

Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет радіоелектроніки

Факультет Електронної та біомедичної інженерії
(повна назва)

Кафедра Фізичних основ електронної техніки
(повна назва)

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
Пояснювальна записка

рівень вищої освіти другий (магістерський)
ОПТИЧНЕ МАНІПУЛЮВАННЯ МАЛИМИ ОБ'ЄКТАМИ
(тема)

Виконав:
студент 2 курсу, групи ФТОІм-20-1
Філіпенкова А.С.
(прізвище, ініціали)

Спеціальність 152 Метрологія та інформаційно-вимірювальна техніка
(код і повна назва спеціальності)

Тип програми освітньо-професійна
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Освітня програма «Фотоніка та оптоінформатика»
(повна назва освітньої програми)

Керівник проф. каф. ФОЕТ Курський Ю.С.
(посада, прізвище, ініціали)

Допускається до захисту

Зав. кафедри

(підпис)

Гнатенко О.С.
(прізвище, ініціали)

2021 р.

Харківський національний університет радіоелектроніки

Факультет _____ Електронної та біомедичної інженерії
(повна назва)
Кафедра _____ Фізичних основ електронної техніки
(повна назва)
Рівень вищої освіти _____ другий (магістерський)
Спеціальність _____ 152 Метрологія та інформаційно-вимірювальна техніка
(код і повна назва)
Тип програми _____ освітньо-професійна
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)
Освітня програма _____ «Фотоніка та оптоінформатика»
(повна назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Зав. кафедри _____

(підпис)

«_____» _____ 20__ р.

ЗАВДАННЯ

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ

студентові _____ Філіпенковій Анастасії Сергіївні
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи _____ «Оптичні маніпулювання малими об'єктами»

затверджена наказом університету від 08 листопада 2021 р. № 1680 Ст

2. Термін подання студентом роботи до екзаменаційної комісії 09 грудня 2021 р.

3. Вихідні дані до роботи 1. Представлено оптичного пінцета

2. Теоретично досліджено принципи роботи схеми

3. Отримано залежності градієнтної сили від радіусу кульок, різниці сил тяжіння і сили Архімеда від збільшення розміру частинок, роздільної здатності об'єктива від довжини хвильоптичного обертання від концентрації глюкози і від довжини

4. Перелік питань, що потрібно опрацювати в роботі 1 Вступ. 2 Фізичні принципи оптичного пінцета. 3 Практичне застосування та удосконалення оптичного пінцета

5. Перелік графічного матеріалу із зазначенням креслеників, схем, плакатів, комп'ютерних ілюстрацій

Демонстраційний матеріал – 11шт.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів роботи	Терміни виконання етапів роботи	Примітка
1	Інформаційно-тематичний пошук та огляд літературних джерел про оптичні пінцети та їх характеристики	01.09.21 – 27.09.21	Виконано
2	Дослідження впливу параметрів лазера на оптичний пінцет	28.09.21 – 08.10.21	Виконано
3	Виконання чисельних розрахунків характеристик лазера, як джерела оптичного пінцета	09.10.21 – 20.10.21	Виконано
4	Аналіз розрахунків та параметрів оптичних пінцетів	21.10.21 – 01.11.21	Виконано
5	Оформлення пояснювальної записки	02.11.21 – 14.11.21	Виконано
6	Оформлення графічних та демонстраційних матеріалів	15.11.21 – 18.11.21	Виконано
7	Проходження нормоконтролю і отримання рецензії	19.11.21 – 02.12.21	Виконано
8	Підготовка та захист кваліфікаційної роботи	03.12.21 – 10.12.21	

Дата видачі завдання 01 вересня 2021 р.

Студент _____
(підпис)

Керівник роботи _____ проф. каф. ФОЕТ Курський Ю.С.
(підпис) (посада, прізвище, ініціали)

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка кваліфікаційної роботи: 46 с., 14 рис., 1 додаток, 27 джерел.

ГРАДІЄНТНА СИЛА, ДИФРАКЦІЯ, ІНФРАЧЕРВОНИЙ ЛАЗЕР, МАНІПУЛЮВАННЯ, МІКРОРОЗМІРНІ ОБ'ЄКТИ, ОПТИЧНИЙ МЕТОД, ОПТИЧНИЙ ПІНЦЕТ.

Об'єкт дослідження – маніпулювання мікророзмірними частинками за допомогою лазерного променя.

Предмет дослідження – оптичний пінцет.

Мета роботи – дослідити фізичні принципи роботи, можливості, конструкції оптичного пінцета та запропонувати напрямки його вдосконалення.

У роботі було досліджено фізичні принципи, можливості та схему побудови оптичного пінцету, сформульовано напрямки розвитку технологій оптичного керування мікророзмірними об'єктами. Були виконані розрахунки параметрів лазера, який застосовується в оптичному пінцеті.

Актуальністю роботи є те, що застосування оптичного пінцету знаходило все нові галузі від біології та медицини до наноінженерії. Нові задачі потребують вдосконалення технології та нових конструктивних рішень.

Потрібність в оптичному пінцеті обумовлена можливістю маніпулювання малими біологічними об'єктами без ушкодження.

ABSTRACT

Explanatory note of the qualification work: 46 pages, 14 figures, 1 supplement, 27 sources.

GRADIENT FORCE, DIFFRACTION, INFRARED LASER, MANIPULATION, MICRODIMENSIONAL OBJECTS, OPTICAL METHOD, OPTICAL TWEEZERS.

The object of research is the manipulation of micro-sized particles with the help of a laser beam.

The subject of research – optical tweezers.

The purpose of the work – to explore the physical principles of operation, capabilities, design of optical tweezers and suggest ways to improve it.

The physical principles, possibilities and the scheme of construction of optical tweezers are investigated in the work, the directions of development of technologies of optical control of micro-sized objects are formulated. Calculations of the parameters of the laser used in optical tweezers were performed.

The urgency of the work is that the use of optical tweezers has found new areas from biology and medicine to nanoengineering. New tasks require improvements in technology and new design solutions.

The need for optical tweezers is due to the ability to manipulate small biological objects without damage.

ЗМІСТ

Вступ.....	7
1 Фізичні принципи оптичного пінцета.....	8
1.1 Історія створення та принцип роботи оптичного пінцету	8
1.1.1 Принцип роботи оптичного пінцета у наближенні геометричної оптики.....	10
1.1.2 Робота оптичного пінцета у наближенні Релея	11
1.1.3 Розрахунок сил оптичного захоплення для частинок розміром порівнянного із довжиною хвилі	15
1.2 Принципова експериментальна схема оптичного пінцету	17
2 Практичне застосування та удосконалення оптичного пінцету.....	20
2.1 Області застосування оптичного пінцету	20
2.1.1 Маніпулювання біоб'єктами.....	23
2.1.2 Фізика колоїдів.....	25
2.1.3 Мікромеханіка	25
2.1.4 Екстракорпоральне запліднення.....	27
2.2 Шляхи розвитку оптичного пінцету	30
2.2.1 Пінцети на Бесселевих пучках.....	30
2.2.2 Багатопроменевий оптичний пінцет	33
2.2.3 Оптичний пінцет на суперконтиніумі.....	35
2.2.4 Волоконно-оптичний пінцет	36
2.3 Межі можливості захоплення частинок в оптичну пастку.....	37
2.4 Дипольний підхід в уявленні Релеєвського розсіювання $R \ll \lambda$	40
Висновки	43
Перелік джерел посилання	44
Додаток А Демонстраційний матеріал.....	47

ВСТУП

Лазерний пінцет – оптоелектронна система, яка дозволяє маніпулювати мікроскопічними об'єктами за допомогою лазерного променя.

Робота з мікрооб'єктами є невід'ємною частиною багатьох галузей науки та техніки. Безконтактні методи маніпуляції є одними з найперспективніших у цій галузі.

Оптичний пінцет використовує лазерний пучок для переміщення об'єктів розміром кілька мікрон. За допомогою нього можна маніпулювати, наприклад, живими клітинами, білками та молекулами. У 2018 року за цю технологію американський фізик Артур Ашкін отримав Нобелівську премію. До винаходу оптичного пінцету переміщувати такі об'єкти було неможливо – вони одразу руйнувалися. Оптичний пінцет вирішив цю проблему.

Оптичні пінцети (оптичні пастки) працюють таким чином: лінза фокусує промінь лазера, і частинки, що знаходяться в полі фокусування, починають рухатися у бік максимальної інтенсивності світлового поля. Завдяки цьому частки можна захоплювати та переміщати.

Оптичний пінцет представляє особливий інтерес у ряді областей: атомна фізика, біологія, мікрохірургія, нанотехнології та мікромеханіка, також при вивченні властивостей колоїдів, мікропотоків та світлових пучків.

Оптичне маніпулювання за допомогою лазерів застосовується до мікророзмірних об'єктів, які варіюються у розмірі від десятків нанометрів до десятків і сотень мікрометрів, також до таких біологічних об'єктів, як віруси, окремі живі клітини та внутрішньоклітинні включення.

1 ФІЗИЧНІ ПРИНЦИПИ ОПТИЧНОГО ПІНЦЕТА

Все більшої популярності в біо- і нанотехнологіях став набувати інструмент, відомий як «оптичний пінцет» (лазерний пінцет, оптична пастка). Даний пристрій дозволяє маніпулювати об'єктами, розміри яких становлять близько від 0,5 мкм до 10 мкм. Про можливість утримання мікрочастинок за допомогою гострофокусованого пучка світла вперше стало відомо в 1978 році, коли Артур Ашкін та його колеги проводили досліди з тиском лазерного випромінювання. Реалізовано цю технологію було у 1986 році. Після цього почався його бурхливий розвиток. Із самого початку лазерна пастка постала як чудове пристосування для роботи з біоматеріалом. Стало реально зазирнути у світ, недоступний раніше біофізикам. Оптичний пінцет дозволяв прикладати сили до мікрооб'єктів там, де механічна дія неможлива або згубна. При невеликій потужності випромінювання руйнівна дія лазерного випромінювання зводиться до мінімуму. Вперше як об'єкт дослідження виступили бактеріальні джгутики, вивчити які уявлялося можливим за допомогою утримання бактерії. Пізніше біофізикам вдалося з допомогою маніпуляції клітинами чи його органелами вивчити сили міжклітинної і навіть міжмолекулярної взаємодії [1]. Отже, з'явилася можливість проаналізувати характер зміни форми клітини, пересування клітини, транспорт у межах клітини тощо. Однак не лише біологія отримала інструмент для нових досліджень. За допомогою оптичного пінцету фізикам вдалося застосувати метод поділу частинок за їхньою формою, розмірами, діелектричними та іншими властивостями. А в 1997 році Стівен Чу отримав Нобелівську премію з фізики «за створення методів охолодження та уловлювання атомів лазерним променем».

1.1 Історія створення та принцип роботи оптичного пінцета

Піонерські роботи 1970-х років у галузі оптичного управління та захоплення мікрооб'єктів належать Роберту Ашкіну. У цих роботах були

представлені результати спостереження дії сил тиску світла на різні прозорі мікрочастинки, було продемонстровано, що положення прозорих діелектричних мікрочастинок можна змінювати та контролювати, прикладаючи оптичні сили як у воді, так і у повітрі. Була вперше показана експериментальна можливість оптичного захоплення мікрочастинок у тривимірні оптичні пастки, створені як на основі двох лазерних пучків, що поширюються в протилежних напрямках, так і на основі одного жорстко сфокусованого лазерного пучка (рис. 1.1).

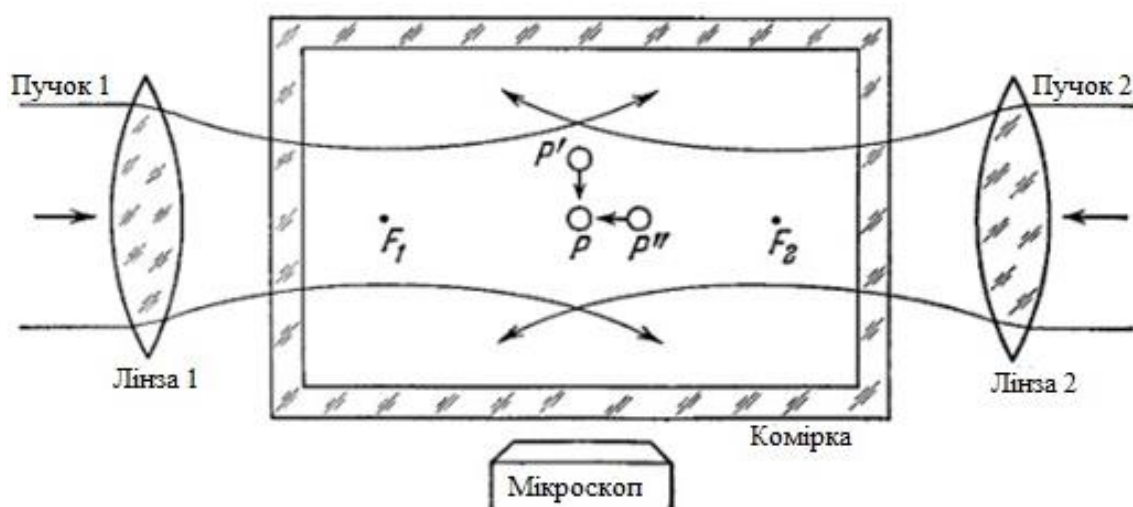


Рисунок 1.1 – Схема двопучкової пастки

Саме такий однопроменевий підхід, що дозволяє керувати положенням мікрооб'єктів, набув широкого поширення і називається методом оптичного пінцету [2]. Співвідношення між розмірами захоплюваних мікрочастинок та довжиною хвилі випромінювання визначає підхід, у рамках якого розглядаються принципи роботи оптичного пінцету. Існують два важливі граничні випадки – наближення розсіювання Релея та наближення геометричної оптики.

1.1.1 Принцип роботи оптичного пінцета у наближенні геометричної оптики

Для випадків, коли розміри частинок, що захоплюються, великі в порівнянні з довжиною хвилі оптичного випромінювання, поява оптичних сил описується явищами заломлення і відбиття світла. Лазерне випромінювання має високий рівень просторової когерентності, тому лазерний пучок можна сфокусувати в пляму, розміри якої можна порівняти з довжиною хвилі використовуваного лазерного випромінювання [3]. Неоднорідне розподілення електромагнітного поля в перетяжці жорстко сфокусованого лазерного пучка формує ефективну потенційну яму для частинок, що знаходяться поблизу перетяжки. Мікрочастинка, показник заломлення якої перевищує показник заломлення навколишнього середовища, при попаданні в область перетяжки лазерного пучка заломлює і розсіює випромінювання, що падає на неї (рис. 1.2).

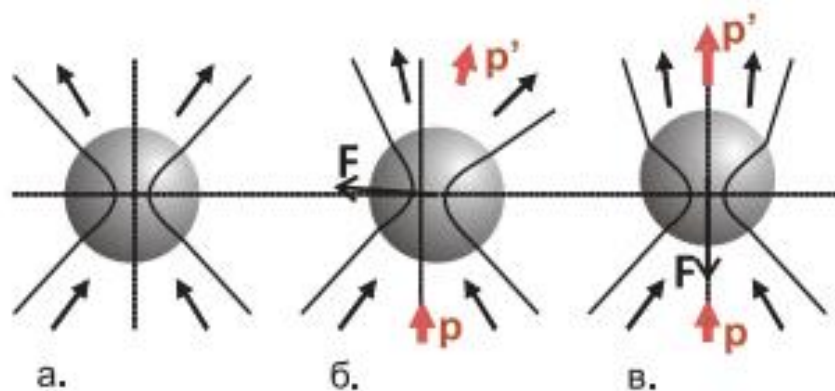


Рисунок 1.2 – Принцип роботи оптичного пінцету
(наближення геометричної оптики)

На рисунку наведені такі позначення: F – сила, що повертає, при зміщенні частки перпендикулярно осі падаючого оптичного пучка (рис. 1.2, а), паралельно цій осі (рис. 1.2 (б, в)); p, p' – сумарні імпульси світла до і після розсіювання і заломлення на мікрочастинці, відповідно.

Якщо прозора мікрочастинка перебуває у центрі перетяжки пучка, то напрям і величина сумарного імпульсу світла після проходження світлового пучка через частинку не змінюється, вона у положенні рівноваги (рис. 1.2, а). Якщо ж у результаті броунівського руху мікрочастка зміщується в будь-якому напрямку щодо центру перетяжки (рисунок 1.2 (б, в)), відбувається зміна напрямку сумарного імпульсу світла після заломлення та розсіювання на частинці. Внаслідок закону збереження імпульсу виникають сили, що діють на мікрочастинку, що повертають її в положення рівноваги. У рівноважному положенні, тобто коли мікрочастинка знаходиться в центрі перетяжки лазерного пучка, рівнодіюча цих сил дорівнює нулю. Якщо ж мікрооб'єкт має менший у порівнянні з навколишнім середовищем показник заломлення, наприклад, повітряний міхур у воді, то під дією лазерного пучка він виштовхуватиметься з перетяжки. У цьому розгляді важливо також враховувати, що можливі ефекти відбиття та поглинання світла в частинці [4]. Це призводить до виникнення сили, пропорційної інтенсивності падаючого на частинку світлового потоку та спрямованої вздовж його розповсюдження. Якщо досліджувана частка недостатньо прозора на довжині хвилі лазерного випромінювання, що використовується, вона виштовхуватиметься з оптичної пастки, ефекту оптичного захоплення не буде відбуватися.

1.1.2 Робота оптичного пінцета у наближенні Релея

Під впливом зовнішнього електричного поля діелектричних мікрооб'єктах індукується дипольний момент. У випадках, коли діаметр захопленої в пастку частинки значно менше, ніж довжина хвилі світла, задовольняються умови розсіювання Релея, і частинку можна розглядати як точковий диполь у неоднорідному електромагнітному полі. Сила, що діє на діелектричну частинку в наближенні точкового диполя, визначається силою Лоренца:

$$F = (p \cdot \Delta)E + p \times B, \quad (1.1)$$

де E і B – вектори електричної та магнітної напруженості поля, відповідно;
 p – індукований в частинці диполь.

Перший доданок визначається взаємодією диполя з неоднорідним електромагнітним полем лазерного сфокусованого пучка. Другим членом можна знехтувати, так як він є похідною за часом величини, яка лінійно пов'язана з вектором Пойнтінга. При цьому вважається, що потужність лазера не змінюється з часом, тому середнє значення похідної цієї величини – нуль. Важливо відзначити, що в цьому випадку повна сила Лоренца, що діє на частинку в середовищі з показником заломлення n_m , може бути поділена на дві компоненти. Першу традиційно називають градієнтною силою [5]. Вона пропорційна градієнту інтенсивності лазерного випромінювання. Градієнтна сила визначається взаємодією диполя з неоднорідним електромагнітним полем:

$$F_{grad} = \frac{2\pi\alpha}{cn_m^2} \nabla I_0, \quad (1.2)$$

$$\alpha = n_m^2 a^3 \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right), \quad (1.3)$$

де I_0 – інтенсивність падаючого випромінювання;

n_m – показник заломлення середовища;

c – швидкість світла у вакуумі;

m – відношення показника заломлення частки до показника заломлення середовища (n_p / n_m) ;

α – поляризованість сфери.

Видно, що градієнтна сила спрямована по градієнту електромагнітного поля, тобто в область найбільшої інтенсивності світла в центрі перетяжки пучка, якщо $m > 1$. Друга складова сили – сила, пов'язана з ефектом

розсіювання лазерного випромінювання – пропорційна інтенсивності світла і спрямована вздовж поширення лазерного пучка [6]. Вона визначається поглинанням та перевипромінюванням світла точковим диполем. Для частки з радіусом $a \ll \lambda$ ця сила може бути записана наступним чином:

$$F_{scatt} = \frac{I_0 \sigma n_m}{c}, \quad (1.4)$$

$$\sigma = \frac{128\pi^5 a^6}{3\lambda^4} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2, \quad (1.5)$$

де σ – поперечний переріз розсіювання сфери;

λ – довжина хвилі випромінювання лазера, що формує пастку.

Унаслідок складання цих двох сил місце рівноважного положення захопленого в оптичну пастку об'єкта зміщується вздовж поширення пучка щодо положення максимуму інтенсивності (рис. 1.3).

Чорна лінія – сила, пов'язана з розсіюванням випромінювання, залежно від усунення захопленого мікрооб'єкта щодо осі лазерного пучка. Зелена лінія – градієнтна сила. Синя лінія – результуюча градієнтна сила і сила, пов'язана з розсіюванням лазерного випромінювання.

Стабільне захоплення мікрочастинки в однопроменевому оптичному пінцеті можливе, коли відношення градієнтної сили до сили, пов'язаної з розсіюванням, більше одиниці для положення з максимальним значенням градієнта інтенсивності.



Рисунок 1.3 – Додавання сили, пов'язаної з розсіюванням випромінювання, та градієнтної сили при оптичному захопленні мікрооб'єкта

Для гаусівського пучка з розміром фокальної плями ω_0 ці умови досягаються при аксіальному положенні об'єкта $z = \pi\omega_0^2 / \sqrt{3}\lambda$. Тобто умову стабільного оптичного захоплення можна записати наступним чином:

$$\frac{F_{grad}}{F_{scatt}} = \frac{3\sqrt{3}}{64\pi^5} \frac{n_m^2}{\left(\frac{m^2-1}{m^2+2}\right)} \frac{\lambda^5}{a^3\omega_0^2} \geq 1. \quad (1.6)$$

Оптичне захоплення за зазначених умов було неодноразово продемонстровано для мікрооб'єктів з різного матеріалу та з розмірами від десятків нанометрів до мікрометрів. Важливо підкреслити, що при зміщенні захопленого мікрооб'єкта з центру пастки на нього починає діяти сила повертання оптичного пінцета [7]. При цьому сила оптичного захоплення лінійно змінюється при невеликих зсувах об'єкта щодо центру пастки і набуває максимальних значень на певній відстані від неї, величина якого визначається параметрами оптичної пастки. Спостерігаючи за зміщеннями мікрооб'єкта з

оптичної пастки, для якої відома залежність її сили, що повертає від зміщення об'єкта, можна визначати зовнішню силу, під впливом якої відбулося це зміщення. Такий підхід отримав назву фотонно-силової мікроскопії. Таким чином, метод оптичного пінцету можна застосовувати для прямого вимірювання сил, які діють на об'єкт дослідження.

1.1.3 Розрахунок сил оптичного захоплення для частинок розміром порівнянним із довжиною хвилі

На практиці часто зустрічаються об'єкти дослідження, розміри яких не підходять під умови розсіювання Релея або наближення геометричної оптики – розміри цих об'єктів можна порівняти з довжиною хвилі лазерного випромінювання. Понад те, не завжди досліджувані об'єкти мають сферичну форму. Для розрахунку сил, які діють на такі об'єкти в оптичній пастці, використовують метод, коли розмір частинок, що вивчаються, і довжина хвилі лазерного випромінювання мають один порядок величини, а сама частка може мати несферичну форму [8]. Наближення плоских хвиль при розв'язанні задачі розсіювання світла на частинці у випадку, коли вона знаходиться в перетяжці лазерного пучка, не є вірним. Картина розсіювання на захопленій частинці залежить від її положення всередині пучка. Для точного вирішення рівнянь Максвелла та розрахунку картини розсіювання використовується метод Т-матриць, який полягає у встановленні зв'язку між хвилею, що падає на частинку, та розсіяною хвилею. Падаючу та розсіяну хвилі можна представити у вигляді розкладання по базису хвильових функцій $\psi_n^{(inc)}$ і $\psi_k^{(scat)}$, які є рішеннями рівняння Гельмгольца:

$$U_{inc} = \sum_n a_n \psi_n^{(inc)}, U_{scat} = \sum_k p_k \psi_k^{(scat)}, \quad (1.7)$$

де a_n , p_k – коефіцієнти розкладання для падаючої та розсіяної хвиль, відповідно, зв'язок між якими можна записати наступним чином:

$$p_k = \sum_n T_{kn} a_n, \quad (1.8)$$

або:

$$P = TA, \quad (1.9)$$

де T_{kn} – елементи Т-матриці.

Вид Т-матриці визначає розмір, орієнтацію у просторі, форму, склад частинки, що розглядається, і довжина хвилі випромінювання [9]. Електричні поля до і після розсіювання на частинці (E_{in} і E_{out} , відповідно) можуть бути розкладені в ряд за векторними сферичними хвильовими функціями:

$$E_{in} = \sum_{n=1}^{\infty} \sum_{m=-n}^n a_{nm} M_{nm}^{(2)}(kr) + b_{nm} N_{nm}^{(2)}(kr), \quad (1.10)$$

$$E_{out} = \sum_{n=1}^{\infty} \sum_{m=-n}^n p_{nm} M_{nm}^{(1)}(kr) + q_{nm} N_{nm}^{(1)}(kr), \quad (1.11)$$

де:

$$M_{nm}^{(1,2)}(kr) = N_n h_n^{(1,2)}(kr) C_{nm}(\theta, \phi), \quad (1.12)$$

$$N_{nm}^{(1,2)}(kr) = \frac{h_n^{(1,2)}(kr)}{krN_n} P_{nm}(\theta, \phi) + N_n \left(h_{n-1}^{(1,2)}(kr) - \frac{nh_{n-1}^{(1,2)}(kr)}{kr} \right) B_{nm}(\theta, \phi), \quad (1.13)$$

де $h_n^{(1,2)}(kr)$ – сферичні функції Ханкеля першого та другого порядку,

$$N_n = [n(n+1)]^{-\frac{1}{2}} - \text{нормувальні константи,}$$

$$B_{nm}(\theta, \phi) = r \nabla Y_n^m(\theta, \phi), \quad C_{nm}(\theta, \phi) = \nabla(r Y_n^m(\theta, \phi)), \quad P_{nm}(\theta, \phi) = r \nabla Y_n^m(\theta, \phi) -$$

векторні сферичні гармоніки,

$$Y_n^m(\theta, \phi) - \text{нормовані скалярні сферичні гармоніки.}$$

Після обчислення векторних сферичних функцій хвиль для одного положення початку координат, можливе обчислення змін векторних сферичних функцій хвиль при обертанні системи координат або переміщенні початку відліку за схемами послідовних наближень [10]. Таким чином можна визначити поля E_{in} та E_{out} . Далі можна обчислити оптичну силу, що діє на досліджувану частинку, інтегруючи максвеллівський тензор напруги по поверхні, що оточує частинку.

1.2 Принципова експериментальна схема оптичного пінцету

Типові експериментальні установки однопроменевого оптичного пінцету зазвичай включають такі елементи. Для формування оптичної пастки використовуються одномодові лазери, найчастіше з TEM_{00} модою, що мають високу стабільність потужності випромінювання. Діапазон довжин хвиль випромінювання таких лазерів найчастіше вибирається з ближнього інфрачервоного діапазону, оскільки саме в цьому діапазоні велика частина матеріалів має дуже невисоке поглинання [11]. Для досягнення фокусування лазерного променя використовуються високоапертурні об'єктиви. Принципова схема такої експериментальної установки оптичного пінцету наведена на рис. 1.4.

Світло від лазера проходить через формувач пучка, наприклад, конфокальну систему лінз. Таким чином, пучок розширюється і надходить на вхід об'єктива з великою числовою апертурою. Це необхідно для створення максимально можливого градієнта електромагнітного поля у перетяжці лазерного пучка [12]. Предметний столик, на якому міститься кювета із зразком, повинен дозволяти переміщувати зразок щодо оптичної пастки в трьох вимірах.

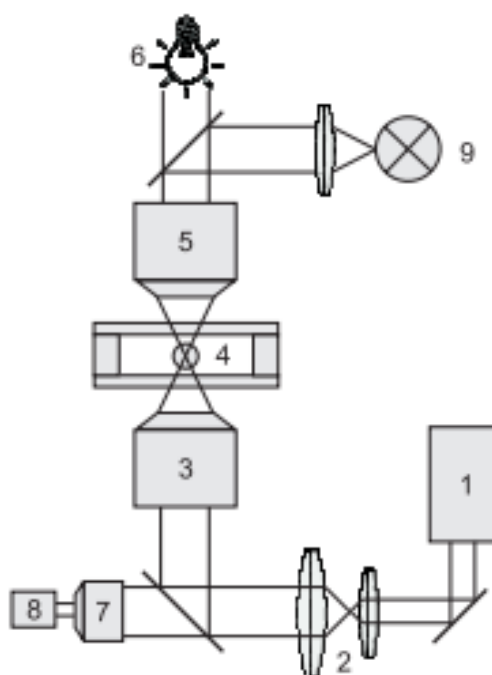


Рисунок 1.4 – Принципова схема оптичного пінцету

Схема включає в себе такі елементи: 1 – лазер, 2 – формувач пучка, 3 – об'єктив з високою числовою апертурою, що формує оптичну пастку, 4 – досліджуваний зразок, 5 – конденсор, 6 – освітлювач, 7 – фотоокуляр, 8 – відеокамера, 9 – квадрантний фотодіод. Спостереження захоплених об'єктів здійснюється зазвичай за допомогою мікроскопа, наприклад, в геометрії "на просвіт": на зразок світло надходить через конденсор від освітлювача, проходить через досліджуваний зразок і збирається об'єктивом. Потім розсіяне зразком світло відбивається від діелектричного дзеркала і фотоокуляра

направляється на цифрову камеру. Для більшості завдань, пов'язаних з використанням методу оптичного пінцету, потрібна можливість вимірювання малих зміщень, захоплених у пастку мікрооб'єктів. Це може бути реалізовано у різний спосіб. Поширеним підходом є відеореєстрація зсувів мікрооб'єктів, при якому можна досягти субпіксельної точності визначення положення об'єкта, аж до 10 нм, при використанні спеціальних алгоритмів обробки зображення [13]. Альтернативним підходом є пряме детектування положення захопленого об'єкта за допомогою квадрантних фотодіодів. Квадрантний фотодіод являє собою чотири незалежні фотодіоди, робоча поверхня яких – є квадранти одного кола. Зазвичай для вимірювання малих зміщень захопленого об'єкта використовується або додатковий лазер, який також направляється і фокусується в область захоплення, або використовується лазер, що формує оптичну пастку. Розсіяне випромінювання від захопленого мікрооб'єкта прямує на квадрантний фотодіод. При зміщенні об'єкта в оптичній пастці зміщується по поверхні фотодіода і розсіяний об'єктом лазерний пучок. Незалежні вимірювання сигналу з кожного сектора, а також вимір сумарного сигналу з усіх чотирьох секторів дозволяють визначити зміщення розсіяних захопленими об'єктами променів, а значить і зміщення самих об'єктів за трьома координатами. Природним розвитком однопроменевої модифікації оптичного пінцету є багатопроменеві установки, які дозволяють створювати одночасно кілька незалежних оптичних пасток у площині зразка. Для цього або використовують схеми з декількома лазерами для формування оптичних пасток, або єдиний лазерний пучок пропускають через акусто-оптичний дефлектор або просторовий модулятор світла. За допомогою акусто-оптичного дефлектора лазерне випромінювання можна розділити в часі на кілька променів, а за допомогою дифракційних оптичних елементів – розбити на кілька променів у просторі.

2 ПРАКТИЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ ТА УДОСКОНАЛЕННЯ ОПТИЧНОГО ПІНЦЕТА

2.1 Области застосування оптичного пінцету

Оптичні пінцети – безконтактний інструмент, що використовує один або кілька лазерних пучків для генерації сил порядку піконьютонів, достатніх для маніпулювання об'єктами мікросвіту. Ця можливість представляє особливий інтерес у ряді областей: атомна фізика, біологія, мікрохірургія, нанотехнології та мікромеханіка, а також при вивченні якостей колоїдів, мікропотоків і світлових пучків [14]. Оптичне маніпулювання за допомогою лазерів застосовується до об'єктів від атомів до великих молекул і невеликих діелектричних частинок, що варіюються у розмірі від десятків нанометрів до десятків і сотень мікрометрів, також до таких біологічних об'єктів, як віруси, окремі живі клітини та внутрішньоклітинні включення.

За допомогою оптичних пінцетів вимірювали механічні властивості молекул ДНК, причеплені до їх кінців полістирольні намистинки і розносили їх. Дослідники з Гарвардського університету вкладали еритроцити (клітини крові) на білкову підставку в кільця, ланцюжки і тетраедри, створюючи моделі клітинних "датчиків", налаштованих на виявлення певних хімічних речовин. Оптичний пінцет вже зараз використовують для пересадки генів в клітини, а також при штучному заплідненні в пробірці.

Вельми цікаві експерименти виконані в уторському біологічному дослідному центрі. Там розроблена методика отримання мікроскопічних об'єктів довільної форми в результаті полімеризації клейкої маси під дією світла. Оптичний пінцет на основі інфрачервоного ($\lambda = 0,994$ мкм) напівпровідникового лазера захоплював і утримував у фокусі мікрочастинки. Далі використовувалася так звана двофотонна методика: клей висвітлювали ультрафіолетовим лазером, що генерує дві різні довжини хвилі поблизу 0,340 мкм, а необхідна для полімеризації інтенсивність досягалася фокусуванням в потрібній точці випромінювання аргонного лазера

($\lambda = 0,514$ мкм). В результаті впливу світла утворювався твердий полімер. Високоточний трьох координатний п'єзоелектричний маніпулятор, керований комп'ютером, переміщував матеріал щодо фокусу, створюючи мікроскопічні деталі – ротори, шестерінки, пропелери.

Було виявлено, що при зсуві точки фокусу світло, відхиляючись від частки, призводить її в обертання. Величина і напрям моменту обертання залежать від орієнтації ротора або шестерінки в фокусі. Якщо ротор оснащувався центральною віссю, стійкість його захоплення в пінцеті підвищувалася, а при збільшенні числа зубців шестерні обертання ставало більш рівномірним. При потужності випромінювання 20 мВт конструкція рівномірно оберталася з частотою до декількох оборотів в секунду. Звідси – ще один крок до створення діючих мікромашин, керованих світлом. Автори сконструювали дві зчеплені шестерінки, що знаходяться на фіксованих осях, і вільно плаваючий ротор [15]. Ротор захоплювали лазерним пінцетом, приводили в обертання і потім підводили до пари шестерень, змушуючи їх крутитися.

Винахід оптичного пінцета вчинив справжню революцію в мікротехніці. Зараз в безлічі лабораторій ведеться відпрацювання методів його використання в різних областях. Можна з упевненістю сказати: оптичний пінцет – це інструмент, який відіграє надзвичайно важливу роль в наукових дослідженнях XXI століття.

З моменту винаходу в 80-х роках метод оптичного пінцету став широко застосовуватися в різних наукових галузях через можливість точного безконтактного позиціонування об'єктів мікронного розміру в трьох вимірах, а також виміру малих сил взаємодії між мікрооб'єктами. Наприклад, застосування методу голографічного пінцету дає можливість як створювати тривимірну пастку довільної форми, так і управляти частками, що у ній. Тому метод широко використовують для виготовлення двох- і тривимірних мікроструктур. Метод оптичного пінцету дозволяє проводити сортування частинок або зближувати їх на задану відстань та вивчати взаємодію між ними.

Широкого поширення набуло поєднання методу оптичного пінцету та спектроскопії комбінаційного розсіювання світла. Спектроскопія комбінаційного розсіювання – ефективний метод вивчення складу та будови речовин. Сутність явища комбінаційного розсіювання полягає в тому, що в спектрі розсіяного світла крім релеевського розсіювання на частоті ліній збуджуючого світла присутні додаткові лінії, розташовані з довгохвильової і короткохвильової сторони від кожної спектральної лінії. Ці додаткові лінії характеризують власні внутрішньомолекулярні, міжмолекулярні та граткові коливання речовини [16]. Великий інтерес представляє спектроскопія живих клітин, поміщених у природне їм рідке середовище. Однак однією з основних проблем тут є точне позиціонування клітин або інших мікрооб'єктів у просторі для отримання інформативних та якісних спектрів. Саме тому метод оптичного пінцету виявився надзвичайно корисним у цій галузі, оскільки він дозволяє захоплювати необхідну кількість об'єктів у потрібній конфігурації та обмежувати їх броунівський рух. Зважаючи на унікальну особливість неруйнівного управління положенням мікрооб'єктів, метод оптичного пінцету набув широкого поширення для дослідження біологічних мікрооб'єктів. Це відбувається через те, що більшість біологічних мікрооб'єктів практично не поглинають в інфрачервоному діапазоні довжин хвиль, які зазвичай використовуються для формування оптичних пасток. Однак, існує низка робіт, спрямованих на дослідження ефекту нагріву біологічних об'єктів, які знаходяться в оптичній пастці. Зазвичай інтенсивність випромінювання лазерної пастки при фокусуванні в пляму розміром близько 1 мкм має порядок МВт/см^2 . Тому оцінка нагріву об'єктів, що досліджуються, є важливою для коректної інтерпретації експериментів. Для інтенсивностей лазерного випромінювання в оптичних пастках менше 50 – 100 мВт на інфрачервоних довжинах хвиль ефект нагрівання біологічних об'єктів малий і може носити руйнівний характер тільки при тривалому перебуванні біологічного мікрооб'єкта в оптичній пастці. Тому вивчення біологічних об'єктів використовують інфрачервоне лазерне випромінювання. Кількісне

характеризування мікромеханічних властивостей різних середовищ, зокрема розчинів полімерів, біологічних тканин та мембран клітин на сьогоднішній день є актуальним завданням. Більше того, цікавим є питання розробки різних методик, що дозволяють проводити цю характеристикацію для широкого діапазону частотних та просторових масштабів. На сьогоднішній день існує термін, що об'єднує всі методики, суть яких полягає у використанні частинок мікронного розміру в якості зондів при їх зсувах всередині досліджуваних середовищ для визначення локальних в'язкопружних властивостей середовищ – мікрореологія. При цьому розрізняють так звану пасивну реологію, яка передбачає аналіз низькочастотних (від 1 Гц до 100 Гц) випадкових теплових зміщень мікрозондів, статистика рухів яких визначається властивостями навколишнього середовища, та активну реологію, яка передбачає аналіз відгуку досліджуваного середовища на частоті зовнішнього впливу при вимушеному коливанні зонда всередині цього середовища [17]. Метод оптичного пінцету значно розширив можливості застосування активної та пасивної реології, дозволяючи контрольовано позиціонувати та зміщувати оптично захоплені мікрочастинки. Метод оптичного пінцету широко використовується у визначенні мікромеханічних властивостей біологічних об'єктів. Метод оптичного пінцету дозволяє вивчати механізми та динаміку молекулярних моторів, таких як кінезин, міозин та дінеїн. Ще одними об'єктами, дослідження яких здійснюють за допомогою методу оптичного пінцету, є формені елементи крові, зокрема еритроцити.

2.1.1 Маніпулювання біоб'єктами

У біології оптичні пастки відкривають можливості безконтактної дії (без оптичного руйнування) на живі клітини. Оптичний пінцет дозволяє керувати окремими молекулами з точністю до нанометрів та вимірювати сили, що діють на ці молекули, з точністю від 1 пН до 100 пН. Поява оптичних пасток відкрила кілька важливих областей дослідження у біофізиці: маніпуляції з живими

вірусами та бактеріями, окремими молекулами ДНК та людськими гаметами; клітинна мікрохірургія, дослідження рухових протеїнів, мітотичних хромосом та ін. Серед унікальних додатків – вивчення рухових молекул та механоензимів. Завдяки оптичній пастці було детально відстежено їхній покроковий рух з точністю приблизно 10 нм/крок, коли вони рухаються вздовж субмікронної трубки. В останніх експериментах, що вражають уяву, – прямі вимірювання сил, створених РНК-полімеразою при русі вздовж молекули ДНК. Нові експерименти з маніпулювання окремими молекулами дозволили перевірити фізичні моделі, що описують властивості ДНК способом, який був раніше неможливий. З'явилася можливість спостерігати активність окремого ензиму, що діє на молекулу ДНК, та простежувати сили, якими молекули рухових тканин (органів) впливають на біологічні молекули. Стало можливим безпосередньо контролювати вплив зв'язування білків ДНК на властивості ДНК та використовувати ці вимірювання, щоб визначити енергію взаємодії. Детальні знання індивідуальних взаємодій між молекулами важливі розуміння складних механізмів, які у реальних біологічних процесах [18]. Інша велика область – вимір механічних (пружних) властивостей частин клітин цитоплазми, джгутиків бактерій, світлочутливих оболонок клітин еритроцитів, окремих мікротрубок ендоплазматичної мережі, окремих світлочутливих волокон, мембран нервових клітин, довгих спіралей окремих молекул ДНК. Можливість поділу живих клітин була застосована для пошуку та клонування нових високотемпературних анаеробних бактерій, що має важливе значення у відкритті нових високотемпературних ензимів. Ведуться дослідження з розпізнавання клітин, зварювання клітин, вивчення руху хромосом під час поділу клітин. Комбінування оптичних пасток з іншими лазерними пучками дозволяє використовувати їх у мікрохірургії. Наприклад, захоплюється хромосома інфрачервоним (1064 нм) лазером-пасткою та розрізається на невеликі частини зеленим (532 нм) лазером. Такий пристрій називається «оптичним скальпелем». Це можливо, так як більшість біологічних структур

практично не поглинають в інфрачервоній ділянці, але сильно поглинають світло зеленої частини оптичного діапазону довжин хвиль.

2.1.2 Фізика колоїдів

Оптичні пастки дозволяють досліджувати сили, що виникають при взаємодії колоїдів, полімерів, а також вибудовувати кілька колоїдних частинок у різні структури. Використання оптичної пастки дозволило провести точні вимірювання з дуже високою роздільною здатністю динаміки поведінки колоїдних частинок у розчині за дуже короткий час. Ентропійні сили взаємодії між двома великими (розміром порядку мкм) сферичними частинками, поміщеними в розчин колоїдних частинок набагато меншого розміру, були виміряні за допомогою оптичної пастки, що лінійно сканує. При цьому частинки «нанизані» на протяжний (лінійний) фокус вільно переміщуються в одному напрямку – вздовж фокальної лінії та обмежені у будь-якому перпендикулярному напрямку [19]. Така методика дозволила провести вимірювання функціональної форми потенційної ями з високою роздільною здатністю (15 нм). Вимірювання показали, що при низькій концентрації колоїдного розчину сила тяжіння великих частинок є монотонною, при високій концентрації великі частинки дуже рідко притягувалися один до одного, що можна розглядати як новий спосіб стабілізації суспензії тільки на основі ентропії.

2.1.3 Мікромеханіка

Останнім часом тенденція до мікромініатюризації у дослідженнях та розробках робить актуальним виробництво мікромашин та молекулярних двигунів, розробку мікромеханізмів та мікрокомпонент. Лазерні пінцети дають можливість безконтактного маніпулювання крихкими об'єктами, зменшуючи ризик їхнього розлому, забруднення та псування. Нещодавно було показано

можливість захоплення, маніпулювання, орієнтування та обертання несферичних частинок. Мікромеханізми можуть бути різної форми, залежно від завдання, яке вони виконують. Складність механізму визначається кількістю деталей та етапів складання [20]. Розглядалося оптичне захоплення в області перетяжки сильно сфокусованого гаусівського пучка частинок, що мають різні форми: сферичну, циліндричну, кільцеву, зіркоподібну, кубічну та інше, розміром від 1 мкм до 10 мкм. Безконтактне маніпулювання та орієнтування таких об'єктів забезпечує можливість спрощення складання (монтажу), активації та, можливо, ремонту мікромеханізмів. У дослідженнях використовується оптичний крутний момент (порядку 10–15 Н·м) для управління обертанням мікромашинного елемента, захопленого в оптичній пастці. В експерименті мікромашинний двопроменезаломлюючий елемент (квадратка) з вуглекислого кальцію (CaCO_3) розміром 1 мкм захоплена і обертається (з частотою до 350 Гц) сфокусованим лазерним пучком (1064 нм, потужність 300 мВт) з круговою поляризацією. При цьому оптичний обертальний момент передається другому мікромашинному елементу (шістка з 6 зубцями) діаметром 10 мкм (зубці розміром близько 1 мкм) з аморфного діоксиду кремнію (SiO_2 , $n = 1,46$) через рух навколишньої рідини (вода). Другий елемент було виготовлено методом фотолітографії. Матеріал був вибраний так, щоб елемент був достатньо прозорим, щоб не піддаватися оптичному руйнуванню, і показник заломлення був вищим, ніж у навколишнього середовища. Максимальний обертальний момент, який може бути отриманий при падінні світла з круговою поляризацією на двопроменезаломлюючий кристал, досягається при товщині $\lambda/2$. Наприклад, частинки CaCO_3 товщиною 1,4 мкм будуть $\lambda/2$ -пластинами для світла з довжиною хвилі $\lambda = 488$ нм. При цьому оптичний обертальний момент не дуже великий. Ефективність передачі імпульсу між мікроелементами приблизно дорівнює 50 %. Однак простіше та ефективніше обертати безпосередньо діелектричні елементи мікромеханізмів, наприклад, за рахунок передачі їм орбітального кутового моменту вихрового лазерного пучка (рис. 2.1).

Формування таких пучків можливе за допомогою оптичних дифракційних елементів.



Рисунок 2.1 – Передача обертального моменту від двопротенезаломлюючого кристалу кремнівості шістки

2.1.4 Екстракорпоральне запліднення

Сучасне штучне запліднення включає безліч допоміжних репродуктивних технологій. Якщо їх родоначальник – метод екстракорпорального запліднення з наступним підсадженням ембріона в матку вирішував лише частину проблем, зокрема непрохідність фалопієвих труб у жінок, то сучасні репродуктивні технології і насамперед мікрохірургія значно розширили можливості методик, і тепер вони можуть допомогти значно більшій кількості пар, які страждають на безпліддя.

Мікрохірургічні методи ефективні при виборі та іммобілізації найякіснішого сперматозоїда при патологіях сперми та при допоміжному хетчингу, тобто штучному стоншенні або просто видаленні частини блискучої (зовнішньої) оболонки яйцеклітини [21]. Якщо вона занадто товста або занадто міцна, то зародок не може з неї вилупитися, щоб прикріпитися до стінки матки. Також мікрохірургія ембріона використовується для його преімплантаційної

ДНК-діагностики, щоб гарантувати відсутність можливих генетичних порушень у майбутнього немовляти.

Зазвичай у сучасних клініках для мікрохірургії ембріона використовують механічний мікроманіпуляційний спосіб. Ембріолог за допомогою спеціального мікроманіпулятора та тонких скляних мікроінструментів під мікроскопом проводить ці складні процедури. Кожна операція залишається унікальною, повністю автоматизувати маніпуляції хірурга неможливо.

У арсеналі мікрохірурга з'явилися лазерні скальпелі. Вони вбудовані в робочий інструмент ембріолога – інвертований мікроскоп, як правило, із відеокамерою. Об'єктив мікроскопа використовується для фокусування лазерного випромінювання у пляму діаметром кілька мікрометрів.

Умовно ці системи можна поділити на два покоління: пасивні та активні. У перших лазерний промінь нерухомий, і мікрохірург вручну підводить ембріон до області лазерного фокусування [22]. Це зручніше, ніж "колування" скляною голкою, але автоматизація процесу неможлива.

Друге покоління, з керованим лазерним променем, дозволяє певною мірою автоматизувати мікрохірургічні процедури. Хірург намічає область (або кілька областей) лазерної дії на зображенні ембріона на екрані персонального комп'ютера і запускає процедуру.

Сьогодні в клінічній практиці лазер застосовується в основному для виконання лише одного етапу процедури біопсії – для формування отвору в оболонці ембріона, наступний забір клітинного матеріалу здійснюється вручну за допомогою мікропіпеток.

Ультракоротка тривалість лазерного імпульсу у поєднанні з малою енергією забезпечують максимальну безпеку при дії на біологічні об'єкти.

При патологіях не всі сперматозоїди досить рухливі, іноді потрібно їм допомогти досягти яйцеклітини. Скляною піпеткою ловлять найбільш активний сперматозоїд і знерухомлюють, перетерши хвіст. Ці процедури можна виконати безконтактно – здійснити захоплення ембріона оптичним пінцетом, впливом

одиначного фемтосекундного лазерного імпульсу відсікти/надсікти хвіст і підвести сперматозоїд до яйцеклітини за допомогою того ж оптичного пінцету.

Відмінною особливістю згаданих вище лазерних систем є велика тривалість лазерного імпульсу – мікро-і навіть мілісекунди (рис. 2.2).

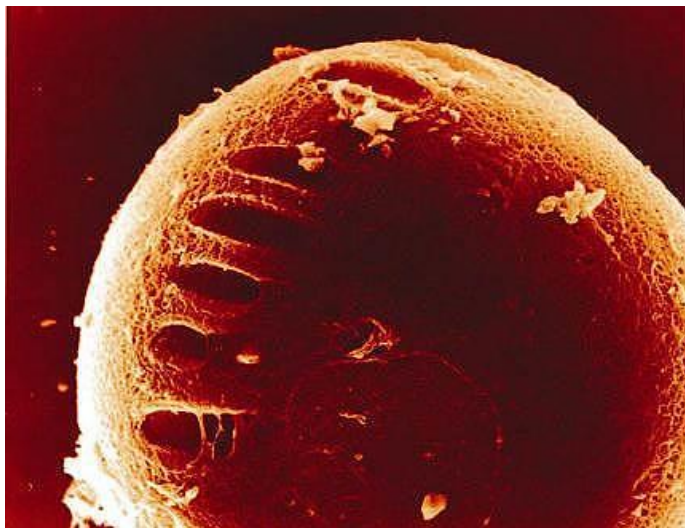


Рисунок 2.2 – Мікрофотографія захисної оболонки ембріона після впливу мілісекундного лазера

При цьому температура в зоні фокусування променя діаметром кілька мікрометрів може досягати кілька десятків і навіть сотні градусів і супроводжується перенесенням тепла до прилеглих ділянок. Програмне забезпечення деяких лазерних систем дозволяє розрахувати температуру поза областю лазерного фокусування залежно від параметрів лазера – потужності та тривалості імпульсу. Розраховані ізотерми у вигляді концентричних кіл накладаються поверх зображення ембріона, що дозволяє фахівцеві оцінити ризики термічного впливу на ембріон (рис. 2.3). Все це змушує використовувати лазерні системи з великою обережністю.

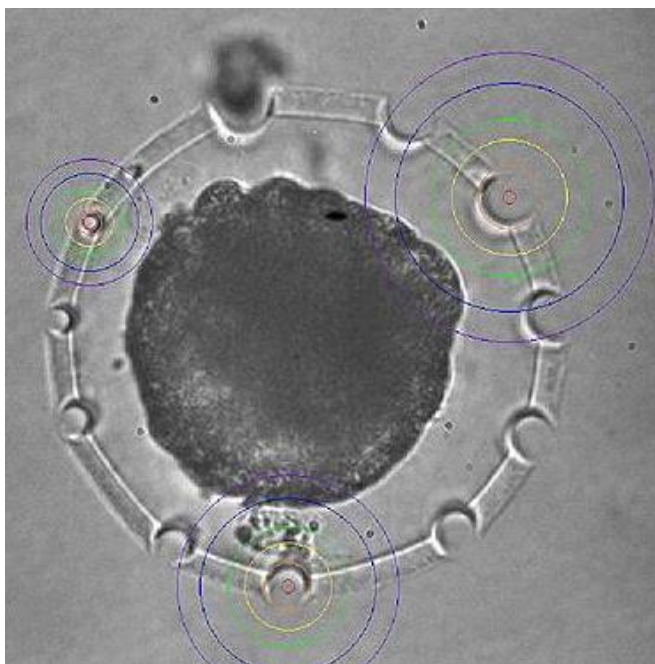


Рисунок 2.3 – Мікрофотографія ембріона після серії пробних лазерних дій

Потужність лазерного випромінювання не змінюється, а регулювання енергії здійснюється тривалістю лазерного імпульсу. Ізотерми (за годинниковою стрілкою) представлені для трьох значень тривалості імпульсів: 5 мс, 3 мс та 1 мс. Колір кола-ізотерми: фіолетовий – 50 С, синій – 60 С, зелений – 80 С, жовтий – 100 С. Помаранчеве коло позначає розмір отвору в оболонці, що формується.

2.2 Шляхи розвитку оптичного пінцету

2.2.1 Пінцети на Бесселевих пучках

Принцип дії оптичного пінцета заснований на тому, що світловий потік має імпульс і при зміні його напрямку виникає сила, пов'язана з цією зміною.

Оптичний пінцет є зручним інструментом, що має, однак, ряд недоліків.

По-перше, чим сильніше стягнутий пучок в фокус, тим швидше він розходиться після нього. Це означає, що сила, що утримує частку, дуже швидко падає в міру віддалення від зони захоплення, і вже на відстані кількох десятків

мікрон від фокуса виявляється недостатньою, щоб знову захопити частку. Пастка в одному пучку реально корисна лише для захоплення одиночної частинки і тільки в області фокуса.

По-друге, лазерний пучок після зустрічі з об'єктом буде відрізнятися від вихідного через дифракції, заломлення, відображення і поглинання. Це також обмежує відстань, на якому він може діяти як оптичний пінцет.

Існує і ще одна обставина, пов'язана з розходженням самого лазерного пучка. Чим сильніше він розходить, тим гірше його фокусує оптична система, але отримати ідеально паралельний пучок принципово неможливо через дифракції. І довгий час не було навіть думки про те, що можна якось обійти це обмеження. Але в 1987 році американські фізики Дж. Дарнін, Дж. Майсел і В. Еберлі показали, що існує клас світлових пучків, фактично вільних від дифракції [23]. Їх проекція на екран виглядає як яскрава пляма, оточене системою концентричних кілець (такий розподіл інтенсивності описує відома в математиці функція Бесселя, і тому самі пучки називають Бесселеві).

Звичайний гаусів пучок перетворюють в Бесселя за допомогою так званого аксікона – конічної лінзи, яка фокусує паралельний пучок променів не в точку, а в відрізок прямої лінії на оптичній осі. Цей центральний промінь подібний "світловому потоку" постійної інтенсивності, який розходить.

Бесселевому пучку притаманна одна чудова властивість. На відміну від гауссового пучка, який спотворюється після проходження через частку, він має здатність самотійно відновлюватися. Частина хвиль, що виходять з конічної поверхні аксікона, проходять повз перешкоди і сходяться позаду нього; їх інтерференція утворює неспотворений пучок (рис. 2.4). Це дозволяє подолати обмеження, притаманне оптичному пінцету на гауссовому пучку, здатному захопити лише частки, розташовані дуже близько одна до одної.

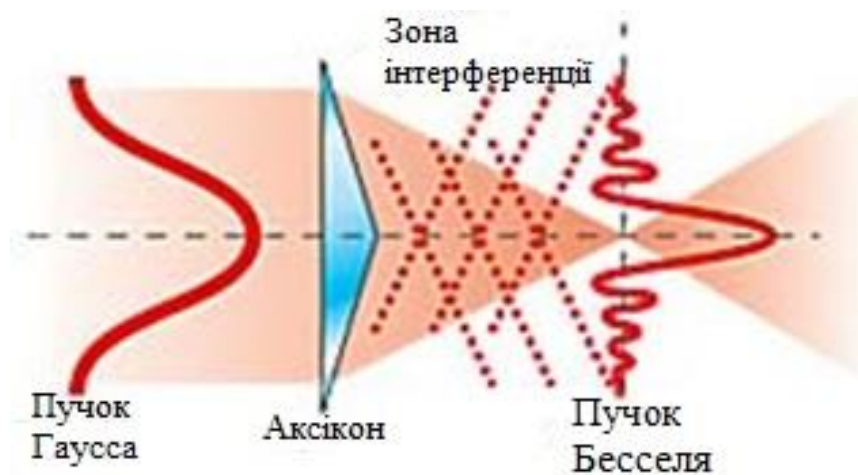


Рисунок 2.4 – Схема оптичного пінцета на Бесселевих пучках

Було показано, що оптичний пінцет, який використовує пучок Бесселя, здатний захоплювати частинки, рознесені на відстань 3 міліметри і лежать в окремих незалежних осередках. У цих експериментах використовувалося лазерне випромінювання з довжиною хвилі 1,064 мкм, утворює пучок Бесселя з яскравим центральним плямою, оточеною 19-ю кільцями. Загальна потужність випромінювання становила 700 мВт, з яких на центральну пляму доводилося приблизно 35 мВт. Захоплювалась порожниста сфера діаметром близько 5 мк між центральною плямою і першим кільцем пучка. Сфера спотворювала пучок, який за нею відновлювався і працював як оптичний пінцет, який зведе разом три кварцові сфери діаметром 5 мк. Після цього пучок відновлювався ще раз.

Інша відмінність оптичних пінцетів на Бесселевих пучках полягає в їх здатності захоплювати відразу кілька різних частинок. Наприклад, в експериментах проводилося одночасне захоплення суцільної кварцової сфери в першій клітинці, порожнистої сфери в другій і частки з двозаломлюючого матеріалу в третій [24]. Порожня сфера має менший показник заломлення, ніж вода, що заповнює осередки, і тому виштовхується з областей високої інтенсивності світла. Її захоплення відбувалося в темних зонах Бесселевого пучка між кільцями.

2.2.2 Багатопроменевий оптичний пінцет

Для захоплення та керування протяжними мікрооб'єктами, а також для вивчення взаємодії між декількома мікрооб'єктами за допомогою методу оптичного пінцету необхідно створення кількох оптичних пасток, що працюють одночасно. Оптичні пінцети, що дозволяють працювати з кількома оптичними пастками, називаються багатопроменевими. Існує кілька підходів до створення багатопромених оптичних пінцетів. Часто застосовується кілька джерел лазерного випромінювання, і реалізуються схеми із незалежними лазерними пучками. Також існують способи отримання кількох оптичних пасток з одного лазерного пучка. Для здійснення розгортки та тимчасової модуляції лазерного променя з частотою (близько 1 МГц), високою порівняно з характерними частотами броунівського руху частинок у пастці (близько 100 Гц), використовуються акустооптичні або електрооптичні дефлектори.

Акустооптичний дефлектор являє собою кристал, до одного з країв якого прикріплений п'єзоелемент. При подачі напруги на п'єзоелемент кристалу поширюється акустична хвиля, яка створює динамічну дифракційну решітку для лазерного пучка, що проходить через кристал. Змінюючи та модулюючи напругу на акустооптичний дефлектор, перший дифракційний максимум лазерного пучка відхиляється на контрольовані кути [25]. Швидка модуляція призводить до того, що оптична пастка перемикається між різними положеннями в просторі, створюючи ефективно кілька пасток, що одночасно працюють. У електрооптичних дефлекторах показник заломлення кристала змінюється при застосуванні зовнішнього електричного поля. Відхилення лазерного променя в такому кристалі на кути близько 20 мрад може бути досягнуто за час близько 100 нс. Однак електрооптичні дефлектори не набули широкого поширення в системах оптичного захоплення через свою високу вартість та обмеженість кутів відхилення променів. Поширеним способом є використання традиційних гальванічних дзеркал, що сканують. Існуючі комерційні рішення дозволяють досягти значення частоти зміни положення

дзеркал близько 1–2 кГц за точності кута відхилення лазерного пучка близько 8 мрад. Іншим підходом до створення одночасно великої кількості пасток є метод голографічного пінцету. Щоб розбити вихідний лазерний промінь на кілька для формування декількох незалежних оптичних пасток з параметрами, що задаються, використовується просторовий модулятор світла. Просторовий модулятор світла дозволяє використовувати динамічну голограму для формування довільного заздалегідь заданого розподілу інтенсивності лазерного випромінювання в області досліджуваного зразка. Принципова схема голографічного оптичного пінцету з використанням просторового модулятора світла представлена на рисунку 2.5.

Такий метод дозволяє захоплювати задану кількість частинок із заданим розміром у заданій конфігурації та незалежним чином керувати їх положенням у трьох вимірах. Застосування голограм та інших дифракційних оптичних елементів дає можливість створювати не тільки лазерні пучки з гаусовим профілем, але так само і моди вищого порядку, наприклад, табор-гаусові моди, що дозволяють передавати захопленому об'єкту крутний момент і обертати його всередині оптичної пастки.

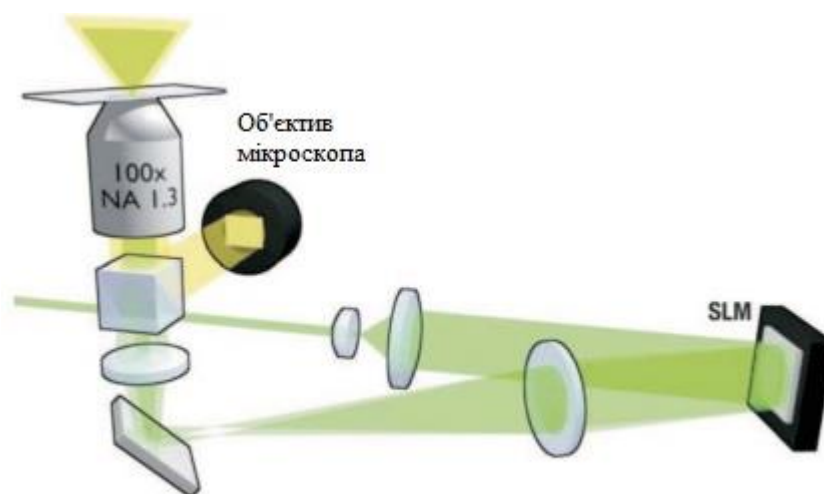
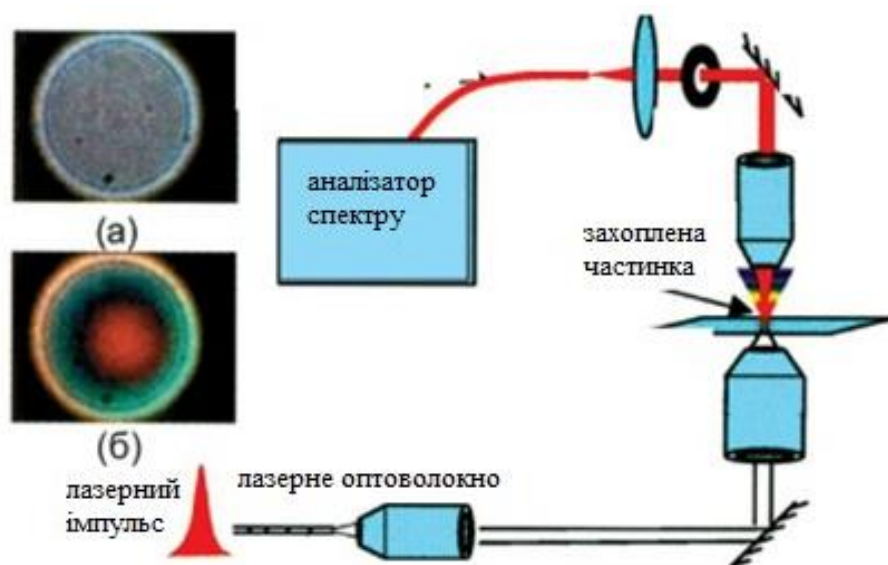


Рисунок 2.5 – Принципова схема встановлення голографічного оптичного пінцету

2.2.3 Оптичний пінцет на суперконтиніумі

Традиційно для створення оптичного пінцету використовують монохроматичне лазерне випромінювання. Однак досить велике коло завдань пов'язане з локальною спектроскопією мікрооб'єктів. Пропонується використовувати суперконтиніум як джерело випромінювання, що формує оптичну пастку [26]. З одного боку, суперконтиніум має дуже високий ступінь просторової когерентності, тому може бути жорстко сфокусований на малу пляму для формування ефективної тривимірної пастки. З іншого боку, характерний для суперконтиніуму широкий спектр дозволяє поєднувати можливості захоплення, управління та спектроскопії одиничних частинок в одній установці. Схему установки наведено на рисунку 2.6.



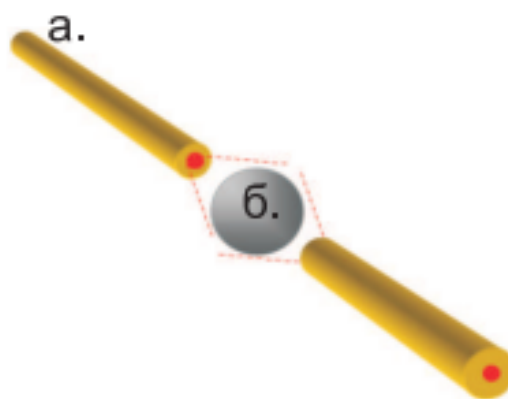
а – порожня оптична пастка; б – розсіювання світла на захопленій частинці з латексу діаметром 2 мкм.

Рисунок 2.6 – Схема установки оптичного пінцету на суперконтиніумі

Фемтосекундний лазерний імпульс титан-сапфірового лазера надходить на фотонно-кристалічне оптоволокну, на виході з якого випромінювання має суцільний спектр в діапазоні довжин хвиль від 500 нм до 1500 нм. Це відбувається через сукупність нелінійних ефектів в кристалічному оптоволокну, які призводять до надширення спектру випромінювання, що виходить.

2.2.4. Волоконно – оптичний пінцет

У такій реалізації методу оптичного пінцету лазерне випромінювання подається через оптичне волокно. Волокно підбирається таким чином, щоб на виході з нього існував такий градієнт інтенсивності лазерного випромінювання, щоб при установці двох оптичних волокон співвісно, поблизу центрального положення утворилася оптична пастка (рис. 2.7). Поперечна стабільність захоплення мікрооб'єктів у такій пастці досягається за рахунок наявності градієнтних сил в області накладання випромінювання від двох волокон [27]. Стабільність захоплення вздовж осі розповсюдження випромінювання досягається за рахунок рівності сил тиску світла на об'єкт з боку протилежних джерел. Така реалізація значно простіша порівняно з оптичними пінцетами з урахуванням мікроскопів, оскільки потребує дорогих і складних оптичних елементів.



а – оптичне волокно, б – захоплена частка.

Рисунок 2.7 – Схема роботи волоконно-оптичного пінцету

Ще одна перевага даного методу полягає в тому, що оптичні волокна та захоплений у пастку об'єкт досить далеко рознесені один від одного в просторі, що дозволяє одночасне використання інших оптичних або механічних методів вивчення об'єкта. Подібний метод дозволяє не тільки захоплювати мікрооб'єкти, а й керувати ними, змінюючи потужність випромінювання на виході одного з волокон.

2.3 Межі можливості захоплення частинок в оптичну пастку

Принципова можливість оптичного захоплення об'єктів визначається балансом між контрастом показників заломлення об'єкта та середовища, в яке він поміщений, розміром та масою частинки, довжиною хвилі оптичного випромінювання та поглинання об'єкта на цій довжині хвилі. Зазвичай метод оптичного пінцету застосовується для захоплення частинок розмірами від 0,5 мкм до 10 мкм. При цьому оптичне захоплення можливе як для більших, так і частинок меншого розміру. Можна показати, що на мікрочастинку з діоксиду кремнію SiO_2 з діаметром $d = 3$ мкм, зважену у воді, діють сила тяжіння та сила Архімеда. Розмір різниці цих двох сил дорівнює $\sim 0,1$ пН. Якщо таку частинку, зважену у воді, помістити в оптичну пастку, на неї діятиме сила оптичного захоплення. Максимальна захоплююча сила оптичної пастки зазвичай становить величину близько 1 пН на кожні 10 мВт лазерного випромінювання області перетяжки для частинок мікронного розміру. Отже, при потужності лазерного випромінювання в пастці близько 10 мВт сила оптичного захоплення для частки, що розглядається, буде на порядок вище різниці сил тяжіння і сили Архімеда, тобто буде спостерігатися стабільне оптичне захоплення (рис 2.8). Максимальний розмір частинок, з якими можна працювати за допомогою методу оптичного пінцету, визначається кінцівкою потоку імпульсу лазерному пучку. При збільшенні розміру частки відбувається безперервне зростання сили тяжіння, що діє на неї.

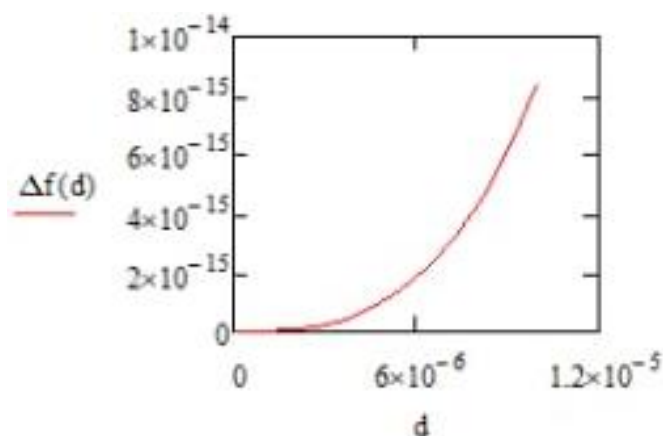


Рисунок 2.8 – Залежність різниці сили тяжіння і сили Архімеда від збільшення розміру частинки

При значному збільшенні інтенсивності лазерного випромінювання захоплені об'єкти починають поглинати, їхня теплова енергія зростає, амплітуда броунівського руху збільшується. У певний момент кінетична енергія об'єкта стає більше потенціалу оптичної пастки. Тому метод оптичного пінцету стає незастосовним для часток порівняно великого розміру. Для маніпулювання крупними частинками можна використовувати грубіші методи, наприклад, мікропіпетки. Для частинок малого розміру градієнтні сили захоплення пропорційні обсягу частинки, у той час як сили, пов'язані з розсіюванням лазерного випромінювання, що діють на частинку вздовж напрямку лазерного пучка, пропорційні квадрату об'єму частинки. Тому стає можливим захоплення широкого кола частинок малого розміру (10–1000 нм), наприклад частинок, що відбиваються, які при великих розмірах виштовхувалися з пастки. В одній з перших робіт Ашкіна експериментально продемонстрували захоплення частинок з розмірами від 25 нм до 10 мкм у воді. Проте питання можливості оптичного захоплення частинок найчастіше розглядається з погляду зручності експерименту. Для реальних досліджень властивостей частинок і силових взаємодій між ними методом оптичного пінцету часто необхідна їх візуалізація, тому розмір часток не повинен бути

істотно менше довжини хвилі випромінювання, що використовується для освітлення зразка (рис. 2.9). За критерієм Релея роздільна здатність об'єктива:

$$R = \frac{\lambda}{2n \sin \theta}, \quad (2.1)$$

де $n \sin \theta$ – його числова апертура.

Тому обмеження на мінімальний розмір частинок, які може дозволити об'єктив з числовою апертурою 1,4 при освітленні з довжиною хвилі 500 нм без додаткових методів контрастування (темне поле, диференційно інтерференційний контраст, поляризований та фазовий контраст):

$$d \sim R \sim \frac{500}{2 \cdot 1,4} \sim 150 \text{ нм}. \quad (2.2)$$

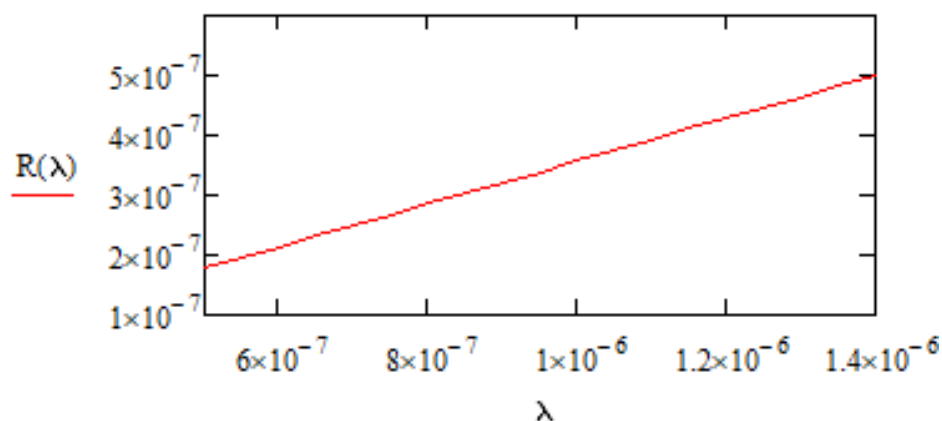


Рисунок 2.9 – Залежність роздільної здатності об'єктива від довжини хвилі

2.4 Дипольний підхід в уявленні Релеєвського розсіювання $R \ll \lambda$

Наступні рівняння описують силу градієнта:

$$F_{grad} = \frac{2\pi\alpha}{cn_m^2} \nabla I, \quad (2.3)$$

$$\alpha = n_m^2 R^3 \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 1} \right), \quad (2.4)$$

$$m = \frac{n_p}{n_m}, \quad (2.5)$$

де α – поляризованість диполів;

m – зв'язок показника заломлення частинок n_p (у нашому випадку – силікону) та показника заломлення навколишнього середовища n_m (у нашому випадку – води).

Якщо спостерігається окрема кулька силікона, на частинку діє сила тертя. Ця сила тертя прямо пропорційна швидкості v , з якою рухаються сфери, і описана наступним рівнянням:

$$F_R = 6\pi\eta_{eff} Rv, \quad (2.6)$$

де R – радіус гранули;

η_{eff} – в'язкість суспензії.

Останнє вказує на те, наскільки "густим" є поєднання води і кульки. Оскільки в'язкість залежить від різних факторів, її потрібно визначати експериментально. Це залежить від середнього квадратичного переміщення частинок. Градієнт можна визначити за допомогою такого рівняння:

$$m = \frac{2k_B T}{3\pi\eta_{eff} R}, \quad (2.7)$$

де k_B – константа Больцмана, яка є природною константою і має значення $1,38 \cdot 10^{-23}$ Дж/К;

T – температура зразка в Кельвінах;

η_{eff} – ефективна в'язкість;

R – це радіус силіконової кульки.

Рівняння для розрахунку ефективної в'язкості η_{eff} :

$$\eta_{eff} = \frac{2k_B T}{3\pi R m}, \quad (2.8)$$

де k_B – константа Больцмана;

T – кімнатна температура;

R – радіус силіконової кульки;

m – градієнт використовуваних силіконових кульок.

Визначена ефективна в'язкість повинна бути в межах декількох 10^{-3} Нс/м (рис. 2.10).

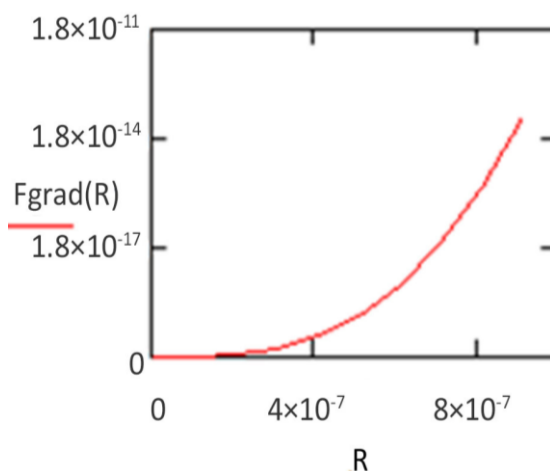


Рисунок 2.10 – Залежність градієнтної сили від радіусу кульок.

Якщо силіконова кулька знаходиться в оптичній пастці, на неї діють дві сили. Перш за все, сила тертя F_R , яка зумовлена підвіскою, в якій знаходиться силіконова кулька. Наступне рівняння описує силу тертя F_R :

$$F_R = 6\pi\eta_{eff} Rv, \quad (2.9)$$

де η_{eff} – це ефективна в'язкість суспензії;

R – це радіус;

v – швидкість кульки.

Припустимо, що $\eta_{eff}=10^{-3}$ Нс/м. Радіуси силіконових кульок $R_1 = 1$ мкм, $R_2=3,5$ мкм, $R_3=4$ мкм; $k_B=1,38 \cdot 10^{-3}$ Дж/К; $T=273+18=291$ К.

Таким чином можна зробити висновок, що градієнтна сила лазера повинна збільшуватися із збільшенням радіусу кульок, для їх втримання.

ВИСНОВКИ

Мета роботи присвячена дослідженню фізичних принципів роботи, можливостей, конструкції оптичного пінцета та запропонуванню напрямків його вдосконалення.

Для досягнення цієї мети були поставлені та вирішені такі задачі:

1. Досліджено основні принципи роботи оптичного пінцета та розглянуто процес взаємодії лазерного випромінювання з мікрооб'єктами різного походження. Описано та проаналізовано оптичні пінцети різних конструкцій.

2. Виконано розрахунки градієнтної сили лазерного випромінювання із мікрооб'єктами. Результати розрахунків показали, що для маніпулювання силіконовою кулькою розміром від 1 мкм до 10 мкм, градієнтна сила має значення, приблизно 10 пН. Було здійснено аналіз залежності роздільної здатності мікроскопу від довжини хвилі.

3. Визначено перспективні напрямки розвитку оптичного пінцета. До цих напрямків можна віднести: використання напівпровідникових лазерів; використання Бесселевих пучків при маніпуляції частинками. Ці впровадження дозволять підвищити функціональність пінцету та зменшити його вартість.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

1. Ashkin A. Optical trapping and manipulation of neutral particles using lasers // Singapore World Scientific, 2006. P. 439.
2. Коробцов В.А., Котова С.П., Лосевский Н.Н. Применение лазерного пинцета для изучения механических свойств эритроцитов // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2009. Т. 11, № 3. С. 76–80.
3. Сойфер В.А. Оптическое манипулирование микрообъектами: достижения и новые возможности, порожденные дифракционной оптикой // Физика элементарных частиц и атомного ядра. 2004. Т. 35. № 6. С. 1370–1372.
4. Ахманов С. А., Никитин С.Ю. Оптическая левитация // Физическая оптика. 2004. С. 89–103.
5. Malagnino N. Measurements of trapping efficiency and stiffness in optical tweezers // Optics Communications. 2002. P. 15–24.
6. Ашкин А. Давление лазерного излучения // УФН. 1973. Т. 110. № 1. С. 101–116.
7. Голубев А. Оптический пинцет // Редакция журнала «Наука и жизнь». 2003. № 3.
8. Harada Y., Asakura T. Radiation forces on a dielectric sphere in the Rayleigh scattering regime // Optics Communications. 1996. P. 529–541.
9. Birkel G., Dumke R. Atom optics with microfabricated optical elements // Optics Communications. 2001. P. 67–81.
10. Wiseman H. M. An atom laser based on dark-state cooling // Physics Letters. 1995. № 4. P. 246–252.
11. Ghislain L. P. Scanning-force microscope based on an optical trap // Optics Letters. 1993. P. 1678–1680.
12. Zemanek P., Jonas A. Optical trapping of Rayleigh particles using a Gaussian standing wave // Optics Communications. 1998. Vol. 151. P. 273–285.

13. Hawes C., Osterrieder A. Optical tweezers for the micromanipulation of plant cytoplasm and organelles // *Current Opinion in Plant Biology*. 2010. Vol. 13. P. 731–735.
14. Скиданов Р. В. Оптическая микроманипуляция с использованием бинарных фокусаров // *Компьютерная оптика*. 2010. Т. 34, № 2. С. 214–218.
15. Качалов Д. Г. Экспериментальная реализация оптического захвата микрочастиц на основе применения бинарного радиального ДОО // *Компьютерная оптика*. 2012. Т. 36, № 1. С. 91–95.
16. Machekhin Y., Kurskoy Y. The Evaluation of Cooled Particles Parameters by Instruments of Nonlinear Metrology // *Метрологія та прилади*. 2015. № 6. С. 50–53.
17. Рябухо В.П., Тучина В.В. Когерентно-оптические методы в измерительной технике и биофотонике. Саратов: Сателлит, 2009.
18. Порфирьев А. П., Скиданов Р.В. Оптический захват микрочастиц в специальных ловушках // *Компьютерная оптика*. 2012. Т. 36, № 2. С. 211–218.
19. Gutierrez-Medina B. An optical apparatus for rotation and trapping. // *Methods in Enzymology*. 2010. Vol. 475. P. 377–404.
20. Ashok P. Optical trapping for analytical biotechnology // *Current Opinion in Biotechnology*. 2012. Vol. 23. P. 16–21.
21. Cheaha C. Dynamic trapping and manipulation of biological cells with optical tweezers // *Automatica*. 2013. Vol. 49. P. 1058–1067.
22. Freearde T. G. M. Confinement and manipulation of atoms using short laser pulses // *Optics Communications*. 1995. Vol. 117. P. 262–267.
23. Vongchumyen C., Tasakorn M. An atom/molecule/DNA probing and transportation using dynamic optical tweezers via a wavelength router // *Optik*. 2011. Vol. 122. I. 6. P. 520–523.
24. Ito H. Optical potential for atom guidance in a cylindrical-core hollow fiber // *Optics Communications*. 1995. Vol. 115. P. 57–64.
25. Saglimbeni F., Ianni F., Leonardo R.D. Optical trapping studies of colloidal interactions in liquid films // *Colloids and Surfaces*. 2009. Vol. 343. P. 133–136.

26. Курской Ю.С. Теоретическая модель измерения параметров лазерного излучения // Радиотехника. 2019. Вып. 197. С. 86–92.

27. Nieminen T. A., Rubinsztein-Dunlop H., Heckenberg N. R. Calculation and optical measurement of laser trapping forces on non-spherical particles // Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer. 2001.