# 國立交通大學

機械工程研究所

## 碩士論文

光鉗系統之建置校正及基礎應用之研究 The Installation, Calibration, and Fundamental Application of an Optical Trapping System

研究生:高豐生

指導教授:陳大潘博士

中華民國九十五年七月

## 光鉗系統之建置校正及基礎應用之研究

# The Installation, Calibration, and Fundamental Application of an Optical Trapping System

研究生:高豐生

Student : Feng-Sheng Kao

指導教授:陳大潘 博士

Advisor : Dr. Da-Pan Chen

國立交通大學



Submitted to Institute of Mechanical Engineering College of Engineering National Chiao Tung University In Partial Fulfillment of the Requirements For the Degree of Master of Science in

> Mechanical Engineering July 2006

Hsinchu, Taiwan, Republic of China

中華民國九十五年七月

## 光鉗系統之建置校正及基礎應用之研究

學生:高豐生

指導教授:陳大潘 博士

國立交通大學機械工程學系碩士班

### 摘 要

本論文分為兩個部份。第一部份在介紹光學嵌住理論以及光鉗系統的 發展及應用。本實驗室去年剛引進光鉗系統,準備做生物細胞相關的研究。 因此除了詳細介紹光鉗系統的工作原理外,更著重在本實驗室光鉗的架設 方法、過程,以及校正的工作,目前已經建立起一套可以被實用在生物細 胞研究的光鉗系統了。接下來更對於本光鉗系統的嵌住力,剛性係數等做 一系列的實驗,詳加探討光學嵌住現象,以便日後應用在生物細胞力學分 析。第二部份是微量液體黏滯係數的測定。利用顯微鏡觀察直徑 1µm 大小 的微粒,在液體中的布朗運動,且藉由理論可以得知布朗運動均方位移和 黏滯係數的關係。因此我們使用攝影機拍攝下布朗運動的情形,做多組實 驗,並且由統計的結果去反算出水的黏滯係數,得到的實驗值是令人滿意 的。因此我們再使用同樣的方法,去測定未知溶液的黏滯係數。這種新的 測定方法只需要微量液體即可,盼望在未來可以使用此方法,應用在微小 世界的環境測定。

# The Installation, Calibration, and Fundamental Application of an Optical Trapping System

Student : Feng-Shen Kao

Advisor : Dr. Da-Pan Chen

## Department of Mechanical Engineering National Chiao Tung University



Last year, we set out to study the mechanism of living cells, and we purchased the optical instruments to set up an optical tweezer system. This thesis contains two parts. In the first part we introduce the theory of the optical trapping, the working theory of optical tweezers, the constructing and alignment procedure. Now we have constructed a system that can be applied to study the living cells. We also experimented with the 5µm microspheres to investigate the trapping force and the stiffness of our optical tweezers, preparing for the future work of biologically research. In the second part we focus on the Brownian motion and the measurement of viscosity. We used the microscope to observe the Brownian motion of 1µm microspheres and recorded them by CCD camera. Using the theoretical formula we can obtain the relation between the mean squared displacement of the particles and the medium's viscosity. By experimenting repeatedly we got a lot of data and use the statistical method to compute the viscosity of water. The experimental value is precise and satisfactory. Therefore we used the same method to examine the unknown liquids. We only needed a small quantity of liquid to measure the liquid's viscosity, and the method is different from any other traditional method. In the future, we can apply the technique to explore the microcosmos.

#### 致謝

在此首先要感謝我的指導教授陳大潘博士。謝謝您兩年來的督導,不 斷的教導我新知以及提供我學習的資源,讓我在研究所期間學習到不只是 知識,還有研究學問的方法及態度。另外也要感謝陽明大學的謝嘉芬學姊 以及小佐,還有交大光電所的張博睿學長,在我需要幫忙時從不吝惜給予 指點與建議,我能夠完成這本論文真是多虧了你們的幫助。

感謝實驗室的同學們,雖然大家做的領域都不同,但身處在同個實驗 室一起爲論文奮鬥,你們真是同甘共苦的好伙伴。還要感謝我樂團以及攀 岩的朋友們,讓我在研究之餘還可以繼續充實自己的興趣,因為有你們在, 讓我有發洩情緒和體力的地方。也要感謝教會的弟兄姐妹,即使不常在你 們身邊,你們仍然不斷的爲我禱告,幫助我渡過許多難關。特別要感謝我 的大學同學兼研究所室友的阿剛、小廖以及百彦,感謝你們的搞笑以及非 常惬意的生活方式,讓我在身心疲憊回到寢室時,總有一種回家的感覺, 在歡樂間不自覺地將所有壓力都釋放了,每晚乾一杯蘋果西打更是促進彼 此情誼的時刻,我永遠不會忘記這段美好時光。

感謝我的爸媽以及和我一同在交大奮鬥的老姐,不管我的研究多辛苦,你們是那最終支持我撑下去的力量。最後我感謝上帝,因為祢是我的 牧者,我必不至缺乏。

iii

中文摘	要	i
英文摘	要	ii
致謝		iii
目錄	••••••	iv
圖目錄	••••••	vii
表目錄		x
- 、	緒論	1
二、	光學嵌住理論	3
2.1	早期概念	3
2.2	幾何光學模型	5
2.3	電磁波模型	12
三、	儀器架設原理與調整	17
3.1	光鉗系統	17
	3.1.1 基本架設	17
	3.1.2 內嵌式光鉗	18
3.2	光鉗各部元件及工作原理	19
	3.2.1 嵌住用物鏡	19
	3.2.1.1 數值孔徑	20
	3.2.1.2 聚焦點大小W <sub>trap</sub> 的計算	21
	3.2.2 匹配透鏡	22
	3.2.3 擴東系統	23
	3.2.4 雷射功率控制系統及原理	24
	3.2.5 載物平台控制系統	27

3.3	儀器	架設		••••••		•••••	28
	3.3.1	本實驗室的	光鉗系統	•••••		••••••	28
	3.3.2	光路架設	•••••	•••••			29
	3.3.3	雷射調整	•••••	•••••			31
四、	光鉗	嵌住力的量源	则與校正 …	•••••			35
4.1	光鉗	嵌住力的量源	则方法	• • • • • • • • • • • • •			35
4.2	本實题	<b>檢室光鉗</b> 系約	充嵌住力的测	则量與計算		•••••	37
	4.2.1	雷射功率测	量	•••••		•••••	37
	4.2.2	雷射功率對	逃脱速度的	關係 …		•••••	39
	4.2.3	光鉗嵌住力	的計算 …	•••••		•••••••••••••••	41
4.3	光鉗圖	刚性係數量》	۱ <b>]</b>			••••••	42
	4.3.1	尺度轉換				•••••	43
	4.3.2	球心位置判	لفر المعالم الم			••••••	45
	4.3.3	球心偏移量	分析	6		••••••	46
	4.3.4	黏滞力對球	心偏移量的	關係 …		•••••••••••••••	47
	4.3.5	雷射功率和	剛性係數的	關係 …		•••••••••••••••	49
五、	布朗主	運動均方位利	多分析及液體	豐黏滯係數	测定實驗	••••••	52
5.1	布朗	運動的發現		•••••		•••••	52
5.2	朗則:	र्(Langevin)	的理論分析	•••••••		•••••	53
	5.2.1	朗則文方程	式(Langevin	's equation	1)的推導 ·	••••••	54
	5.2.2	對愛因斯坦	理論的驗證	•••••••		•••••••••••••••	56
5.3	液體教	钻滞係數測定	定實驗	•••••		••••••	58
	5.3.1	實驗理論		•••••			58
	5.3.2	未知溶液的	配置及試片	的準備			59
	5.3.3	分析方法	•••••	•••••			60

5.3.4 實驗結果	61
5.3.4.1 純水的黏滞係數測量	61
5.3.4.2 未知液體的黏滯係數測量	63
六、 結論	67
參考文獻	68



## 圖目錄

圖	2-1(a)	光壓使微粒漂浮	3
圖	2-1(b)	雙光束嵌住	3
圖	2-2	光折射後動量變化示意圖	5
圖	2-3(a)	聚焦中心在球心下方	6
圖	2-3(b)	聚焦中心在球心上方	6
圖	2-4	F <sub>reflection</sub> 和F <sub>refraction</sub> 示意圖	7
圖	2-5	單一入射光的幾何光學分析	7
圖	2-6	整束雷射光聚焦示意圖	9
圖	2-7	聚焦中心在 Z 軸的力學分析圖	10
圖	2-8	Z 軸上的 Q 值分布	10
圖	2-9	聚焦中心在 Y 軸的分析圖	11
圖	2-10	力學分析圖	11
圖	2-11	Y 軸上的 Q 值分布圖	11
圖	2-12	Qg分布圖	12
圖	2-13	Qs分布圖	12
圖	2-14	Qt分布圖	12
圖	2-15	介電質粒子在電場中的極化情形	13
圖	2-16	極化的粒子在光束中受力示意圖	13
圖	3-1	光鉗基本架設概念	17
圖	3-2	內嵌式光鉗	19
圖	3-3	物鏡聚焦及半孔徑角	20
圖	3-4(a)	乾燥系物鏡	21
圖	3-4(b)	浸液系物鏡	21

圖	3-5	匹配透鏡	22
圖	3-6	擴束透鏡的擺置	23
圖	3-7	擴束系統	24
圖	3-8	相位板的光學異向性	25
圖	3-9	不同偏光方向產生的光程差	26
圖	3-10	PBS 分光示意圖	27
圖	3-11	本實驗室的光鉗架設圖	28
圖	3-12	光路設計圖	30
圖	3-13	實際光路架設情形	31
圖	3-14	光路與顯微鏡架設	31
圖	3-15	雷射光歪斜入射	32
圖	3-16	雷射光準直入射	33
圖	3-17	試片底部的對稱光般 E.S.	33
圖	4-1	電動載物平台示意圖	35
圖	4-2	探测用雷射原理	36
圖	4-3	雷射功率對刻度關係圖	38
圖	4-4	嵌住雷射功率對刻度關係圖	39
圖	4-5	逃脫速度對刻度關係圖	40
圖	4-6	平均逃脫速度對雷射功率關係圖	40
圖	4-7	最大嵌住力對雷射功率關係圖	42
圖	4-8(a)	AFM 探針(直照)	43
圖	4-8(b)	AFM 探針(橫照)	43
圖	4-9	直徑 5μm 的微粒 ······	44
圖	4-10	不同速度下微粒的偏移情形	45
圖	4-11(a)	原圖	45

圖	4-11(b)	尋找邊緣	45
圖	4-11(c)	描繪輪廓	46
圖	4-11(d)	判斷中心點	46
圖	4-12(a)	球心座標(v=0µm/s)	47
圖	4-12(b)	球心座標(v=50µm/s)	47
圖	4-13	偏移量分析	47
圖	4-14(a)	球心偏移量對黏滯力關係圖(刻度 27~35)	48
圖	4-14(b)	球心偏移量對黏滯力關係圖(刻度 36~43)	49
圖	4-15	光鉗剛性係數和雷射功率關係圖	50
圖	5-1	布朗運動示意圖	53
圖	5-2	純水的均方位移對時間關係圖	62
圖	5-3	20%洗潔精的均方位移對時間關係圖	63
圖	5-4	33.33%洗潔精的均方位移對時間關係圖	64
圖	5-5	60%洗潔精的均方位移對時間關係圖	64
圖	5-6	80%洗潔精的均方位移對時間關係圖	65
圖	5-7	不同混合比例的液體的線性趨近比較圖	65
圖	5-8	混合比例對黏滯係數關係圖	66

## 表目錄

表 4-1	各刻度下不同速度的球心偏移量	48
表 4-2	刻度和光鉗剛性係數對照表	50
表 5-1	均方位移分析表格	61
表 5-2	各液體的黏滯係數表	66



### 一、緒論

因著科技日益精進,研究領域不斷的擴展,對於微小世界的探索更是 從無間斷。顯微技術已經可以讓我們觀察到分子結構,而操控這些微小物 體,更是持續發展的目標。目前已經利用微機電的方式做出奈米探針,利 用物理接觸的方式操控物體,或是使用物體和介質間介電常數的不同,施 加電場達到移動物體目的。對於微小物體的操控,人們不斷的想要找出新 的方法。

自從愛因斯坦發現光的粒子性以後,光壓似乎可被認為是驅動力的一種。1970年,Arther Ashkin利用雷射聚焦施以光壓的,成功的推動µm等級的微小粒子。之後的研究更發現,經雷射聚焦後的粒子,在橫向位移也 有類似彈簧的回復力,粒子似乎在聚焦中心被「抓住」。因此,光學嵌住 (Optical Trap)的現象漸漸被被廣為研究,並且開始運用在操控物體上,更為 此發展出光鉗系統。

光鉗系統可結合顯微鏡,成為內嵌式光鉗,本實驗室建立的光鉗系統 正屬於內嵌式光鉗,因此我們可同時直接對微小物體觀察並且操控,是相 當方便的研究工具。光鉗最常被使用在細胞等生物體的操控,因其出力大 小約為 10~100pN,且可操控的物體大小約為 0.1~100μm 之間,不論是力 量或大小的等級,都和細胞相近。本實驗室之長期目標即在應用光鉗系統 為工具來從事基礎分子生物研究。例如 DNA 機械性質測量,運動蛋白的能動性,細胞膜張力,細胞之運動力學,即某些因細胞之入侵而致病之機制研究等。

本論文另一個研究的重點是布朗運動。西元 1827 年,英國的植物學家 勞伯·布朗 (Robert Brown)在顯微鏡下觀察植物切片,發現懸浮在水中的花 粉粒子,或做不規則、凌亂的鋸齒狀運動,因此命名為布朗運動(Brownian Motion)。之後相繼有許多科學家對布朗運動做理論性的假設,推導其運動 方程式,最有名的是愛因斯坦和朗則文,最後推導發現,布朗運動和微粒 的種類、質量無關,而和微粒的大小,介質的黏滯係數,溫度有關,且推 導出均方位移和時間的關係。因此,我們將針對朗則文的運動方程式所推 導出來的結果,做實驗的證實。我們使用材質為聚苯乙烯(polystyrene)的微 粒,直徑大小 1µm,加入水中用顯微鏡觀察其運動,且藉由公式反推出水 的黏滯係數,並使用相同的方法,測定未知溶液的黏滯係數。

目前本實驗室之重點工作在光鉗系統之建置,校正,即基礎應用。本 論文在第二章詳細介紹光學嵌住理論之由來及發展,第三章介紹儀器架設 之原理與調整,第四章詳細討論光鉗力之量測與校正,第五章討論布朗運 動及基礎應用。

## 二、光學嵌住理論

#### 2.1 早期概念

1969年,Arther Ashkin 提出聚焦之雷射光有可能推動數 µm 大小微粒的假設:若將一束由下往上射入的雷射光聚焦,並將一個直徑約數 µm 的塑 膠微粒置於焦點處,則不斷朝上發射的光子在撞擊微粒的同時,將施予一個微弱的作用力。若微粒的質量夠輕、光子流的密度夠大,那麼這個微粒 就可能因為光子的作用力而漂浮在空中,如圖 2-1(a)。



圖 2-2(a) 光壓使微粒漂浮 圖 2-1(b) 雙光束嵌住

他利用氫離子雷射聚焦至水中,並在水中置入直徑 0.6 至 2.5µm 的透明塑 膠,結果發現這些微粒果然被沿著光軸加速推離。另外,除了光軸方向上 的推力,同時還發現一個意外現象:接近光束的微粒也會被「橫向」吸入 光束中,再被推離。之後改用氣泡與液滴重做實驗,歸納出一項結論:光 束對折射率比周圍介質高的微粒具有橫向吸力,但對折射率比周圍介質低 的微粒具有横向推力。

Ashkin 再次嘗試將兩東雷射光相對入射、聚焦於同一處,希望在兩東 雷射的軸向作用力相抵消之處,產生一個可以將微粒橫向吸入並嵌住不動 的位能井(Potential Well),如圖 2-1(b)。實驗結果相當成功,成為日後「雙 光東嵌住(Dual-Beam Trap)」的雛形,同時,這也是「光學嵌住」的首次實 現。1986年,又發現將單東雷射光高度聚焦,也可以在焦點處產生與光進 行方向相反的軸向吸力,加上原有的橫向吸力,可將微粒穩定嵌住。這種 單東雷射的光學嵌住,又稱為「光鉗 (Optical Tweezers)」。

目前的光學嵌住理論以嵌住物體直徑與雷射光波長大小之比較,採用 以下兩種不同的近似理論:

1. 幾何光學模型(Ray Optics Model):

適用的情況為嵌住物體的直徑遠大於雷射波長(d≥10λ)。應用幾何光學 理論,計算每一道雷射光進入球內所產生的反射及折射,以光子動量轉移 為基礎,算出浄作用力。

2. 電磁波模型(Electromagnetics Model):

適用情況為嵌住物體的直徑小於雷射波長(d≦λ)。根據 Maxwell 電磁波 理論與微粒極化之原理,當雷射光經過物鏡聚焦後進入微粒,在橫向具有 強大的電場強度,可將微粒極化,產生電偶極矩,此電偶極矩會和電場相 互產生感應,產生朝向光軸的吸引力。

#### 2.2 幾何光學模型

微粒直徑遠大於雷射光波長時(d>>λ),我們可以用 Mie 散射狀況(Mie scattering regime)來討論。簡單的來說,當光線由一介質中進入到另一不同 介質中時,光會發生偏折的現象,也就是所謂的折射。如果將光線想像成 是由光子所組成,當光線發生偏折時,光子的動量即產生改變,而動量改 變即產生作用力,如圖 2-2。



圖 2-2 光折射後動量變化示意圖

當雷射光線經過微粒後發生偏折,此光線偏折力就由微粒提供,也就 是說微粒對雷射光子施一作用力使之偏折。又由牛頓第三運動定律所描述 之作用力與反作用力的關係得知,雷射光子亦對微粒施一反作用力,而這 些反作用力的合力便是光鉗的捕捉力。因此,一道平行的雷射光束,經過 透鏡聚焦後,若有微粒在其焦點附近時,由於左右偏折不對稱的關係,其 合力指向焦點,就會產生一個類似彈簧力的恢復力,將這個微小物體往焦 點拉,並在焦點的位置達到力平衡。因此,雷射光鉗的正式名稱為「單束 光梯度力阱(single-beam optical gradient force trap)」,可以用來抓取並移動 從數十奈米到數十微米的微小粒子。

若光的聚焦中心在微粒的球心下方,光線的路徑如圖 2-3(a)。入射光為 r<sub>1</sub>,r<sub>2</sub>,產生的反射光為r<sub>11</sub>及r<sub>21</sub>,折射光為r<sub>12</sub>及r<sub>22</sub>。反射光方面,施予微粒 的力(F<sub>reflection</sub>),在橫向互相抵消,而垂直方面給予Z方向一個正向力。而折 射光所施的力(F<sub>refraction</sub>),亦是給予微粒Z方向的力,因此總合來說,光線給 予微粒Z方向的合力,把微粒推離聚焦心。



圖 2-3(a) 聚焦中心在球心下方 圖 2-3(b) 聚焦中心在球心上方

若光線聚焦在微粒上方,如圖 2-3(b),反射光r<sub>11</sub>,r<sub>21</sub>仍然施予微粒Z方向的力,但折射光r<sub>12</sub>,r<sub>22</sub>卻施予微粒 -Z方向的力。假如折射光產生的力 Frefraction大於反射光產生的力Freflection,會把微粒拉往聚焦中心,且因具有此 回復力,可把微粒穩定地嵌住在其中[7]。

若是增加Θ值, Freflection減小, Frefraction增加,即回復力增加,且必須達 到最小Θ值以產生足夠回復力, 嵌住才會產生,如圖 2-4。



圖 2-4 Freflection和Frefraction示意圖

若要計算整束雷射光對微粒的作用力,可先推導單一入射光線對微粒 的作用力,再積分整束雷射光做總和,就可求得雷射對微粒的作用力[1]。 如圖 2-5。



圖 2-5 單一入射光的幾何光學分析

當光進入微粒時,一部份光反射,其餘的光線折射入微粒內,在進入 微粒後,又不斷的發生反射,折射的情形。若光束功率為P,介面的反射率 (Fresnel Reflection Coefficient)為R,透射率(Fresnal Transmission Coefficient) 為T,沿光束行進方向為Z軸,垂直光束行進方向為Y軸,反射光的功率為 PR,與Z軸夾角為 20,而不斷折射的光線功率分別為PT<sup>2</sup>, PT<sup>2</sup>R, PT<sup>2</sup>R<sup>2</sup>,  $PT^2R^3...$ ,且與Z軸夾角為 $\alpha$ , $\alpha+\beta$ , $\alpha+2\beta$ , $\alpha+3\beta...$ ,由幾何光學推導出以下 公式:

$$F_{tot} = \frac{nP}{c} \left[ 1 + R\cos 2\theta \right] + i \frac{np}{c} R \sin 2\theta - \frac{nP}{c} T^2 \sum_{N=0}^{\infty} R^N e^{i(\alpha + N\beta)} ,$$

將 N 加總後,可得

$$F_{tot} = \frac{nP}{c} \left[ 1 + R\cos 2\theta \right] + i\frac{np}{c}R\sin 2\theta - \frac{nP}{c}T^2 e^{i\alpha} \left[ \frac{1}{1 - e^{i\beta}R} \right] , \qquad (2-1)$$

得到的總力,可以經由簡化後,分為乙軸和Y軸的分力。

在 Z 軸方向,因為反射的關係,在光行進方向給予微粒推動的力,又 稱散射力(Scattering Force; Fs):

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

在 Y 軸方向,因為折射的關係,具有橫向牽引微粒的力,與光束強度 分佈有關,又稱為梯度力(Gradient Force; Fg):

$$F_{Y} = F_{g} = \frac{nP}{c} \left\{ R \sin 2\theta - \frac{T^{2} [\sin(2\theta - 2r) + R \sin 2\theta]}{1 + R^{2} + 2R \cos 2r} \right\}$$
(2-3)

上述式子中,n為介質的折射率,c為光速。



圖 2-6 整束雷射光聚焦示意圖

考慮真實雷射聚焦的情況,如圖 2-6,雷射光束的強度由中心向外是屬 高斯分佈,若是要得到光束總和的力,必須對於光束半徑 r,旋轉角度 β, 以及光的高斯分佈做積分。研究光學嵌住力時,F通常表示為

$$F = \frac{nPQ}{c} , \qquad (2-4)$$

np/c 表示雷射光束每秒中傳送光子的總動量,也就是當一微粒完全吸收光 子時,雷射光對微粒所施的力,而Q代表嵌住效率(trapping efficiency),為 光壓作用效率的比值。Q值和光學嵌住的形式,和微粒種類和大小,以及顯 微物鏡的 NA 值有密切的關係(NA 值在第三章會詳加介紹)。從數學公式來 看,則是式子(2-1)、(2-2)、(2-3)中將 np/c 提出後,括號內一連串變數積分 後的結果。

接下來討論雷射光在微粒內不同位置的聚焦後,對微粒施力的結果。 當雷射聚焦中心在 Z 軸上時:

對單一入射光而言,光給予光前進方向的力F<sub>s</sub>,垂直光前進方向的力

Fg,分別在水平及垂直方向皆有力的分量,如圖 2-7。



圖 2-7 聚焦中心在 Z 軸的力學分析圖 圖 2-8 Z 軸上的 Q 值分布 因為聚焦中心是在Z軸上,左右對稱的關係,力在水平方向的分量會被 抵消,積分的結果只會剩下垂直方向的力,而這個力決定微粒是否會被推 走或是被嵌住。圖 2-8 是整束雷射光積分的結果,由圖可看出,沿著Z軸方 向,Fg及Fs會隨著聚焦點高度的不同而有所改變,Qg及Qs分別為Fg及Fs的嵌 住效率,聚焦中心S在球心上方時,Qg是負值,給予微粒-Z方向的力,當S 在球心下方,則給予+Z方向的力,且越靠近邊緣Q值越大,也就是說,聚 焦中心越靠近微粒邊緣,受到的回復力越大。Qs不論是在球心上方或是下 方始終是正的,給予+Z方向的力。Qt為Qg和Qs的和,在邊界的最大值可達 0.3。另外,在球心上方一點的位置,Fs會和Fg抵消,位置SE即為平衡位置, 大小約為 0.06。因此當雷射嵌住微粒時,聚焦中心會在球心上方一點的位 置。 當雷射聚焦中心沿著Y軸時:





圖 2-9 聚焦中心在 Y 軸的分析圖 圖 2-10 力學分析圖 當聚焦中心不在Z軸上時,水平方向的受力就不平均了,如圖 2-9。我 們仍然可以對單一入射光作分析,然後最後用積分得到整束雷射光的作用 力。若聚焦中心在-Y軸的位置f,分析單一入射光作力的分解,如圖 2-10, Fg的水平分量給予-Y方向的力,而垂直分量在積分的結果則會被抵消,所 以Fg只給予微粒水平-Y方向的力。而Fs同理也只會給予微粒+Z方向的力。 積分整束雷射光後,得到圖 2-11。



圖 2-11 Y 軸上的 Q 值分布圖

由圖可以看出,聚焦點越往-Y方向移動,Qg值在負方向是越大的,表示給 予微粒-Y方向的回復力越大,在邊界Qg值可達 0.3。Z方向上,Fs仍然一直 給予+Z方向的力,在邊界的值為最大。

圖 2-12、圖 2-13、圖 2-14 是在YZ平面上,聚焦點在微粒內各個位置, Qg,Qs,Qt的分布情形,以向量方式表示,可以明顯看出力的大小及方向。 Fg永遠都是把微粒拉近到聚焦的中心,Fs都是把微粒往光軸方向推動,而圖 2-14 中的實線則是嵌住微粒時,Z方向的平衡位置,隨著Y軸改變。



#### 2.3 電磁波模型

雷射光為電磁波,若微粒直徑小於光波波長時(d≦λ),可視為微粒在一 非均勻電場中,而非均勻電場來自於雷射光束的強度分佈,一般來說雷射 光束的強度呈高斯函數分布,光束中心最強然後向外減弱,又因為光強與 電場的物理關係為 I (光強度)正比於 E<sup>2</sup> (電場的平方),因此光束中心的電 場最強然後向外衰減。回到微粒的觀點,微粒在一均勻電場中會受到電場 的分佈而產生極化現象,如圖 2-15,原本不帶電的介電質粒子會受到電場 的關係,被極化產生電偶極矩。



圖 2-15 介電質粒子在電場中的極化情形

但若微粒是在一非均匀電場中,不只會產生極化,並且會因為本身的 極化與電場分佈作用,而受到電場的電力作用,朝電場較強的方向移動, 因此若微粒在雷射光束中,亦會朝電場較強處移動,即微粒會朝光束中心 移動,如圖 2-16 所示[17],對一道聚焦的雷射光而言,其聚焦點強度在整 個光束中是最強的,微粒就會朝焦點處移動,這種牽引力就是電磁波模型 解釋的嵌住力。

高斯光束 E

圖 2-16 極化的粒子在光束中受力示意圖

當d<< $\lambda$ 時,我們以Rayleigh散射狀況(Rayliegh scattering regime)為主要 分析理論。當嵌住的微粒直徑遠小於波長時,可以把微粒視為一個電偶極 矩(Rayleigh-approximation)。在Rayleigh極限中,球所佔的體積空間內的電 磁波可以視為均勻的,且球體可以當作是一個感應的電偶極矩,所受到的 力可分為兩種:散射力 $F_{scatt}$ 和梯度力 $F_{grad}$ 。

散射力的產生是因為電偶極矩對光的吸收與再輻射,當球體半徑為 a 時,散射力為(2-5)式[2][10]。

$$F_{scatt} = \frac{I_0 \sigma n_m}{c} , \qquad (2-5)$$

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

I<sub>0</sub>是光入射的強度, σ是球面交界處的輻射壓力, n<sub>m</sub>是介質的折射率, c是真空中的光速, m是微粒和介質的相對折射率(n<sub>p</sub>/n<sub>m</sub>), λ是嵌住雷射的波長。這個散射力的方向是朝向光前進的方向, 且大小是和入射光的強度成正比。

而梯度力的產生則是因為電偶極矩與周圍電場能量密度的梯度,相互 作用而產生的。平均時間的梯度力為(2-7)式[10]。

$$F_{grad} = \frac{2\pi\alpha}{cn_m^2} \nabla I_0 \quad , \tag{2-7}$$

$$\alpha = n_m^2 a^3 \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \quad , \tag{2-8}$$

α是微粒的極化率。假如n<sub>p</sub>>n<sub>m</sub>(α>0),這個梯度力將指向高的電場能量密度 區。假如n<sub>p</sub><n<sub>m</sub>(α<0),則梯度力將會把球體推離開這個區域。因此我們使用 的微粒的折射率必須大於介質的折射率,就聚苯乙烯(polystyrene)製成的微 粒而言,折射率為 1.6,大於水的折射率 1.33,對於光鉗的幾何光學模型或 是電磁波模型,都是必須的條件。

如果要達到穩定的嵌住效果,必須讓Fgrad≧Fscatt。因此我們必須要讓雷 射的聚焦點越小越好,達到越大的能量密度梯度,這和物鏡的NA值有關, 在之後的章節,會繼續詳加介紹。另外,電磁波的電場與磁場是伴隨發生 的,除了電場,磁場的變化同時也會對微粒施予作用力,但由於光波的頻 率極高,磁場的作用在一段時間內平均值可視為零。此外,半徑較大之微 粒,對光子的有效吸收截面遽增(~ r<sup>6</sup>),光子動量轉移所產生的光壓不可忽 略,必須也列入計算之中。

但若d≈λ時,Mie散射狀況和Rayleigh散射狀況皆不能完全表示微粒的 受力狀況,因此有人提出另外一種理論Generalized Lorenz-Mie regime(GLMT)[3]。這是Mie散射狀況的延伸,可以計算任意大小的微粒, 在高斯光束或是一般光束中所受到的輻射力。在GLMT的理論中,可以將微 粒所受到的輻射壓力分為三個橫截面:C<sub>pr,x</sub>、C<sub>pr,y</sub>、C<sub>pr,z</sub>來計算,且受力如公 式(2-9):

$$F(r) = \frac{n_m}{c} I_0 \left[ \hat{x} C_{pr,x}(r) + \hat{y} C_{pr,y}(r) + \hat{z} C_{pr,z}(r) \right], \qquad (2-9)$$

其中I<sub>0</sub>=2P/πw<sub>0</sub><sup>2</sup>為光束中心的光強度,P為雷射功率,w<sub>0</sub>為光腰的寬度,C<sub>pr,i</sub> 和微粒的直徑有關,可經由數值計算得到。若要更了解,可以參考更深入 的文獻[5][10]。 幾何光學模型與電磁波模型所適用的情況,因嵌住的微粒大小而異。 當微粒直徑大於聚焦點大小, 雷射光可以全部折射進入微粒,因此較適用 幾何光學模型分析。當微粒直徑小於聚焦點大小,因為雷射光無法全部射 進微粒,且微粒本身被極化,受到電場作用力越明顯,因此適用於電磁波 模型。目前本實驗室操控的微粒大小都大於雷射光聚焦點,並且大於雷射 光波長,所以仍以幾何光學模型為主。近年來亦有學者提出改良之理論, 運用更複雜的模型模擬光學嵌住現象。



## 三、儀器架設與調整

#### 3.1 光鉗系統

現今已經被使用的光鉗系統,因為儀器品牌及種類繁多,在架設上多 多少少有些差異,但是在整體的架構上,都擁有幾個重要的部份,包過雷 射及功率控制系統,擴束系統,載物平台控制系統,以及觀察辨識系統等。 為了能在操作上縮小誤差以及使用上更加便利,也另外延伸出許多的儀器 架設方法。本實驗室剛建立的光鉗系統,已經包含以上幾個重要部分,在 操作上也已經趨於熟鍊,未來也會增設許多儀器,做更多樣的實驗。

3.1.1 基本架設



圖 3-5 光鉗基本架設概念

光鉗系統大致的概念如圖 3-1 所示[17]。雷射光先經過空間濾波器 (Spatial Filter; SF), 是為了能得到均勻分佈的高斯光束,雖然這對光鉗操 作是非絕對必要的,但對於光學嵌住之定量測量卻有其必要性。接下來利 用擴東器(Beam Expander;BE)將雷射擴東,為的是使雷射能以最大角度 聚焦,射入微粒,達到最大的嵌住力。雷射功率控制的部份,若使用線偏 極雷射,則加上 Half Wave Plate(λ/2WP)與 Polarizer(PL)來調整入射雷射的 功率。在物鏡前放置一匹配透鏡(Matching Lens),可以使物鏡達到最高的 NA 值,使物鏡高度聚焦。並在物鏡前方加裝 Cube Beam Splitter(CBS),以 非同調光由樣本槽後方照射,使被嵌微粒的影像經由 CBS 成像至 CCD 攝 影機,同步觀察微粒的嵌住情形。一般手動式的載物平台,因為移動過快, 已經無法適用於觀察微米級的物體,所以通常改為電動馬達驅動,以準確 的移動觀察目標。

3.1.2 內嵌式光鉗

然而光鉗最具應用潛力之處,就是可以和顯微鏡結合成「內嵌式光 鉗」,使得顯微鏡在使用上增加對於觀察目標的操控能力,取代以往被動式 的觀察法,而能夠主動的操控觀察目標[15]。內嵌式光鉗需要一台多光路顯 微鏡,可將嵌住用雷射導入其中一條,嵌入光鉗,如圖 3-2。

18



圖 3-6 內嵌式光鉗

可調整匹配透鏡(ML)的前後位置,使光鉗的焦點恰好在顯微鏡的成像 面上,當微粒被嵌住時,恰好也可以被清楚觀測到。而雷射在送入顯微鏡 之前,用了一片讓雷射光幾乎 100%反射而可見光幾乎全穿透的分光鏡 (Dichroic Mirror)。而由於顯微鏡內部散射以及嵌住微粒時反射的雷射光對 眼睛具傷害性,在此分光鏡之上再放一片濾光鏡(Filter),其目的是為了保 護眼睛以及減低觀察時因雷射過強而造成的散射光干擾。

#### 3.2 光鉗各部元件及工作原理

首先必須了解,嵌住力的大小,和物鏡的數值孔徑,聚焦點(spot size), 以及擴束的好壞有關。為了能夠達到最大的嵌住力,必須了解光鉗各部分 的功用以及會影響嵌住力的因素,並調整改進使光鉗系統以達到最大的效 率。

#### 3.2.1 嵌住用物鏡

雷射光聚焦的能力是由物鏡本身的 NA 值所決定。NA 值越大,就夠聚

集越多的雷射光線,且聚焦點也會越小,給予最大的嵌住力。因此選取適合的物鏡是非常重要的,以下將介紹其工作原理。

#### 3.2.1.1 數值孔徑

數值孔徑(Numerical Aperture)NA 是決定物鏡的分辨率(resolution)、焦 深(depth of focus)、圖像亮度的基本數據。如圖 3-3 所示,當平行雷射光由 物鏡聚焦後,假如雷射光束完全充滿整個物鏡,透鏡最邊緣處的傾斜光線 與顯微鏡光軸所交角成最大角度為θ<sub>max</sub>,此即該物鏡的半孔徑角。



圖 3-7 物鏡聚焦及半孔徑角

假設介質的折射率為n,則定義數值孔徑

$$NA = n \times \sin \theta_{\max} \quad \circ \tag{3-1}$$

光線射到標本時,因為繞射的關係,光線會散開,若要能夠得到清晰的影像,物鏡必須盡可能把所有散出的繞射光線匯集,這就必須靠物鏡本身的 聚光能力。若物鏡具有高的 NA 值,代表它可接受光線的角度越大,可以 聚集的繞射光線越多,不但辨別率越高,影像也會越明亮。



圖 3-8(a) 乾燥系物鏡

圖 3-4(b) 浸液系物鏡

n 通常在空氣中為1,若是物鏡與標本間沒有浸入任何液體,稱為乾燥 系物鏡,且此物鏡的 NA 值小於1,如圖 3-4(a)。為了提高物鏡的 NA 值, 常會在物鏡與標本間浸入水、甘油、油脂時,該標本折射率,即隨浸液不 同而異。這種物鏡稱為浸液系物鏡,如圖 3-4(b)。提高物鏡的 NA 值是必要 的,不但影像解析度越高,亮度越大,對於嵌住力有直接的影響,因此本 實驗室使用的是浸液系物鏡,即 NA 值為 1.25 的油鏡。

#### 3.2.1.2 聚焦點大小Wtrap的計算

當功率為定值時,若是聚焦點(spot size)越小,光學嵌住的寬度 w<sub>trap</sub> 也就 越小,即代表光強度越強,嵌住力越強[7]。但是因為光的繞射, w<sub>trap</sub> 受到雷 射光和物鏡的條件限制,有一特定的最小值。假設一道平行雷射光束直徑 D,波長λ,射入一焦距為f的透鏡,產生 w<sub>trap</sub>的大小為:

$$w_{trap} \ge \frac{1.22 f\lambda}{2D} = \frac{1.22 \lambda \tan[\sin^{-1}(NA/n)]}{n} = \frac{1.22 \lambda}{2n} \sqrt{\left(\frac{n}{NA}\right)^2 - 1}$$
, (3-2)

NA 為物鏡的數值孔徑,n 為介質的折射率。若要使w<sub>trap</sub>越小,所使用的物 鏡的 NA 值和介質的折射率必須越大越好,如前面所說,使用油鏡為理想的 選擇。本實驗室的油鏡 NA 值為 1.25,油的折射率為 1.518,由公式(3-2), 可以算出本實驗室光鉗的wirm為:

$$w_{trap} = \frac{1.22 \times 1064(nm)}{2 \times 1.518} \sqrt{\left(\frac{1.518}{1.25}\right)^2 - 1} = 294.605(nm) \circ$$

#### 3.2.2 匹配透鏡

一般商用顯微物鏡的規格定為:當鏡前一點成像於物鏡後方 160mm 處時,物鏡之像差減至最低,且入射 NA 達到最大(即物鏡鏡身所刻印之 NA 值),此時所有入射光恰好通過物鏡之射出光瞳(Exit pupil)。



根據光路可逆原則,若有一點光源反過來置於物鏡後方 160mm 處,該 光源發射之光線經過物鏡,即可在鏡前以最大角度聚焦,此聚焦角度與物 鏡 NA 相符,如圖 3-5。所以在使擴束後的雷射經過一匹配透(Matching Lens),聚焦於物鏡前 160mm 處,則此雷射進入物鏡後,可將鏡前以最大 角度聚焦,達到光鉗所需之高聚焦角度的要求。但由於本實驗室的物鏡最 大 NA 設計在成像無限遠處,因此雷射光擴束後

的平行光直接射入物鏡,聚焦後即為最大聚焦角度,不需匹配透鏡。

3.2.3 擴束系統

由章節 2.2.1 的理論得知,若是入射角Θ越大,則可產生越大的回復力, 嵌住越穩定。雷射光源原來為一細束光,此光源不可能直接射入物鏡,因 為會造成物鏡的聚焦角度太小。擴束系統的目的,是為了讓光束直徑變大, 使光束可以完全填滿整個物鏡的背孔徑(back aperture),產生物鏡本生的最 大半孔徑角θ<sub>max</sub>,對於嵌住微粒來說,才有最大的入射角。幾何光學中,透 鏡成像的公式為(3-3)式:

$$\frac{1}{i} + \frac{1}{o} = \frac{1}{f}$$
, (3-3)

ƒ為透鏡的焦距, o 為物體和透鏡的距離, 即物距。i 為成像位置和透鏡的距離, 即像距。若是一道平行光束射入透鏡, 代表物距o=∞, 則成像位置 i=f, 在焦點成像。由光的可逆性得知, 若有一點光源在焦點處, 光線經 過透鏡後, i=∞, 則會產生一道平行光束。如圖 3-6:



圖 3-6 擴束透鏡的擺置

如果有一道直徑d<sub>1</sub>的平行光束射入透鏡L<sub>1</sub>,在焦距f<sub>1</sub>處聚焦,若是此聚 焦處剛好和透鏡L<sub>2</sub>相隔焦距f<sub>2</sub>,則通過透鏡L<sub>2</sub>後的光線也將會是平行光束, 直徑為d<sub>2</sub>,由此可得到擴束倍率和焦距的關係(3-4)式:

23

$$d_2 = \frac{d_1 f_2}{f_1} = M d_1 , \qquad (3-4)$$

M 即為擴東放大率。



圖 3-7 擴束系統

一般的擴東系統如圖 3-7。Source為雷射光光源。雷射光源的光束直徑 為 $d_L$ ,經過一連串的透鏡後,到達物鏡的光束直徑為 $d_{obj}$ 。為了使光鉗的抓 取能力達到最強,必須調整光束直徑使得 $d_{obj}$ 等於物鏡本身的背孔鏡大小  $D_{obj}$ 。如果 $d_{obj}$ <br/>> $D_{obj}$ ,那麼將無法達到最大聚焦角 $\theta_{max}$ ,且 $w_{trap}$ 不會為最小值, 無法產生最大的嵌住力。若 $d_{obj}$ > $D_{obj}$ ,表示一部分的光是射在物鏡外部的, 沒有全都進入物鏡,那麼即使聚焦角達到 $\theta_{max}$ ,且 $w_{trap}$ 為最小值,但光強度 也不會最強,所以為了使嵌住力最強,必須盡量調整擴東倍率,使得 $d_{obj} \approx D_{obj}$ [7]。

#### 3.2.4 雷射功率控制系統及原理

光是電磁場在真空或介質中的波動,為橫波。在均勻介質中,電場與 磁場垂直於波行進的方向,且一邊情況下,電場的作用遠大於磁場的作用, 因此常用電場的方向來表示橫波特性,稱為光的偏振。例如平面光波沿 Z 方向行進時,電場可能會有 X,Y 兩個獨立分量,對應的光波稱為 X 偏振及
Y 偏振,且電場保持平行於一固定直線的光稱為線性偏振光或平面偏振光, 簡稱線偏光。因此,我們利用光的偏振性質,讓雷射光通過一些光學儀器, 操控雷射的功率。最簡單的方法是利用相位板和分光鏡,原理如下:

#### 相位板

相位板是用水晶等具有光學異向性的光學結晶所製,利用此特性,不同的入射直線偏光方向在晶體中會有不同的折射率,如圖 3-8,當光垂直入射時,水平軸方向振動的偏極光,折射率為n2。在垂直方向振動的偏極光為n1。



圖 3-8 相位板的光學異向性

當特定振動方向的直線偏光通過它時,若偏振方向與兩異軸平行時, 則線偏極光之折射率可分別為n<sub>1</sub>(0 度)或n<sub>2</sub>(90 度)。此時光在晶體內的傳播 速度分別為v<sub>1</sub>=c/n<sub>1</sub>或 v<sub>2</sub>=c/n<sub>2</sub> (c為真空中的光速)。若入射光之電場振動方向 與兩異軸有一夾角,則此光波對於兩異軸有一折射率為n<sub>1</sub>的分量,且有另一 分量,其折射率為n<sub>2</sub>。因而,入射光在入射面為同相位,在出射面發生相位 差。此時的相位差為

$$\delta = 2\pi (n_1 - n_2) d / \lambda \quad \circ \tag{3-5}$$

此相位差δ若為π/2 時,此時兩電場分量之相對光程差為光波長的 1/4。此相 位板稱為四分之一波長板(λ/4WP),如圖 3-9。



圖 3-9 不同偏光方向產生的光程差

同理,若光程差為光波長的 1/2 時(δ = π),稱為二分之一波長板 (λ/2WP)。因此當雷射等單色光光波通過晶體後,會造成異向軸間有相位差 異,改變原光波之偏振方向。

11111

### PBS 分光鏡 (Polarization Cube Beam Splitter)

由具雙(複)折射率特性的材料(如方解石)所製成的稜鏡。此種分光鏡一 般做成方塊狀,由兩個直角三角形的稜鏡組成。中間夾層為等方向性物質 或空氣層,可即根據光波極化方向的不同而分光。在此界面,可使 p 極化 光(TM mode)完全穿透,使 s 極化光(TE mode)完全反射,使垂直線偏 光與水平線偏光分離,如圖 3-10。



圖 3-10 PBS 分光示意圖

本實驗室是使用 λ/2WP 和 PBS 分光鏡,調整雷射的功率。當雷射光通 過相位板時,轉動相位板上的刻度,可以使雷射的偏振方向規則變化。因 為不同的偏振方向,在垂直和水平的分量不同,經過 PBS 後,只有水平分 量的 p 極化光可以穿過,而垂直分量的 s 極化光會被反射至左邊光路。當線 偏極雷射經過 λ/2WP 後,再經過 PBS,功率會降為

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

(3-6)

其中 θ 為雷射經過 λ/2WP 後,偏極方向與 PL 的夾角。故調整 λ/2WP 改變 θ值,即可連續地改變雷射之功率。

# 3.2.5 載物平台控制系統

我們使用的載物平台為 Cell Robotic Inc.公司的電動載物平台,可做二 维 XY 軸的移動,移動速度最大可達 200µm/s,精準度可達 1µm。使用的控 制軟體為 Cell Robotic Inc.公司用 Labview 所寫成的虛擬控制儀表板 Workstation。Workstation 不但可以做速度控制,也可以記錄移動位置,做 定位的工作。並且可以輸入欲移動的距離,精確的移動平台位置。由於套 裝軟體對於載物平台的速度控制只有特定幾個速度,如1,2,5,10,20, 50,100,200μm/s,為了能夠連續控制速度改變,我們加裝搖桿在控制器 上,調整電壓大小,就可以連續控制載物平台的移動速度了。

3.3 儀器架設

### 3.3.1 本實驗室的光鉗系統

本實驗室所使用的光鉗系統,使用的是 Leica 倒立式顯微鏡改裝而成, 大致架設概念如圖 3-11。



圖 3-11 本實驗室的光鉗架設圖

一般顯微鏡觀察的試片,樣本夾在載玻片和蓋玻片之間,因為光鉗的 嵌住目標微粒必須存在於液體中,一但時間久了,微粒將沉入試片底部, 若是焦深不夠,將無法嵌住。倒立式顯微鏡將不會有此問題,因為試片必 須倒放觀察,若是微粒沉澱,也只會和物鏡相隔蓋玻片的厚度,大約 0.14~0.17mm,將不會有焦深的問題。且本顯微鏡在物鏡下方的左右各有一 條光路,由右邊的光路將嵌住用雷射導入,經過一 45°分光鏡(Dichroic Mirror)往上導入物鏡。以後若是需要觀察微米級以下的微粒,則由左邊的 光路用另外一支較低功率的探測用雷射導入物鏡。物鏡和目鏡間有一分光 鏡,可將影像分別導入目鏡及上方架設的 CCD 攝影機。在物鏡上方,也有 架設一台 CCD 攝影機,為的是要接收探測用雷射對微粒的散射影像,再進 行後處理,辨別微粒的偏移量。

# 3.3.2 光路架設

本實驗室使用的嵌住用雷射為 CrystaLaser 的 CW Infrared Laser, 波長 1064nm, 功率 700mW, 光束直徑 0.45mm。在調整雷設的過程中, 需要先 加裝 ND filter 將雷射功率衰減, 以免發生危險。本光路設計為二次擴束, 且因為本實驗室所使用的顯微物鏡為 Leica 的 100 倍油鏡, 編號 506159, 背孔徑(back aperture)為 6mm, 所以擴束的目標是將原光束直徑 0.45mm 擴 增至約 6mm。



圖 3-12 光路設計圖

第一次擴東是利用焦距-25mm和 125mm的透鏡,由公式(3-5)可知,擴 束倍率M=f<sub>2</sub>/f<sub>1</sub>=(125/25)=5。因為中間經過反射鏡將光路轉折,所以凹透鏡 到反射鏡中心的距離a,加上凸透鏡到反射鏡中心的距離b,須調整至 a+b=(-25mm+125mm)=100mm,如圖 3-12,擴東後才會是平行光,且光束 直徑為 0.45×5=2.25mm。

第二次擴東是選用兩個消像差透鏡, 焦距分別是 38.7mm 和 101.7mm, 兩透鏡距離 c 必須為(38.7+101.7)=140.4mm, 擴東倍率 M=101.7/38.7=2.63, 擴東後光東直徑為 2.25×2.63=5.91mm。

擴束後的雷射,可利用半波片(λ/2 plate)和 PBS 控制雷射光功率。藉由 旋轉半波片的刻度,可以連續的控制雷射光入射的強度。實際照片如圖 3-13。



圖 3-13 實際光路架設情形



圖 3-14 光路與顯微鏡架設

經過擴束後的雷射光,必須準確的射入顯微鏡側邊的光路入口,如圖 3-14,再經由顯微鏡內角度45度的分光鏡,讓雷射完全反射到上方,射入 物鏡內。

3.3.3 雷射調整

雷射調整的目標,簡單來說,就是把雷射準直的射入物鏡內,若是有

一點偏折,都會影響到雷射嵌住的效率。調整的第一步,必須先將所有擴 束用的透鏡拆除,只留下雷射和 ND filter。調整雷射高度,大約和顯微鏡側 邊的光路入口等高。接下來開啟雷射,利用兩個反光鏡將雷射光導入入口。 先用 10 倍物鏡觀看,切記不可使用目鏡觀察,必須使用 CCD 攝影機接到 螢幕觀看,以免眼睛燒傷。觀察是否有亮點,有的話,微調反光鏡使亮點 移到中間位置。若是沒有,則必須重新調整雷射高度或是反光鏡的位置及 角度。一切調整好後,使用 100 倍物鏡觀看,應該可以看到同心圓的斑紋 出現。使用微調讓同心圓的中心移到螢幕中心。若是移到中心,表示雷射 大部分射入物鏡了。當然,這還並不代表雷射完全準直的射入物鏡,若是 歪斜的射入,同心圓的亮度會不對稱,如圖 3-15。



圖 3-15 雷射光歪斜入射

這種情形必須再次微調反光鏡的角度,讓同心圓的亮度大致對稱,這樣在 每個方向的嵌住力才會差不多,如圖 3-16。



圖 3-16 雷射光準直入射

調整到這個過程, 雷射光算是準直射入了, 接下來可以將擴束的透鏡 一一置入。裝置透鏡需要注意,以不會動到原光路為原則, 可以用螢幕上 的同心圓來檢查, 看看是否移動到, 置入的同時, 亮度一定有所變化, 可 以尋找亮度最亮, 且不會移動到同心圓, 即為最佳的位置。

擴束用的透鏡都裝置完後,可以用試片檢查,若是雷射準直的話,調整聚焦點到載玻片底部,會有漂亮且對稱的光斑,如圖 3-17。



圖 3-17 試片底部的對稱光般

另外,也可以做嵌住微粒的實驗,觀察微粒是否在同心圓的中心,做最後 的微調。當雷射光真正準直時,會發現嵌住 1µm 的微粒時,在光軸上不同 高度會同時嵌住數個微粒,很像是串燒丸子的現象,調整到這種程度,已 經是校正得非常準直,可以做實驗了。



# 四、光鉗嵌住力的量測與校正

# 4.1 光鉗嵌住力的量测方法

要測量光鉗的嵌住力,可以利用微粒在液體移動,液體對微粒產生的 黏滯力來測量。由 Stokes' Law 得知,當球體在一介質中有相對運動時,若 速度為v,則受到的黏滯力F<sub>D</sub> (Dragging Force)可表示為:

$$F_D = 6\pi\eta r v \quad , \tag{4-1}$$

n為流體的黏滯係數(viscosity),,為球體半徑。當微粒在介質中被雷射嵌住時,我們只要移動試片,就可讓微粒和介質產生相對運動,因此,我們只要使用電動步進馬達的載物平台,可以準確且微量的控制試片的速度及位移,如圖 4-1。



圖 4-2 電動載物平台示意圖

由公式(4-1)可知,在相同的介質中,黏滯力和和物體的運動速度成正 比。在運動過程中,受到的黏滯力會和雷射橫向嵌住力達到力平衡,一旦 速度大到某個值,產生的黏滯力已大於雷射嵌住力,微粒將被甩出嵌住範 圍。若是紀錄此速度,加上已知的微粒半徑及介質黏滯係數帶入公式,則 可求得雷射横向嵌住力。

若是近一步對嵌住力做測量,在微粒還未逃脫時,根據第二章的理論 和圖 2-11 發現,聚焦中心未靠近邊緣時,回復力的大小幾乎和微粒的偏移 量成正比,如同彈簧一樣,因此嵌住力可以用簡單的式子表示:

$$\vec{F} = -k\vec{x} \quad \circ \tag{4-2}$$

如果對於直徑小於 1µm 的微粒,為了偵測其微小的位移量,必須使用另一 支探測用雷射,且此雷射的功率必須遠低於嵌住用雷射,以免對嵌住造成 影響。探測用雷射入嵌住的微粒後,若是微粒偏移中心,則會產生散射, 且因偏移程度的不同,會有不同的散射狀況,如圖 4-2。



圖 4-2 探測用雷射原理

這些散射光線經過影像處理後和模擬做比對,就可推測微粒大概的偏移量,精度大約可到10nm。為了接收這些散射光線,可在試片上方加裝一個NA 值較低的物鏡匯集光線,由上方的 CCD 攝影機擷取影像做分析[8]。

## 4.2 本實驗室光鉗系統嵌住力的測量與計算

目前本實驗室的光鉗系統剛架設完成,對於光鉗嵌住力的大小還不明 確,因此我們憑著目前對光鉗的了解,設計一連串的實驗,為的是幫助我 們熟悉操作方法以及了解如何應用在微力測量上。藉由文獻上的公式,我 們求出功率與嵌住力的關係,並且得到光鉗的嵌住效率。

#### 4.2.1 雷射功率测量

第三章提過,旋轉 λ/2WP 可以調整雷射功率。因為雷射通過物鏡,聚 焦後會強烈散射,直接在物鏡上方量測功率會非常不準確。正確的量測方 法是在雷射光通過物鏡前量測,因為此時雷射光是經過擴束後的平行光, 且單位面積的光強度不會太強而傷害功率計。測量到的功率,必須再乘以 物鏡的穿透率,才是真正雷射聚焦後嵌住微粒的功率。然而雷射對於物鏡 的穿透率,和物鏡本身的設計以及雷射波長有關,本實驗室是使用 Leica 型 號 506159,100 倍油鏡,對於波長 1064nm 的紅外光雷射穿透率為 0.6。旋 轉 λ/2WP,每隔5 度所量測到的功率如圖 4-3。

37



圖 4-3 雷射功率對刻度關係圖

旋轉刻度後發現, 雷射的功率是每 90 度為一個循環, 最大值在刻度 80 左右, 約為 320mW。且因為光學儀器PBS難免在製作上有極限, 讓少許部 份的s極化光通過, 最小值不為零,約為 3.65mW。若是由理論公式(3-6), 則P<sub>0</sub>=320mW, 且點資料經過趨近有後,得到

$$P = 320\cos^{2}((\theta + 12)\pi/90) , \qquad (4-3)$$

θ為 λ/2WP 上的刻度。取刻度 26 到 44 間,我們做細部的量測,並且將功率乘以物鏡穿透率 60%,即為真正嵌住微粒的功率。繪製成圖表如下,刻 度為 36 時功率最小。



圖 4-4 嵌住雷射功率對刻度關係圖

# 4.2.2 雷射功率對逃脫速度的關係

由第二章的理論公式(2-4)得知, 嵌住力 F=npQ/c, 表示雷射嵌住力和功 率成正比,因此理論上來說, 雷射功率越大, 逃脫速度也就越大。旋轉 λ/2WP 可以控制雷射的功率以調整嵌住力的大小, 我們每旋轉一度去改變雷射功 率, 做微粒逃脫速度的量測實驗。得到逃脫速度的方法為:先用光鉗嵌住微 粒, 然後用搖桿沿著一定的方向移動, 然後調整電壓旋鈕, 慢慢加大速度, 直到微粒脫離為止。之後將虛擬儀表板紀錄的座標歸零, 以同樣的電壓旋 鈕刻度, 再讓搖桿移動 10 秒, 紀錄位移量, 除以秒數就可算出移動速度, 即為逃脫速度。每轉一度 λ/2WP 改變雷射功率, 紀錄逃脫速度, 每一刻度



圖 4-5 逃脫速度對刻度關係圖

利用圖 4-4 把刻度和對應的功率做轉換,並將各刻度下得到的五次逃脫速度取平均值,做成圖 4-6。



圖 4-6 平均逃脫速度對雷射功率關係圖

由圖 4-6 可知,功率越大,逃脫速度越大,代表嵌住力越大。且電動載物平

台的移動速度,極速約為200µm/s,因此當速度到達極速時,可提供的最大 黏滯力到達上限,因此刻度大於42或小於28時,雷射給予的嵌住力已經 大於黏滯力了,所以微粒無法脫離。若要繼續量測以上的嵌住力,必須選 用直徑更大微粒。

### 4.2.3 光鉗嵌住力的計算

若要更進一步分析,可利用逃脫速度算出微粒所受的黏滯力。由理論 公式可知,水在0℃到 370℃之間,黏滯係數(dynamic viscosity)為

顯微鏡聚光燈下的溫度約為 29℃,即絕對溫度 T=302K 代入(4-4)式,可以得到

$$\eta = 2.414 \times 10^{-5} \times 10^{247.8/(302-140)} = 8.173 \times 10^{-4} N \cdot s / m^2 \circ$$

對於直徑 5µm 的微粒來說,由(4-1)式可知,所受到的黏滯力為

$$F_D = 6\pi\eta rv = 6\pi \times 8.173 \times 10^{-4} \times 2.5 \times 10^{-6} \times v = 3.851 \times 10^{-8} \times v(Newton)$$
(4-5)

將圖 4-6 各個平均逃脫速度代入計算公式(4-5),轉換為黏滯力F<sub>D</sub>,並且和功率做成圖 4-7。



圖 4-7 最大嵌住力對雷射功率關係圖

將資料點輸入 MATLAB 做通過原點的線性趨近,可以看出資料點大致 上是直線分布,由此可知,嵌住力大小幾乎和雷射功率成正比,比值為  $\frac{F_D}{P} = 4.4 \times 10^{-13} (N/mW)$ 。 (4-6)

若是將雷射功率開到最大,即λ/2WP刻度80,功率320mW,利用式子(4-6) 可以計算本實驗室光鉗系統的最大嵌住力為:

 $320(mW) \times 60(\%) \times 4.4 \times 10^{-13} (N/mW) = 84.48(pN)$  °

## 4.3 光鉗剛性係數量測

之前的觀察發現,被雷射嵌住後的微粒受到外力時,有類似彈簧的性質。為了對這項性質做進一步分析,對於微小尺度必須有準確的定位,才可以分辨微粒的微小位移量,再配合施力大小,得到光鉗剛性係數。

# 4.3.1 尺度轉換

為了能將顯微鏡觀察到的影像, 擷取下來後和實際的大小做尺度上的 轉換, 我們先觀察已知大小的物體, 作為尺度轉換上的依據。圖 4-8 是原子 力顯微鏡所使用的探針, 探針寬度為 35µm。由於擷取的影像在橫方向和縱 方向的 pixel 長度有些微差距,因此我們將同樣的探針,橫向和縱向各拍一 張圖片, 如圖 4-8(a)、圖 4-8(b)。把 CCD 擷取下來的影像存成大小 640×480 的圖片, 圖片格式為.bmp 檔。用點陣座標的方式分析圖片, 在橫方向得到 探針的寬度為 420 pixels, 縱方向得到探針寬度為 402 pixels。



圖 4-8(a) AFM 探針(直照) 圖 4-8(b) AFM 探針(橫照)

因此我們可以得到實際長度和擷取圖片大小為 640×480 的圖片,有以 下對應關係:

橫軸為

$$\frac{420}{35} = 12 \ pixels / \mu m \quad \vec{x} \quad \frac{35}{420} = 0.083 \ \mu m / \ pixel \quad , \tag{4-7a}$$

縱軸為

$$\frac{402}{35} = 11.49 \text{ pixels}/\mu m \quad \vec{x} \quad \frac{35}{420} = 0.087 \mu m / \text{ pixel} \quad \circ \tag{4-7b}$$

若是圖片大小為 1024×768, 重複以上步驟, 實際長度 35µm 在橫方向為 669 pixels, 縱方向為 642 pixels, 有以下對應關係:

橫軸為

$$\frac{669}{35} = 19.11 \, pixels / \mu m \quad \vec{x} \quad \frac{35}{669} = 0.052 \, \mu m / pixel \quad , \tag{4-8a}$$

縱軸為

$$\frac{642}{35} = 18.34 \text{ pixels}/\mu m \quad \vec{x} \quad \frac{35}{642} = 0.055 \mu m / \text{ pixel} \quad \circ \tag{4-8b}$$

因此,只要從擷取下來的圖片分析長度為多少 pixels,就可以算出實際長度了。

以下為標準直徑 5µm 的 polystyrine 微粒,由微粒直徑較長的關係,光 的散射使得顯微鏡不容易觀察到最外圍真正的輪廓,但有了上述尺度轉換 的基礎,仍然可以判斷出微粒的大小。也就是說,原本大小 5µm 的微粒, 在 640×480 的圖片,縱方向上長度應該為

 $11.49(pixels / \mu m) \times 5(\mu m) = 57.45 pixels$  °

以 57 pixels 的長度去分析,可以判斷出微粒真正的外緣,如圖 4-9。



圖 4-9 直徑 5µm 的微粒

## 4.3.2 球心位置判斷

首先,先從影片中撷取出影像,使用的是 ATI TV Wonder 電視卡,搭 配 ATI Multimedia Center 軟體,儲存影片的格式是 MPEG-1,DVD 畫質, 352×240,NTSC,61.76 MB/Minute。圖 4-10 是由拍攝的影片擷取下來的畫 面,微粒的直徑是 5μm,λ/2WP 的刻度是 32,電動載物平台移動的方向是 往上,速度分別是 0,2,5,10,20,50 μm/s。



判斷球心位置的步驟如下:



圖 4-11(a) 原圖

圖 4-11(b) 尋找邊緣



圖 4-11(c) 描繪輪廓 圖 4-11(d) 判斷中心點 從影片中擷取出影像, 擷取出的圖片大小為.bmp 格式, 352×240, 把它存成 640×480 以便於分析。使用 Photoshop 中的"尋找邊緣"功能,可以將球的邊 緣用黑線描繪出,得到明顯的邊緣,如圖 4-11(b)。另外,使用"輪廓描繪" 的功能,可以調整色階,把球的輪廓抓出來,如此便很容易判定球心位置, 如圖 4-11(c)。最後,利用點陣座標,把球的上下左右邊界找出來,平均以 後就可以得到球心位置,如圖 4-11(d)。

## 4.3.3 球心偏移量分析

以下為一分析範例。先從影片一開始馬達還未啟動時,擷取出起始位 置的圖片,圖片大小為 640×480,並且由上述方法分析,得到球心位置座標 (323,232),如圖 4-12(a)。之後電動載物平台以等速率 50µm/s 移動,方向向 上。在過程中擷取圖片,微粒勢必會因為黏滯力影響而有少許的偏移量。 判斷微粒球心的位置,得到球心座標(324,216),如圖 4-12(b)。



圖 4-12(a) 球心座標(v=0µm/s)



圖 4-12(b) 球心座標(v=50µm/s)



圖 4-13 偏移量分析

因為載物平台只有在 Y 軸方向移動, x 軸方向幾乎沒有偏移,因此我們只 分析 Y 軸的球心偏移量, Y 軸座標差約 16pixels,如圖 4-13。由之前實際 大小和 pixel 的換算公式(4-7b),可以得知球心實際的偏移量約為 0.087×16=1.39µm。

### 4.3.4 黏滯力對球心偏移量的關係

建立起判斷球心偏移量的方法後,我們將對速度和球心偏移量的關係 作深入的實驗。對 λ/2WP 每個刻度做不同速度實驗,移動速度是由 Workstation 所控制,可控制的速度為1,2,5,10,20,50,100,200 μm/s。 撷取下來的圖片一張一張分析,得到的平均球心偏移量如表 4-1,單位是 pixel。

刻度速度	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43
1							1	4	4	15	2	1	1				
2					1	1	2	5	5	20	10	2	3	1			
5	1	1	1	1	2	2	5	7	16		16	7	4	3	1		
10	2	2	3	3	3	4	9	14	23			13	8	4	3	1	1
20	3	3	4	4	5	8	17					22	13	7	5	2	2
50	5	6	8	10	14	17								17	9	6	5
100	8	12	14	17											16	11	8
200	13																14

表 4-3 各刻度下不同速度的球心偏移量表

將表 4-1 的移動速度代入公式(4-5),換算出所受到的黏滯力,並用公式

(4-7b)將長度單位 pixel 換成實際長度 µm, 做成圖 4-14(a)、圖 4-14(b)。



圖 4-14(a) 球心偏移量對黏滯力關係圖(刻度 27~35)



圖 4-14(b) 球心偏移量對黏滯力關係圖(刻度 36~43)

由圖 4-14(a)、4-14(b)可以看出, $\lambda/2$ WP 在固定刻度下,也就是功率固定時,微粒球心的偏移量大致和受到的黏滯力大小成正比,由此可看出, 被雷射嵌住的微粒,有如彈簧般 $\vec{F} = -k\vec{x}$ 的性質,因此我們可以進而分析光 銷的剛性係數。

# 4.3.5 雷射功率和剛性係數的關係

由圖 4-14(a)、4-14(b),我們將每個刻度的資料點作線性趨近,得到不同斜率,利用受力與位移量的關係,得到各刻度的剛性係數k值,如表 4-2,並且可以繪出功率和剛性係數k值的關係,如圖 4-15。



表 4-4 刻度和光鉗剛性係數對照表

圖 4-15 光鉗剛性係數和雷射功率關係圖

將資料點丟入 MATLAB 作近似曲線,發現剛性係數似乎是和功率的平方有關係。有了圖表對應後,以後只要直接量測雷射功率,就可以直接推測出 光鉗的剛性係數了,對於以後做實驗有相當的便利性。



# 五、布朗運動均方位移分析及液體黏滯係數測定實驗

#### 5.1 布朗運動的發現

西元 1827 年, 英國的植物學家勞伯, 布朗 (Robert Brown), 在顯微鏡 下觀察到懸浮在水中的花粉粒子, 會不停地進行連續但不規則的運動。他 做出結論:『當我仔細檢視在水裡的顆粒的行為模式, 我發現大部分的顆粒 有明顯的運動。這些運動讓我認為他們並非來自水的流動或蒸發, 而是來 自顆粒本身。』這種類似生命體的運動特徵引發科學家們研究微小粒子的 運動行為。經過許多的實驗與探討, 科學家發現這現象應該是微小粒子受 到週遭液體分子從四面八方的連續撞擊, 而產生連續但不規則地隨機移 動, 這種移動我們稱之為布朗運動(Brownian motion), 如圖 5-1。布朗運動 具有下列的特性:(1)粒子的運動永不停止;(2)溫度的改變會影響粒子的運 動;(3)粒子的運動沒有固定的軌跡, 其運動軌跡呈鋸齒狀;(4)粒子的大小 影響粒子的運動遠度;(5)粒子的成份或密度不會影響粒子的運動[23]。

愛因斯坦認為懸浮在液體中的微小粒子的擴散過程,是由兩個主要機制(包括了粒子在流體中的滲透壓(osmotic pressure)的分布,及粒子相對遷移律(mobility))決定。他並由此推得擴散係數與溫度及黏滯係數的關係式。接著他引進了數學中的隨機過程理論,來描述懸浮粒子所做的不規則地鋸齒狀的運動,並推得其平均量與擴散係數的關係。他從一維隨機走動(Random

52

Walk)的數學框架開始,計算以每一次單顆水分子對微粒碰撞造成在空間 某一方向作向左或向右固定位移l的假設下,在一段時間t後微粒在許多水分 子隨機碰撞造成平均總位移<x>= 0,而其均方位移與時間t成一次方正比, <x<sup>2</sup>>=2Dt,其中D即為巨觀量測之擴散係數。結合經典熱力學中的波茲曼分 佈以及流體力學,可推得其擴散常數D=kT/6πηa,k為波茲曼常數,T為絕 對溫度,η為液體黏滯係數,a為微粒半徑。由以上公式,我們可以瞭解在 水裡的微粒的運動其實是周遭水分子在熱擾動下隨機推擠碰撞的結果。透 過量測均方位移<x<sup>2</sup>> = 2kTt/6πηa,我們可將微粒的運動與巨觀的溫度及黏 滯 係 數 作 關 聯 。 以 上 關 係 被 廣 泛 的 稱 為 擾 動 — 耗 散 關 係 (Fluctuation-Dissipation Relation)[22]。



圖 5-1 布朗運動示意圖

# 5.2 朗則文(Langevin)的理論分析

自從 1905 年愛因斯坦成功的提出了對布朗運動的理論解釋,許多科學 家大受啟發,紛紛嘗試對布朗運動提出更精細的解釋,其中以物理學家朗 則文的貢獻最為重要。在1908年,他從微觀的牛頓第二運動定律出發,藉 著詳細而且嚴謹的數學推導,得到了布朗運動在短時間與長時間的動態表現,並且給予愛因斯坦所提出的直觀性的假設,非常充分的理論基礎。

#### 5.2.1 朗則文方程式(Langevin's equation)的推導

首先,為了簡化,朗則文只考慮顆粒在單方向運動,並根據牛頓第二 運動定律,他寫下的顆粒運動方程式(5-1)[23]:

$$m\frac{d^2x}{dt^2} = f(t) + F'(t) , \qquad (5-1)$$

m 為顆粒的質量,x(t)為在時刻 t 時顆粒的座標,f(t)為介質分子施與顆粒的 淨作用力,F'(t)表示此外可能存有其他作用力,例如電磁力,重力...等等。 f(t)是隨時間 t 漲落不定的,對不同的顆粒,f(t)可以是完全不同的函數,對 這類問題只能做統計的處理,即討論大量布朗顆粒運動的平均狀況,或者 討論對一個布朗顆粒多次測量的平均結果。且 f(t)可分成兩部份,一為黏滯 阻力- $\alpha$ v,一為隨機力 F(t)。黏滯阻力來自於介質分子對顆粒的碰撞,當顆 粒以速度 v 運動時顆粒在其前進方向上將與更多介質分子碰撞,因此平均 而言,將受到與其速度方向相反的黏滯阻力,當 v 不大時,阻力的大小與 顆粒的速度成正比。如果將顆粒看作半徑為 a 的小球,在黏滯係數為 η 的 流體中運動,如同公式(4-1), $\alpha$ = $6\pi$ qa。隨機作用力 F(t),相當於分子對靜止 的布朗顆粒碰撞所得的淨作用力,顯然隨機作用力 F(t)可正可負,且其平均 值<F(t)>=0。在做出這區分後,可將顆粒的運動方程式表示為:

$$m\frac{d^{2}x}{dt^{2}} = -\alpha\frac{dx}{dt} + F(t) + F'(t) , \qquad (5-2)$$

當不存在其他外力時,F'(t)=0, 朗則文方程式為

$$m\frac{d^2x}{dt^2} = -\alpha\frac{dx}{dt} + F(t) \quad \circ \tag{5-3}$$

以 x 乘全式 , 因 為  $\frac{d}{dt}(x\dot{x}) = x\ddot{x} + \dot{x}^2 \pm \frac{d}{dt}(x\dot{x}) = \frac{1}{2}\frac{d^2}{dt^2}x^2$  , 則:  $x\ddot{x} = \frac{d}{dt}(x\dot{x}) - \dot{x}^2 = \frac{1}{2}\frac{d^2}{dt^2}x^2 - \dot{x}^2$  , 代入(5-3)式中 ,

因此可得:

$$\frac{1}{2}\frac{d^2}{dt^2}(mx^2) - m\dot{x}^2 = -\frac{\alpha}{2}\frac{d}{dt}x^2 + xF(t) \quad \circ \tag{5-4}$$

將(5-4)式對大量顆粒求平均,即把大群顆粒的運動方程式相加然後除以顆 粒數目,且注意求平均值與對時間求導數的次序可以交換,即

$$\left\langle \frac{d}{dt} x^2 \right\rangle = \frac{d}{dt} \left\langle x^2 \right\rangle , \left\langle \frac{d}{dt} m x^2 \right\rangle = \frac{d}{dt} \left\langle m x^2 \right\rangle$$
 (5-5)

隨機作用力 F(t)與顆粒的位置無關,因此 xF(t)的平均值等於 x 的平均值與 F(t)的平均值的乘積。但 F(t)的平均值為零,故

$$\langle xF(t)\rangle = \langle x\rangle \cdot \langle F(t)\rangle = 0$$
 (5-6)

且根據能量均分定理,可知

$$\left\langle \frac{1}{2}m\dot{x}^{2}\right\rangle =\frac{1}{2}kT \quad \circ \tag{5-7}$$

將式子(5-5)、(5-6)、(5-7)代入(5-4)中,便可得到

$$\frac{d^2}{dt^2} \langle x^2 \rangle + \frac{\alpha}{m} \frac{d}{dt} \langle x^2 \rangle - \frac{2kT}{m} = 0 \quad , \tag{5-8}$$

解二階微分方程式,得到

$$\left\langle x^{2}\right\rangle = \frac{2kT}{\alpha}t + C_{1}e^{\frac{\alpha}{m}t} + C_{2} \quad , \tag{5-9}$$

其中C<sub>1</sub>和C<sub>2</sub>是積分常數。當t>>m/α(特徵時間,約10<sup>-6</sup>秒),(5-9)式等號右邊 的第二項可忽略。如果假設所有粒子在t=0時都處在x=0處,則C<sub>2</sub>=0,因此 可得:

$$\left\langle x^2 \right\rangle = \frac{2kT}{\alpha}t = \frac{2kT}{6\pi\eta a}t$$
 (5-10)

## 5.2.2 對愛因斯坦理論的驗證

為了驗證愛因斯坦的理論,定義隨機力大小平方的平均值為 A 及特徵時間 τ=mB。B 代表懸浮粒子在液體中的遷移率 1/6πηa(即之前提到的 1/α), 運動方程式改寫為:

$$m\frac{d\vec{v}}{dt} = -\frac{\vec{v}}{B} + \vec{F} \quad (5-11)$$

由簡單的數學計算可推得以下的結果:

(1) 懸浮粒子速度的平均值

$$\langle \vec{v}(t) \rangle = \vec{v}(t=0)e^{-\frac{t}{\tau}} \quad \circ \tag{5-12}$$

在時間t遠大於特徵時間τ的時候,速度的平均值趨近於零。這驗證了 愛因斯坦所說的,由於液體的阻滯力的作用,懸浮粒子經過時間τ之後, 其原來的速度幾乎被耗盡,一切從頭開始。

(2) 懸浮粒子速度的大小平方的平均值

$$\langle v^2(t) \rangle = v^2(t=0)e^{-\frac{2t}{\tau}} + \frac{A\tau}{2m^2}(1-e^{-\frac{2t}{\tau}}) \circ$$
 (5-13)

當時間t遠大於特徵時間 $\tau$ 的時候,  $<v^2(t)>$ 就趨近於一個常數 $A\tau/2m^2$ 。再

由理想氣體的熱力學告訴我們,在熱平衡時,三維空間中的理想氣體分子 的速度大小平方的平均值<v<sup>2</sup>(t)>=3k<sub>B</sub>T/m,其中k<sub>B</sub>代表波茲曼常數,T代表 溫度,m代表理想氣體分子的質量。因此我們可得以下的關係式AB=6k<sub>B</sub>T。 既然A代表隨機力大小平方的平均值,而B與阻滯力有關,因此AB=6k<sub>B</sub>T被 稱為變動與耗散定律(Fluctuation-Dissipation Theorem),這個部分驗證了愛 因斯坦動態平衡的概念。

(3) 在時間上懸浮粒子前後的速度之間的相關性

$$\langle \vec{v}(t) \cdot \vec{v}(t') \rangle = v^2 (t=0) \cdot e^{-\frac{(t+t')}{\tau}} + \frac{A\tau}{2m^2} (e^{-\frac{|t-t'|}{\tau}} - e^{-\frac{(t+t')}{\tau}}) \circ$$
 (5-14)

顯然的,當時間 t 與 t'均遠大於特徵時間 τ,而且 t 與 t'的時間差值|t-t'| 也遠大於 τ 時,我們可得 〈v̄(t)·v̄(t')〉 趨近於零,這就驗證了愛因斯坦所提的前 後運動視為獨立運動的概念。

# (4) 懸浮粒子位移大小平方的平均值

$$\left\langle \left| \vec{r}(t) - \left\langle \vec{r}(t) \right\rangle \right|^2 \right\rangle = \frac{A\tau^2}{m^2} \left[ t + \tau \left( 2e^{-\frac{t}{\tau}} - \frac{1}{2}e^{-\frac{2t}{\tau}} - \frac{3}{2} \right) \right] \circ$$
 (5-15)

經過長時間之後, $\langle |\bar{r}(t)-\langle \bar{r}(t)\rangle|^2 \rangle$ 就趨近 $A\tau^2 t/m^2$ 。在前一節曾經提到,在 三維空間中,上述的物理量是趨近於 6Dt。因此,我們得到擴散係數  $D=A\tau^2/6m^2$ ,而因為 $\tau=mB$ ,所以 $D=AB^2/6$ 。再運用 $AB=6k_BT$ ,因此  $D=B(k_BT)=k_BT/6\pi\eta a$ 。所以,這個部分再次驗證了愛因斯坦所得的關係式 (Einstein's relation)。總而言之,朗則文使用較為嚴謹的數學概念,一一驗證 了愛因斯坦對布朗運動物理直觀性的假設,也使得這整套理論架構更為完整[21]。

#### 5.3 液體黏滯係數測定實驗

本實驗將使用顯微鏡觀察直徑 1µm的微粒在液體中的運動,藉由攝影 機拍攝的結果去分析布朗運動的均方位移<R<sup>2</sup>>,由公式(5-10)去,反推並計 算出液體的黏滯係數。純水為最容易取得的液體,且由理論公式可以算出 純水在各溫度下黏滯係數的理論值,因此我們先對純水做分析,得到的實 驗結果和理論值比較看是否符合,若是符合表示我們的分析方法是正確 的,並且可以應用在測定未知液體的黏滯係數。

#### 5.3.1 實驗理論

由Langevin的理論可知, 布朗運動的均方位移與時間t的一次方成正 比,如式(5-10)。若只考慮一維運動,則<x<sup>2</sup>>=<y<sup>2</sup>>=<z<sup>2</sup>>=2Dt,擴散常數D =kT/6πηα。若是推廣至二維運動,可得到<R<sup>2</sup>>=4Dt,三維運動則為<R<sup>2</sup>>=6Dt [11]。因為微粒在液體中是三維的布朗運動,目前顯微鏡觀察到的微粒,還 無法判斷出光軸方向(Z軸)的位移量,所以我們使用二維的布朗運動的均方 位移公式<R<sup>2</sup>>=4Dt,即為:

$$\left\langle R^2 \right\rangle = \frac{4kT}{6\pi\eta a}t \quad , \tag{5-16}$$

我們將攝影機所拍到的影像,視橫軸為 x 軸,縱軸為 y 軸,分別分析位移

量,因此對於第 i 個微粒在時間 t 時的位移量為 $\Delta x_i(t) = x_i(t) - x_i(0)$ ,且  $\Delta y_i(t) = y_i(t) - y_i(0)$ ,位移的平方為:

$$[\Delta R_i(t)]^2 = [\Delta x_i(t)]^2 + [\Delta y_i(t)]^2 , \qquad (5-17)$$

而位移平方的平均值為:

$$\left\langle R^2 \right\rangle \equiv \frac{1}{N} \sum_{i=1}^{N} \left[ \Delta R_i(t) \right]^2 \quad , \tag{5-18}$$

N 為我們取樣的微粒數目。將 N 個微粒在不同時間下的位移量大小的平方, 取平均值,由公式(5-16)可知,理論上是會和時間呈線性關係,斜率為 4kT/6πηa。且因為波茲曼常數,絕對溫度,以及微粒的半徑皆為已知,因此 我們就可以反算出液體的黏滯係數η了。

# 5.3.2 未知溶液的配置及試片的準備

除了純水外,我們將使用純水與洗潔精混合比例的不同,產生不同的 未知液體,而其黏滯係數也必定不同。使用的洗潔精為 PAOS 泡舒洗潔精, 主要成分為椰子油醇界面活性劑,天然非離子界面活性劑,椰子油脂肪酸 衍生物,天然食用香料(BD-1005),洗潔精的 pH 值為 6.0~8.0。我們調和的 未知溶液有四種,成份分別為,洗潔精:純水=1:4、1:2、3:2、4:1。將純水 和洗潔精按比例均勻混合後,放置一段時間等待泡沫完全消失,再將含有 1µm 大小懸浮微粒的液滴滴入混合溶液中,均勻混合後再放置一段時間。 最後取出溶液做成試片,開始進行實驗。

試片的製作過程中必須不可有太大的震動以免讓試片中的水產生擾

動,並且也必須注意試片中不可有太多氣泡,若是氣泡在試片中移動也會 影響到實驗結果。製作好的試片先放在顯微鏡下觀察一陣子,若是觀察到 有明顯的水流,且放至一段時間仍然無靜止,則此試片不適合做實驗並且 捨棄不用。若是試片中的微粒振動方向不定,且巨觀來說沒有有固定的移 動方向,那麼這就算是一個製作成功的試片了,並且可以開始做實驗。拍 攝影片時,我們先將顯微鏡的聚焦平面移至試片內溶液的中間層做觀察, 因為中間部份的微粒有足夠的空間運動,且不會受到試片上下邊界的影 響,得到的結果不需要用其他公式校正。

# 5.3.3 分析方法



將拍攝下來的影片用軟體VirtualDub做處理,且擷取圖片的時間間隔 (time interval)為 0.2 秒,即 5 frames/s。為了方便分析並提高判斷位移量的準 確度,我們把圖片存成 1024×768 pixel,由公式(4-8a)、(4-8b)可知,在橫軸 方向長度為 0.052µm/pixel,縱軸方向的長度為 0.055µm/pixel。拍攝微粒運 動時,我們設定的最低可觀察時間為 6 秒鐘,觀察時間遠大於特徵時間 10<sup>-7</sup> 秒,符合巨觀的條件。若是在 6 秒鐘內微粒在z軸(光軸)上下懸浮,漂離聚 焦平面甚遠以致於無法判斷其位置,則重新拍攝。因此對於每個微粒在 6 秒內的運動,可以得到 5×6=30 張的圖片,且每一種溶液至少做 20 組,作 為分析的資料。
## 5.3.4 實驗結果

### 5.3.4.1 純水的黏滯係數測量

首先我們先用純水做實驗,使用之前(5-17)、(5-18)式所說的分析方法, 對於每個微粒分析的格式如表 5-1。對編號 i=1 的微粒來說:

時間(s)	x 座標	y 座標							
0.0	733	459	$\Delta x(pixel)$	$\Delta x(\mu m)$	$\Delta x^2 (\mu m)^2$	Δy(pixel)	Δy(μm)	$\Delta y^2(\mu m)^2$	$\Delta R^2 (\mu m)^2$
0.2	742	457	9	0.468	0.219	-2	-0.110	0.012	0.231
0.4	743	453	1	0.052	0.003	-4	-0.220	0.048	0.051
0.6	756	457	23	1.196	1.430	4	0.220	0.048	1.479
0.8	764	453	31	1.612	2.599	-4	-0.220	0.048	2.647
1.0	753	453	20	1.040	1.082	0	0.000	0.000	1.082
1.2	755	458	22	1.144	1.309	5	0.275	0.076	1.384
1.4	771	450	38	1.976	3.905	-8	-0.440	0.194	4.098
1.6	756	451	23	1.196	1.430	1	0.055	0.003	1.433
1.8	762	462	29	1.508	2.274	11	0.605	0.366	2.640
2.0	760	462	27	1.404	1.971	0	0.000	0.000	1.971
2.2	765	458	32	1.664	2.769	-4	-0.220	0.048	2.817
2.4	779	459	17 💙	0.884	0.781	1	0.055	0.003	0.784
2.6	779	449	0	0.000	0.000	-10	-0.550	0.303	0.303
2.8	782	449	3	0.156	0.024	0	0.000	0.000	0.024
3.0	781	445	2	0.104	0.011	-4	-0.220	0.048	0.059
3.2	780	449	-1	-0.052	0.003	4	0.220	0.048	0.051
3.4	779	438	-2	-0.104	0.011	-11	-0.605	0.366	0.377
3.6	773	437	-8	-0.416	0.173	-1	-0.055	0.003	0.176
3.8	777	442	4	0.208	0.043	5	0.275	0.076	0.119
4.0	771	443	-2	-0.104	0.011	1	0.055	0.003	0.014
4.2	762	436	-11	-0.572	0.327	-7	-0.385	0.148	0.475
4.4	749	433	-13	-0.676	0.457	-3	-0.165	0.027	0.484
4.6	737	430	-25	-1.300	1.690	-3	-0.165	0.027	1.717
4.8	718	426	-44	-2.288	5.235	-4	-0.220	0.048	5.283
5.0	719	427	1	0.052	0.003	1	0.055	0.003	0.006
5.2	700	420	-18	-0.936	0.876	-7	-0.385	0.148	1.024
5.4	715	425	-3	-0.156	0.024	5	0.275	0.076	0.100
5.6	701	431	-14	-0.728	0.530	6	0.330	0.109	0.639
5.8	702	430	-13	-0.676	0.457	-1	-0.055	0.003	0.460
6.0	700	426	-15	-0.780	0.608	-4	-0.220	0.048	0.657

表 5-3 均方位移分析表格

記錄微粒每隔 0.2 秒的位置,並算出 $\Delta R_1(t)^2$ ,t=0.2,0.4,0.6...6.0,即為格式 中的最後一行。之後繼續分析編號i=2,3,4...20 的微粒,得到  $\Delta R_2(t)^2, \Delta R_3(t)^2, \Delta R_4(t)^2...\Delta R_{20}(t)^2$ 。在t=0.2 秒時,  $< R^2(0.2) >= (\Delta R_1(0.2)^2 + \Delta R_2(0.2)^2 + \Delta R_3(0.2)^2 + ... + \Delta R_{20}(0.2)^2)/20$ , t=0.4 秒時:

 $< R^{2}(0.4) > = (\Delta R_{1}(0.4)^{2} + \Delta R_{2}(0.4)^{2} + \Delta R_{3}(0.4)^{2} + ... + \Delta R_{20}(0.4)^{2})/20$ 

依此類推,一直到t=6.0秒,因此我們可以得到<R<sup>2</sup>>隨時間t的變化結果,如圖 5-2。



圖 5-2 純水的均方位移對時間關係圖

實驗數據可知, <R<sup>2</sup>>和時間t是成正比的。我們由實驗的點資料做一階線性趨近,得到直線<R<sup>2</sup>>=2.09t,應證了<R<sup>2</sup>>=4Dt的線性關係,且由公式(5-16),可以算出:

$$4D = 2.09(\mu m^2 / s) = 2.09 \times 10^{-12} (m^2 / s)$$
$$= \frac{4kT}{6\pi\eta a} = \frac{4 \times 1.38 \times 10^{-23} (J/K) \times 302(K)}{6\pi \times 0.5 \times 10^{-6} (m) \times \eta}$$

 $\Rightarrow \eta = 8.4631 \times 10^{-4} (N \cdot s / m^2)$  °

在同樣溫度 T=29℃(302K)時,由理論公式算出的黏滯係數  $\eta = 8.1727 \times 10^{-4} (N \cdot s/m^2)$ ,實驗值和理論值誤差為3.55%,因此這樣的實驗方 法去計算液體的黏滯係數,是準確的。

#### 5.3.4.2 未知液體的黏滯係數測量

接下來,我們分別對混有不同比例洗潔精的液體做黏滯係數測量的實驗,得到的資料點作線性趨近。實驗結果如下:



圖 5-3 20%洗潔精的均方位移對時間關係圖

混合比例 洗潔精:水=1:2



圖 5-5 60%洗潔精的均方位移對時間關係圖

混合比例 洗潔精:水=4:1



圖 5-7 不同混合比例的液體的線性趨近比較圖

由各斜率我們可以由(5-16)式計算出每種液體的黏滯係數,計算結果如表 5-2。

洗潔精比例	viscosity(N · s/m <sup>2</sup> )
(70)	
0	8.46×10-4
20	14.45×10 <sup>-4</sup>
33.33	20.18×10 <sup>-4</sup>
60	35.02×10 <sup>-4</sup>
80	66.70×10 <sup>-4</sup>

表 5-4 各液體的黏滯係數表

將計算結果做成圖 5-8,發現隨著洗潔精的比例增加,黏滯係數有劇增的趨勢,並且做近似曲線的的趨近,發現黏滯係數和洗潔精的比例似乎有 平方的關係,因此,我們找出其對應的關係了。



圖 5-8 混合比例對黏滯係數關係圖

## 六、結論

本實驗室已經將光鉗系統架設完成,在架設過中,使我們更解光鉗的 工作原理和其操作方法。對於光鉗的嵌住力,也已經藉由實驗量測出來, 大約 85pN。調整雷射光的功率可以控制光鉗的剛性係數,我們也已經藉由 實驗找出對應的關係,針對不同大小的力量,調整適當的剛性係數去量測, 在以後的微力量測有相當大的便利性。

另外,我們也藉由布朗運動的理論公式,由微小粒子的均方位移和液 體黏滯係數的關係,去測定純水的黏滯係數,得到的實驗結果是準確的。 並且利用同樣的實驗方法,去測定未知液體的黏滯係數,得到混合溶液比 例和黏滯係數的關係。這是一種新的量測黏滯係數的方法,相較於以往需 要大量液體,用機械式的方法量測,我們只需要微量的液滴,分析微小顆 粒的運動即可得到其黏滯係數。在未來或許可以運用這種方法,去測定微 小世界中液體的環境。

# 參考文獻

- [1] A. Ashkin, "Force of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regime", Methods in Cell Biology, 55, pp.1-27, 1998.
- [2] Keir C. Neuman, Steven M. Block, "Optical trapping", Rev. Sci. Instrum., 75, No. 9, 2004.
- [3] K. F. Ren, G. Gréha, "Radiation pressure force exerted on a particle arbitrarily located in a Gaussian beam by using the generalized Lorenz-Mie theory, and associated resonance effects ", Opt. Commun., 108, pp.343-354, 1994.
- [4] Smith SB, Cui Y, "An optical-trap force transducer that operates by direct measurement of light momentum", Method in Enzymology In press, 2002.
- [5] G. Gouesbet, G. Gréhan, "On the generalized Lorenz-Mie theory: first attempt to design a locallized approximation to the computation of the coefficients  $g_n^m$ ", J. Optics (Paris), 20, No. 1, pp.31-43, 1989.
- [6] Eric R. Dufresne, David G. Grier, "Optical tweezer arrays and optical substrates created with diffractive optics", Rev. Sci. Instrum., 69, No. 5, 1998.
- [7] Stephen P. Smith, Sameer R. Bhalotra, "Inexpensive optical tweezers for undergraduate laboratories", Am. J. Phys., 67, No. 1, January 1999.
- [8] Chun-Cheng Huang, Chia-Fong Wang, "Optical tweezers as sub-pico-newton force transducers", Opt. Commun., 195, pp.41-48, 2001.
- [9] Denk W, Webb WW. "Optical measurements of picometer displacements", Appl. Opt., 29,pp.2382-2391, 1990.

- [10] N. Malagnino, G. Pesce, "Measurement of traping efficiency and stiffness in optical tweezers", Opt. Commun., 214, pp.15-24, 2002.
- [11] Paul Nakroshis, Matthew, "Measuring Boltzmann's constant using video microscopy of Brownian motion", Am. J. Phys., 71, No. 6, 2003.
- [12] Reese Salmon, Candace Robbins, "Brownian motion using video capture", Eur. J. Phys., 23, pp.249-253, 2002.
- [13] E. Dufresne, D. Altman, "Brownian dynamics of a sphere between parallel walls", Europhys. Lett., 53, pp.264-270, 2001.
- [14] J. Crocker, "Measurement of the hydrodynamic corrections to the Brownian motion of two colloidal sphere", J. Chem. Phys., 106, pp.2837-2840, 1997.
- [15] 曾勝陽,張博睿,「顯微鏡中的第三隻手-雷射鑷夾帶著走」,物理雙 月刊,第二十二卷第五期,494~499頁,2000年10月。
- [16] 張博睿,「準焦與散焦雷射鑷夾之設計與應用」,國立交通大學,碩 士論文,2001年。
- [17] 康星源,「利用 PZT 微控量測雷射光鉗對微米球體的作用力」,國立 成功大學,碩士論文,2002 年。
- [18] 何宗憲,「利用布朗運動量測光鉗之光子力彈力常數」,國立東華大學,碩士論文,2003年。
- [19] 張寶坤,「單模光纖雙光束光鉗之實驗與分析」,國立東華大學,碩 士論文,民國 2002 年。
- [20] 范家傑,「離焦探測光束式高解析範圍光子力顯微鏡之架設與應用」,國立交通大學,碩士論文,民國 2005 年。
- [21] 龐寧寧,「漫談布朗運動」,物理雙月刊,第二十八卷第一期,2~11頁,2006年2月。
- [22] 溫偉源,伊林,「從布朗運動到液體微觀動力」,物理雙月刊,第二 十七卷第三期,475~478頁,2005年6月。

[23] 王子瑜,曹恒光,「布朗運動、朗之萬方程式、與布朗動力學」,物 理雙月刊,第二十七卷第三期,456~460頁,2005年6月。

