ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΜΗΜΑ ΦΥΣΙΚΗΣ

<u>ΕΡΓΑΣΙΑ Η/Μ2 :</u> ΚΩΤΣΗΣ ΧΡΗΣΤΟΣ - Α.Μ.2677

ΟΠΤΙΚΗ ΠΑΓΙΔΕΥΣΗ ΣΩΜΑΤΙΔΙΩΝ ΜΕ ΔΕΣΜΗ LASER ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ



ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2006

Ο ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αντικείμενο της εργασίας αυτής είναι η παγίδευση και ο χειρισμός μίκρονάνοσωματιδίων με τη χρήση μιας οπτικής διάταξης η οποία βασίζεται σε μια εστιασμένη δέσμη laser.

Η διάταξη αυτή ονομάζεται "<u>οπτική λαβίδα</u>" (Optical Tweezer). Οι δυνατότητες μιας τέτοιας διάταξης είναι ιδιαίτερα εντυπωσιακές μιας και μας δίνεται η δυνατότητα να μετακινούμε αντικείμενα χωρίς μηχανική επαφή. Ο επιλεκτικός, ακριβής, μη-καταστροφικός χειρισμός μίκρο-νάνοσωματιδίων που προσφέρει η οπτική λαβίδα έχει διευρύνει σημαντικά τους ορίζοντες της έρευνας στον μίκρο-νάνοκοσμο. Ειδικά στη βιολογία αποκτάται καλύτερη πρόσβαση σε επίπεδο κυτταρικής αλλά και υποκυτταρικής λειτουργίας, καθώς η οπτική λαβίδα επιτρέπει επέμβαση και χειρισμό στο εσωτερικό κλειστών σωματιδίων.

Η οπτική λαβίδα δημιουργείται ως αποτέλεσμα της δύναμης που ασκεί στην ύλη το ηλεκτρομαγνητικό πεδίο ισχυρά εστιασμένης δέσμης. Η περιοχή της παγίδευσης βρίσκεται στην εστία της δέσμης.

Στο 2° κεφάλαιο εξηγείται το φαινόμενο χρησιμοποιώντας δύο μοντέλα : το Γεωμετρικό και το Ηλεκτρομαγνητικό(ηλεκτρομαγνητική θεωρία του Maxwell). Στο 3° κεφάλαιο περιγράφονται ορισμένες από τις εφαρμογές της οπτικής λαβίδας στη μίκρο-νάνοτεχνολογία και στη βιολογία..

<u>1 εισαγωγη</u>

Οι οπτικές λαβίδες είναι κυριολεκτικά αυτό που αναφέρει το όνομα τους: τσιμπίδα από δέσμη φωτός. Ισχυρά εστιασμένη δέσμη φωτός 'πιάνει'-παγιδεύει επιλεκτικά και χειρίζεται μικροσκοπικά αντικείμενα. Έχει επιτευχθεί οπτική παγίδευση αντικειμένων διαστάσεων που ποικίλουν σε διαστάσεις από 30nm μέχρι 50μm. Πρόκειται για 'ήπια' τεχνική, με την έννοια ότι δεν προκαλεί, σχετικά με άλλες μεθόδους, σημαντικές αλλοιώσεις ή καταστροφές στα σωματίδια, ενώ παράλληλα επιτρέπει την πρόσβαση στο εσωτερικό κλειστών αντικειμένων. Οι δυνατότητες που διανοίγει στον τομέα κυρίως της βιολογίας είναι πολύ σημαντικές.

Το φαινόμενο βασίζεται σε μια βασική αρχή του φωτός: τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία έχουν ορμή. Πρώτος ο Maxwell προέβλεψε ότι ηλεκτρομαγνητική δέσμη προσπίπτουσα σε σωματίδιο ασκεί πίεση ανάλογη της έντασης. Ωστόσο πριν την έλευση του laser λόγω των χαμηλών εντάσεων δεν υπήρχαν δυνατότητες εφαρμογών της ηλεκτρομαγνητικής δύναμης.

Η ανακάλυψη του laser επέτρεψε την πραγματοποίηση πολύ ισχυρών πεδίων των οποίων η δύναμη στην ύλη είναι σημαντική, ώστε μπορεί να βρεί εφαρμογή σε πλήθος πεδίων.

Στις πρώτες προσπάθειες εκμετάλλευσης της ηλεκτρομαγνητικής δύναμης περιλαμβάνεται η ψήξη (επιβράδυνση της θερμικής ταχύτητας) και οπτική παγίδευση ατόμων. Η επιτυχία των προσπαθειών αυτών οδήγησε στην απονομή του βραβείου Nobel φυσικής το 1997 στους S. Chu, W. Philips και C. Cohen Tannoudji. Παράλληλα με την ερευνητική δραστηριότητα για την οπτική παγίδευση ατόμων, και ωθούμενη από αυτήν, πραγματοποιείται η εμφάνιση και η ανάπτυξη της οπτικής παγίδευσης μικροσκοπικών αντικειμένων. Συγκεκριμένα, πρώτος ο **Arthur Ashkin** χρησιμοποίησε δυο αντίθετα διαδιδόμενες, ήπια εστιασμένες, δέσμες laser για την παγίδευση μικροσκοπικών σωματιδίων. Η κάθε δέσμη ασκούσε δύναμη στο σωματίδιο προς τον άξονά της και προς την κατεύθυνση διάδοσης.

Εστιάζοντας το φως πολύ ισχυρά ώστε να προκύψουν απότομες μεταβολές στην ένταση και κατά τη διεύθυνση της διάδοσης της δέσμης επιτεύχθηκε η δυνατότητα σταθερής παγίδευσης στο χώρο με μια μόνο οπτική δέσμη. Πραγματοποιήθηκε δηλαδή η οπτική λαβίδα, η οποία υλοποιείται μόνο πάνω στη βάση των ηλεκτρομαγνητικών δυνάμεων, ώστε μπορεί να λειτουργήσει και σε συνθήκες έλλειψης βαρύτητας. Σε αντίθεση με την περίπτωση της ανύψωσης, οι δυνάμεις της οπτικής τσιμπίδας μπορεί να ξεπερνάνε κατά πολύ τη βαρυτική δύναμη. Σημαντική αξία στην οπτική λαβίδα προσέθεσε και η εισαγωγή επιπλέον δέσμης (optical microbeam) για τη μελέτη και ευρύτερο χειρισμό (κοπή, διέγερση κ.α.) των παγιδευμένων σωματιδίων.

2 ΒΑΣΙΚΕΣ ΘΕΩΡΗΤΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ

2.1 Εισαγωγή

Στο κεφάλαιο αυτό εξηγείται θεωρητικά η εμφάνιση της οπτικής λαβίδας και πραγματοποιείται υπολογισμός της δύναμης. Η θεωρητική προσέγγιση γίνεται στα πλαίσια του γεωμετρικού και ηλεκτρομαγνητικού (ηλεκτρομαγνητική θεωρία του Maxwell) μοντέλου.

Το γεωμετρικό μοντέλο θεωρεί ότι μια δέσμη αποτελείται από οπτικές ακτίνες. Η δύναμη ερμηνεύεται ως αποτέλεσμα της αλλαγής πορείας της κάθε ακτίνας (διάθλαση) που συνεπάγεται μεταβολή στην ορμή της άρα και δύναμη.

Το ηλεκτρομαγνητικό μοντέλο χρησιμοποιεί τις εξισώσεις του Maxwell και το διάνυσμα Poynting για να υπολογίσει την ηλεκτρομαγνητική δύναμη. Η θεωρητική βάση του μοντέλου είναι ακριβής, σε αντίθεση με το γεωμετρικό μοντέλο που μόνο προσεγγιστικά σε σωματίδια μεγάλου μεγέθους (σωματίδια Mie) μπορεί να εφαρμοστεί.

Και τα δυο μοντέλα εξηγούν την παγίδευση ως αποτέλεσμα του γεγονότος ότι οι δυνάμεις που ασκούν τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία έχουν κατεύθυνση κατά την περιοχή της μέγιστης έντασης. Έτσι, στην περίπτωση ισχυρά εστιασμένης δέσμης ηλεκτρομαγνητικές δυνάμεις ωθούν το σωματίδιο προς την περιοχή της εστίας, υλοποιώντας την παγίδευση του αντικειμένου.

Η δύναμη που ασκείται από την ακτινοβολία ενός επίπεδου κύματος δίνεται από την σχέση :

$$F = \frac{1}{c} (dE/dt) = \frac{P}{c}$$
(2.1)

όπου P η ισχύς της ακτινοβολίας και για επιφάνεια πρόσπτωσης S, η πίεση ακτινοβολίας ορίζεται ως δύναμη ανά επιφάνεια $\widetilde{P} = \widetilde{F} / \widetilde{S}$.

Παράλληλα η ένταση της ακτινοβολίας Iορίζεται ως η ισχύς ανά μονάδα επιφάνειας, I = P/S.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η πίεση της ακτινοβολίας που ασκείται σε διεπιφάνεια είναι :

$$\widetilde{P} = I/c \tag{2.2}$$

Για ένα μέσο με δείκτη διάθλασης n, όπου η ταχύτητα διάδοσης u του κύματος έχει ελαττωθεί στην τιμή u = c/n σε σχέση με την ταχύτητα c του φωτός στο κενό οι σχέσεις (2.1), (2.2) παίρνουν τη μορφή

$$F = n \cdot P / c \tag{2.3}$$

$$\widetilde{P} = n \cdot I / c \tag{2.4}$$

Σχετικά με τη δύναμη βαθμίδας, αυτή εξαρτάται από τη χωρική μεταβολή του ηλεκτρικού πεδίου. Θεωρώντας ότι η μεταβολή του πεδίου συμβαίνει μόνο κατά τον άξονα z, κατά τον οποίο γίνεται η διάδοση, η δύναμη βαθμίδας μπορεί να γραφεί ως εξής :

$$F_{gradient} = p \cdot dE / dz$$

Όπου pη διπολική ροπή που επάγεται στο υπό παγίδευση σωματίδιο. Για να υπερνικήσουν δυνάμεις όπως οι $F_{gradient}$ την πίεση ακτινοβολίας, την δύναμη από το

φως προς τα εμπρός το μέγεθος της οποίας ρυθμίζεται κατά βούληση με τη μεταβολή της έντασης της δέσμης laser εξωτερικά, θα πρέπει η βαθμίδα dE/dz να είναι η μεγαλύτερη δυνατή. Κάτι τέτοιο είναι δυνατό μόνο με αντικειμενικούς φακούς πολύ μεγάλης εστίασης δηλαδή με το μέγιστο αριθμητικό διάφραγμα (numerical aperture).

2.2 Γεωμετρικό Μοντέλο

Η γεωμετρική οπτική περιγράφει την πορεία του φωτός ως διάδοση οπτικών ακτίνων, οι οποίες υπόκεινται στις εξής αρχές: ευθύγραμμη διάδοση σε ομογενές μέσο σταθερού δείκτη διάθλασης, μερική διάθλαση στη διαχωριστική επιφάνεια δυο μέσων σύμφωνα με το νόμο του Snell ($n_i sin \theta_i = n_t sin \theta_t$) και μερική κατοπτρική ανάκλαση ($\theta_i = \theta_r$). Τα ποσοστά ανάκλασης και διάθλασης καθορίζονται από τους συντελεστές Fresnel που στη γενική περίπτωση γράφονται :

$$\boldsymbol{r}_{\perp} = \left(\frac{E_{0r}}{E_{oi}}\right)_{\perp} = \frac{n_i \cos\theta_i - n_t \cos\theta_t}{n_i \cos\theta_i + n_t \cos\theta_t} \quad (2.1)$$

$$\boldsymbol{\gamma}_{\parallel} = \left(\frac{\underline{E}_{0r}}{\underline{E}_{oi}}\right)_{\parallel} \frac{n_i \cos \theta_i - n_i \cos \theta_t}{n_i \cos \theta_t + n_t \cos \theta_i} \quad (2.2)$$

$$t_{\perp} = \left(\frac{E_{0t}}{E_{0i}}\right)_{\perp} = \frac{2n_i \cos \theta_i}{n_i \cos \theta_i + n_t \cos \theta_t} \quad (2.3)$$

$$t_{\parallel} = \left(\frac{E_{0t}}{E_{0i}}\right)_{\parallel} = \frac{2n_i \cos\theta_i}{n_i \cos\theta_t + n_t \cos\theta_i} \quad (2.4)$$



Σχήμα 2.1: Πρόσπτωση ηλεκτρομαγνητικού πεδίου με πόλωση κάθετη (a) και παράλληλη (b) στο επίπεδο πρόσπτωσης.

Ποιοτικά, η οπτική παγίδευση ερμηνεύεται γεωμετρικά πάνω στη βάση ότι το προς παγίδευση σωμάτιο προκαλεί διάθλαση του φωτός, δηλαδή αλλαγή της πορείας του, γεγονός που μεταφράζεται σε διανυσματική μεταβολή της ορμής του φωτός.

Η μεταβολή αυτή της ορμής του φωτός μεταφέρεται (με αλλαγμένο πρόσημο) στο σωμάτιο ακριβώς διότι αυτό είναι η αιτία που προκαλεί τη μεταβολή αυτή (διατήρηση της ορμής του απομονωμένου συστήματος σωμάτιο-πεδίο).

[Σύμφωνα με τον 2° Νόμο του Νεύτωνα : $F = \frac{dp}{dt}$].

Στο σχήμα 2.2 εξηγείται ποιοτικά πως εστιασμένο φώς λειτουργεί σαν λαβίδα παγίδευσης, εξετάζοντας την επίδραση ενός τυπικού ζεύγους ακτίνων στη θέση του σωματίου. Στην ποιοτική αυτή ανάλυση για ευκολία αγνοήθηκε η δυνατότητα ανάκλασης στη διεπιφάνεια μέσου-σωματιδίου.



Σχήμα 2.2: Ποιοτική ερμηνεία της παγίδευσης σωματιδίου όταν το σωμάτιο βρίσκεται στον άζονα της δέσμης κάτω (a) και πάνω (b) από την εστία και όταν βρίσκεται εκτός του άζονα διάδοσης στο ύψος της εστίας (c). Σ'όλες τις περιπτώσεις η δύναμη που ασκείται στο σωματίδιο έχει κατεύθυνση προς την εστία.

Η παραπάνω απλή ποιοτική ανάλυση υποδεικνύει το βασικό χαρακτηριστικό λειτουργίας της οπτικής λαβίδας: όταν εστιασμένο φως διέρχεται μέσα από ένα σωματίδιο, στο σωμάτιο ασκείται δύναμη με κατεύθυνση την εστία του φωτός. Η δύναμη που εμφανίζεται με τον τρόπο αυτό ονομάζεται δύναμη βαθμίδας (gradient force F_{gr}).

Εκτός όμως από τη μερική διάθλαση που υφίσταται το προσπίπτον φως , ένα μέρος ανακλάται στη διαχωριστική επιφάνεια .

Εξετάζοντας την επίδραση της ανάκλασης στη θέση του σωματιδίου, γίνεται φανερό (εικόνα 2.3) ότι λόγω ανάκλασης το σωματίδιο ωθείται <u>πάντα</u> προς την κατεύθυνση της διάδοσης του φωτός. Οι δυνάμεις αυτές της ανάκλασης, που είναι

αποσταθεροποιητικές για την παγίδευση ονομάζονται δυνάμεις σκέδασης (scattering forces F_{sc}).



Σχήμα 2.3: Εξαιτίας της ανάκλασης το σωματίδιο ωθείται από τις δυνάμεις σκέδασης στην κατεύθυνση διάδοσης της δέσμης

Συνολικά επομένως υπάρχουν δυο ανταγωνιστικές δυνάμεις· η δύναμη βαθμίδας και η δύναμη σκέδασης, οι οποίες καθορίζουν το εφικτό και την ισχύ της παγίδας. Συνθήκη ύπαρξης παγίδας είναι: $F_{gr}>F_{sc}$. Όσο αυξάνει η ανισότητα τόσο πιο ισχυρή γίνεται η παγίδευση.

Η απλή εικόνα που παρουσιάστηκε είναι αρκετή για να επισημάνει την αναγκαιότητα ισχυρής εστίασης, η οποία μπορεί να επιτευχθεί με φακό μεγάλου αριθμητικού ανοίγματος (Numerical Aperture –Ν.Α.), καθώς επίσης και την εξάρτηση από το σχετικό δείκτη διάθλασης του σωματιδίου ως προς το μέσο⁻ τα ποσοστά ανάκλασης και διάθλασης από τις εξισώσεις Fresnel καθορίζονται από αυτόν το λόγο όπως επίσης και η μεταβολή της ορμής του φωτός (από το νόμο του Snell). Τα χαρακτηριστικά αυτά θα επιβεβαιωθούν και με μια πιο αυστηρή θεώρηση του φαινομένου. Ο αναλυτικός υπολογισμός που ακολουθεί στηρίζεται στο γεωμετρικό μοντέλο όπως αναπτύχθηκε από τον Ashkin .

Η διάδοση μιας οπτικής ακτίνας μέσα από σφαιρικό σωμάτιο περιγράφεται στο σχήμα 2.4. Η οπτική ακτίνα έχει ισχύ P και προσπίπτει στο σωμάτιο με γωνία θ. Το σωμάτιο είναι διηλεκτρικό με δείκτη διάθλασης n_2 και βρίσκεται σε περιβάλλον δείκτη διάθλασης n_1 . Υποθέτουμε ότι δεν υπάρχει απορρόφηση και ότι η ακτίνα διαθλάται και ανακλάται στη διαχωριστική επιφάνεια σωματιδίου-μέσου σύμφωνα με τις σχέσεις Fresnel. Τ και R ονομάζονται αντίστοιχα οι συντελέστες διάδοσης και ανάκλασης με τη σημείωση ότι δεν αναφέρονται στα πλάτη των ηλεκτρικών πεδίων αλλά στην ισχύ¹. Οι συντελεστές R και T εξαρτώνται τόσο από τη γωνία πρόσπτωσης όσο και από την πόλωση της ακτίνας.

Me avaqopá to schua 2.4, ótan h optikh aktína iscúoc P kai ormán avá cróno $p=n_1P/c$, c h tacúthta tou quitós sto kenó, prospíptie sto squirikó sumatídio, éna méros the ormán (pR) anaklátai kai éna méros (pT) diadídetai mésa sto sumatídio. Auth h diadidómenh ormán anaklátai (pTR) kai diadlátai (pT²) kai h ídia diadikasía epanalambán to anaklámeno méros. Káde qorá pou aktína diadlátai h anaklátai uqístatai metabolh ormán, h opuhí, n opuhí su si diadlátai stá sú prospític sa diadlátai n anaklátai uqístatai metabolh ormán, n opuác si si sú prospític sa diadlátai n si sú si sú prospític sa sú sú prospític sa sú sú prospític sa sú sú sú sú prospític sa sú sú sú prospític sa sú prospític sa sú prospític si sú prospític sa sú prospític sú pravaklátai uqústatai upístatai metabolh ormán si prospític sú pros



Σχήμα 2.4: Πορεία που ακολουθεί ακτίνα μέσα στο σωμάτιο

¹ Σε σχέση με τους συντελεστές Fresnel των σχέσεων 2.1-2.4 ισχύει: $R=|r|^2$ και $T=(n_t/n_i)|t|^2$

Η συνολική δύναμη που ασκείται στο σωματίδιο μπορεί να αναλυθεί σε δύο συνιστώσες· μια κατά την κατεύθυνση της προσπίπτουσας δέσμης (την κατεύθυνση u, σχήμα 2.5), και μια σε διεύθυνση κάθετη στην προσπίπτουσα δέσμη (κατεύθυνση v). Υιοθετώντας τον ορισμό του Ashkin , η πρώτη συνιστώσα ονομάζεται δύναμη σκέδασης (scattering force) Fs και η δεύτερη δύναμη βαθμίδας (gradient force) Fgr.

Το αποτέλεσμα των αναλυτικών υπολογισμών είναι :

$$F_{s} = \frac{n_{1}P}{c} \left\{ 1 + R\cos\theta - \frac{T^{2}[\cos(2\theta - 2r)] + R\cos 2\theta}{1 + R^{2} + 2R\cos 2r} \right\}$$
(2.5)

$$F_{gr} = \frac{n_1 P}{c} \left\{ R \sin 2\theta - \frac{T^2 \left[\sin(2\theta - 2r) + R \sin 2\theta \right]}{1 + R^2 + 2R \cos 2r} \right\}$$
(2.6)

όπου θ και r η γωνία πρόσπτωσης και διάθλασης αντίστοιχα (σχήμα 2.5). Να σημειωθεί ότι οι δυνάμεις αυτές εξαρτώνται από την πόλωση της ακτίνας μέσω της εξάρτησής τους από τα R και T. Επίσης τα R και T είναι συναρτήσεις της γωνίας πρόσπτωσης θ.



Σχήμα 2.5: Το αποτέλεσμα μια οπτικής ακτίνας είναι οι δυνάμεις F_g και F_s .

Οι δυνάμεις μπορούν να γραφούν πιο απλά ως εξής:

$$F_{s} = \frac{n_{1}P}{c}Q_{s} \quad (2.7)$$
$$F_{gr} = \frac{n_{1}P}{c}Q_{gr} \quad (2.8)$$

ópou oi parágontez Q_s kai Q_{gr} eínai adiástatoi kai sunistoún énan eúkolo trópo perigragáz two dunámewn.

Επομένως:

$$Q_{s} = 1 + R\cos\theta - \frac{T^{2}[\cos(2\theta - 2r)] + R\cos 2\theta}{1 + R^{2} + 2R\cos 2r}$$
(2.9)
$$Q_{gr} = R\sin 2\theta - \frac{T^{2}[\sin(2\theta - 2r) + R\sin 2\theta]}{1 + R^{2} + 2R\cos 2r}$$
(2.10)

Η συνολική δύναμη που ασκείται στο σωματίδιο από τη μία ακτίνα είναι:

$$F = \sqrt{F_s^2 + F_{gr}^2} = \frac{n_1 P}{c} Q \quad (2.11),$$

$$\delta \pi o v \quad Q = \sqrt{Q_s^2 + Q_{gr}^2} \quad (2.12)$$

Σημειώνεται ότι $n_1 P/c$ είναι η προσπίπτουσα ορμή ανά χρόνο μιας οπτικής ακτίνας ισχύος P.

Στο σχήμα 2.6 φαίνεται πως μεταβάλλονται οι τιμές των παραγόντων Q σε σχέση με τη γωνία πρόσπτωσης τόσο για κάθετη όσο και παράλληλη πόλωση ηλεκτρικού πεδίου. Οι συγκεκριμένες τιμές προέκυψαν από εφαρμογή των εξισώσεων 2.1-2.4, 2.9, 2.10 στην περίπτωση σφαίρας πολυστηρενίου δείκτη διάθλασης $n_2=1.6$ σε διάλυμα νερού ($n_1=1.33$, $n=n_2/n_1=1.2$).



Σχήμα 2.6: Εξάρτηση του παράγοντα Q, Q_g, Q_s από τη γωνία πρόσπτωσης για μια οπτική ακτίνα με πόλωση παράλληλη (a) ή κάθετη (b). Οι υπολογισμοί έχουν γίνει για την περίπτωση πρόσπτωσης πάνω σε σφαίρα πολυστηρενίου μέσα σε νερό.

Όπως αναφέρθηκε, οι δυνάμεις βαθμίδας είναι εκείνες που κρατούν το σωματίδιο σε σταθερή θέση. Επομένως, από το σχήμα 2.6 γίνεται φανερό ότι η πιο δυνατή παγίδα (δηλαδή εκεί που Q_{gr} γίνεται μέγιστο) επιτυγχάνεται για γωνία πρόσπτωσης ~72° και για τις δύο περιπτώσεις πόλωσης.

Υψηλές γωνίες πρόσπτωσης συμβαίνουν με ισχυρά εστιασμένες δέσμες. Πρακτικά, αυτό πραγματοποιείται με χρήση φακού μεγάλου αριθμητικού ανοίγματος (Numerical Aperture, N.A). Ισχύει: N.A= nsinφ_{max}, όπου n ο δείκτης διάθλασης του μέσου που περιβάλλει το φακό και φ_{max} η μέγιστη γωνία που σχηματίζει ακτίνα με τον άξονα διάδοσης της δέσμης (σχήμα 2.7). Από την τελευταία σχέση έπεται: $φ_{max}$ =sin⁻¹(NA/n). Για τη ρεαλιστική περίπτωση όπου NA=1.25 και n=1.33 (νερό) προκύπτει φ_{max}=70°.

2.3 Σωματίδια Mie - Σωματίδια Rayleigh :

Ανάλογα με τις διαστάσεις ενός σωματιδίου το φως αλληλεπιδρά διαφορετικά. Συγκεκριμένα, υπάρχουν σωματίδια τα οποία είναι πολύ μεγάλα σε σχέση με το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός και άλλα τα οποία είναι πολύ μικρά. Τα σωματίδια Mie είναι σωματίδια των οποίων το μέγεθος είναι κατά πολύ μεγαλύτερο από το μήκος κύματος του φωτός με το οποίο αλληλεπιδρούν (d>>λ). Συγκεκριμένα, η αλληλεπίδραση αυτή του φωτός με τα σωματίδια Mie μπορεί να εξηγηθεί με όρους απορρόφησης ή ανάκλασης.

Δηλαδή το κυματικό μέτωπο προσπίπτει στο σωματίδιο και μπορεί να μεταφέρει σε αυτό όλη του την ορμή-τέλεια απορρόφηση, ή και το διπλάσιο αυτής-τέλεια ανάκλαση.

Επομένως, λόγω του μεγάλου μεγέθους του σωματιδίου ώς προς το μήκος κύματος της ακτινοβολίας τα κυματικά χαρακτηριστικά του φωτός μπορούν να αγνοηθούν και το όλο φαινόμενο να ερμηνευθεί με αρχές γεωμετρικής οπτικής(ανάκλαση, διάθλαση).

Στην αντίθετη περίπτωση βρίσκονται τα σωματίδια Rayleigh όπου το μέγεθός τους είναι πολύ μικρότερο από το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας(d<< λ).

Τα σωματίδια αυτά αλληλεπιδρούν με το φως ως ηλεκτρικά δίπολα. Στην περίπτωση αυτή και σε αντιδιαστολή με τα σωματίδια Mie, το φως δεν απορροφάται ή ανακλάται αλλά σκεδάζεται. Η σκέδαση είναι αυτή που καθορίζει τη μεταβολή της ορμής του προσπίπτοντος φωτός και άρα τις επαγόμενες στο σωματίδιο δυνάμεις. Επομένως, το ηλεκτρομαγνητικό μοντέλο είναι κατάλληλο για την ποσοτικοποίηση των δυνάμεων αυτών επειδή παίρνει υπόψη την κυματική φύση του φωτός.

2.4 Ηλεκτρομαγνητικό Μοντέλο

Για την εύρεση των δυνάμεων σκέδασης και βαθμίδας με το ηλεκτρομαγνητικό μοντέλο στο όριο Rayleigh, θεωρούμε μια γκαουσιανή κατανομή ηλεκτρομαγνητικού πεδίου η οποία διαδίδεται σε ένα ισοτροπικό, γραμμικό, μη μαγνητικό και μη αγώγιμο ομογενές μέσο, η οποία προσπίπτει σε μια γραμμική, ισοτροπική, μη μαγνητική και με πεπερασμένη ηλεκτρική αγωγιμότητα σφαίρα ακτίνας r. Εξαιτίας της πίεσης της ακτινοβολίας εμφανίζεται η δύναμη σκέδασης η οποία δίδεται στ

$$F_{scat} = n_{sur} \cdot \frac{P_{scat}}{c}$$
(2.13)

Η Fscat έχει την κατεύθυνση διάδοσης της δέσμης. n_{sur} είναι ο δείκτης διάθλασης του μέσου που περιβάλλει το σωματίδιο, Pscat η σκεδαζόμενη ισχύς και c η ταχύτητα του φωτός στο κενό. Ισοδύναμα,

οσυναμα,

$$F_{scat} = n_{sur} \cdot \frac{\sigma \langle S \rangle}{c}$$
(2.14)

Όπου, σ: η ενεργός διατομή του σωματιδίου και η οποία δίδεται από τον ακόλουθο τύπο :

$$\sigma = \frac{8}{3}\pi \cdot (k \cdot r)^4 \cdot r^2 \cdot \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2}\right)^2,$$
με r την ακτίνα του σφαιρικού

σωματιδίου, και k το κυματάνυσμα του φωτός.

Επίσης, $\langle S \rangle = \frac{1}{2} c \cdot \varepsilon_0 \cdot E_0^2$, η μέση τιμή του διανύσματος Poynting.

Οπότε, η τελική έκφραση για τη δύναμη σκέδασης θα είναι:

$$\overset{\text{ur}}{F}_{scat} = \frac{I}{c} \frac{128\pi^5 r^6}{3\lambda^4} \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2}\right)^2 n_{sur}$$
(2.15)

Σχετικά με τη δύναμη βαθμίδας, αυτή ουσιαστικά είναι η δύναμη Lorentz η οποία δρά πάνω στο θεωρούμενο δίπολο.

Επομένως :

$$F(\vec{r},t) = [\vec{p}(\vec{r},t) \cdot \nabla] \cdot \vec{E}(\vec{r},t)$$

Όπου :

 $p(r,t) = a \cdot E(r,t)$, η επαγόμενη διπολική ροπή, α : πολωσιμότητα

Από την ταυτότητα :

$$\nabla \cdot \vec{E}^2 = 2(\vec{E} \cdot \nabla) \cdot \vec{E} + 2\vec{E} \times (\nabla \times \vec{E})$$

Καθώς και από την εξίσωση του Maxwell :

$$\nabla \times \stackrel{\boldsymbol{\varpi}}{E} = -\frac{\partial \tilde{B}}{\partial t}$$

Η δύναμη βαθμίδας γράφεται :

$$\stackrel{\mathbf{V}}{F} \stackrel{\mathbf{V}}{(r,t)} = \frac{1}{2} a \left[\nabla \cdot \stackrel{\mathbf{V}}{E} \stackrel{\mathbf{V}}{(r,t)^2} - 2 \stackrel{\mathbf{V}}{E} \times \left(-\frac{\partial \stackrel{\mathbf{V}}{B}}{\partial t} \right) \right]$$

Αντικαθιστώντας τη μέση τιμή του ηλεκτρικού πεδίου : $\left\langle \stackrel{\mathbf{r}}{E(r,t)}^2 \right\rangle$ και με $\left\langle \frac{\partial \overset{\mathbf{u}}{B}}{\partial t} \right\rangle = 0$, η μέση τιμή της δύναμης βαθμίδας θα είναι :

• /

$${}^{\mathbf{u}}_{F\,grad}({}^{\mathbf{v}}_{r}) = \left\langle F({}^{\mathbf{v}}_{r},t)\right\rangle = \frac{1}{2}a\nabla\left\langle E({}^{\mathbf{v}}_{r},t)^{2}\right\rangle = \frac{1}{4}a\nabla\left|E({}^{\mathbf{v}}_{r})\right|^{2}$$
(2.16)

Από τη σχέση :

$$I(r^{\mathrm{V}}) = \frac{n_{sur} \mathcal{E}_0 \mathcal{C}}{2} \left| \stackrel{\mathrm{V}}{E} \stackrel{\mathrm{V}}{(r)} \right|^2$$

Η δύναμη βαθμίδας σε σχέση με την ένταση του προσπίπτοντος φωτός :

$$\overset{\mathbf{V}}{F}(\overset{\mathbf{V}}{r},t) = \frac{1}{2n_{sur}\varepsilon_{0}c}a\nabla \cdot I(\overset{\mathbf{V}}{r})$$
(2.17)

Είναι προφανές το γεγονός ότι η δύναμη βαθμίδας έχει κατεύθυνση προς την περιοχή ισχυρότερης έντασης δηλαδή προς την περιοχή υψηλής εστίασης.

2.5 Συμπληρωματικές Παράμετροι

Για την ολοκλήρωση της εικόνας του φαινομένου της οπτικής παγίδευσης πρέπει να ληφθούν υπόψη πέρα από τη δύναμη που ασκεί το ηλεκτρομαγνητικό πεδίο και άλλες παράμετροι που έχουν (ή μπορεί να έχουν) εμφανή ή και καθοριστική επίδραση.

Συγκεκριμένα, αναγκαία για την πραγματοποίηση της παγίδευσης είναι η παρουσία αποσβεστικής δύναμης η οποία όμως δεν είναι δυνατόν να προκύψει από τις ηλεκτρομαγνητικές δυνάμεις.

Η δύναμη βαθμίδας όπως ορίστηκε στο όριο Rayleigh και γεωμετρικής οπτικής είναι συντηρητική, ενώ η δύναμη σκέδασης έχει πάντοτε φορά προς την κατεύθυνση διάδοσης της δέσμης. Επομένως οι ηλεκτρομαγνητικές δυνάμεις από μόνες τους το βέλτιστο που μπορούν να πετύχουν είναι να <u>ταλαντώνουν</u> το σωματίδιο. Η αιτία που επιτρέπει τη σταθεροποίηση του σωματιδίου σε σημείο (παγίδευση) είναι η δύναμη Stokes λόγω του ιξώδους του ρευστού μέσα στο οποίο βρίσκεται το σωματίδιο. Η δύναμη δίδεται από τη σχέση:

 F_{st} =6 π η r υ , όπου η το ιξώδες του ρευστού, r η ακτίνα του σωματιδίου και υ η ταχύτητά του.

Η δύναμη αυτή είναι πάντα αντίθετη από την ταχύτητα του σωματιδίου παρέχοντας έτσι την απόσβεση.

Στη δύναμη που ασκείται στο σωματίδιο πρέπει να προστεθεί το βάρος του καθώς και η άνωση από το ρευστό μέσα στο οποίο βρίσκεται το σωματίδιο. Προκειμένου για τη συνήθη περίπτωση σφαιρικού σωματιδίου ακτίνας r και πυκνότητας ρ_s βυθισμένο σε ρευστό πυκνότητας ρ_f , η επιπλέον δύναμη (\mathbf{F}_+) λόγω βάρους και άνωσης είναι:

$$\overset{\mathbf{r}}{F}_{+} = \frac{4}{3}\pi r^{3} \left(\rho_{s} - \rho_{f} \right) \overset{\mathbf{r}}{g}$$

Για σφαίρα πολυστηρενίου πυκνότητας: $\rho_s=1.1 gr/cm^3$ ακτίνας r=1μm σε νερό ($\rho_f=1.0 gr/cm^3$) είναι : $F_+ \approx 4 \cdot 10^{-3} pN.$ Λόγω της εξάρτησης της F_+ από την τρίτη δύναμη της ακτίνας η δύναμη λόγω βαρύτητας διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε σωματίδια με μεγάλη ακτίνα. Η συνισταμένη δύναμη η οποία τελικά ασκείται στο σωματίδιο είναι περίπου από 0.01pN ως 1 pN.

Εφόσον υπάρχει απορρόφηση από το σωματίδιο ή από το μέσο που το περιβάλλει στο μήκος κύματος της δέσμης παγίδευσης υπάρχουν θερμικά φαινόμενα που δρούν ανταγωνιστικά στη λειτουργία της οπτικής λαβίδας. Λόγω της πολύ μεγάλης εστίασης που είναι αναγκαία για την οπτική παγίδα ακόμα και μέτριες τιμές ισχύος οδηγούν σε πολύ μεγάλες εντάσεις. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι ισχύς 10mW που εστιάζεται σε περιοχή διαμέτρου 1μm –τυπική τιμή για την οπτική παγίδευση–μεταφράζεται σε ένταση 10^6 Watt/cm². Μικρός συντελεστής απορρόφησης του σωματιδίου μπορεί τελικά να προκαλέσει, με την πάροδο μικρού ή μεγάλου χρόνου, τη θερμική καταστροφή του. Σε μεγαλύτερες τιμές του συντελεστή απορρόφησης η παγίδευση του σωματιδίου καθίσταται ως και ανέφικτη.

<u>3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ</u>

Ειδικά στον τομέα της βιολογίας – βιοιατρικής η συμβολή των οπτικών λαβίδων είναι ιδιαίτερα σημαντική. Με τη βοήθεια της οπτικής παγίδας δύναται να μελετηθούν κυτταρικές ιδιότητες σε πρωτογενές επίπεδο, ξεπερνώντας τα προβλήματα συμβατικών τεχνικών που εξετάζουν πληθυσμούς. Η καταγραφή των οπτικών παραμέτρων ενός κυττάρου (με πειράματα σκέδασης, φθορισμού, απορρόφησης) συμβάλλει στην κατανόηση της κυτταρικής λειτουργίας. Οι οπτικές λαβίδες διευκολύνουν σημαντικά την επιλογή συγκεκριμένων βιολογικών οργανιδίων (κυττάρων ή και βακτηρίων) από ευρύτερη, ανομοιόμορφη μάζα επιτρέποντας την άμεση μελέτη και εκμετάλλευσή τους.

Με ζεύγος οπτικών λαβίδων δυο κύτταρα οδηγούνται σε επαφή για τη μελέτη των μηχανισμών αλληλεπιδράσεώς τους. Με τον τρόπο αυτό κατανοείται βαθύτερα ο τρόπος κατασκευής πολυκυτταρικών μονάδων (π.χ. νεύρα). Παράλληλα, στον τομέα της ιατρικής, μελέτη της αλληλεπίδρασης αντιγόνων-αντισωμάτων ή ιών-υγειών κυττάρων συντείνει στη θεραπεία ασθενειών. Με βάση την τεχνική αυτή επιτυγχάνονται πειράματα ένωσης κυττάρων (cell fusion). Για την πραγματοποίηση αυτών των πειραμάτων χρησιμοποιείται πρόσθετη οπτική μικροδέσμη για το κόψιμο των τοιχωμάτων των κυττάρων. Ανάλογη είναι και η τεχνική εφαρμογής της οπτικής παγίδευσης στην τεχνητή in vitro γονιμοποίηση. Η οπτική λαβίδα παγιδεύει και κατευθύνει σπερματοζωάριο σε ωάριο στου οποίου τη zona pellucida έχει διανοιχθεί οπή με παλμικό laser.

Οι οπτικές λαβίδες δίνουν τη δυνατότητα πρόσβασης στον ενδοκυτταρικό κόσμο. Ενδοκυτταρικά σωματίδια παγιδεύονται και μελετάται η λειτουργία τους. Ανοίγονται νέοι δρόμοι πειραμάτων γενετικής μηχανικής· μπορούμε με ακρίβεια και αποδοτικότητα να διαφοροποιήσουμε το γενετικό υλικό κυττάρων εισάγοντας στο εσωτερικό τους βακτήρια, ιούς ή και οργανίδια από διαφορετικά κύτταρα. Οι οπτικές λαβίδες αποτελούν σπουδαία τεχνική για την εξέταση των μηχανικών ιδιοτήτων βιολογικών οργανιδίων και μορίων. Ο ακριβής χειρισμός των βιολογικών μορίων επιτυγχάνεται με βιοχημική προσαρμογή σ' αυτά χαντρών (beads), οι οποίες είναι αυτές που παγιδεύονται. Με τον τρόπο αυτό έχουν μετρηθεί ελαστικές παράμετροι μικροσωληνίσκων, DNA βιοπολυμερών και η κινητικότητα τους. Ακολουθούν ενδεικτικά φωτογραφίες οπτικής παγίδευσης : Στην εικόνα 3.1 διαπιστώνει κανείς ότι το σφαιρίδιο από πολυστηρένιο το οποίο υποδεικνύεται με βέλος συγκρατείται από δέσμη Laser(μήκους κύματος 810nm):



(A)

(Γ)



Εικόνα 3.1: Οπτική παγίδευση σε τρεις διαστάσεις σφαιριδίου πολυστυρενίου (PL latex) διαμέτρου 10.43μm σε νερό.(Α)Αρχική Θέση,(Β)Μετακίνηση στον χ άζονα,(Γ)στον y και z άζονα.

Στην εικόνα 3.2 φαίνονται κύτταρα μαγιάς (~5μm)τα οποία έχουν παγιδευτεί από δέσμη Laser (μήκους κύματος 514nm):



Αρχική θέση

• Μετακίνηση στον γ



Εικόνα 3.2: Οπτική παγίδευση κυττάρου μαγιάς στις τρεις διευθύνσεις

Τέλος, στην εικόνα 3.3 φαίνεται η οπτική παγίδευση υποκυτταρικού σωματιδίου σε κύτταρο καρκινική σειρά τύπου HeLa :



Μετακίνηση στον x

Μετακίνηση στον z

Σχήμα 3.3: Οπτική παγίδευση υποκυτταρικού σωματιδίου στις τρείς διαστάσεις. Τα κύτταρα ανήκουν στην καρκινική σειρά τύπου HeLa.

<u>4 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ</u>

Η κατανόηση σημαντικών πτυχών του μικρόκοσμου ενισχύεται σε πολύ μεγάλο βαθμό με τη χρήση της οπτικής παγίδευσης. Οι χρήσεις της οπτικής παγίδας είναι πολλαπλές και καλύπτουν ένα μεγάλο πεδίο κατευθύνσεων. Ο επιλεκτικός, μη καταστροφικός και ακριβής χειρισμός μίκρο-νάνο σωματιδίων βρίσκει εφαρμογή στην μίκρο-νάνο τεχνολογία και στη βιολογία. Η ικανότητα που προσφέρει για επιλογή ενός σωματιδίου δίνει τη δυνατότητα διεξαγωγής πειραμάτων των οποίων τα αποτελέσματα είναι εύκολο να συγκριθούν με θεωρητικές αναλύσεις. ώστε η οπτική παγίδευση αποτελεί μέσο για την καλύτερη κατανόηση φυσικών διαδικασιών.

<u>5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</u>

[1] Γ.Βασιλάκης (2002)[Διπλωματική Εργασία] Οπτική Παγίδευση Σωματιδίων και Βιολογικού Υλικού – Φασματοσκοπία Φθορισμού με Laser

[2] Μ. Ορφανάκης, (2001)[Μεταπτυχιακή Εργασία] Οπτική παγίδευση & διέγερση σωματιδίων με ακτίνες Laser

[3] A. Ashkin, "Optical trapping and manipulation of neutral particles using lasers" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 4853 (1997)

- [4] E. Hecht, *Optics*, 4th ed. (Addison Wesley Longman, 2002)
- [5] A. Ashkin, *Biophys. J.* **61**, 569 (1992)
- [6] A. Ashkin, J.M. Dziedzic, J.E. Bjorkholm, and S. Chu, Opt. Lett. 11, 288 (1986)
- [7] A. Ashkin, *Phys. Rev. Lett.* **24**, 156 (1970)
- [8] A. Ashkin, J.M. Dziedzic, and P.W. Smith, *Optics Letters* 7, 276 (1982)
- [9] E. Fallman, and O. Axner, Applied Optics 36, 2107 (1997)