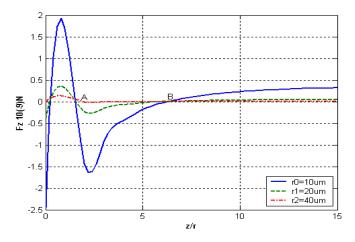


图 5-5 F_z 与微粒半径 r 的关系曲线

Fig.5-5 The relation between F_z and r

从图 5-5 中可以得出:在上述参数的条件下,捕获尺寸为r=10 μ m的小球,效果很好,但对于r=20 μ m的小球,不能稳定捕获,可能逸出势阱,对于r=40 μ m的小球,势阱消失,不能被捕获住了,因为没有达到俘获它们所需的最小的捕获力。

束腰半径 ω_0 和相对折射率n与轴向光阱力 F_z 的关系如图 5-6 所示。

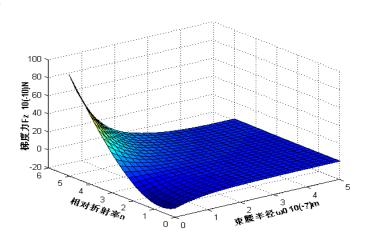


图 5-6 F_z 与 ω_0 和 n 的曲线关系

Fig. 5-6 The relations of F_z and ω_0 together with n

从图 5-6 中可以看出:在 x-z 和 y-z 面上的投影均符合上述分析结果。 对曲面进行二维插值运算,可求得任意参数值对应的轴向力的大小,利用 此方法可讨论任意两参数对轴向力的影响,对实验参数的选取提供了重要 依据。

5.2 强会聚光场中光阱力的数值仿真与结果分析

对于激光微束焦点附近强聚焦区域轴向光阱力的数值仿真,我们仍采用 Matlab 来实现。在物镜数值孔径角度 $\beta=70^\circ$,束腰半径 $\omega_0=0.22~\mu m$,相对折射率 n=1.33,激光功率 P=10.2~mW 时,对于半径 $r=10~\mu m$ 的微粒,在两种不同波长情况下,轴向光阱力与粒子偏离透镜焦点的距离的关系曲线如图 5-7 所示。实线表示的是波长为 1064~nm 时的情况,虚线表示的是波长为 532~nm 时的情况。规定力为正(负)时是沿 z 轴正(负)方向,这

时球被推离(拉向)物镜。

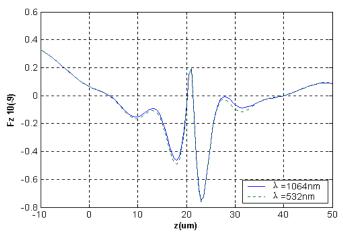


图 5-7 强聚焦区域 F_a 与 λ 的关系曲线

Fig.5-7 The relation between F_{z} and λ in focused field

从图 5-7 中可以看出:当微粒位于光场中的发散区域,即10 < z < 20时,它受到负z方向的力,这是我们前面讨论过的,当微粒的一部分处于光场中的强聚焦区域时,即0 < z < 10时,它也受到指向负z方向的光阱力,也能够被稳定地捕获。从图中可以看出,波长为 $532\,$ nm时,同波长为 $1064\,$ nm时相比,轴向力的绝对值没有多大变化。相对于小球的绝对尺寸,短波长的焦点尺寸较小,因此在短波长下焦点附近力也变得小些,不过一般来讲,短波长时折射率较高,力的绝对值还是略大些。

由上述仿真的结果与分析表明,在单束激光势阱中的强发散区域和强会聚区域中,对于尺寸较大的米氏粒子,它在轴向上都能够被稳定地捕获,可以给出其捕获域,即所受到的轴向光阱力为负值的区域。其轴向捕获效率与激光微束的束腰半径 ω_0 和相对折射率n有很大的关系,激光波长 λ 和功率P对其也有一定的影响。这些参数都是由显微镜和其它的一些光学部件所决定的,实验中选择越小的束腰半径,光学势阱就越深。但是,由于衍射的影响,越小的束腰半径同时又对实验装置提出了更高的要求。光阱质量同相对折射率变化的关系较为复杂,最佳的相对折射率范围要视具体实验而定。

5.3 瑞利散射区光阱力的数值仿真与结果分析

利用 Matlab 对 Rayleigh 散射区的微粒所受的轴向光阱力进行数值仿真。设相对折射率 $m=n_2/n_1=1.59/1.33$,微粒处在全反射表面,束腰高度 $z_0=0$,反射后的相位偏移 $\varphi=3\pi/2$,菲涅尔反射系数 $\rho=1$,微粒半径 a=5 nm,激光功率 P=100 mW , $\lambda=515$ nm, $F_{g,z}$ 随 z/λ 的变化曲线如图 5-8 所示。

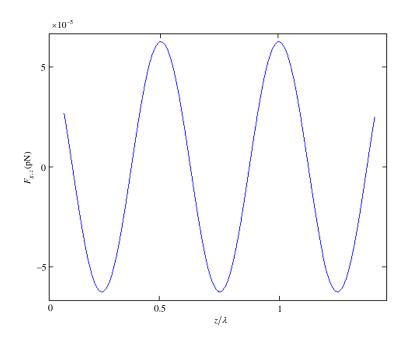


图 5-8 Rayleigh 散射区 $F_{g,z} = \frac{z}{\lambda}$ 的关系曲线

Fig.5-8 The relation between $F_{g,z}$ and z/λ in Rayleigh scattering field

从图 5-8 中可以看出:在 Rayleigh 散射区域,介质微粒的尺寸远远小于光波的波长时,即 $2\pi r/\lambda$ \langle \langle \langle \rangle 1 时,轴向光阱力 $F_{g,z}$ 随 z/λ 呈现周期性变化,从这个意义上说,电场强度是随周期性变化的,变化周期为 $\lambda/2$ 。

5.4 本章小结

在本章中,对尺寸较大的 Mie 散射区的微粒所受的光阱力以及尺寸较小的 Rayleigh 散射区的微粒所受的光阱力分别进行了数值仿真分析,根据

数值仿真的结果,分析了相关的主要参数对光阱力的影响。仿真的结果为光镊实验当中系统参数的选择提供了理论依据,对仪器的改良有着的指导意义。

结论

本文设计了一套单光源双光阱光镊仪器,并讨论了该仪器在对光阱位置的调节过程中,系统的稳定性和操纵的有效性等技术问题。基于几何光学模型和电磁场模型,分别对几何尺寸远大于光波长的米氏球形微粒所受的光阱力以及几何尺寸远小于光波长的瑞利粒子所受的光阱力进行了定量计算。利用 Matlab 对设定系统参数下的光阱力进行了数值仿真,并分析了光镊仪器的主要参数对光阱力的影响。在理论研究的基础上,本文完成的主要研究工作如下:

- (1)在单光阱光镊仪器的基础上设计了一套单光源双光阱光镊仪器。双光阱光镊微操纵系统在横向和轴向分别进行调节过程中,对系统的稳定性和操纵的有效性同时满足所具备的条件等技术问题做了深入的分析。在理论上可以证明该双光镊微操纵系统在保持光阱效应稳定的前提之下,可以对光阱的横向位置和纵向位置分别进行精确自如的调节。
- (2)基于几何光学模型,在激光微束强发散光场和强会聚光场中对米氏球形微粒所受到的光阱力进行了定量计算;利用电磁场模型,对瑞利粒子在高斯驻波光场中所受到的光阱力进行了定量计算。
- (3)在设定参数的条件下 利用 Matlab 软件对光阱力进行了一系列的数值仿真。并根据仿真结果,对与之相关的系统主要参数和光阱力之间的关系进行了理论分析。仿真的结果为光镊实验当中系统参数的选择提供了理论依据,对仪器的改良有着重要的指导意义。

本文的新颖之处有以下几方面:

- (1)提出仅使用一个激光源形成两个光学势阱的设计方案,在此利用宽带分光棱镜将入射激光束分成两束,并且利用偏振器使激光源的功率可以有效控制。
- (2)利用万向轴固定转镜实现每个光阱横向位置的独立操纵,讨论了光 阱位置在三维方向上进行独立调节所具备的条件,从理论上证明了在此条 件下,保证光阱效应稳定的同时,可以对三维光阱进行独立有效的操纵。

单光源双光阱光镊仪器的设计对常规光镊仪器的进一步改进提供了参考。

(3)利用几何光学和电磁场理论的相关知识,分别对米氏粒子和瑞利粒子在设定条件下所受到的光阱力进行了定量计算,通过数值仿真讨论了系统参数与光阱力之间的关系。

进一步展望:

目前的每一种理论计算模型都有其使用范围,应进一步研究不同形状、尺寸、结构和成分的微粒子所受到的光阱力的定量计算方法;进一步降低仪器的成本以及提高微操纵的精确性;进一步将光镊技术与其它技术相结合,引申出更多的研究方法和研究领域。

参考文献

- 1 A.Ashkin, J.M.Dziedzic, J.E.Bjorkholm. Observation of a Single-Beam Gradient Force Optical Trap for Dielectrical Particles. Optics Letters, 1986, 11:288-290
- 2 郭红莲,姚新程,李兆霖等.光镊系统中微小颗粒的位移和所受力的测量.中国科学 (A),2002,32(2):97-102
- 3 K.Svoboda, S.K.Block. Biological Application of Optical Forces. Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct,1994,23:247-285
- 4 A.Ashkin. Acceleration and Trapping of Particles by Radiation Pressure. Phys. Rev. Lett,1970,24:156-159
- 5 A.Ashkin. Trapping of Atoms by Resonance Radiation Pressure. Phys. Rev. Lett,1978,40:729-732
- 6 G.Weber. Uptake of DNA in Chloroplasts of Brassica napus facilitated by a UV Laser Microbeam. Eur. J. Cell. Boil,1989,49:4658-4662
- 7 S.Seeger, S.Monajembashi, K.J.Hutter, et al. Application of Laser Optical Tweezers in Immunology and Molecular Genetics. Cytometry, 1991, 12:479-504
- 8 A.Ashkin. Optical Trapping and Manipulation of Single Cells using Infrared Laser Beams, Nature, 1987, 33:256-267
- A.Ashkin. Optical Trapping and Manipulation of Neutral Particals Using Lasers. Proc.
 Natl. Acad. Sci. USA,1986,94:1687-1695
- 10 K.O.Greulich, J.Wolfrum. Laser Micro-Beam and Optical Tweezers. LaborPraxis Labor 2000,1990,32:675-663
- 11 H.Tashiro, J.Scheet, A.Harim. Three-dimensional Cell Manipulator by means of Optical Trapping for the Specification of Cell-to-Cell Adhesion. Optical Engineering, 1993, 32:1247-1256
- 12 Y.Tadir, H.C.Berg. Micromanipulaiton of Sperm by a Laser Generated Optical Trap. Fertility and Sterility,1989,52:2356-2364
- 13 N.Ponelies, D.Wilson, R.Simmons, et al. Laser Micromanipulations for Biotechnology and Genome Research. Journal of Biotechnology, 1994, 35:321-325

- 14 G.Leitz, H.Tashiro. The Laser Microbeam Trap as an Optical Tool for Living Cells. Physiological Chemistry and Physics and Medical NMR26,1994,23:2213-2216
- 15 A.Ashkin, J.M.Dziedzic, Ber.Bunsenges. Force Generation of Organelle Transport Measured in Vivo by an Infrared Laser Trap. Phys. Chem, 1989, 93:254-260
- 16 S.Sato, M.Ohyumi, H.Shibata, et al. Optical Trapping of Small Particles Using a 1.3-mm Compact InGaAsp Diode Laser. Opt. Lett,1991,16:282-284
- 17 R.S.Afzal, E.B.Treacy. Optical Tweezers Using a Diode Laser. Rev. Sci. Instrum, 1992,63:2157-2163
- 18 T.C.Bakker Schut, E.F.Schipper. Optical-trapping Micromanipulation Using 780-nm Diode Laser. Opt. Lett,1993,18:447-449
- 19 S.Seeger, N.Leclerc, Stelzer. Photonische Pinzette and Laser-nanoskalpel. BIOforum, 1994,17:417-421
- 20 M.W.Berns, J.Renken. Optical Trapping in Animal and Fungal Cells Using a Tunable Near-Infrared Titanium-Sapphire Laser. Experimtenal Cell Reasearch,1992,4:196-198
- 21 K.Visser, M.Uchida, S.M.Block. Micromanipulation by Multiple Optical Trap Created by a Single Fast Scanning Trap Integrated with the Bilateral Confocal Scanning Microscope. Cytometry,1993,14:1981-1995
- 22 M.I.Angelova, G.Grehan, G.Gousbet. Trapping and Levatation of Dielectric Sphere with off-centered Gussian Beams:I.Experimental. Pure Appl. Opt,1993,2:432-438
- 23 K.Svoboda, C.F.Schmidt, B.J.Schnapp, et al. Direct Observation of Kinesin Stepping by Optical Trapping Interferometry. Nature, 1993, 365:721-727
- 24 R.Simmons, J.T.Finer, S.Chu, J.A.Spudich.M. Quantitative Measurements of Force and Displacement Using an Optical Trap. Biophys.J,1996,70: 1813-1822
- 25 E.Fallman, O.Axner. Design of Fulla Steerable Dual-trap Optical Tweezers. Appl. Opt,1997,36:2107-2133
- 26 J.E.Molloy, R.X.Bian, X.S.Xie. Optical Chopsticks: Digital Synthesis of Multiple Optical Traps. Methods in Cell Biology, 1998, 55:205-215
- 27 M.Sasaki, T.Kurosawa, K.Hane. Micro-objective Manipulated with Optical Tweezers. Appl. Phys. Lett,1997,70:785-787

- 28 Nakatani, K.Chikama. Laser Traping-spectroscopy-electrochemistry of Individual Microdroplets in Solution. Advances in Photochemistry, 1999, 25:173-223
- 29 Zong-Ping. An Optical Spin Micromotor. Appl. Phys. Lett, 2000, 76:1779-1781
- 30 S.D.Collins, R.J.Baskin, D.G.Howitt. Microinstrument Gradient-force Optical Trap. Appl. Opt,1999,38:6068-6074
- 31 A.Constable, J.Kim, J,Mervis, et al. Demonstration of a Fiber-optical Light-force Trap. Opt. Lett,1993,18:1867-1869
- 32 E.Lyons, G.J.Sonek. Confinement and Bistability in a Tapered Hemispherically Lensed Optical Fiber Trap. Appl. Phys. Lett,1995,66:1584-1586
- 33 K.Taguchi, H.Ueno, T.Hiramatsu, et al. Optical Trapping of Dielectric Particle and Biological Cell Using Optical Fibre. Electr. Lett,1997,33:413-414
- 34 K.Taguchi, K.Atsuta, T.Nakata, et al. Levitation of Microscopic Object Using Plural Optica Fibers. Opt. Comm,2000,176:43-47
- 35 A.Ashkin. Forces of a Single-beam Gradiant Laser Trap on a Dielectric Sp -here in the Ray Optics Regime. Biology. J,1992,61:569-582
- 36 J.P.Braton, D.R.Alexander, S.A.Schaub. Theoretical Determination of Net Radiation Force and Torque for a Shperical Particle Illuminated by a Focused Laser Beam. Appl. Phys,1989,66:4594-4602
- 37 J.P.Braton, G.H.Esselink, J.Greve, et al. Experimental and Theoretical investigations on the Validity of the Geometrical Optics Model for Calculating the Stability of Optical Traps. Cytometry,1991,12:479-485
- 38 韩正甫,郭光灿.粒子在单束激光势阱中的束缚力.中国激光,1992,7:517-522
- 39 K. Visscher, G.J.Brakenhoff. Theoretical Study of Optically Induced Forces on Particles in a Single Beam Trap:Rayleigh Scatterers. Optic, 1992, 89:174-180
- 40 K.F.Ren, G.Grehan, G.Gousbet. Prediction of Reverse Radiation Pressure by Generalized Lorenz-Mie Theory. Appl. Opt,1996,35:2702-2710
- 41 W.H.Wright, G.J.Sonek, M.W.Berns. Radiation Trapping Forces on Microspheres with Optical Tweezers. Appl. Phys. Lett,1993,63:715-717
- 42 W.H.Wright, G.J.Sonek, M.W.Berns. Parametric Study of the Forces on Microspheres

- Held by Optical Tweezers. Appl. Opt,1994,33:1735-1748
- 43 N.B.Simpson. Optical Tweezers with Increased Axial Trapping Efficiency. Journal of Modern Optics, 1998, 45(9): 1943-1949
- 44 M.Gu, P.C.Ke, X.S.Gan. Trapping Force by a High Numerical-aperture Microscope Objetive Obeying the Sine Condition. Rev. Sci. Instrum, 1997, 68:3666-3668
- 45 K.Shima, R.Omori, A.Suzuki. Forces of a Single-beam Gradient-force Optical Trap on Dielectri Spheroidal Particles in the Geometric-Optics Regime. Appl. Phys, 1998,37:6012-6015
- 46 R.C.Gauthier, M.Ashman. Simulated Dynamic Behaviour of Single and Multiple Sphere in the Trap Region of Focused Laser Beams. Appl. Opt,1998,37:6421-6431
- 47 T.Sugimoto, G.A.Swartzlander. Direct Measurement of Interparticle Forces by the Optical Trapping Technique. Langmuir 1997,13:5528-5530
- 48 R.C.Gauthier, Theoretical Investigation of the Optical Trapping Force and Torque on Cylindriacal Microobjects. Opt. Soc Am,1997,14:3323-3333
- 49 S.Sato, Y.Harada, Y.Waseda. Optical Trapping of Microscopic Metal Particles. Opt. Lett, 1994,19:1807-1809
- 50 K.Svoboda, S.M.Block. Optical Trapping of Metallic Rayleigh Particles. Opt. Lett, 1994,19:930-932
- 51 A.Ashkin, J.M.Dziedzic. Optical Trapping and Manipulation of Viruses and Bacteria. Science,1987,235:1517-1520
- 52 A.Ashkin, J.M.Dziedzic, K.Schutze. Force Generation of Organelle Transport Measured in Vivo by An Infrared Laser Trap. Nature, 1990, 348:346-348
- 53 C.H.Lin, P.Forscher. Growth Cone Advance Is Inversely Proportional to Retrograde F-actin Flow. Neuron,1995,14:763-771
- 54 R.W.Steubing, S.Cheng, W.H.Wright. Laser Induced Cell Fusion in Combination with Optical Tweezers: The Laser Cell Fusion Trap. Cytometry, 1991, 12:505-510
- 55 H.Liang, W.H.Wright, S.Cheng. Micromanipulation of Chromosomes in PK2 Cells Using Laser Microsurgery(Optical Scalpel)in Combination with Laser-induced Optical Force(Optical Tweezers). Exper. Cell. Res,1993,204:110-120

- 56 M.W.Berns, Y.Tadir, H.Liang. Laser Scissors and Tweezers.Methods in Cell Biology, 1998,55:71-94
- 57 T.T.Perkins, Optical Tweezers Glasperlenspeil . Current Biology,1993,3:235-240
- 58 H.Felgner, F.Grolig, O.Muller, et al. In Vivo Manipulation of Interal Cell Organelles. Methods in Cell Biology,1998,55:167-170
- 59 N.Kitamura, N.Sekiguchi, K.J.Haeng. Optical Transformation and Fission of Single Giant Vesicles in Water by Radiation Pressure. Chem. Soc,1998,120:1942-1943
- 60 J.C.Meiners, S.R.Quake. Direct Measurements of Hydrodynamic Cross Correlations between Two Particles in an External Potential. Phys. Rev. Lett,1999,82:2211-2214
- 61 付道林,王兰岚.微束激光转基因技术研究进展.激光物理学报,1999,8(1):70-74
- 62 李银妹,楼立人,操传顺等.光阱阱位的观察与调节.中国激光,1998,25(12):1083-1086
- 63 周辉,李银妹,李先锋等.单光镊技术测量红细胞模弹性新方法的建立.生物化学与生物物理进展,2001,28(6):904-907
- 64 王瑞丽,尚鹤龄,欧家鸣等.激光对生物体的力学作用.云南师范大学学报,1999,19(4):31-33
- 65 王瑞丽,尚鹤龄,张家春等.激光光镊对生物体的光操纵研究.中国激光,2000,27(10):921-926
- 66 尚鹤龄,王瑞丽,杨卫平等.利用激光微束动力学效应操纵生物体的实验研究.物理实验,2001,21(10):15-20
- 67 蔡惟泉.介质微粒的光捕陷、光悬浮和光操纵.物理学进展,1997,17(1):64-82
- 68 孟祥旺,李岩,欧家鸣等.激光微束光场辐射压力对微粒子的作用.激光杂志,2001,22(2):15-18
- 69 孟祥旺,李岩,张书练等.单光刀与单光镊激光微束系统.清华大学学报,2002,42(8):1065-1067
- 70 姚新程,李兆霖,张道中等.双层介质球体所受光作用力的分析与计算.光学学报,2000,20(10):1305-1310
- 71 姚新程,李兆霖,郭红莲等.光阱位置操纵系统的研究.光学 精密工程,2001,9(1):55-58
- 72 姚新程,李兆霖,郭红莲等.一种实现 CCD 亚像元位移分辨率的新方法.仪器仪表学

- 报,2002,23(1):60-63
- 73 姚新程,李兆霖,张道中等.发明专利,专利号:01104110.2
- 74 A.Ashkin, J.M.Dziedzic. Optical Levitation by Radiation Pressure. Appl. Phys. Lett, 1971,19:283-285
- 75 T.Wohland, A.Rosin, E.H.K.Stelzer. Theoretical Determination of the Influence of Polarization on Forces Exerted by Optical Tweezers. Optik,1996,102:181-190.
- 76 A.Ashkin. Trapping of Atoms by Resonance Radiation Pressure. Phys. Rev. Lett,1978,40:729-732
- 77 I.Michael, N.R.Heckenberg. T-Matrix Computations of Light Scattering by Nonspherical Particles. J.Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer,1996,55:535-575

攻读硕士学位期间承担的科研任务与主要成果

- 1 从事河北省自然科学基金"单光源双光阱三维独立可调红外光镊技术及应用基础研究"的光阱力定量计算的理论研究
- 2 龙海峰,史锦珊.光镊光阱力计算方法的研究.光电子技术与信息(已录用)

致 谢

本课题是在导师史锦珊教授的严格要求和悉心指导下完成的,从课题的选题到论文的撰写,每一步都倾注着导师的心血。史老师以其渊博的知识、广阔的科研视野和多年丰富的科研经验教会我如何从事科研工作,尤其是史老师为人处事的认真态度更是使我受益匪浅。所有这些都将在我今后的学习和工作中产生深远的影响,是我一生受用不尽的宝贵财富。衷心感谢导师史锦珊教授三年来对我学习生活的启迪、指导和关怀!

同时,感谢国家自然科学基金和河北省自然科学基金的资助,感谢本教研室所有老师在本课题研究的过程中给予指导,感谢同课题组以及班级的同学给予大力的支持和无私的帮助!

此外,本课题的完成离不开国内外的技术资料,在此对参考文献的作者、译者和出版单位表示感谢!

谨在此论文完成之际,向所有给予我帮助的人们表示最诚挚的谢意!

作者简介



龙海峰,男,汉族,1979年10月生于黑龙江省,2002年7月毕业于燕山大学电气工程学院测控技术与仪器专业,获学士学位,2002年9月开始在燕山大学电气工程学院测试计量技术及仪器专业攻读工学硕士学位。主要研究方向为激光光镊技术。