

## Управление положением ловушки вблизи отражающих поверхностей в оптическом пинцете

Д. А. Шилкин, Е. В. Любин, И. В. Соболева, А. А. Федянин<sup>1)</sup>

Физический факультет МГУ им. Ломоносова, 119991 Москва, Россия

Поступила в редакцию 16 октября 2013 г.

Экспериментально исследовано изменение положения оптической ловушки относительно фокальной перетяжки объектива оптического пинцета вблизи отражающих поверхностей. Показано, что значительное влияние на положение результирующей ловушки оказывает стоячая волна, возникающая при интерференции волн, формирующих перетяжку, с отраженными от поверхности. Проведены расчеты, позволяющие определить расстояния от поверхности, на которых формируются устойчивые оптические ловушки в случае возникновения стоячей волны, в зависимости от размера захваченной микрочастицы. Предложена методика локализации микрочастиц на заданном расстоянии от поверхности с точностью, соответствующей броуновским флуктуациям в оптическом пинцете – около 10 нм при эффективной жесткости ловушки  $4 \cdot 10^{-5}$  Н/м.

DOI: 10.7868/S0370274X13220128

В последние десятилетия значительное внимание уделяется развитию методов оптического управления микро- и наночастицами. Для этого активно применяется методика оптического пинцета [1], основанная на том, что перетяжка сильно сфокусированного лазерного пучка может служить потенциальной ловушкой для диэлектрических частиц. Смещения захваченной частицы в ловушке с известными характеристиками определяются силами, действующими на частицу. Это обстоятельство лежит в основе методики фотонно-силовой микроскопии [2]. Метод оптического пинцета получил широкое распространение в задачах биофизики и биомеханики: в изучении характеристик макромолекул и отдельных клеток, например, молекул ДНК [3, 4] и эритроцитов [5, 6], а также в измерении силовых взаимодействий между клетками [7, 8]. Помимо биологических задач, измерение сил, действующих на частицы в оптических ловушках, может проводиться, например, при изучении поверхностно-усиленных оптических явлений [9], а также магнитного взаимодействия микрочастиц в суспензиях [10].

Методы оптического управления, основанные на применении ближнего электромагнитного поля, позволяют превзойти дифракционный предел в оптической локализации [11] и открывают новые возможности в оптической сортировке [12]. Микрочастицы могут быть локализованы вблизи поверхности, где реализуется полное внутреннее отражение [13, 14], а

также в поле поверхностных плазмон-поляритонов [15, 16]. Измерения сил, действующих на полистироловые частицы в поле поверхностного плазмон-поляритона, возбужденного на поверхности золотой пленки [17], показали, что в условиях резонанса силы, действующие на частицы вблизи поверхности, увеличиваются в десятки раз относительно нерезонансного освещения. Для точного определения значения сил, действующих на микрочастицу в подобных схемах, в процессе измерения необходимо поддерживать постоянным расстояние между микрочастицей и поверхностью. Это расстояние может неконтролируемо меняться вследствие локальных колебаний температуры, влажности и других факторов. До сих пор не предложено методики, позволяющей осуществлять контроль расстояния между частицей и поверхностью в ходе продолжительных экспериментов.

При работе с отражающими поверхностями (например, металлическими), помимо перетяжки захватывающего излучения, сравнимое влияние на положение микрочастицы оказывает стоячая волна, возникающая при интерференции волн, формирующих перетяжку, с отраженными от поверхности металла [18]. Было экспериментально продемонстрировано значительное увеличение жесткости ловушки вдоль направления оптической оси за счет высокого градиента электромагнитного поля в образующейся стоячей волне. Следует ожидать, что вследствие формирования стоячей волны пространственное положение минимума потенциала оптической ловушки мо-

<sup>1)</sup>e-mail: fedyanin@nanolab.phys.msu.ru

жет оказаться смещенным относительно фокальной перетяжки объектива оптического пинцета. Однако характер поведения микрочастицы, захваченной в оптическую ловушку, при перемещении фокальной перетяжки объектива относительно отражающей поверхности до сих пор не был исследован.

В настоящей работе экспериментально исследовано влияние стоячей волны, возникающей в результате интерференции волн, формирующих перетяжку, с отраженными от поверхности металла, на положение оптической ловушки. Предложена методика определения расстояния между захваченной частицей и поверхностью в случае возникновения стоячих волн.

Для создания оптической ловушки используется излучение полупроводникового лазера с длиной волны 975 нм (рис. 1). Оптическая ловушка форми-

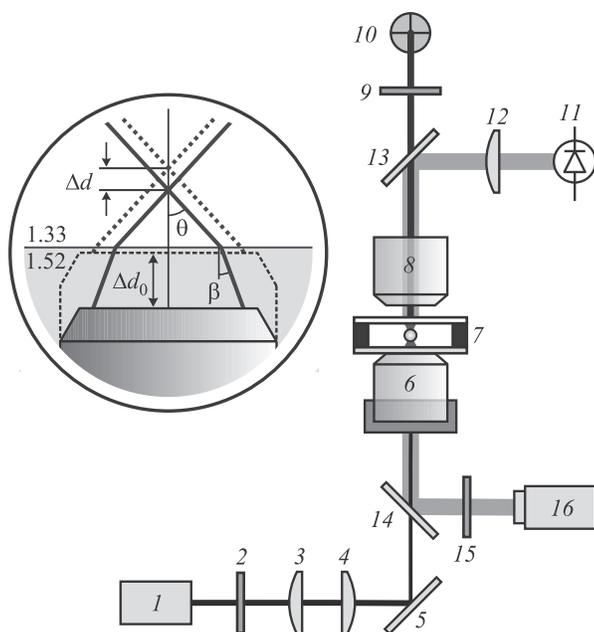


Рис. 1. Установка оптического пинцета: 1 – лазер, 2 – нейтральный оптический фильтр, 3, 4 – линзы расширителя пучка, 5 – металлическое зеркало, 6 – объектив, 7 – кювета с образцом, 8 – конденсор, 9 – цветные оптические фильтры, 10 – квадрантный фотодиод, 11 – светодиод, 12 – коллиматорные линзы, 13–15 – дихроичные фильтры, 16 – ПЗС-камера. На вставке – иллюстрация к расчету связи между смещением объектива  $\Delta d_0$  и смещением перетяжки  $\Delta d$

руется в кювете с образцом масляно-иммерсионным план полуахроматическим объективом с числовой апертурой 1.3. Для управления положением ловушки относительно металлической поверхности объектив оснащен микрометрической и пьезоэлектрической подачами, позволяющими перемещать его вдоль

оптической оси. Кювета состоит из двух покровных стекол толщиной 100 мкм с зазором около 20 мкм. На поверхность верхнего стекла методом термического вакуумного напыления нанесен полупрозрачный слой серебра толщиной 40 нм. Зазор заполнен водной суспензией полистироловых частиц диаметром 1 мкм с концентрацией  $5 \cdot 10^6 \text{ мл}^{-1}$ . Положение захваченной частицы определяется путем регистрации квадрантным фотодиодом рассеянного на ней излучения. Визуализация захваченной микрочастицы реализована с помощью светодиода, излучение которого направляется в область образца посредством системы линз и объектива. Изображение поля зрения объектива строится на матрице ПЗС-камеры.

В эксперименте используется иммерсионный объектив. Показатель преломления иммерсионного масла  $n = 1.52$  существенно отличается от показателя преломления воды, поэтому смещение объектива  $\Delta d_0$ , вообще говоря, не равно смещению перетяжки  $\Delta d$ . Для определения связи между этими величинами рассмотрим конус лучей, составляющих в воде угол  $\theta$  с оптической осью (вставка к рис. 1). Покровное стекло, отделяющее воду от иммерсионного масла, имеет близкий к иммерсии коэффициент преломления, поэтому здесь оно не учтено. Решение геометрической задачи определяет искомое соотношение:

$$\Delta d / \Delta d_0 = \tan \beta / \tan \theta, \quad (1)$$

где угол  $\beta$ , соответствующий распространению лучей в иммерсии, выражается из закона Снеллиуса. В случае малых углов

$$\Delta d / \Delta d_0 \approx \sin \beta / \sin \theta = 1.33 / 1.52. \quad (2)$$

Поскольку в эксперименте используется объектив с числовой апертурой 1.3, угол  $\theta$  принимает все значения в диапазоне от  $0^\circ$  до  $77^\circ$ . На практике это означает, что лучи, соответствующие различным  $\theta$ , сходятся на разном расстоянии от поверхности, уменьшая тем самым жесткость ловушки в направлении оптической оси  $k_z$ . Равновесное положение частицы при этом определяется некоторым эффективным значением  $\theta$ . Численные расчеты, проведенные для гауссова распределения интенсивности в падающем на объектив излучении, показывают, что смещение объектива на 1 мкм соответствует изменению положения ловушки в образце на 0.75 мкм.

В стандартной методике определения смещений микрочастицы в оптической ловушке [19] рассеянное на частице излучение регистрируется детектором на основе квадрантного фотодиода. Напряжение на выходе детектора  $V_z^{(\text{ins})}$  пропорционально суммарному току со всех секций фотодиода, который, в свою

очередь, линейно связан со смещением частицы из центра перетяжки в направлении распространения пучка. С другой стороны, измерение среднего значения напряжения  $V_z = \langle V_z^{(ins)} \rangle$  может быть использовано для определения расстояния между поверхностью и равновесным положением частицы. В случае, когда стенками кюветы с образцом служат прозрачные материалы с низким коэффициентом отражения, положение ловушки определяется положением фокальной перетяжки и зависимость величины  $V_z$  от смещения объектива имеет монотонный характер. На рис. 2а приведен пример экспериментальной

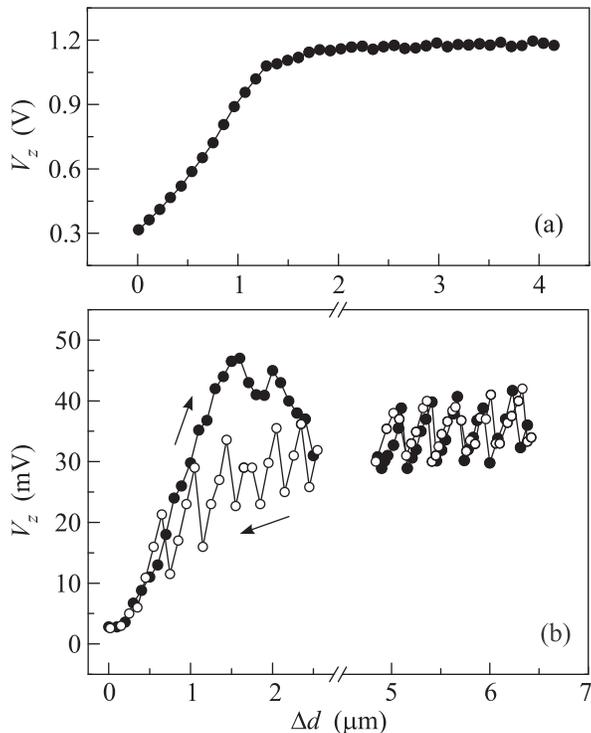


Рис. 2. Зависимости напряжения на квадрантном фотодиоде  $V_z$  от смещения перетяжки  $\Delta d$ . (а) – В качестве верхней стенки кюветы используется покровное стекло. (б) – На поверхность стекла нанесена серебряная пленка. Черные кружки – увеличение расстояния между поверхностью и перетяжкой, белые – уменьшение

зависимости  $V_z(\Delta d)$  в случае, когда верхней стенкой кюветы является покровное стекло с коэффициентом преломления 1.52. При  $\Delta d = 0$  перетяжка формируется выше поверхности стекла. В результате частица оказывается прижатой к поверхности и ее смещение из перетяжки велико. С ростом  $\Delta d$  положение перетяжки приближается к поверхности и  $V_z$  растет. Наконец, при смещении перетяжки внутрь образца частица локализуется в ней, однако наблюдается слабое увеличение  $V_z$ . Это может быть использовано для

определения расстояния между частицей и поверхностью.

В случае, когда в образце присутствуют поверхности с высоким коэффициентом отражения, вблизи отражающей поверхности формируется стоячая волна, которая оказывает значительное влияние на потенциал оптической ловушки. В результате положение захваченной микрочастицы перестает однозначно управляться перемещением объектива. На рис. 2б изображена зависимость напряжения на фотодиоде  $V_z$  от смещения перетяжки  $\Delta d$  в случае, когда в качестве верхней стенки кюветы использовалось покровное стекло с полупрозрачной серебряной пленкой толщиной 40 нм. Коэффициент отражения пленки на длине волны 975 нм составил 0.9. Несмотря на то что величина апертурного угла захватывающего объектива составляет более  $70^\circ$ , т.е. вклад интенсивности отраженного излучения быстро убывает с расстоянием до поверхности, искажение потенциала ловушки наблюдается более чем на 10 мкм от нее. Зависимость  $V_z(d)$  представляет собой немонотонную пилообразную функцию, причем вблизи отражающей поверхности ее вид различается для направлений движения захваченной микрочастицы к поверхности или от нее.

Немонотонный характер этой зависимости можно объяснить, считая, что в первом приближении равновесные положения частицы определяются исключительно конфигурацией стоячей волны, а положение перетяжки вносит вторичный вклад. В зависимости от размера частицы ее центр в положении устойчивого равновесия может находиться как в узлах (рис. 3а), так и в пучностях (рис. 3б) волны. Начнем смещать положение перетяжки вниз, увеличивая таким образом расстояние до поверхности. Если частица при этом остается неподвижной, то ее смещение из перетяжки растет. Вместе с ним растет и сигнал  $V_z$  на квадрантном фотодиоде. Наконец, при некотором положении перетяжки частица начинает чувствовать соседнюю потенциальную яму и может локализоваться в ней. При этом  $V_z$  резко уменьшается. Период таких перескоков соответствует периоду стоячей волны.

Вид зависимости на малых расстояниях от поверхности отличается для различных направлений движения захватывающего объектива. Если фокальная перетяжка объектива приближается к поверхности, характер поведения частицы сохраняется: она меняет свое положение скачком. Если расстояние между перетяжкой и поверхностью увеличивается, то зависимость имеет такой же вид, как если бы частица была зафиксирована вблизи поверхности и не

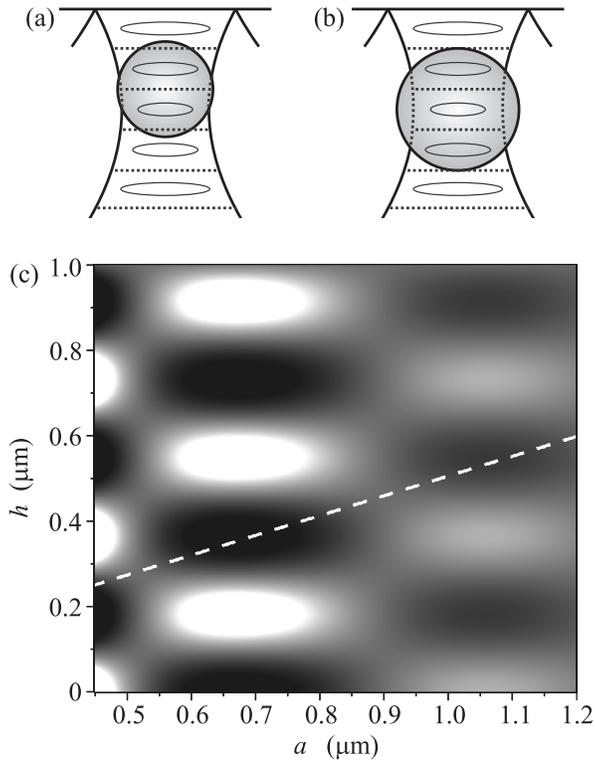


Рис. 3. Стоячие волны вблизи металлической пленки. (а) – Равновесное положение соответствует узлу стоячей волны. (б) – Равновесное положение соответствует пучности. (с) – Распределение потенциальной энергии, полученное в приближении Релея ( $a$  – диаметр частицы,  $h$  – расстояние между центром частицы и поверхностью). Энергия нормирована на объем частицы. Светлые области соответствуют ее высоким значениям. Штриховая линия – частица касается поверхности. Положения частицы под этой линией физически не реализуются

двигалась [20]. Это связано с тем, что ближайшая к поверхности пучность создает для частицы наиболее глубокую потенциальную яму.

Для определения конфигурации устойчивых положений частицы в стоячей волне можно положить, что микрочастица не возмущает оптическую ловушку. Потенциальная энергия системы в этом приближении выражается как интеграл по объему частицы [21, 22]:

$$W = - \int \alpha \mathbf{E}^2(\mathbf{r}) d\mathbf{r}, \quad (3)$$

где  $\alpha$  – удельная поляризуемость микрочастицы. В приближении плоских волн интеграл (3) с точностью до коэффициентов имеет вид

$$W \propto - \int_{h-a/2}^{h+a/2} \sin^2\left(\frac{\pi z}{\Lambda}\right) \left[\left(\frac{a}{2}\right)^2 - (z-h)^2\right] dz, \quad (4)$$

где  $\Lambda = \lambda/(2n)$  – период стоячей волны,  $a$  – диаметр частицы,  $n$  – показатель преломления жидкости в кювете,  $h$  – расстояние между поверхностью и центром частицы.

На рис. 3с представлена зависимость  $W(h, a)$ , рассчитанная при  $\lambda = 975$  нм,  $n = 1.33$ . Период стоячей волны в воде составил 365 нм. Темные области на графике соответствуют минимумам потенциальной энергии, а следовательно, положениям устойчивого равновесия. В эксперименте использовались частицы диаметром  $a = 1$  мкм, что, как видно из результатов расчета, соответствует конфигурации, изображенной на рис. 3б. Если частица локализована в трех ближайших к поверхности пучностях, то зазор между ней и поверхностью составляет около 50 нм.

В ходе длительных измерений вследствие, например, локальных изменений температуры возможны неконтролируемые изменения расстояния между перетяжкой и поверхностью. Однако положение частицы в большой степени определяется полем стоячей волны и также смещается. Поскольку напряжение  $V_z$  связано со смещением перетяжки  $\Delta d$  сильной зависимостью (см. рис. 2б), даже малые изменения расстояния между перетяжкой и поверхностью приводят к значительным изменениям  $V_z$ . Для исследований, требующих точной локализации частицы, эти изменения могут быть компенсированы введением обратной связи, осуществляющей изменение положения объектива при изменении регистрируемого напряжения  $V_z$ . В таком случае расстояние между захваченной частицей и поверхностью может быть зафиксировано с точностью, соответствующей броуновским флуктуациям в оптическом пинцете (около 10 нм при эффективной жесткости ловушки  $k_z = 40$  пН/мкм).

Таким образом, нами проведено экспериментальное исследование явления сдвига ловушки оптического пинцета относительно положения фокальной перетяжки объектива вблизи отражающих поверхностей вследствие формирования стоячей волны при интерференции волн, формирующих перетяжку, с отраженными от поверхности. Проведены расчеты, позволяющие определить расстояния от поверхности, на которых формируются устойчивые оптические ловушки в случае возникновения стоячей волны, в зависимости от размера захваченной микрочастицы. Использование стоячей волны при проведении измерений в оптическом пинцете, требующих точной локализации частицы относительно поверхности, позволяет стабилизировать положение микрочастицы на известных расстояниях от поверхности и значительно повысить точность измерений.

Работа поддержана Министерством образования и науки РФ и Российским фондом фундаментальных исследований.

1. A. Ashkin, J. M. Dziedzic, J. E. Bjorkholm, and S. Chu, *Optics Lett.* **11**, 288 (1986).
2. R. M. Simmons, J. T. Finer, S. Chu, and J. A. Spudich, *Biophys. J.* **70**, 1813 (1996).
3. M. D. Wang, H. Yin, R. Landick et al., *Biophys. J.* **72**, 1335 (1997).
4. J. C. Meiners and S. R. Quake, *Phys. Rev. Lett.* **84**, 5014 (2000).
5. A. Fontes, H. P. Fernandes, A. A. Thomaz et al., *J. Biomed. Opt.* **13**, 14001 (2008).
6. E. V. Lyubin, M. D. Khokhlova, M. N. Skryabina, and A. A. Fedyanin, *J. Biomed. Opt.* **17**, 101510 (2012).
7. P. J. H. Bronkhorst, J. Grimbergen, G. J. Brakenhoff et al., *Brit. J. Haemat.* **96**, 256 (1997).
8. M. D. Khokhlova, E. V. Lyubin, A. G. Zhdanov et al., *J. Biomed. Opt.* **17**, 025001 (2012).
9. S. Rao, Š. Bálint, P. Løvhaugen et al., *Phys. Rev. Lett.* **102**, 087401 (2009).
10. М. Н. Скрябина, Е. В. Любин, М. Д. Хохлова, А. А. Федянин, *Письма в ЖЭТФ* **95**, 638 (2012).
11. L. Novotny, R. X. Bian, and X. S. Xie, *Phys. Rev. Lett.* **79**, 645 (1997).
12. T. Čižmár, M. Šiler, M. Šerý et al., *Phys. Rev. B* **74**, 035105 (2006).
13. K. Wada, K. Sasaki, and H. Masuhara, *Appl. Phys. Lett.* **76**, 2815 (2000).
14. C. D. Mellor and C. Bain, *Chem. Phys. Chem.* **7**, 329 (2006).
15. K. Wang, E. Schonbrun, and K. B. Crozier, *Nano Lett.* **9**, 2623 (2009).
16. M. Righini, G. Volpe, C. Girard et al., *Phys. Rev. Lett.* **100**, 186804 (2008).
17. G. Volpe, R. Quidant, G. Badenes, and D. Petrov, *Phys. Rev. Lett.* **96**, 238101 (2006).
18. P. Zemánek, A. Jonáš, L. Šrámek, and M. Liška, *Optics Lett.* **24**, 1448 (1999).
19. K. C. Neuman and S. M. Block, *Rev. Sci. Instr.* **75**, 2787 (2004).
20. M. J. Lang, C. L. Asbury, J. W. Shaevitz, and S. M. Block, *Biophys. J.* **83**, 491 (2002).
21. T. Tlustý, A. Meller, and R. Bar-Ziv, *Phys. Rev. Lett.* **81**, 1738 (1998).
22. W. Mu, Z. Li, L. Luan et al., *J. Opt. Soc. Am. B* **25**, 763 (2008).