

УДК 528.87 + 535.8 + 621.378

Х. Д. Янг, Л. А. Хоп, Дж. С. Дафлайн

(Бетлехем, Пенсильвания, США)

**ОСЦИЛЛИРУЮЩИЕ ОПТИЧЕСКИЕ ТВИЗЕРЫ
ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ДИНАМИЧЕСКИХ СИЛ
В КОЛЛОИДНЫХ СУСПЕНЗИЯХ***

С первого появления в 1970-х годах оптические твизеры (лазерные пинцеты) нашли широкое применение в биологических исследованиях. Помимо краткого обзора принципов действия оптических твизеров, эта работа представляет два новых примера использования осциллирующих лазерных пинцетов для исследования динамических сил в коллоидных средах. Рассеяние вперед и технология синхронного приема с соответствующим оборудованием использовались в экспериментах. Первый пример иллюстрирует применение зондирования микроскопических вязких свойств неустойчивых полимерных цепей вблизи поверхности коллоидных частиц. Во втором примере гидродинамическое парное взаимодействие частиц в суспензии измеряется с использованием двойных оптических твизеров.

Введение. Оптические твизеры, также известные как лазерные пинцеты или ловушки, были предложены А. Ашкиным с соавторами в начале 1970 г. [1]. Метод нашел широкие приложения в биологии [2] и в исследованиях коллоидных полимеров [3–6]. Как неинвазивный инструмент лазерный пинцет идеален для исследования отдельных коллоидов или биологических ячеек в микроскопических масштабах. Технология становится более эффективной при использовании одиночного лазерного луча в качестве оптического пинцета для захвата отдельной частицы в суспензии [7]. Обзор состояния и применений оптических твизеров приведен в работе [8]. Все больше работ, посвященных этой теме, ежемесячно появляется в различных журналах. Техника оптического пинцета заключается в использовании сильно сфокусированного лазерного луча для захвата и манипуляций пространственным положением диэлектрических объектов микронных размеров. Сообщалось о захвате коллоидных объектов в интервале $0,2 \div 5$ мкм в широком диапазоне материалов (латексы, различные оксиды, металлические частицы и эмульсии из масляных капель в воде). Манипулирование захваченными частицами достигается за счет управления лучом с помощью зеркал или акустооптических модуляторов. В обоих случаях твизеры перемещаются перпендикулярно направлению распространения лазерного луча. Контроль позиционирования

* Работа частично поддержана Национальным научным фондом США (грант № CTS-9805887).

твизера в направлении распространения лазерного луча осуществляется линзовым телескопом.

Принцип действия оптического пинцета. При фокусировании лазерного луча сильное электрическое поле локализуется в фокальной области, где формируются градиенты электрического поля в осевом и радиальном направлениях. Резкий градиент поля вызывает силу, действующую на коллоидную частицу, достаточную, чтобы противодействовать броуновскому движению, и образующую устойчивую трехмерную оптическую ловушку. Баланс градиента сил и давления в осевом направлении создает потенциальную яму для захвата частицы, которая может быть слегка смещена относительно фокуса. Высокая аксиальная устойчивость достигается, прежде всего, за счет большой числовой апертуры линзы.

Предложено несколько теоретических подходов для объяснения физики лазерного захвата диэлектрических частиц. В одной из наиболее простых моделей оптическая ловушка и коллоидная частица рассматриваются как аналог плоскопараллельного конденсатора и диэлектрической пластины. В этом случае электростатическая потенциальная энергия уменьшается из-за введения диэлектрической пластины в электрическое поле [9]. В хорошем приближении действие оптических твизеров можно объяснить следующим образом: частицы с показателем преломления, большим, чем в окружающей среде, помещены в интенсивное электрическое поле, образованное в сильно сфокусированном лазерном пучке. Важно подчеркнуть, что электростатическая модель является адекватной только случаю, когда размер захваченной частицы сравним или меньше сечения лазерного пучка в фокальной области. Для частиц, сравнимых с размером оптической ловушки, более точное описание должно учитывать рассеяние. Если же размер частицы много больше ловушки, для расчета силы удержания используется модель геометрической оптики [10]. В этом случае импульс, переданный частице при отражении и преломлении на ее поверхностях, находится с целью определения результирующей силы удержания частицы в ловушке.

Из рассмотрения электростатического потенциала для поляризованной частицы в электромагнитном поле сила удержания в сфокусированном гауссовом пучке может быть приближенно описана [11] как

$$\mathbf{F} = -\alpha n_1 \left(\frac{n_2^2 - n_1^2}{n_2^2 + 2n_1^2} \right) I_0 e^{-r^2/R^2} \hat{r} \equiv -k_{0t} r e^{-r^2/R^2} \hat{r}, \quad (1)$$

где α – геометрический фактор порядка единицы; r – расстояние между центром частицы и осью гауссова пучка; n_1 и n_2 – показатели преломления частицы и растворителя соответственно; I_0 – интенсивность лазерного излучения; R – радиус лазерного луча на уровне e^{-2} интенсивности на оси. Для малых смещений сила определяется законом Гука при константе упругости k_{0t} .

Для полистирольной сферы ($n_1 = 1,57$, радиус $a = 0,5$ мкм) в воде ($n_2 = 1,33$) и расчетной мощности в ловушке ($R = 0,5$ мкм) около 1 мВт коэффициент жесткости равен приблизительно 8 мдин/см. При смещении $r \sim 0,25R$ возвращающая сила составляет приблизительно 10^{-9} Н.

Осциллирующие твизеры и детектирование движения частицы. Одна из важных задач в приложениях оптических твизеров – техника детектирования положения захваченной частицы. Возможным решением является цифровой анализ видеоизображения. Динамика движения многих частиц

легко получается из анализа трековых изображений [3]. Другие методы включают использование датчиков положения для детектирования движения частицы по непосредственному изображению [6], сформированному в свете, рассеянном в прямом [12] или обратном направлении, либо во флуоресцентном излучении [13].

В данной работе приведены два примера использования осциллирующих твизеров при исследовании динамических воздействий на частицу в суспензии, описано применение оптических твизеров для изучения механических свойств сложных жидкостей.

Первый пример применения состоит в микромасштабном изучении вязкоупругих свойств полимеров вблизи поверхности коллоидных частиц, второй относится к парному межчастичному взаимодействию в суспензии.

Метод детектирования пространственного положения частиц. Движение захваченной оптическими твизерами частицы влияет на структуру рассеянного вперед лазерного излучения. Для изучения движения частицы можно использовать временные изменения распределения интенсивности вперед рассеянного света на входной щели фотоприемника [12]. Когда частица находится в центре оптической ловушки, ее изображение в светлом поле в рассеянном вперед свете проецируется на центр щели фотодетектора, вызывая нулевой фототок. При движении частицы от центра ловушки ее изображение в рассеянном вперед свете сдвигается относительно центра входной щели фотодетектора, вызывая изменение фототока, пропорциональное смещению частицы.

Для демонстрации действия этой техники мы обратимся к ситуации, когда оптический твизер приводится в состояние линейных колебаний в направлении, ортогональном направлению распространения лазерного луча. Как указывалось ранее, осцилляция твизера может быть получена, например, с помощью колеблющегося зеркала. Если смещение частицы мало по сравнению с размером оптической ловушки, то уравнение движения частицы имеет вид уравнения вынужденных демпфированных колебаний:

$$m\ddot{x} + 6\pi\eta a\dot{x} + (k_{0t} + k)x = k_{0t}A\cos(\omega t), \quad (2)$$

где m – масса; a – радиус коллоидной частицы; η – коэффициент вязкости; k – модуль упругости раствора; A – амплитуда колебаний твизера, частота которых ω . Решение, соответствующее установившемуся режиму колебаний частицы, имеет вид:

$$x(t) = D(\omega)\cos(\omega t - \delta(\omega)), \quad (3)$$

где $D(\omega)$ – амплитуда; $\delta(\omega)$ – фаза:

$$D(\omega) = \frac{k_{0t}A}{\sqrt{(k_{0t} + k - m\omega^2)^2 + m^2\beta^2\omega^2}}, \quad \delta(\omega) = \text{ctg}^{-1} \frac{m\beta\omega}{k_{0t} + k - m\omega^2}. \quad (4)$$

Когда захваченная частица осциллирует в направлении, перпендикулярном лазерному лучу, ее теневое изображение в рассеянном вперед свете соответственно колеблется относительно щели фотоприемника. Заметим, что решение (3) описывает положение частицы в лабораторной системе координат. Можно измерять смещение и фазовый сдвиг частицы в лабораторной систе-

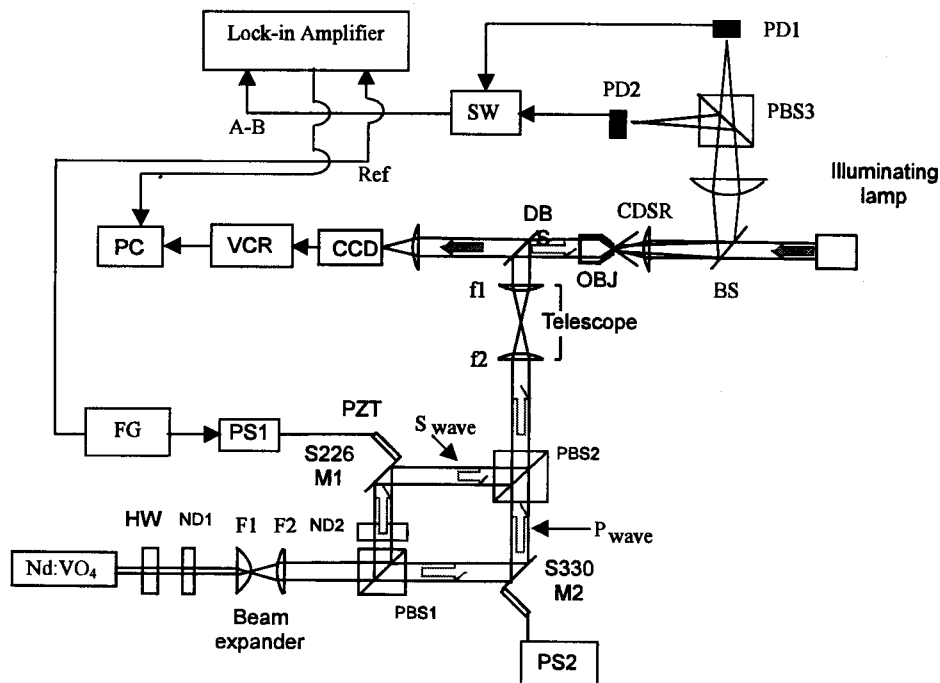


Рис. 1. Функциональная схема установки с двойным оптическим твизером, действующим в режиме рассеяния вперед: HW – полуволновая фазовая пластинка; ND – нейтральный фильтр оптической плотности; PBS – поляризационный лучевой расщепитель; S226 и S330 – зеркала, управляемые пьезоэлементами; PS – модуль, управляемый пьезоэлементом; DB – дихроичное зеркало, отражающее лазерные лучи и пропускающее освещающий пучок, имеющий в сравнении с лазерным большую длину волны

ме отсчета в режиме рассеяния вперед зондирующих лазерных лучей, которые коллинеарны лазерному пучку, формирующему оптическую ловушку.

На рис. 1 показана функциональная схема экспериментальной установки. В эксперименте использовался Spectra-Physics Millennia Nd : VO₄-лазер, излучающий на линии 532 нм. Два лазерных пучка образованы из исходного лазерного луча поляризационным расщепителем PBS1. Первый лазерный пучок, имеющий *p*-поляризацию и управляемый пьезоконтролируемым зеркалом S330-M2 (PI, Physik Instrumente), образует стационарный оптический твизер. Второй лазерный луч, *s*-поляризованный, пространственно модулируется с высокой частотой пьезоуправляемым зеркалом S226 (PI) и формирует осциллирующий оптический твизер. Перед тем как попасть в микроскоп, пучки рекомбинируют на лучевом поляризационном расщепителе PBS2. Оба луча воздействуют на захваченную частицу и вызывают ее движение. Интенсивность света, рассеянного от каждого луча, детектируется фотодиодными приемниками PD1 и PD2. Движение частицы описывается уравнением, аналогичным (2), в котором эффективный коэффициент упругости k_{0i} в левой части заменен комбинированной жесткостью $k_{0i_1} + k_{0i_2}$. В этих условиях хороший сигнал может быть получен в частотном диапазоне $0,5 \div 2000$ кГц. На высоких частотах отношение сигнал/шум уменьшается из-за влияния инерционности частицы на движение относительно стационарного зондирующего луча [11].

Метод прямого рассеяния одного пучка. Одиночный лазерный луч можно использовать как для захвата частицы, так и для определения ее положения. Этот способ имеет два достоинства. Во-первых, одним лазерным лучом легче управлять. Во-вторых, обеспечивается лучшая реакция на высоких частотах, чем в двухлучевом методе, потому что движение частицы по отношению к осциллирующему лазерному пучку увеличивается с частотой. К недостаткам следует отнести относительно малый низкочастотный отклик.

Следует отметить, что решение уравнения (2) для смещения частицы относится к лабораторной системе координат. При анализе выходного сигнала фотодиода в методе одного пучка необходимо знать положение частицы в системе отсчета, связанной с осциллирующим лазерным лучом (в системе координат ловушки). Взаимное преобразование систем отсчета линейное [11]. Смещение, измеренное в системе координат, связанной с ловушкой, и нормализованное к амплитуде колебаний ловушки, имеет вид

$$\frac{D'(\omega)}{A} = \sqrt{\frac{(m\beta\omega)^2 + (k - m\omega^2)^2}{(m\beta\omega)^2 + (k_{0t} + k - m\omega^2)^2}}. \quad (5)$$

Фазовый сдвиг движения частиц в системе отсчета, связанной с ловушкой, отнесенный к фазе движения ловушки в лабораторной системе координат, описывается выражением

$$\delta'(\omega) = \text{ctg} \frac{m\beta\omega}{m\omega^2 - k} + \text{ctg} \frac{m\beta\omega}{(k + k_{0t}) - m\omega^2}. \quad (6)$$

Заметим, что второй член в правой части уравнения (6) совпадает с фазовым сдвигом в лабораторной системе отсчета. На рис. 2 представлены результаты, полученные обоими методами. В двухлучевом методе зондирующий пучок, формирующий стационарную оптическую ловушку, более чем на порядок меньше по мощности, чем осциллирующий луч. Энергия осциллирующего пучка сравнима с энергией лазерного луча в однолучевом методе. Поэтому можно ожидать, что коэффициенты жесткости, измеренные обоими

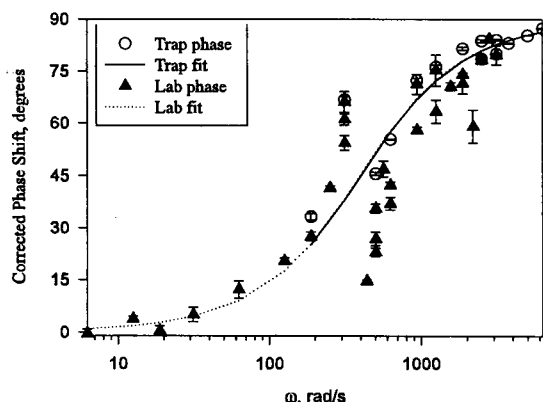


Рис. 2. Сравнение результатов, полученных однолучевым и двухлучевым методами при измерении коэффициента вязкости для 1,1 мкм полистирольной сферы в воде при 23 °С и мощности лазерного излучения 15 мВт

методами, будут сопоставимы. В самом деле, как показано на рис. 2, оба массива данных дают близкие значения коэффициента жесткости. Обе группы данных, представленные на рисунке пунктирной кривой, получены в лабораторной системе отсчета. Величина k_{0t} для однолучевого метода (в системе отсчета ловушки) равна 4,1 мдин/см, тогда как величина k_{0t} для двухлучевых измерений (в лабораторной системе отсчета) равна 4,2 мдин/см. Наибольшая девиация отсчетов от линии наилучшего приближения, составляющая 60 Гц ($2\pi \cdot 60$ рад/с), происходит в результате фазового сдвига, вносимого режекторным фильтром в усилителе цепи синхронизации.

Приложения. Описанный выше метод может применяться непосредственно для изучения микроскопической вязкости полимерных растворов. Вязкостные свойства материалов представлены комплексным модулем сдвига $G^*(\omega)$:

$$G^* = G' + iG'' = 2\pi a k + 3\omega \eta i. \quad (7)$$

Частотные свойства постоянных упругости k и вязкости η могут быть получены непосредственно из данных $\{D(\omega/A, \delta(\omega))\}$ или $\{D'(\omega/A, \delta'(\omega))\}$ в зависимости от используемого режима рассеяния вперед. В лабораторной системе отсчета (двухлучевой метод) комплексный механический модуль $G^*(\omega)$ легко может быть выражен через измеряемые величины $d = D/A$ и δ :

$$G'(\omega) = 2\pi a k(\omega) = 2\pi a [d(m^* \omega^2 - k_{0t}) + k_{0t} \cos \delta], \quad (8)$$

$$G''(\omega) = \omega \eta(\omega) = \frac{k_{0t} \sin \delta}{6\pi a d \omega}.$$

В системе отсчета ловушки (один луч) те же самые величины выражаются в следующем виде:

$$G'(\omega) = 2\pi a k(\omega) = 2\pi a \left[m\omega^2 - \frac{k_{0t} (d'^2 + d' \cos \delta')}{(d'^2 + 2d' \cos \delta' + 1)} \right], \quad (9)$$

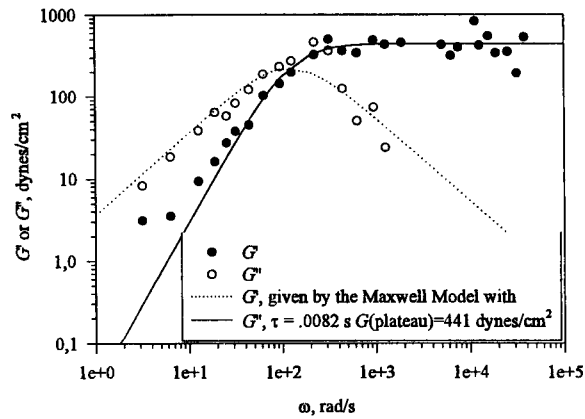
$$G''(\omega) = \omega \eta(\omega) = \frac{d' \sin \delta' k_{0t}}{(6\pi a \omega)(d'^2 + 2d' \cos \delta' + 1)}.$$

Микроскопическая вязкость. Представим этот тип приложений на примере результатов измерений вязкости, полученных для гидрофобной модификации РЕО ($C_{12}H_{25} - (OC_2H_5)_n - C_{12}H_{25}$) полимеров. В качестве пробных частиц в водном растворе использовались силикатные сферы диаметром $1,58 \pm 0,06$ мкм (Duke Scientific, Palo Alto, California), с силановой очисткой и без нее.

Недавние эксперименты показали, что бифункциональные ассоциированные (связанные) полимеры могут образовывать цепи, составленные из цветкоподобных мицелл [14, 15]. Обычный интерес к этой работе вызывает эффект адсорбции в растворе связанными полимерами коллоидных зондирующих (пробных) частиц, проявляющийся как механический отклик системы в микромасштабной окружающей среде [16].

Результаты, полученные с помощью кремниевых частиц с различными поверхностными свойствами, указывают на различие в вязкости. На рис. 3

G' or G'' for 1.6 μm Silica Particles



G' or G'' for 1.6 μm Silane Treated Silica Particles

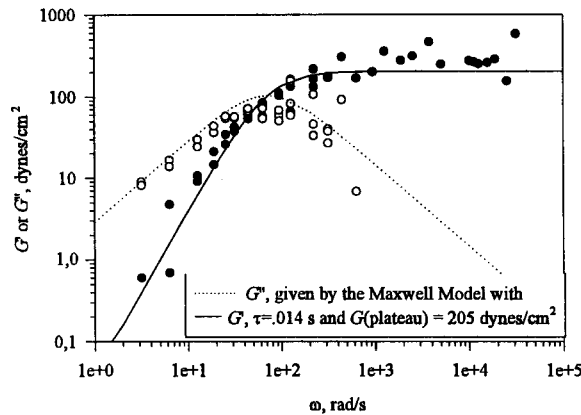


Рис. 3. Результаты измерения реактивного модуля G' и модуля потерь G'' для 3 %-ного раствора гидрофобного полимера ПЕО, полученные с помощью пробных силиконовых частиц, не обработанных (слабая полимерная адсорбция) и обработанных (сильная полимерная адсорбция) силаном

показаны результаты измерения реактивного модуля G' и модуля потерь G'' для 3 %-ного гидрофобного полимера ПЕО ($M_w = 85$ г/моль, карбидное соединение), полученные с помощью зондирования необработанными кремниевыми частицами (слабая полимерная адсорбция) и обработанными силаном частицами кремния (сильная полимерная адсорбция). Величины G' и G'' соответствуют максвелловской модели, но отличаются соответствующими временами релаксации и плато-модулем. Данное различие можно отнести к специфическим поверхностным взаимодействиям между пробной частицей и средой.

Взаимодействие пар частиц в суспензии. Динамические силы можно измерить и между парами коллоидных частиц в суспензии [17]. Ниже дан пример использования этого метода для изучения гидродинамических взаимодействий [18]. В случае двухчастичных экспериментов каждым твизером удерживается по одной 1,6 мкм сферы из SiO_2 . Осциллирующая ловушка раз-

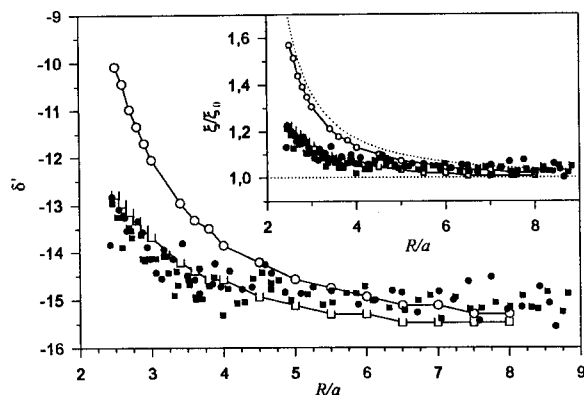


Рис. 4. Фазовый сдвиг как функция межчастичного расстояния R/a . Данные взяты в системе отсчета референтной ловушки. На вставке показана соответствующая сила вязкого сопротивления как функция R/a . Диаметр сферы $2a = 1,6$ мкм

мещалась с ориентацией синусоидального движения, имеющего амплитуду $A = 40$ нм и частоту $\omega = 2\pi \cdot 500$ 1/с, вдоль линии, соединяющей центры частиц, между тем как вторая ловушка оставалась стационарной на расстоянии R . Это расстояние определялось из анализа видеоизображений. Частица удерживалась до тех пор, пока в результате усреднения видеосигнала не достигалось пятикратное уменьшение видеоимпульса. Частицы наблюдались как размыанные темные круги на ярком фоне. Центр темного круга соответствовал пространственной позиции частицы, которая могла быть измерена с точностью около 20 нм, сопоставимой с амплитудой движения частиц.

Экспериментальные значения фазы запаздывания $\delta'_1(R)$ (осциллирующая система отсчета) для частицы в осциллирующей ловушке (зачерненные кружочки) показаны на рис. 4. Светлые квадратики обозначают результаты численных расчетов для экспериментально важного случая, когда $k_{0t_1} = k_{0t_2} = 12$ пН/мкм. Светлые кружочки относятся ко второй частице, фиксированной по соседству стационарной ловушкой ($k_{0t_2} = 30k_{0t_1}$). На вставке рис. 4 показана величина эффективной силы вязкого сопротивления, действующей на первую частицу. Пунктирная линия отражает теоретическую зависимость для случая, когда вторая частица абсолютно фиксирована во второй ловушке. Расчетные и экспериментальные данные величины $\delta'_1(R)$ находятся в хорошем согласии.

Заключение. Синусоидально движущиеся оптические твизеры необходимы для изучения частотной зависимости коллоидных сил. Описана технология использования осциллирующих твизеров для исследования свойств микроскопической вязкости среды, локализованной вблизи одиночной коллоидной частицы. Методика подходит для исследования локально структурированных сложных жидкостных систем с микроскопическими механическими свойствами, которые могут не совпадать со свойствами раствора в целом. Приведены примеры изучения движения частиц с помощью рассеяния вперед с использованием однолучевых и двухлучевых лазерных ловушек. Одновременное измерение смещения и фазового сдвига при движении частиц G' и G'' выполняется методом синхронного детектирования в широкой полосе частот.

Парное взаимодействие частиц в суспензии может измеряться с помощью двойных оптических пинцетов, каждый из которых захватывает одну частицу. Приведен пример измерений гидродинамического взаимодействия двух частиц в зависимости от расстояния между ними. Этот подход может быть распространен на двухточечные измерения в сложных жидкостях, где необходимо исследовать взаимную связь локальных структур и микроскопических механических свойств.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ashkin A., Dziedzic J., Bjorkholm J., Chu S. // Opt. Lett. 1986. 11. P. 288; Berns M. W. // Sci. Am. 1998. 278. P. 52-7.
2. Block S. M. Making light work with optical tweezer // Nature. 1992. 360. P. 493; Kuo S. C., Sheetz M. P. // Trends Cell Biol. 1992. 2. P. 116; Svoboda K., Block S. M. // Annual. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 1994. 23. P. 247; Svoboda K., Schmidt C. F., Schnapp B. J., Block S. M. // Nature. 1993. 365. P. 721; Svoboda K., Block S. M. // Cell. 1994. 77. P. 773.
3. Crocker J. C., Grier D. G. // Phys. Rev. Lett. 1994. 73. P. 352.
4. Ashkin A. // Phys. Rev. Lett. 1970. 24. P. 156; Ashkin A., Dziedzic J. M. // Science. 1975. 187. P. 1073; Barton J. P., Alexander D. R., Schaub S. A. // J. Appl. Phys. 1989. 66. P. 4594; Wright W. H., Sonek G. J., Berns M. W. // Appl. Phys. Lett. 1993. 63. P. 715.
5. Ghislain L. P., Switz N. A., Webb W. W. // Rev. Sci. Inst. 1994. 65. P. 2762.
6. Simmons R. M., Finer J. T., Chu S., Spudich J. A. // Biophysical Journ. 1996. 70. P. 1813.
7. Ashkin A., Dziedzic J. M., Bjorkholm J. E., Chu S. // Opt. Lett. 1986. 11. P. 288.
8. Kuo, Scot C. // J. Microscopy Soc. Am. 1995. 1. P. 65.
9. Jackson J. D. Classical Electrodynamics. N. Y.: John Wiley & Sons, 1975.
10. Ashkin A. // J. Biophys. 1992. 61. P. 569.
11. Ou-Yang H. D. Design and applications of oscillating optical tweezers for direct measurements of colloidal forces // Polymer-Colloid Interactions: From Fundamentals to Practice /Eds. P. Dubin, R. Farinato. N. Y.: John Wiley and Sons, 1999. Ch. 15. P. 385.
12. Visscher K., Gross S. P., Block S. M. // IEEE Journ. Select. Topics in Quantum Electron. 1996. 2. P. 1066.
13. Zhang Z., Sonek G. J., Liang H., Berns M. W. // Appl. Opt. 1998. 37. P. 2766-73.
14. Jenkins R. D., Silebi C. A., El-Aasser M. S. Associative polymers with novel hydrophobe structures // Proc. of ACS Div. of the Polymeric Mater.: Sci. and Eng. 1991. P. 65, 72.
15. Jenkins R. D., Silebi C. A., El-Aasser M. S. Steady shear and linear viscoelastic material properties of associative thickener solutions // Adv. Chem. 1991. 462. P. 222.
16. Séréro Y. et al. // Phys. Rev. Lett. 1999. 81. P. 5584; Semenov A. N., Joanny J. F., Khoklov A. R. // Macromolecules. 1995. 28. P. 1066; Tanaka F., Edwards S. F. // J. Non-Newtonian Fluid Mec. 1992. 43, Pt. 1-3. P. 247; Annable T. et al. // J. Rheol. 1993. 37. P. 695.
17. Inn Y., Wang S. Q. // Phys. Rev. Lett. 1996. 76. P. 467.
18. Crocker J. C., Grier D. G. // Phys. Rev. Lett. 1994. 73. P. 352.