

Pinças ópticas

Laboratórios Avançados II

Mariana Gomes (up201402744)

Departamento de Física e Astronomia da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Resumo

Este trabalho teve como objectivo montar um sistema de uma pinça óptica e observar o aprisionamento (“trapping”) de partículas de levedura. Descreve-se todo o processo de montagem e alinhamento da pinça óptica, bem como a preparação da amostra. Observou-se duas formas distintas de manipulação das partículas, concluiu-se que dada a montagem a manipulação através da carruagem XY provocava maior amplitude de movimentos da partícula do que a manipulação através da lente L2. O “trapping” observado enquadra-se no regime de Mie ($d \gg \lambda$).

Introdução

A força da luz sob a forma de “trap” (armadilha) de forças de gradiente de um feixe único, tem sido utilizada para aprisionar e manipular diferentes tipos de objectos como células vivas, vírus, esferas dielétricas e até mesmo ADN. Estas armadilhas, chamadas também de pinças ópticas, permitem medir elasticidade, força, posição e interações entre partículas.

Como funciona o “trapping” óptico?

A interação matéria-luz está na origem do aprisionamento óptico.

O tamanho da partícula aprisionada em relação ao comprimento de onda do feixe incidente influencia o modelo escolhido e a interpretação das forças induzidas. Podemos considerar os seguintes regimes:

- **Regime de Mie ($d \gg \lambda$):** Aplica-se o regime de Mie quando as dimensões da partícula (diâmetro) são muito maiores que o comprimento de onda incidente. Para este regime a óptica geométrica é válida (traçado de raios), pode-se considerar a partícula aprisionada como uma lente microscópica que focaliza o campo de luz. Este efeito de focagem faz com que a partícula se mova para a posição de maior intensidade luminosa, Figura 1.(a) e 1.(b). Estas forças expressas pela seta a claro nas figuras são obtidas usando as equações de Fresnel para descrever a luz refletida e refratada na partícula.
- **Regime de Rayleigh ($d \ll \lambda$):** Aplica-se o regime de Rayleigh quando as dimensões da partícula são muito menores que o comprimento de onda incidente. A partícula aprisionada é vista como um dipolo induzido que minimiza a sua energia no campo de gradiente criado pela luz.
- **Regime de Lorentz-Mie ($d \approx \lambda$):** Aplica-se o regime de Lorentz-Mie quando as dimensões da partícula são próximas do comprimento de onda incidente. Este regime é o intermédio entre os regimes anteriormente descritos e o seu tratamento teórico é bastante mais complexo de se descrever.

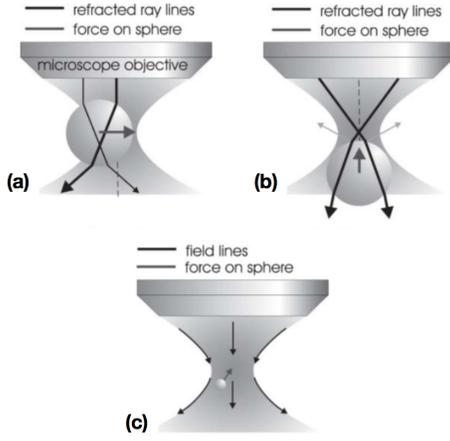


Fig. 1: Esquema ilustrando os princípios do “trapping” óptico para uma pinça óptica de grande simples: (a) e (b) representam o regime de Mie e (c) o regime Rayleigh, [1]

O aprisionamento óptico depende de alguns factores tais como: a força do “trapping” é tanto maior quanto mais potente for o feixe de luz; para uma dada potência laser, a força do “trapping” será maior quanto menor for o tamanho do ponto focal, ou seja, quanto maior for a intensidade no ponto focal.

Uma das condições indispensáveis para que haja estabilidade no “trapping” é a existência de amortecimento. Na ausência de amortecimento, uma partícula que entre na armadilha (“trap”) devido à força ser conservativa, sairá da armadilha. No entanto, na presença de amortecimento, uma partícula ao entrar na armadilha pode perder energia, e se não tiver energia cinética suficiente ficará aprisionada. A condição para que uma partícula permaneça presa é que a profundidade da armadilha seja maior que a energia cinética característica das flutuações do movimento Browniano. No caso de partículas suspensas em meios aquosos, a viscosidade do líquido promove o amortecimento,[2].

O movimento de uma partícula de massa m , num meio com amortecimento devido à viscosidade γ_0 à temperatura T , pode ser descrito pela teoria de Einstein–Ornstein–Uhlenbeck para o movimento Browni-

ano. A equação de Langevin da partícula é dada por

$$m \frac{\partial^2 x}{\partial t^2} + \gamma_0 \frac{\partial x}{\partial t} + kx = (2k_B T \gamma_0)^{1/2} \eta(t)$$

onde x é a posição da partícula em relação ao ponto focal, k_B a constante de Boltzmann, k a rigidez da armadilha e $\eta(t)$ o processo estocástico do movimento da partícula em função do tempo. O termo $(2k_B T \gamma_0)^{1/2} \eta(t)$ representa o processo de ruído Gaussiano aleatório,[1].

A força máxima exercida pela armadilha é dada por

$$F = Q \frac{nP}{c}$$

onde n é o índice de refração do meio, c a velocidade da luz no vácuo, P a potência do feixe que incide na partícula e Q é uma constante que mede o quão bem o campo da armadilha óptica se une à partícula.

Em relação aos objectos que são sujeitos a “trapping”, idealmente devem ser transparentes ao comprimento de onda usado. Para além de melhorar as condições de “trapping” esta característica é bastante útil nas áreas como a Biologia e a Química, visto que permite que a técnica seja não destrutiva e não invasiva.

Pinça óptica simples e pinça holográfica

Uma pinça óptica de feixe único standard é constituída por um laser altamente focado que é o responsável pelo aprisionamento da partícula, num sistema de manipulação da amostra onde se encontra a partícula e num sistema de imagem utilizado para controlar a experiência.

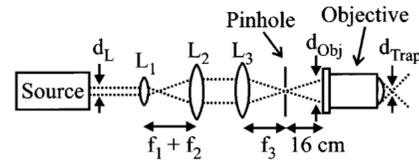


Fig. 2: Esquema de uma pinça óptica standard,[2]

No entanto usando uma pinça óptica simples como a apresentada na figura anterior limita-nos à manipulação de apenas uma partícula. As pinças holográficas permitem-nos manipular mais do que uma partícula. Uma possível configuração de uma pinça holográfica consiste em antes da configuração do telescópio formado pelas lentes L2 e L3 na Figura 2 inserir-se um SLM (spacial light modulator), ou seja um alvo que mude a frente de onda do feixe, produzindo um determinado padrão. O feixe modificado passará pelo telescópio e quando chegar à objectiva, sendo esta uma lente que produz a transformada de Fourier do feixe modificado, transforma-se num de um ou mais pontos de trapping consoante o padrão definido no SLM.

Resultados experimentais

Montagem experimental

Para a montagem de uma pinça óptica simples foram utilizados:

- Laser de comprimento de onda $532nm$ e potência $100mW$

- Polarizador

- Espelhos: 1 periscópio, 3 espelhos planos (M1, M2, M4) e 1 espelho dicrónico (M3)

- Lentes: L1 ($f = 10cm$), L2 ($f = 20cm$), objectiva ($\times 100$) e L3 ($f = 10cm$)

- Carruagem XYZ; Lâmpada de luz branca

- Filtros: 1 fixo e 1 móvel

- Câmara CCD e ecrã

Montou-se o sistema de acordo com o esquema da Figura 3.

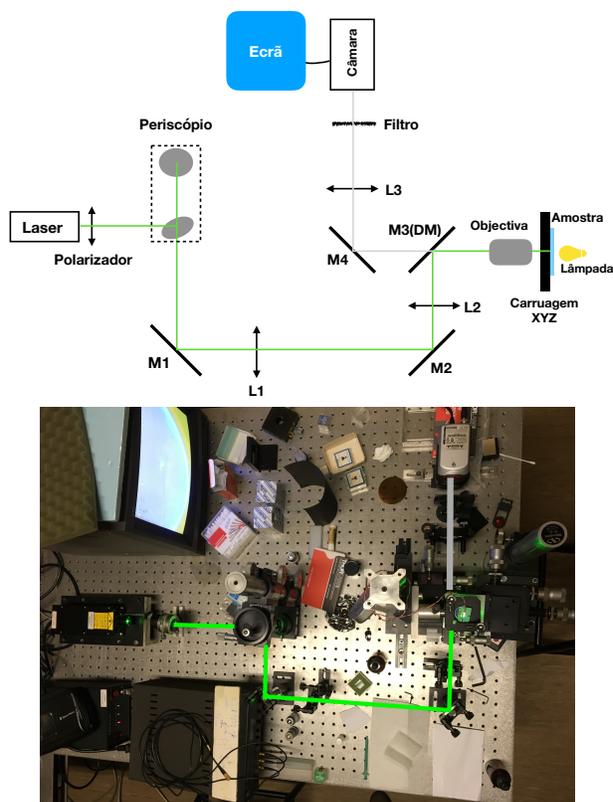


Fig. 3: Esquema e fotografia da montagem experimental de uma pinça óptica: M-espelhos, L-lentes, DM-espelho dicrónico

O esquema da montagem pode ser dividido em secções com funções distintas:

- **Laser:** é importante que os objectos sujeitos a “trapping” sejam transparentes ao comprimento de onda do laser de modo a não sofrerem degradação ou até mesmo destruição. Também notar que quanto menor o comprimento de onda, maior a intensidade do feixe, logo maior a probabilidade de haver aprisionamento de uma partícula.

- **Telescópio:** o conjunto de lentes L1 e L2 formam um sistema $4f$, que tem como objectivo expandir o feixe do laser. Neste caso como a lente L2 apresenta uma distância focal duas vezes maior que a distância focal da lente L1, o feixe é ampliado por um factor de 2. Desta forma as lente L1 e L2 formam um teles-

cópio, que tem como função ampliar o feixe para que este entre na objectiva seja do tamanho da sua abertura numérica permitindo uma melhor focagem.

-Focagem do feixe: a objectiva ($\times 100$) permite-nos obter um ponto focal mais reduzido na amostra, ou seja, aumentando o foco aumenta-se a intensidade e consequentemente a qualidade o “trapping”.

-Controlo da amostra: a amostra é montada em cima de uma carruagem XYZ. O movimento em Z permite mudar o ponto focal em profundidade na amostra. Os movimentos em X e Y apenas permitem mover o ponto focal no plano focal.

-Imagem: de modo a ser possível a observação da micromanipulação das partículas em tempo real, a amostra é iluminada por cima por uma lâmpada de luz branca. Esta luz atravessa a amostra e, juntamente com a luz do feixe refletida na amostra, passam pela objectiva e embatem no espelho M3. Sendo este espelho dicróico, não reflete a luz do “trapping” mas reflete a luz da resultante da imagem. Desta forma, apenas a luz da imagem chega à câmara. A câmara CCD está ligada a um ecrã onde a manipulação é observada.

Alinhamento e monitorização

Para que a micromanipulação de partículas de levadura fosse possível, seguiram-se várias etapas de alinhamento e monitorização do sistema:

1. Procedeu-se à limpeza de todos os espelhos e lentes usando uma solução de etanol em toalhetes ópticos e limpou-se a objectiva com uma solução de éter e etanol em toalhetes ópticos, de modo a eliminar potenciais impurezas de experiências anteriores. Os passos seguintes envolvem o uso de óculos protectores devido à intensidade do feixe laser.
2. Efetuou-se a montagem da Figura 3, tendo em conta as distâncias focais das lentes.
3. Ligou-se o laser. O alinhamento do feixe foi feito colocando um espelho por cima da objectiva e feitos ajustes aos espelhos M1 e M2, de modo que o feixe refletido percorresse o mesmo caminho que o feixe incidente e tendo em atenção que o

feixe estivesse centrado nos espelhos. Durante este processo o polarizador foi usado de modo a atenuar o feixe laser. Em seguida foi verificada a distância entre as lentes do telescópio e feitos os devidos ajustes.

4. Em seguida alinhou-se o espelho dicróico M3 com a objectiva, com um espelho por cima da objectiva verificou-se que o feixe incidente e o refletido seguiam o mesmo caminho, fazendo ajustes no espelho. Alinhou-se o espelho M4 e a lente L3 garantindo que o feixe incidia na câmara CCD, sendo que entre a lente L3 e a câmara colocou-se um filtro para reduzir a intensidade do feixe.
5. Tendo o sistema alinhado e a amostra devidamente preparada, colocou-se a amostra por cima da objectiva. Foi colocado um óleo de imersão (index matching) entre a objectiva e a amostra, de modo a permitir uma melhor condução da luz.
6. Fez-se um varrimento na carruagem XYZ em Z até que fossem observadas partículas no ecrã e procedeu-se ao “trapping” e manipulação das mesmas.

A manipulação das partículas de levadura seguiu dois processos distintos. O primeiro consistiu em variar a carruagem XYZ no plano XY. Neste caso a amostra movimentou-se no plano XY. Já o segundo processo consistiu em fazer pequenos movimentos ao espelho M2. Neste caso estes ajustes provocaram com que o feixe, que antes entarava na abertura numérica da objectiva sem nenhuma inclinação, tivesse um ângulo de entrada na objectiva e consequentemente provocasse movimentos do ponto focal no plano XY da amostra.

No que diz respeito ao plano focal, poderia ter sido variado de duas formas distintas também: variado a carruagem XYZ em Z ou variando as distâncias no telescópio, isto é, se movermos a lente L2 e deixarmos de ter um sistema $4f$, os raios que saem da configuração deixarão de ser colimados e passarão a ser divergentes ou convergentes (dependendo da alteração da distância) e como resultado o plano focal irá variar em Z. Na experiência apenas se variou o plano focal recorrendo à carruagem XYZ.

Preparação da amostra

Utilizou-se uma solução de leveduras diluída em água, de modo a assegurar que a concentração não era demasiado elevada impedindo o “trapping”. Como mostra na Figura 4, a solução de leveduras ficou “presa” entre a seguinte configuração de lâmina e lamelas.



Fig. 4: Esquema representativo da configuração de lâmina e lamelas

Observações

Na Figura 5, está representado o efeito de se aplicar um filtro entre o filtro e a câmara do esquema da Figura 3, que tem como função cortar a luz que chega à câmara, de modo a que não seja visível luz verde no ecrã. Este novo filtro permite-nos observar com melhor definição os possíveis movimentos da partícula que sofre “trapping” sem que haja interferências do feixe de luz do laser.

Os anéis que se observam na Figura 5.(a), devem-se a fenómenos de difração.

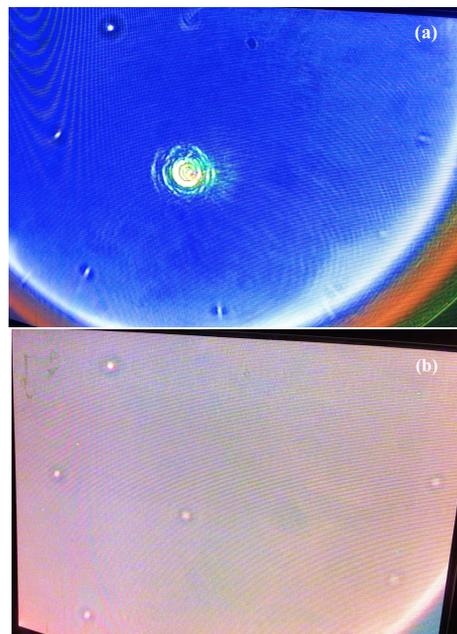


Fig. 5: (a) Trapping de partícula de levedura observada sem o filtro (b) Imagem igual à anterior com o filtro

Na Figura 6, está representada a manipulação de uma partícula de levedura: mantendo o ponto focal fixo, isto é, mantendo a partícula fixa, e movendo a amostra através de movimentos da carruagem XYZ no plano XY. Identificadas três partículas de levedura, sendo a partícula 1 a que está sujeita a “trapping”, observa-se que neste caso as partículas 2 e 3 se movem em relação à partícula 1.

Na Figura 7, está representada a manipulação de uma partícula de levedura: mantendo a amostra fixa e movendo o ponto focal, através de movimentos do espelho M2. Tal como no caso anterior as partículas são identificadas sendo a partícula 1 a que está sujeita a “trapping”. Neste caso as partículas 2 e 3 mantêm-se estáticas, mexendo-se apenas a partícula 1.

Notar que tanto na Figura 6 como na Figura 7, o círculo a azul presente nas imagens deve-se à forma do filtro que apresentava um orifício circular.

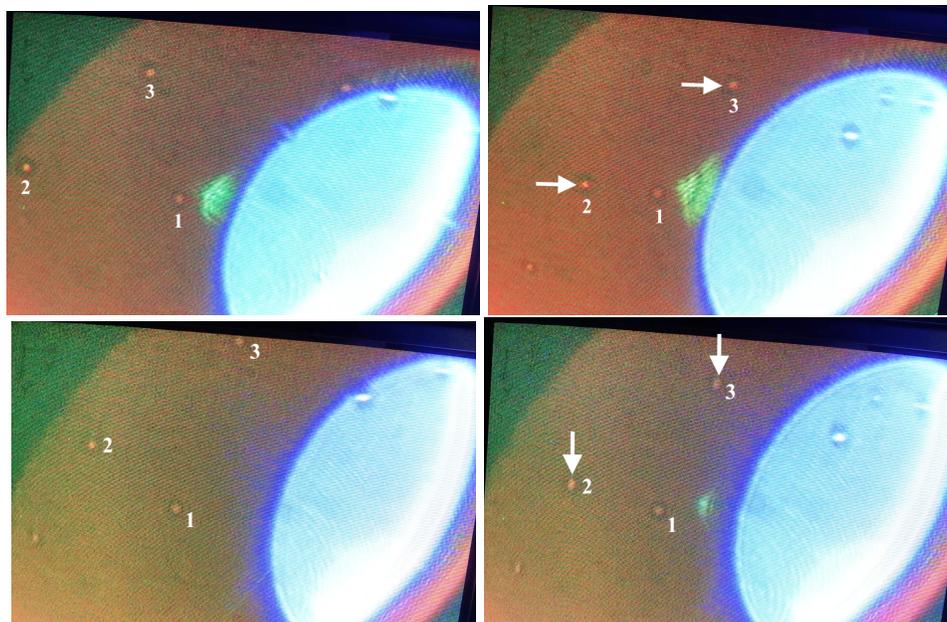


Fig. 6: Manipulação óptica de leveduras: amostra movível e ponto focal fixo

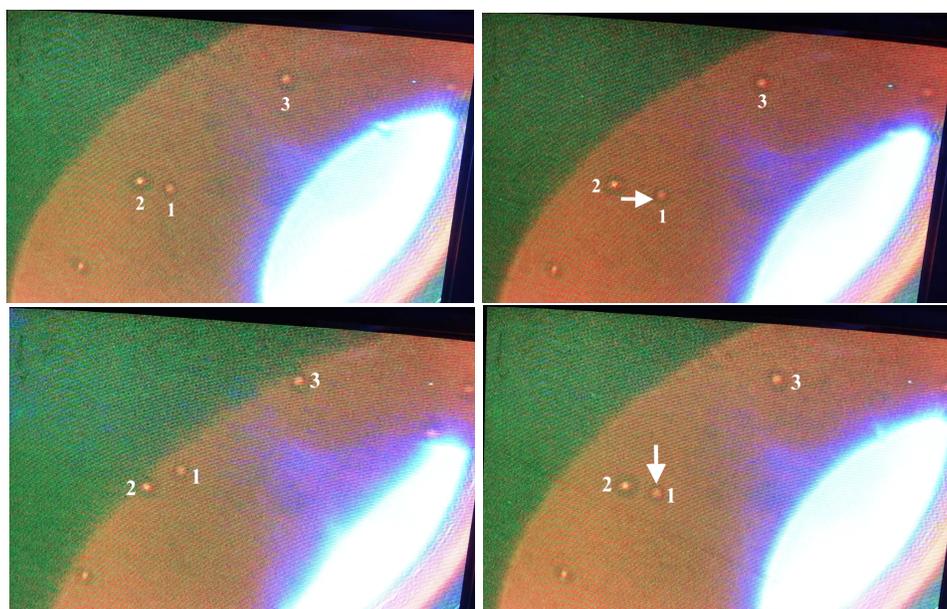


Fig. 7: Manipulação óptica de leveduras: amostra fixa e ponto focal fixo movível

Conclusão

Como as dimensões das partículas de levedura é da ordem dos μm e o comprimento de onda do feixe é da ordem dos nm , o “trapping” deu-se no regime de Mie pois a dimensão das partículas é muito maior que o comprimento de onda.

Feita a montagem experimental de uma pinça óptica simples, foi possível fazer o “trapping” e manipular partículas de levedura utilizando dois métodos: moveu-se a amostra tendo o ponto focal fixo e moveu-se o ponto focal tendo a amostra fixa. Verificou-se que o primeiro método permite uma maior amplitude de movimentos, estando apenas restringido pelo tamanho da amostra. Já o segundo método está dependente do tamanho da abertura numérica da objectiva e consequentemente não permite tanta amplitude de movimento.

A micromanipulação de partículas através de uma pinça óptica é uma experiência que é facilmente executável sem que seja necessário grandes investimentos, pois a sua montagem envolve elementos bastante vulgares para um laboratório de óptica.

Referências

- [1] Kishan Dholakia, Peter Reece, Min Gu: Optical micromanipulation; *Chemical Society Reviews*, 37:42–55, 2008.
- [2] Stephen P. Smith, Sameer R. Bhalotra, Anne L. Brody, Benjamin L. Brown, Edward K. Boyda, Mara Prentiss: Inexpensive optical tweezers for undergraduate laboratories; *American Journal of Physics*, 67(1), 1999.
- [3] D. N. Moothoo, J. Arlt, R. S. Conroy, F. Akerboom, A. Voit, K. Dholakia: Beth’s experiment using optical tweezers; *American Journal of Physics*, 69(3), 2001.