

低频响及低采样频率下用布朗运动分析法 测量光阱刚度*

降雨强^{1,2)} 郭红莲²⁾ 刘春香²⁾ 李兆霖²⁾ 程丙英²⁾ 张道中²⁾ 贾锁堂¹⁾

¹⁾ 量子光学与光量子器件国家重点实验室, 山西大学物理电子工程学院, 太原 030006)

²⁾ 中国科学院物理研究所和凝聚态物理中心光物理实验室, 北京 100080)

(2003 年 12 月 9 日收到, 2004 年 2 月 27 日收到修改稿)

布朗运动法测量光阱刚度因其简便易行而成为光镊系统参数测量的一种常用的方法, 但是由于在低频响或低采样频率时测量结果误差很大, 所以主要用在频响及采样频率较高的情况下. 将在功率谱分析及实验的基础上, 讨论如何在低频响及低采样频率下, 用布朗运动法测量光阱刚度.

关键词: 布朗运动, 光阱刚度, 光镊, 功率谱

PACC: 0760, 4280, 4290, 5270K

1. 引 言

光镊是近些年发展起来的一种微测量与操纵系统. 由于它可实现对生物活体样品的非实体接触无损微操纵, 特别是由于它可以精确测量 nm 量级位移和 pN 级的力, 在物理、生物及其交叉学科中有着广泛的应用, 并在前沿领域取得了丰硕成果.

光镊系统中光阱刚度的测定是进行微小力测量的基础. 所谓光阱刚度是指在光阱中心附近, 光阱中受控介质颗粒所受到的力与其偏离光阱中心的位移成正比, 即有 $F = k \cdot \Delta x$, 这里的 k 就是光阱刚度. 光阱刚度的测量有各种办法, 文献 [1] 中介绍了常用的几种测量方法. 布朗运动分析法是通常可以采用的几种方法之一.

布朗运动本质上是布朗颗粒在环境物质分子撞击下所做的热运动, 文献 [2] 对弱噪声极限下布朗运动对信噪比的影响做了较深入的讨论. 而在光镊实验中, 虽然布朗运动是影响测量结果的重要噪声源之一, 但同时也可以作为一个信号源来测量光镊系统的光阱刚度.

因为光阱中小球所做的布朗运动与光阱刚度相关, 所以通过测量布朗运动的位移, 即可求出光阱刚度 k . 光镊实验 (尤其是生物实验) 多为持续操作, 且

耗时较长. 这期间, 由于光镊系统受到诸多因素影响, 光阱刚度等参数常常发生变化. 虽然流体力学方法测量光阱刚度是目前较为普遍采用的标定光阱刚度的方法, 但是该法比较繁琐, 且需要中断实验. 相比之下, 由于用布朗运动法求光阱刚度不需要对小球施加外力, 操作简单, 测量方便, 所以非常适合用于在实验 (尤其是生物实验) 过程中监测光阱刚度的变化.

但是布朗运动法通常只适用于探测器频率响应及采样频率都比较高情况. 而当探测器频率响应或者采样频率较低时, 测量的结果会出现很大的偏差. 所以在用视频 CCD 等低频响探测器测量时, 罕见有用布朗运动法来测量光阱刚度. 本文将在实验的基础上, 从功率谱分析的角度研究低频响及低采样频率下, 布朗运动法测量光阱刚度时产生偏差的原因, 探讨其在低频响和低采样频率下的应用方法.

2. 实 验

2.1. 实验仪器及方法

实验中所用的是我们自行研制的光镊系统. 主要由 Ti 蓝宝石激光器 (3900S, Spectra-Physics Laser and Photonics) 和倒置研究型显微镜 (Leica DM IRBE)

* 国家重点基础研究规划项目 (批准号 2002CB713805) 和国家自然科学基金 (批准号: 10174097, 10374112) 资助的课题.

组成. 三维压电陶瓷驱动平台(NIS-70, Nanonics, Israel)用于对样品池的微操作及力的校准. 测量系统分别采用视频 CCD(COHU4912) 四象限探测器(QD, Hamamtsu1557-03). 自制样品池直径为 1cm, 高度 1mm, 内用铜-康铜热电偶测温. 直径为 $1\mu\text{m}$ 的聚苯乙烯小球(duke scientific)用蒸馏水稀释.

调整激光器的输出功率约为 100mW, 用光阱俘获一个直径 $1\mu\text{m}$ 的聚苯乙烯小球. 分别用视频 CCD 和 QD(时间响应约为 2ms)测量此小球的布朗运动. 之后, 给压电陶瓷驱动平台加上不同频率的正弦波,

用流体力学法求光阱刚度. 改变激光器的输出功率, 获得不同的光阱刚度, 重复上述过程.

2.2. 实验结果

激光器不同输出功率下, 用流体力学法所测得的光阱刚度分别是 0.0143pN/nm , 0.0620pN/nm 和 0.0806pN/nm .

用视频 CCD 和 QD 分别测量各个刚度下的布朗运动位移, 结果分别如图 1(a)(b)所示.

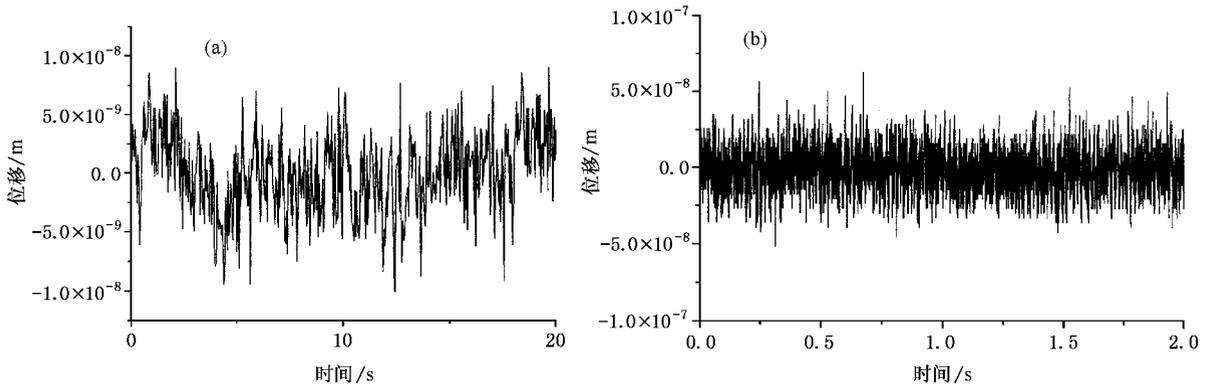


图 1 0.086pN/nm 刚度下测得的光阱中小球布朗运动位移谱 (a) 视频 CCD 测量 (b) QD 测量

3. 用布朗运动求解光阱刚度的方法及存在的问题

3.1. 方差法

对于光阱中心附近的小球来说, 其在光阱中的运动相当于一弹簧振子, 其位置的分布符合高斯分布, 由文献 [3] 可知, 其位移的方差为

$$\text{Variance}(x) = \overline{x^2} - \bar{x}^2 = k_B T/k. \quad (1)$$

由 (1) 式可以看到, 在测出小球的位移变化后, 可以由其位移的方差来求光阱刚度 k . 方差法求解的优点是求解过程简单, 缺点是误差相对较大.

3.2. 功率谱画图法

对于小信号的处理, 功率谱密度分析是一种很常用的方法 [4].

当小球处于自由状态时, 其布朗运动可以用 Langevin 方程来描述.

$$m \cdot \frac{d^2 x}{dt^2} = -\alpha \cdot \frac{dx}{dt} + f(t) + F(t), \quad (2)$$

这里 $F(t)$ 是小球静止时所受到的周围分子碰撞的随机力, $f(t)$ 是其他外力. 对于小球, $\alpha = 6\pi\eta r$, η 是液体的黏滞系数.

当小球处于光阱中心附近时, $f(t) = -kx$, 即有

$$m \cdot \frac{d^2 x}{dt^2} = -\alpha \cdot \frac{dx}{dt} + F(t) - kx. \quad (3)$$

在低雷诺系数的流体中, 可以忽略惯性力项 [5], 则 (3) 式可以写作

$$\alpha \cdot \frac{dx}{dt} + kx = F(t). \quad (4)$$

又 $\overline{F(t)} = 0$, $\overline{F^2(t)} = \overline{F(t) * F(t)} = m^2 Q \delta(0)$, 这里 $Q = \frac{2k_B T \alpha}{m^2}$, 则其双边功率谱密度

$$S'_F(f) = |F(f)|^2 = Q \int_{-\infty}^{\infty} \delta(0) e^{i\omega t} dt = 2\alpha k_B T.$$

对于单边功率谱密度, 有

$$S_x(f) = 4\alpha k_B T.$$

对于傅里叶变换, 如果 $x(t) \rightarrow X(f)$, 而

$$x(t) = \int_{-\infty}^{\infty} X(f) e^{-2\pi i f t} df,$$

则

$$x(t) dt \rightarrow -2\pi i f X(f),$$

所以

$$2\pi\alpha(f_c - if)X(f) = F(f), \quad (5)$$

其中

$$f_c = k/2\pi\alpha \quad (6)$$

为光阱中小球所作的布朗运动的特征频率.

令 $S_x(f) = |X(f)|^2$ 将 (5) 式写成功率谱形式

$$4\pi^2\alpha^2(f_c^2 + f^2)S_x(f) = S_f(f),$$

则光阱中小球所作布朗运动的功率谱为

$$S_x(f) = \frac{k_B T}{\alpha\pi^2(f_c^2 + f^2)}. \quad (7)$$

在对数坐标系中,功率谱低频端是一条水平直线,而高频端则是一条斜率为 -2 的直线.两条直线的交点的横坐标就是特征频率 f_c .

在实际测量中,当测出布朗运动的位移后,便可以计算其功率谱.再将数据用 (7) 式拟合,即可求出参数 α 和 f_c .进而可以求出样品池中液体的黏滞系数 η 及光阱刚度 k .图 2 是在光阱刚度为 0.024pN/nm (流体力学法测得值)时测量的布朗运动的功率谱曲线,计算后求得刚度值为 0.022pN/nm .

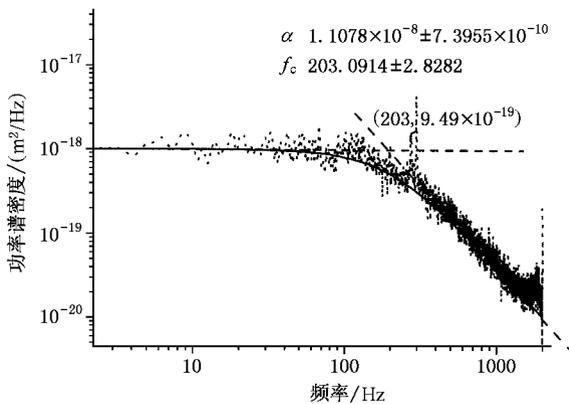


图 2 用布朗运动的功率谱图法求光阱刚度

3.3. 存在的问题

从实验结果上看,当探测器的采集及响应频率远大于布朗运动的特征频率 f_c 时,用布朗运动分析法求解的光阱刚度与流体力学等方法求解的结果基本一致.但是,如果探测器频响较低,或者采样频率很低,用布朗运动法测量则会遇到较大困难.

1) 当采样频率很低时(如用视频 CCD 测量,即图像法),由方差法算出的光阱刚度远大于实际值.例如在实际光阱刚度为 0.086pN/nm 时,图像法测得的布朗运动位移的方差为 3.67nm ,由 (1) 式可算出

光阱刚度为 0.307pN/nm , 大出实际值数倍;而当用功率谱画图法求解时,由于只能画出低频部分的功率谱,无法用 (7) 式进行拟合,所以不能求出光阱刚度.如图 3(a) 所示,虚线为刚度为 0.086pN/nm 时视频 CCD 测量的结果,实线是该刚度下的理论曲线.

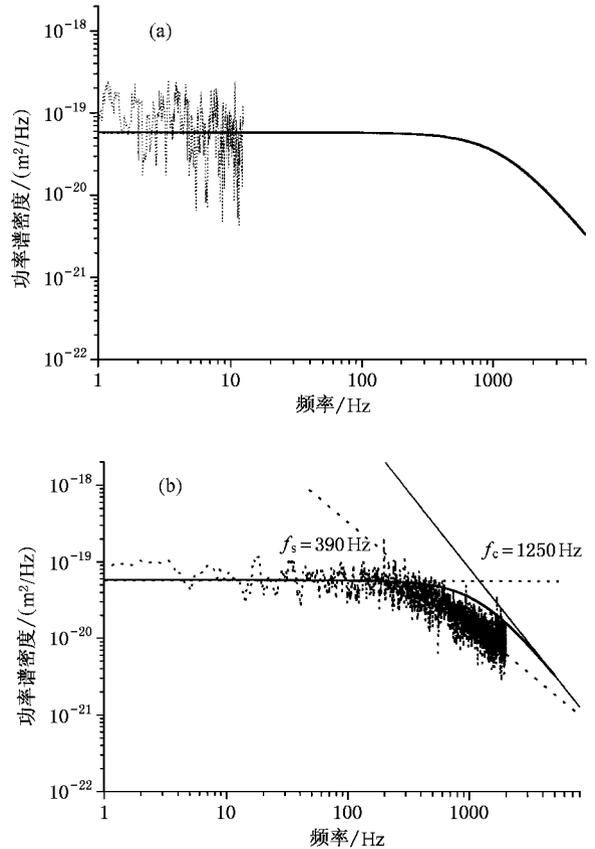


图 3 低采样频率及低频响时测得的失真的功率谱曲线 (a) 用 CCD 测得的布朗运动的功率谱 (b) 用低频响的 QD 测得的功率谱

2) 当探测器频率响应较低时,测得的功率谱曲线会明显失真.图 3(b) 所示的就是在光阱刚度为 0.082pN/nm 时用一个低频响的 QD 测量得到的布朗运动的功率谱曲线.图中实线部分是在此刚度下,由理论计算得出的功率谱线.由图可见,测得的曲线与实际布朗运动的功率谱曲线相差很大.按测得曲线得到的“特征频率”为 390Hz ,由此算出的刚度为 0.026pN/nm ,测得的结果与实际值相差很大.

4. 理论分析

4.1. 方差法

当用 CCD 图象法测量布朗运动时,用求方差的

办法求光阱刚度,得出的结果会远大于实际值.如果存在系统噪声,那么噪声只会使测得的方差增大.由(1)式可以看出,其结果会使测得的光阱刚度小于实际值.所以可以断定,在低采样频率时致使测量值远大于实际值的结果不是噪声引起的.

由功率谱理论分析可知^[6],

$$\overline{x^2} - \bar{x}^2 = \sum_{m=1}^{N/2} S(f_m) \cdot \delta f, \quad (8)$$

式中 $\sum_{m=1}^{N/2} S(f_m) \cdot \delta f$ 就是功率谱曲线下的面积.而由实验测得的功率谱曲线可以看出,低采样频率时得到的功率谱只是实际布朗运动功率谱的一部分.所以实验中测得的“ $\overline{x^2} - \bar{x}^2$ ”也只是布朗运动实际方差中的一部分.因此用(1)式算得的结果会大于实际值.采样频率越低,这种偏差就会越大.所以在用 CCD 等低频设备测量时,方差法得到的结果误差很大.

4.2. 功率谱画图法

由 Nyquist 定理可知,功率谱的频率范围为 0— f_N (f_N 为 Nyquist 频率,等于采样频率的 1/2).所以,当采样频率较低时,测得的功率谱曲线显示的只是布朗运动实际功率谱的低频端的一段.而当 $f_N < f_c$ 时,测得的功率谱曲线上不会看到特征频率点,如图 3(a)所示.

而当探测器的频响较低时,高频部分的信号会被探测器衰减掉.当探测器的响应频率 f_r 小于 f_c 时,在功率谱上所得到的“特征频率”点实际上是 f_r ,而不是 f_c .如图 3(b)所示.也就是说,当探测器的频率响应低于光阱中小球布朗运动的特征频率时,布朗运动的功率谱曲线将会因高频部分被衰减掉而失真.

4.3. 低频响或低采样频率时用功率谱画图法来求解特征频率

当 $f \ll f_c$ 时(7)式可以写作

$$S_x(f) = S_0 = \frac{k_B T}{\alpha \pi^2 f_c^2}, \quad (9)$$

而当 $f \gg f_c$ 时(7)式则可以写作

$$S_x(f) = \frac{k_B T}{\alpha \pi^2 f^2}. \quad (10)$$

将(9)(10)式两边取对数,令 $M = \frac{k_B T}{\alpha \pi^2}$,有

$$\lg[S_x(f)] = \lg M - 2\lg f_c = \lg S_0 \quad (f \ll f_c), \quad (11)$$

$$\lg[S_x(f)] = \lg M - 2\lg f \quad (f \gg f_c). \quad (12)$$

由上式可以看出,光阱中小球布朗运动的功率谱曲线,在横纵轴都取对数坐标时,其高频与低频端都是一条直线.在低频端是一水平直线,而高频端则是一条斜率为 -2 的直线,两条直线的交点处的坐标为 (f_c, S_0) .横坐标 f_c 就是要求的特征频率.

当 $f \gg f_c$ 时, $S_x(f)$ 与 f 的关系曲线(即功率谱曲线中高频端的直线)与 f_c 无关,即与光阱刚度无关.由于实验中样品池中液体黏滞系数是一定的,在此情况下,不同光阱刚度的功率谱曲线只是低频端(即 S_0 的大小)发生变化,而高频端则保持不变,如图 4 所示.因此,在用布朗运动功率谱画图法求光阱刚度时,只需测出 S_0 ,画出低频端的直线,再找到它与(12)式所示高频端所在的直线 L 的交点即可求出 f_c .

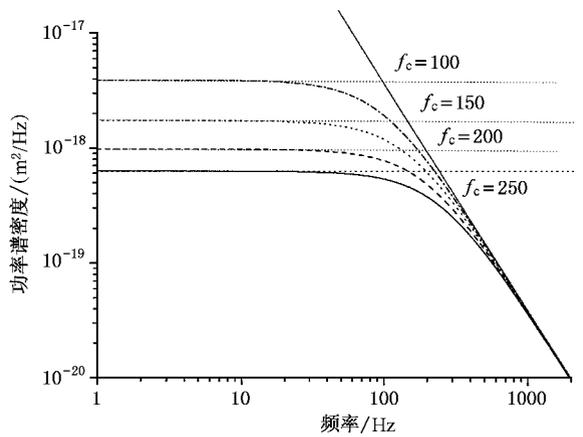


图 4 不同光阱刚度下光阱中小球的布朗运动的功率谱线

由上所述,在低频响及低采样频率下,仍然可以用布朗运动分析法求光阱刚度.首先做出其在对数坐标系中的功率谱曲线.此时的功率谱曲线在高频端会有所失真,但低频端依然可以反映真实情况.根据功率谱的低频端拟合求出直线 $S = S_0$,再在图中画出(12)式所示直线 L ,在对数坐标系中,找到两条直线的交点,其交点的横坐标就是我们要求的特征频率 f_c ,再由(6)式即可求出光阱刚度 k ,如图 5 所示.

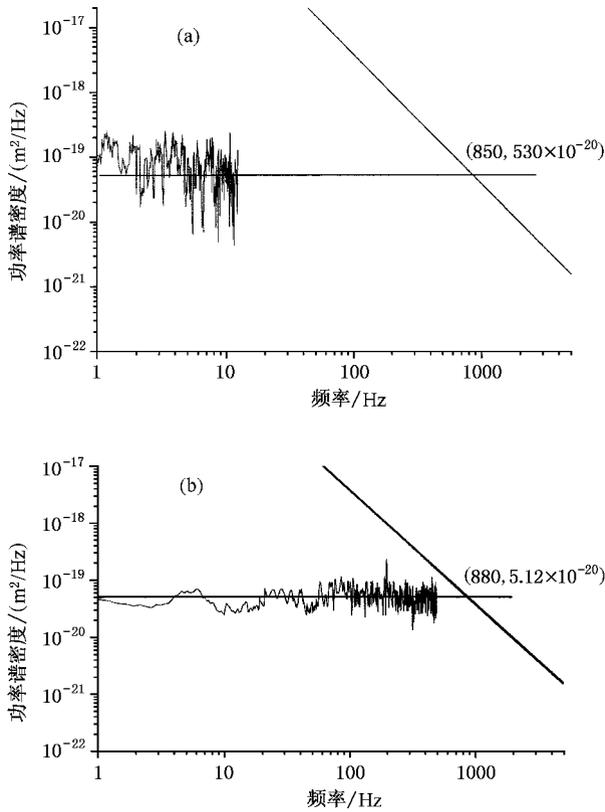


图 5 用布朗运动法求低频响及低采样频率时的光阱刚度 (a) 用 CCD 测量的结果 (b) 用低频 QD 测量的结果

5. 讨 论

在不同的激光功率下,用流体力学法所测得的光阱刚度分别是 0.0143 pN/nm , 0.0620 pN/nm 和

0.0806 pN/nm . 相应刚度下,采用布朗运动法,用 CCD 测量的结果分别是 0.0135 pN/nm , 0.0571 pN/nm 和 0.705 pN/nm , 而用 QD 测得的结果分别是 0.0141 pN/nm , 0.0590 pN/nm 和 0.732 pN/nm . 与流体力学测得的结果相比,布朗运动测量的结果偏小,且随着光阱刚度的增大,误差也增大.用 CCD 测量时,其相对误差分别是 5.6% , 7.9% , 12.5% ; 而用 QD 测量时,其相对误差分别为 1.4% , 4.9% 和 9.2% .

设测量系统噪声的功率谱密度为 S_e , 布朗运动实际功率谱密度为 S_0 , 则实际测得值为

$$S' = S_e + S_0. \quad (13)$$

由(6)(9)式可得

$$\begin{aligned} k' &= 2\pi\alpha f_c = 2\pi\alpha \sqrt{\frac{k_B T}{\alpha\pi^2 S'}} = 2\sqrt{\frac{\alpha k_B T}{S_e + S_0}} < k \\ &= 2\sqrt{\frac{\alpha k_B T}{S_0}}, \end{aligned} \quad (14)$$

$$\delta k = \frac{k - k'}{k} = 1 - \sqrt{\frac{S_0}{S_e + S_0}}, \quad (15)$$

这里 k 是实际光阱刚度, k' 是测得值. 由(14)(15)式可见,最后测得的光阱刚度总会比实际值要小,且随着光阱刚度的增大,光阱对小球的限制作用增强,小球的布朗运动就会减弱,即 S_0 减小,而 S_e 不变,所以误差 δk 会越来越大.

从我们实验的结果看,在常用的光阱刚度范围内($0-0.1 \text{ pN/nm}$),用布朗运动分析法测得的结果和流体力学法相比,误差小于 15% ,说明本文所述方法是可行的.

[1] Robert M S et al 1996 *Biophysical Journal* **70** 1813
 [2] Kang Y M et al 2003 *Acta Phys. Sin.* **52** 802 (in Chinese) [康艳梅等 2003 物理学报 **52** 802]
 [3] Reif E 1965 *Fundamentals Statistical Thermal Physics* (New York: McGraw-Hill)

[4] Peng Z T et al 2003 *Acta Phys. Sin.* **52** 90 (in Chinese) [彭志涛等 2003 物理学报 **52** 90]
 [5] Happel J et al 1983 *1st ed The Hague* (Boston, Hingham, Massachusetts: Kluwer)
 [6] Frederick G et al 1998 *Methods in Cell Biology* **55** 134

Trapping stiffness measurement with brownian motion analysis method at low sampling frequency^{*}

Jiang Yu-Qiang^{1,2)} Guo Hong-Lian²⁾ Liu Chun-Xiang²⁾ Li Zhao-Lin²⁾ Cheng Bing-Ying²⁾
Zhang Dao-Zhong²⁾ Jia Suo-Tang¹⁾

¹⁾*State Key Laboratory of Quantum Optics and Quantum Optics Devices, College of Physics and Electronics Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China*

²⁾*Optical Physics Laboratory, Institute of Physics and Center for Condensed Matter Physics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China*

(Received 9 December 2003; revised manuscript received 27 February 2004)

Abstract

The Brownian motion analysis is a preferable method to investigate the trapping stiffness of optical tweezers system because of its convenience and simplicity. However, there would be obvious deviation if the detector's response frequency or sampling frequency is low. Such problems are discussed and a solution is brought forward in this article.

Keywords : Brownian motion, trapping stiffness, optical tweezers, power spectrum

PACC : 0760, 4280, 4290, 5270K

^{*} Project supported by the Chinese National Key Basic Research Special Fund (Grant No. 2002CB713805) and the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 10174097, 10374112).