

VĚDECKÉ SPISY VYSOKÉHO UČENÍ TECHNICKÉHO V BRNĚ

*Edice Habilitační a inaugurační spisy, sv. 267*

ISSN 1213-418X

Pavel Zemánek

**POKROČILÉ METODY  
MIKROMANIPULACÍ SVĚTLEM**

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ  
FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ  
Ústav fyzikálního inženýrství

**Doc. RNDr. Pavel Zemánek, Ph.D.**

**POKROČILÉ METODY  
MIKROMANIPULACÍ SVĚTLEM**

**ADVANCED METHODS OF  
MICROMANIPULATIONS BY LIGHT**

TEZE PŘEDNÁŠKY  
K PROFESORSKÉMU JMENOVACÍMU ŘÍZENÍ V OBORU  
APLIKOVANÁ FYZIKA



Brno 2008

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

mechanické účinky záření, optická pinzeta, optické třídění, optický dopravník, optické vázání

## **KEY WORDS**

mechanical effects of light, optical tweezers, optical sorting, optical conveyor belt, optical binding

# **Obsah**

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>Popis silového působení světla na dielektrické částice</b>	<b>9</b>
2.1	Síly působící na světlem ozářené nanoobjekty . . . . .	9
2.2	Síly působící na objekty v interferenčních světelných polích . . . . .	11
<b>3</b>	<b>Experimentální zachytávání a přemísťování submikrometrových objektů ve stojaté vlně</b>	<b>13</b>
3.1	Zachytávání a doprava v besselovských svazcích . . . . .	13
3.2	Zachytávání a doprava v nezářivých svazcích . . . . .	14
<b>4</b>	<b>Optické třídění</b>	<b>17</b>
4.1	Optické třídění v evanescentním optickém dopravníku . . . . .	17
4.2	Optické třídění využívající tří gaussovských svazků . . . . .	18
<b>5</b>	<b>Světlem samouspořádané struktury</b>	<b>19</b>
5.1	Jednorozměrný řetězec opticky vázaných částic v besselovských svazcích . . . . .	19
5.2	Opticky vázané částice na povrchu . . . . .	20
<b>6</b>	<b>Závěr</b>	<b>21</b>
<b>7</b>	<b>Abstract</b>	<b>22</b>
	<b>Reference</b>	<b>23</b>



**Pavel Zemánek** je vedoucím vědeckým pracovníkem v Ústavu přístrojové techniky AV ČR, v.v.i. (ÚPT). Narodil se 18. 2. 1968 v Kroměříži, kde absolvoval základní školu i gymnázium. Vysokou školu studoval v Brně na přírodovědecké fakultě UJEP (nyní Masarykova univerzita v Brně), obor fyzikální elektronika a mikroelektronika. Od druhého ročníku pracoval v ÚPT jako pomocná vědecká síla a vypracoval zde i svou diplomovou práci. V roce 1991 zahájil postgraduální studium na stejně fakultě v oboru fyzika plazmatu, během kterého pracoval v ÚPT a dlouhodobě pobýval jako Soros scholar v Clarendonově laboratoři na Univerzitě v Oxfordu (1993-1994). V roce 1994 obhájil doktorskou disertační práci *Polarizační stabilita modů v laserech s vnitřními zrcadly a laserové chlazení atomů v silné stojaté gaussovské vlně*.

Od roku 1994 působí v ÚPT. Založil zde nový výzkumný směr optických mikromanipulačních technik a společně s prof. M. Liškou z Ústavu fyzikálního inženýrství VUT v Brně (FSI VUT) založili společnou laboratoř nanotechnologií (1997), ve které se studenti podílejí na vědecko-výzkumné činnosti. V ÚPT postupně zastával funkce vedoucího skupiny optických mikromanipulačních technik (1995-dosud), vedoucího Oddělení koherenční optiky (1999-2001), člena vědecké rady (1997-2006), místopředsedy vědecké rady (2000-2002), zástupce ředitele (2001-dosud), člena rady instituce (2007-dosud) a předsedy atestační komise (2007-dosud). V roce 2002 se habilitoval na FSI VUT a byl jmenován docentem pro obor Aplikovaná fyzika.

Jeho vědecká a odborná činnost se týkala řady aplikací laserů, věnoval se laserové spektroskopii s vysokým rozlišením, frekvenční stabilizaci laserů, teorii aktivního prostředí laserů, nelineární optice, interakci elektromagnetického záření s atomy, laserovému chlazení a chytání atomů a v poslední době zejména využití mechanických účinků světla k pokročilým manipulacím s mikroobjekty. Pod jeho vedením skupina optických mikromanipulačních technik demonstrovala zachytávání nanočastic a mikročastic do stojatých světelných vln a detailně teoreticky popsala silové účinky na objekty, částečně ve spolupráci s Katedrou optiky Palackého univerzity a Univerzity v St. Andrews prezentovala optické zachytávání v nezářivých či nedifrakčních svazcích, optický dopravník pro přesné přemísťování nanočastic a mikročastic na vzdálenosti stovek až tisíců mikrometrů, dvě zcela nové metody optického třídění mikročastic bez proudící kapaliny, fotopolymeraci vláken o průměru menším než  $2 \mu\text{m}$  a délce jednotek centimetrů, světlem vázaný řetězec častic. V rámci společného pracoviště s VUT byla vytvořena kombinovaná aparatura k zachytávání mnoha častic a laserovým mikroablacím, byl sestaven mikroskop s opticky zachycenou sondou a byla vypracována metodika pro snímání profilů povrchů více opticky zachycenými sondami. Tato zařízení byla využívána ke společným experimentům s Lékařskou fakultou Masarykovy univerzity v Brně v oblasti poškození cytoskeletu prvoků a s Biofyzikálním ústavem AV ČR ke studiu rozložení chromatinu v buňkách. P. Zemánek byl řešitelem nebo spoluřešitelem 13 grantových projektů, ve kterých byla uvedená problematika rozvíjena. Je autorem nebo spoluautorem 24 impaktovaných publikací a dalších přibližně 68 výcestránkových publikací otištěných ve sbornících mezinárodních konferencí nebo v neimpaktovaných časopisech. Uvedené práce byly více než  $100\times$  citovány jinými autory. Je pravidelně zván k přednesení přednášek v mezinárodních vědeckých institucích, na zahraničních i tuzemských univerzitách, konferencích či letních školách.

Pedagogicky působí na FSI VUT a Fakultě přírodovědecké Masarykovy univerzity v Brně, kde přednáší moderní aplikace laserů, školí tři doktorandy a školil diplomanty a doktorandy ( $3\times$  Mgr.,  $4\times$  Ing.,  $5\times$  Ph.D.). Je členem oborové rady doktorského studijního programu Fyzikální a materiálové inženýrství, který je na základě akreditace MŠMT uskutečňován ve spolupráci FSI VUT a ÚPT. Působí v komisích pro státní doktorské zkoušky, obhajobu doktorských disertačních prací a magisterské státní závěrečné zkoušky na obou vysokých školách.

# 1 Úvod

Termín „světlo“, striktně vzato, označuje velmi úzkou část elektromagnetického spektra, která je viditelná lidským okem. Jedná se o rozmezí vlnových délek přibližně od 400 nm po 700 nm, ale tyto hranice nejsou přesně definovány, protože souvisejí s citlivostí lidského oka, která v krajích uvedeného spektrálního intervalu klesá asymptoticky k nule. Tento úzký rozsah vlnových délek však není důležitý jen pro zrak člověka, ale pravděpodobně i pro samotný vznik života na Zemi. Jedná se totiž o vlnové délky nejméně pohlcované vodou, ve které se prvotní organismy začaly vyvíjet.

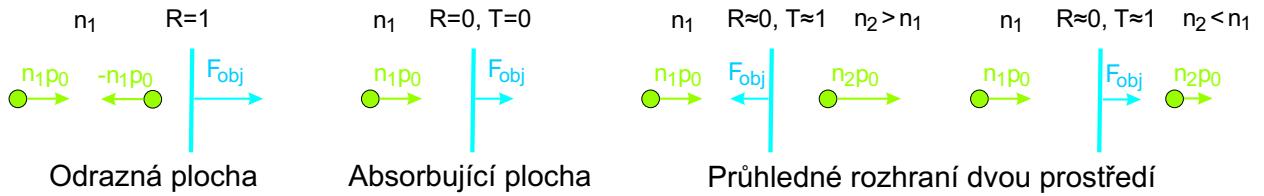
Převážně pozitivní význam světla pro člověka lze vystopovat již v řadě rčení, např. „Tak si na to posvíťme...“, „Rozsvítilo se mu...“, „Záblesk naděje...“, „Světlo na konci tunelu...“ a souvisí s tím, že informace, které člověk získává prostřednictvím světla, jsou pro něj životně důležité k orientaci v prostoru, a tedy k snazšímu přežití. Zrak vždy představoval pro člověka informační kanál s nejhutnějším informačním tokem, ale současně i nejsnáze a nejrychleji zpracovatelným. Není tedy divu, že moderní doba využívá této lidské schopnosti a poskytuje informace převážně prostřednictvím obrazovky televizí nebo monitorů počítačů. Společně s rozvojem různých typů zejména miniaturních laserů nachází světlo uplatnění v celé řadě dalších oborů, i když zde je již termín „světlo“ mnohdy používán v širším kontextu i pro vlnové délky těsně navazující na viditelnou oblast. „Světlo“ využíváme k uložení dat na záznamová média, k jejich čtení, k „nekrvavým“ lékařským zákrokům, získáváme jeho prostřednictvím informace o chemickém složení vzdálených hvězd, ale i mikroobjektů. Zdálo by se tedy, že nová využití světla již nemohou člověka překvapit. Přesto se domnívám, že použití světla k mechanickému přemísťování objektů je pro většinu populace spíše záležitostí sci-fi příběhů než realitou. V dnešní době však laserový svazek již dokáže účinně zpomalit atomy (t.j. „zchladit“ je), prostorově zachytit mikroobjekty, mikroorganismy, nanoobjekty, atomy a molekuly, přemístit je nebo dokonce roztrídit podle vlastností. Zcela nedávnou aplikací je tzv. opticky vázaná hmota, ve které jsou vazebné interakce mezi mikroobjekty zprostředkovány rozptylem světla, a nikoliv elektrostaticky.

Bezkontaktní manipulace s mikroobjekty a nanoobjekty prostřednictvím světla jsou založeny na přenosu hybnosti mezi hmotou a částicemi světla – fotony. Světlo se po dopadu na hmotné objekty odráží, lomí, rozptyluje a absorbuje; tyto jevy vedou ke změně intenzity a směru šíření proudu fotonů dopadajících na objekt, a tudíž i ke změně hybnosti fotonů. Podle zákona zachování hybnosti pro spojený systém světelné vlny a objektu pak následně musí dojít i ke změně hybnosti ozářeného objektu. Je tedy zřejmé, že čím menší hmotnost bude objekt mít, tím větší změny rychlosti se dosáhne. Zpětný rozptyl jednoho fotonu o vlnové délce 532 nm na atomu vodíku o hmotnosti  $1,67 \cdot 10^{-27}$  kg změní rychlosť atomu o  $1,5$  m/s. Pokud bychom se však zaměřili na hliníkovou krychličku o délce hrany  $1\text{ }\mu\text{m}$ , byla by změna její rychlosti pouze  $9 \cdot 10^{-13}$  m/s.

Lze tedy tušit, že počet rozptýlených fotonů potřebný pro pozorovatelné manipulace s mikroobjekty dosahuje vysokých hodnot. Zkusme nyní kvantifikovat silové účinky světla pro různé dostupné zdroje a velikosti objektů. Předpokládejme, že zdroj světla září na vlnové délce 532 nm a jeho zářivý výkon bude  $P$ . Za dobu  $\Delta t$  tento zdroj vyzáří  $N$  fotonů:

$$N = \frac{P\Delta t}{h\nu} = \frac{P\Delta t\lambda_0}{hc} = \frac{P\Delta t}{cp_0}, \quad (1)$$

kde  $h$  je Planckova konstanta,  $\nu$  kmitočet světla,  $c$  rychlosť světla ve vakuu a  $\lambda_0$  vlnová délka světla ve vakuu, dále jsme zavedli  $p_0$  označující hybnost fotonu ve vakuu. Pro jednoduchost předpokládejme, že fotony z prostření o indexu lomu  $n_1$  dopadají kolmo na rozhraní dvou prostředí a procházejí do prostředí s indexem lomu  $n_2$  (viz obr. 1).



Obrázek 1: Znázornění velikosti a směru síly, která působí na rozhraní a je vyvolaná fotony dopadajícími na odrazené, absorbující a průhledné rozhraní mezi prostředími o různých indektech lomu  $n_1$  a  $n_2$ . Hybnost jednoho fotonu ve vakuu je označena  $p_0 = h/\lambda_0$ .

Odrazivost rozhraní je  $R$  a z dopadajících  $N$  fotonů je část  $RN$  odražena zpět, část  $TN$  prochází do prostředí a případně část  $(1 - T - R)N$  je absorbována. Hybnost fotonů dopadajících na povrch je  $p_i = n_1 p_0 N$ , hybnost fotonů prošlých rozhraním je  $p_t = n_2 p_0 TN$  a hybnost všech fotonů odražených rozhraním je  $p_r = -n_1 p_0 RN$ . Celková změna hybnosti fotonů za dobu  $\Delta t$  je

$$\Delta p = p_t + p_r - p_i = p_0 N [n_2 T - n_1 (R + 1)]. \quad (2)$$

Síla, která způsobila tuto změnu hybnosti fotonů, je podle II. Newtonova zákona dána:

$$F_{tot} = \frac{\Delta p}{\Delta t}, \quad (3)$$

s využitím výše uvedených vztahů dostaneme:

$$F_{tot} = \frac{P}{c} [n_2 T - n_1 (R + 1)]. \quad (4)$$

Podle zákona akce a reakce stejně velkou silou, ale opačného směru, působí fotony na rozhraní (objekt), které způsobilo změnu jejich hybnosti. Výsledná síla, kterou na rozhraní působí světlo, tedy je:

$$F_{obj} = -F_{tot} = \frac{P}{c} [n_1 (R + 1) - n_2 T] = \frac{n_1 P}{c} \left[ (R + 1) - \frac{n_2}{n_1} T \right] \equiv \frac{n_1 P}{c} Q, \quad (5)$$

kde  $Q$  udává, jaká část dopadající hybnosti fotonů  $n_1 P/c$  se využije k silovému působení na objekt. Pro zcela odražný povrch  $R = 1$  nabývá  $Q$  maximální hodnoty  $Q = 2$  a síla urychluje povrch ve směru dopadajícího záření. Tabulka 1 uvádí příklady zrychlení různě velkých objektů, na které dopadá buď sluneční záření (využití pro sluneční plachetnici) nebo svazek z laserového ukazovátka. Je z ní vidět, že myšlenka sluneční plachetnice není tak pošetilá, jak by se na první pohled mohla zdát. Plachta o ploše  $100 \times 100 \text{ m}^2$  udělí objektu o hmotnosti 100 kg přibližně stejné zrychlení, s jakým se počítá při cestách stávajících družic k Marsu ( $\simeq 1 \text{ mm/s}^2$ ). Současně je názorně vidět, že i velmi malé částice jsou slunečním světlem výrazně urychlovány. Překvapením jistě bude, že obyčejné laserové ukazovátko dokáže urychlit mikroobjekt  $1700 \times$  více, než je těžové zrychlení Země!

Pro absorbující povrch s  $R = 0$  a  $T = 0$  dostaneme  $Q = 1$  a ze vztahu (5) plyne, že silové působení fotonů na objekt je poloviční v porovnání s odražným povrchem ( $R = 1$ ). Pro slabě odražný povrch  $T \simeq 1$ ,  $R \simeq 0$  dostaneme ze vztahu (5)

$$F_{obj} \simeq \frac{n_1 P}{c} \left[ 1 - \frac{n_2}{n_1} \right]. \quad (6)$$

Zrychlení objektu $a_z = \frac{n_1 PQ}{cm} = \frac{n_1 I_{Slunce} Q}{c} \frac{S}{m}$	Slunce na Zemi $I_{Slunce}=1328 \text{ W/m}^2$	Laserové ukazovátko $P=5 \text{ mW}$
Plocha o dané hmotnosti $m=100 \text{ kg}, S=100 \times 100 \text{ m}^2$ $m=1 \text{ kg}, S=1 \times 1 \text{ m}^2$ $m=1 \text{ g}, S=1 \times 1 \text{ m}^2$	$a_z=0,89 \text{ mm/s}^2$ $a_z=8,9 \mu\text{m/s}^2$ $a_z=8,9 \text{ mm/s}^2$	$a_z=3,34 \cdot 10^{-10} \text{ mm/s}^2$ $a_z=3,3 \cdot 10^{-5} \mu\text{m/s}^2$ $a_z=3,3 \cdot 10^{-5} \text{ mm/s}^2$
Hliníková krychle $m=2 \cdot 10^{-6} \text{ kg}, S=1 \times 1 \text{ mm}^2$ $m=2 \cdot 10^{-15} \text{ kg}, S=1 \times 1 \mu\text{m}^2$	$a_z=4,4 \mu\text{m/s}^2$ $a_z=4,4 \text{ mm/s}^2$	$a_z=16,7 \mu\text{m/s}^2$ $a_z=1,7 \cdot 10^4 \text{ m/s}^2$

Tabulka 1: Zrychlení různých odrazených ( $Q = 2$ ) objektů vlivem dopadajícího světla. Na Zemi od Slunce dopadá optická intenzita  $1328 \text{ W/m}^2$ , která na odrazenou plachtu o ploše  $1 \text{ m}^2$  působí silou  $9 \mu\text{N}$ . Hmotnost plochy  $1 \text{ m}^2$  ( $m/S$ ) pak určuje výsledné zrychlení  $a_z$ . Jako druhý příklad uvažujeme světelný zdroj o daném výkonu  $P=5 \text{ mW}$  (laserové ukazovátko), který dokážeme všechn soustředit na odrazenou hliníkovou krychličku (o hustotě  $\simeq 2000 \text{ kg/m}^3$ ).

Zde směr síly závisí na hodnotách indexů lomu prostředí před a za rozhraním (viz obr. 1). Jestliže foton vstupuje do prostředí opticky hustšího  $n_2 > n_1$ , roste jeho hybnost a výsledná síla působící na rozhraní je záporná. V praxi to vede k deformaci rozhraní směrem ke zdroji světla. Naopak, pro  $n_2 < n_1$  je síla na rozhraní kladná a rozhraní je vtláčeno ve směru dopadajícího světla.<sup>1</sup> Tento efekt se s výhodou používá v zařízení zvaném optický natahovač (optical stretcher). Je jím možné studovat např. deformaci živých buněk a podle dynamiky a rozsahu deformace rozlišit rakovinné a zdravé buňky během desítek milisekund.<sup>2</sup>

Podobné úvahy týkající se zrychlení částic provedl koncem 60. let A. Ashkin a dospěl k závěru, že pomocí fokusovaného laserového paprsku je možné dosáhnout pozorovatelných změn v chování mikročástic a také atomů. Jeho systematická práce položila základ laserovému chlazení atomů, za které byla jiným vědcům v roce 1998 udělena Nobelova cena za fyziku. A. Ashkin dále představil světu optickou pinzetu (optical tweezers), která využívá jediného silně fokusovaného laserového svazku k prostorovému zachycení objektu a která nachází široké využití zejména v buněčné biologii.<sup>3</sup> Byl také u zrodu metody, která z výchylky opticky zachyceného objektu měří velmi slabé působící síly v rádu jednotek až stovek pN. Využití této metody pro měření silových interakcí mezi jednotlivými molekulami molekulárních motorů vedlo k revolučním poznatkům o fungování těchto systémů.<sup>4,5</sup> V posledních pěti letech zaznamenala oblast optických mikromanipulačních technik výrazný rozvoj nových metod, které nejsou založeny na jednom fokusovaném svazku, ale na interferenčních světelných polích. Jsou využívány k zachycení stovek až tisíců objektů a jejich dopravování až na milimetrově vzdálenosti (optical conveyor belt), k třídění složek suspenzí či koloidních roztoků pouhým osvícením (optical sorting, optical fractionation), či vytváření opticky vázané hmoty (optically bound matter). Praktické aplikace nalézájí kombinace optických mikromanipulačních metod se spektroskopickými technikami (ramanovská spektroskopie, fluorescenční mikroskopie) a také s mikrofluidními systémy představujícími jádro lab-on-a-chip zařízení.

## 2 Popis silového působení světla na dielektrické částice

Silové působení obecného nehomogenního elektromagnetického pole na dielektrické prostředí je řešeno v rámci elektrodynamiky kontinua. V našem případě se jedná o výpočet změny hybnosti dielektrického objektu umístěného v jiném dielektrickém prostředí (např. v kapalině). Za stacionárních podmínek, kdy detekujeme časově středované hodnoty veličin, je výsledná síla působící na objekt dána integrálem<sup>6</sup>

$$\langle F_i \rangle = \left\langle \oint_S \sum_j T_{ij}^M n_j dS \right\rangle, \quad (7)$$

kde  $T_{ij}$  jsou složky tzv. Maxwellova tenzoru pnutí,  $n_j$  jsou složky jednotkového normálového vektoru směrujícího vně od povrchu. Integruje se přes libovolnou plochu  $S$  obklopující studovaný objekt. Složky Maxwellova tenzoru pnutí nabývají tvaru<sup>7</sup>

$$T_{ij}^M = \epsilon E_i E_j + \mu H_i H_j - \frac{1}{2}(\epsilon E^2 + \mu H^2) \delta_{ij}, \quad (8)$$

kde  $\epsilon$ , resp.  $\mu$  je permitivita resp. permeabilita prostředí obkloupující objekt, vektory  $\mathbf{E}$ ,  $\mathbf{B}$  popisují výsledné vnější pole, které vzniká superpozicí dopadajícího pole a pole rozptyleného objektem. Problém rozptylu záření je možno analyticky řešit pouze pro objekty určité speciální symetrie. Nejčastěji používaným modelovým objektem je koule, pro kterou lze všechny komponenty výsledného pole vyjádřit pomocí nekonečných řad Ricattiových-Besselových a sférických harmonických funkcí. Rozvojové koeficienty v těchto řadách se určují z relací ortogonality dvojnou integrací.<sup>8</sup> Popsaný postup je použitelný pro kuličky libovolného poloměru. V limitních případech je však možno k výsledku dospět alternativními cestami, které poskytují více ilustrativní vhled do fyzikální podstaty problému. Objekty mnohem menší než vlnová délka uvažovaného záření  $\lambda$  mohou být považovány za bodové zářící indukované dipoly.<sup>9</sup> Na opačném konci stojí velmi velké objekty splňující předpoklady platnosti approximace geometrické optiky.<sup>10</sup>

### 2.1 Síly působící na světlem ozářené nanoobjekty

Časově středovanou sílu působící na objekt, který je mnohem menší než rozptylovaná vlnová délka  $\lambda$ , lze určit z analýzy zářícího dipolu indukovaného dopadajícím zářením. Pro kulovou částici, jejíž poloměr  $a$  splňuje  $a < \lambda/20$ , lze odvodit následující analytický vztah pro sílu, kterou na ni působí světlo:<sup>11,12</sup>

$$\langle F_\xi \rangle \equiv F_\xi = \frac{1}{2} \epsilon_0 \epsilon_1 \Re \left\{ \sum_{\zeta=x,y,z} p_\zeta \frac{\partial E_\zeta^*}{\partial \xi} \right\}, \quad (9)$$

kde  $\xi = x, y, z$ ;  $\epsilon_0$  je permitivita vakua,  $\epsilon_1 \equiv n_1^2$  je relativní permitivita prostředí obkloupující částici,  $\Re \{ \}$  vyjadřuje reálnou část veličiny v závorce,  $*$  označuje komplexně sdruženou hodnotu.  $p_\zeta$  vyjadřuje  $\zeta$  složku indukovaného dipolu, pro kterou platí  $p_\zeta = \alpha E_\zeta$  a  $\alpha$  je polarizovatelnost částice. Polarizovatelnost částice má obecně reálnou  $\alpha'$  a imaginární část  $\alpha''$ . Imaginární část souvisí s absorpcí v objektu (např. kov) a nebo v případě dielektrické částice vyjadřuje působení částice samu na sebe rozptyleným zářením.<sup>13</sup> V tomto případě lze polarizovatelnost vyjádřit vztahem:

$$\alpha = \frac{\alpha_0}{1 - \frac{2}{3} \frac{i k^3 \alpha_0}{4\pi}} = \frac{\alpha_0}{1 + \frac{k^6 \alpha_0^2}{36\pi^2}} + i \frac{\alpha_0^2 k^3}{6\pi \left(1 + \frac{k^6 \alpha_0^2}{36\pi^2}\right)}, \quad (10)$$

kde  $k = 2\pi n_1/\lambda_0$  a  $\alpha_0$  lze získat z Lorentzova-Lorenzova vztahu:

$$\alpha_0 = 4\pi a^3 \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2}. \quad (11)$$

$m = n_2/n_1$  vyjadřuje poměr indexů lomu částice a prostředí. V případě dielektrické nanočástice dále platí s využitím rovnic (10) a (11):

$$\alpha' \simeq \alpha_0, \quad \alpha'' \simeq \frac{\alpha_0^2 k^3}{6\pi}, \quad \left| \frac{\alpha''}{\alpha'} \right| = \left| \frac{2}{3} \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} (ka)^3 \right| \ll 1 \text{ pro } a \ll \frac{\lambda}{20}. \quad (12)$$

Rovnici (9) lze dále upravit, předpokládáme-li, že elektrické pole  $E_\zeta$  vyjádříme pomocí reálné amplitudy  $E'_\zeta$  a reálné fáze  $\phi'$  ve tvaru  $E_\zeta \equiv E'_\zeta \exp(i\phi')$ :

$$F_\xi = \frac{1}{2} \varepsilon_0 \varepsilon_1 \Re \left\{ \sum_{\zeta=x,y,z} (\alpha' + i\alpha'') \left[ \frac{1}{2} \frac{\partial(E'_\zeta)^2}{\partial\xi} - iE'_\zeta \frac{\partial\phi'}{\partial\xi} \right] \right\} \quad (13)$$

$$= \frac{1}{2} \varepsilon_0 \varepsilon_1 \sum_{\zeta=x,y,z} \left[ \alpha' \frac{1}{2} \frac{\partial(E'_\zeta)^2}{\partial\xi} + \alpha'' E'_\zeta^2 \frac{\partial\phi'}{\partial\xi} \right]. \quad (14)$$

Tato úprava umožňuje rozdělit silové působení světla na nanočástice na dva druhy. První člen v rovnici (14) popisuje tzv. *gradientní sílu*,<sup>14</sup> protože její existence je spjata s gradientem optické intenzity:

$$F_\xi^{gr} = \frac{1}{4} \varepsilon_0 \varepsilon_1 \alpha' \sum_{\zeta=x,y,z} \frac{\partial(E'_\zeta)^2}{\partial\xi}. \quad (15)$$

Současně je vidět, že gradientní síla je úměrná *reálné složce polarizovatelnosti*. Druhý člen v rovnici (14) odpovídá tzv. *rozptylové síle*, která je úměrná optické intenzitě a současně *imaginární části polarizovatelnosti*. Příklady uváděné v úvodní části odpovídají právě této rozptylové síle vyjadřující tzv. radiační tlak záření:

$$F_\xi^{rzpt} = \frac{1}{2} \varepsilon_0 \varepsilon_1 \alpha'' \sum_{\zeta=x,y,z} E'_\zeta^2 \frac{\partial\phi'}{\partial\xi}. \quad (16)$$

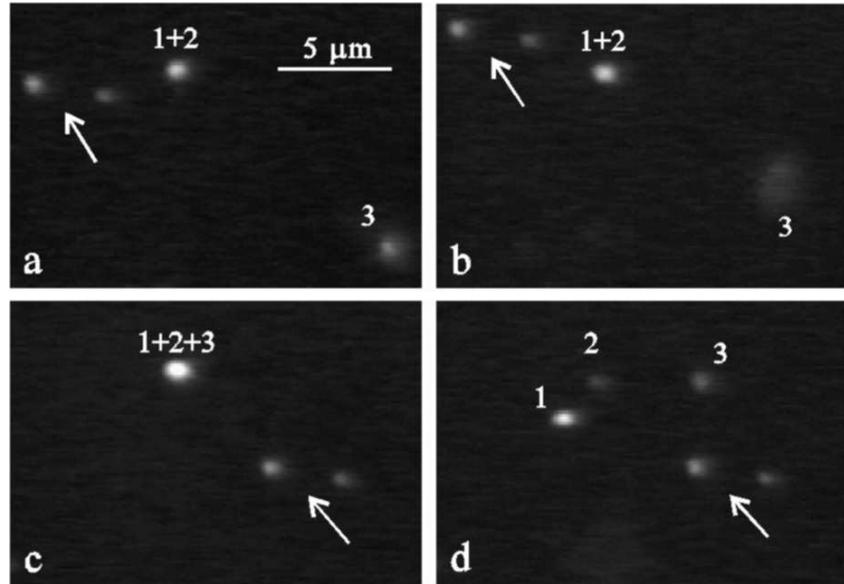
Abychom více znázornili fyzikální rozdíl obou sil, uvažujme neabsorbující částici ozářenou rovinou vlnou nebo stojatou vlnou.

$$\begin{aligned} \text{Rovinná vlna } E(z) = E_0 \exp(ikz): \quad F_z^{gr} &= 0 & F_z^{rzpt} &= \frac{1}{2} \varepsilon_0 \varepsilon_1 \alpha'' k E_0^2 \\ \text{Stojatá vlna } E(z) = 2E_0 \cos(kz): \quad F_z^{gr} &= \varepsilon_0 \varepsilon_1 \alpha' k E_0^2 \sin(2kz) & F_z^{rzpt} &= 0 \end{aligned}$$

Přestože uvedený příklad je velmi jednoduchý, lze na něm demonstrovat obecné vlastnosti obou druhů sil. Rozptylová síla urychluje částici a neumožňuje její zachycení v prostoru. Toto pravidlo platí i v případě složitějších prostorových konfigurací svazků bez gradientů optické intenzity.<sup>15</sup> Naopak prostorové zachycení částice je možné pouze tehdy, pokud jsou přítomny gradienty optické intenzity. Příklad stojaté vlny ukazuje, že pokud je index lomu částice větší než index lomu okolního prostředí (t.j.  $m > 1$  ve vztahu (11)), je částice zachycena v místě největší optické intenzity (maximu stojaté vlny). Místo, ve kterém je částice v prostoru zachycena, se nazývá *optická past*. V případě jednoho fokusovaného svazku může být podélný gradient intenzity dostatečný k zachycení částice v blízkosti ohniska svazku,<sup>16</sup> a právě toho využívá tzv. *optická pinzeta*.<sup>17</sup> Vezmeme-li v úvahu nerovnost uvedenou ve vztahu (12), je vidět, že chování nanočastic je převážně určeno gradientní silou, a to i tehdy, jsou-li přítomny

i mírné gradienty optické intenzity. Je-li naopak  $m < 1$ , částice je tažena do míst s nižší optickou intenzitou a ve většině praktických případů nebude prostorově zachycena.

Obrázek 2 demonstruje zachycení polystyrénových kuliček o poloměru 50 nm ve stojaté vlně vytvořené interferencí dopadajícího fokusovaného laserového svazku a téhož svazku odraženého od rozhraní voda-sklo. I když takto vytvořená intenzitní modulace je velmi slabá, uvedené objekty bylo možné zachytit v prostoru.<sup>18</sup>



Obrázek 2: Částice o poloměru 50 nm zachycená v jednom z maxim stojaté vlny poblíž nepovrstveného podložního skla (odrazivost  $R = 0,004$ ). Celkový výkon procházející rovinou vzorku byl 7 mW, numerická apertura objektivu byla  $NA = 0,6$ . Část (a) ukazuje dva objekty 1 a 2 zachycené přibližně 1  $\mu\text{m}$  nad podložním sklem. Šipky označují objekty ležící na dně. Částice 3 se pohybují náhodně ve vodním prostředí, jak prozrazují změny v ostrosti jejího obrazu (viz (a), (b)), kdežto zachycené částice zůstávají stejně ostré. Částice 3 je následně rovněž zachycena (viz (c)) a pohybují se současně s ostatními dvěma zachycenými částicemi. Zastíněním chytacího svazku jsou částice uvolněny z optické pasti a rozprchnou se tepelným pohybem různými směry (viz d).

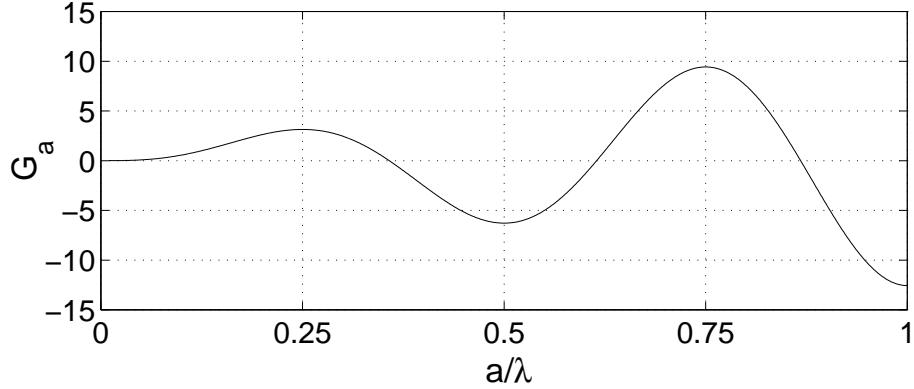
## 2.2 Síly působící na objekty v interferenčních světelných polích

V této části bude pozornost věnována větším objektům - dielektrickým kuličkám, jejichž průměr je větší než prostorová perioda intenzity interferenčního pole. Zcela exaktní postup vyžaduje použít vztahu (7) a dosadit do něj elektromagnetické pole vzniklé interferencí dopadajícího a rozptýleného pole. Je-li však index lomu objektu blízký indexu lomu okolního prostředí, lze získat approximativní analytický vztah.<sup>19</sup> V případě ozáření objektu stojatou vlnou  $E_0 \exp(ikz) + E_0 \exp(-ikz)$  jej lze zjednodušit do tvaru:

$$F_z = -\frac{n_1}{c} (m^2 - 1) \frac{I_0 \pi}{k^2} [\sin(2ka) - 2ka \cos(2ka)] \sin(2kz), \quad (17)$$

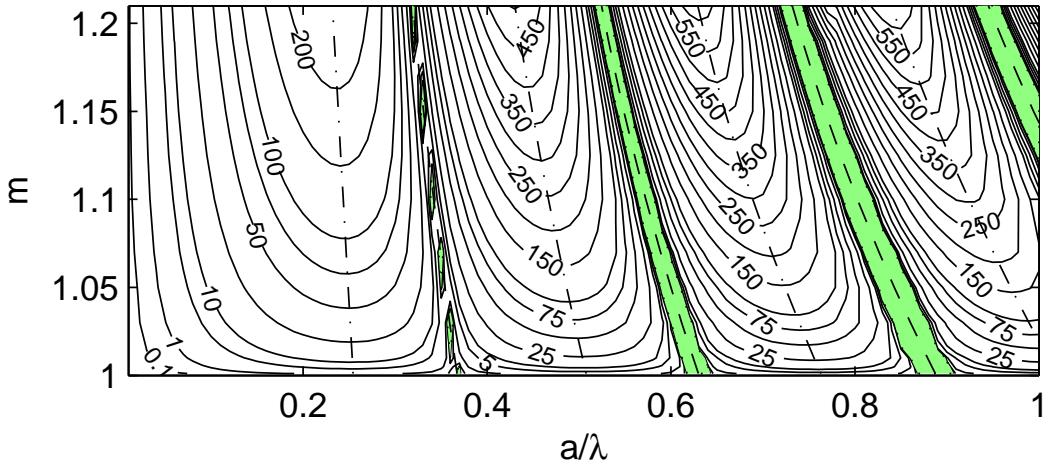
kde  $I_0 = n_1 \varepsilon_0 c |E_0|^2 / 2$ . Obrázek 3 ukazuje, jak člen v hranatých závorkách (označený  $G_a$ ) závisí na poloměru objektu  $a$ . Je-li poloměr koule roven celočíselným násobkům  $\lambda/4$ , je  $G_a$  extremální a mění znaménko pro liché a sudé násobky. Ze vztahu (17) dále plyne, že koule je svým středem lokalizována v intenzitním maximu stojaté vlny, je-li  $G_a$  kladné. Naopak pro

záporné  $G_a$  koule umístí svůj střed v intenzitním minimu. Z grafu je rovněž zřejmé, že existují poloměry koulí, na které ve stojaté vlně nepůsobí světlo žádnou silou.



Obrázek 3: Modulace síly působící na dielektrickou kuličku o poloměru  $a$  a indexu lomu blízkému indexu lomu obklopujícího prostředí, je-li vložena do stojaté světelné vlny  $E_0 \exp(ikz) + E_0 \exp(-ikz)$ . Svislá osa označuje  $G_a = \sin(2ka) - 2ka\cos(2ka)$ .

Obrázek 4 znázorňuje změnu modulace maximální podélné optické síly u objektů různé velikosti, jejichž index lomu se výrazněji liší od indexu lomu okolního prostředí. Na rozdíl od approximativního vztahu (17) vyšší hodnota indexu lomu objektu způsobí, že objekty neovlivněné uvažovanou stojatou vlnou budou menší.<sup>14,19</sup> Silná závislost síly na velikosti objektů se v nedávné době začala využívat pro optické třídění objektů, o kterém pojednává část 4.

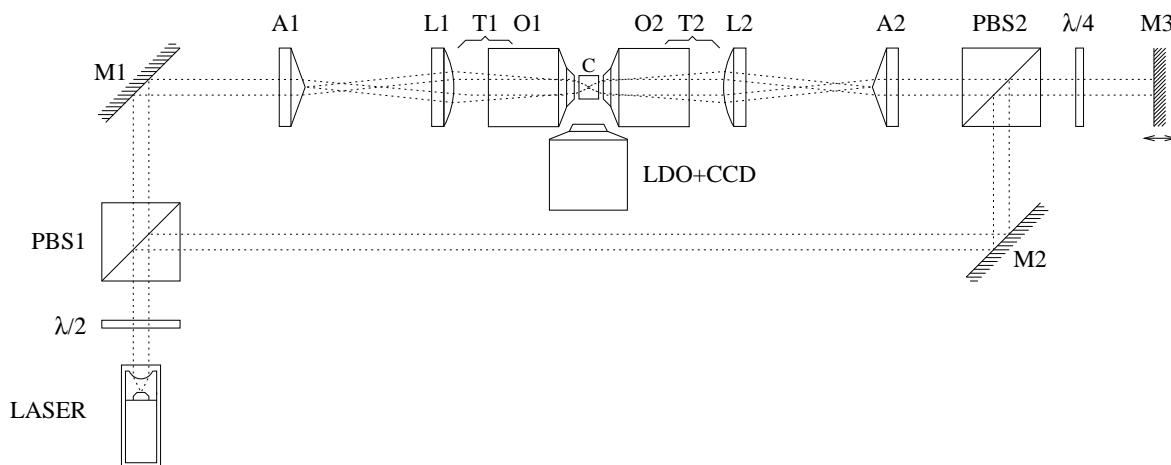


Obrázek 4: Kontury vyznačují maximální sílu v pN, jaká působí na objekt vložený do stojaté gaussovské vlny pro různé poloměry  $a/\lambda$  a podíly indexu lomu vůči vodě  $m = n_2/n_1$ . Poloměr částice je vztažen k vlnové délce ve vodě  $\lambda = \lambda_0/n_1$ , kde  $n_1 = 1,332$ . Tato světelná struktura vznikla interferencí dopadajícího svazku se svazkem odraženým na zrcadle s odrazivostí 1. K výpočtu byla použita zobecněná Mieova teorie rozptylu.<sup>20</sup> Předpokládala se vlnová délka laseru  $\lambda_0=1064$  nm, výkon v dopadajícím svazku 1W a pološířka pasu gaussovského svazku 1  $\mu\text{m}$ . Zelená barva vyznačuje oblast, kde nelze částici zachytit a kde je tlačena k odrazné vrstvě.

### 3 Experimentální zachytávání a přemístování submikrometrových objektů ve stojaté vlně

Po více než osm let jsme se zaměřovali na chování částic v interferenčních polích, a to zejména ve stojatých vlnách. Zpočátku byla využívána stojatá vlna vytvořená gaussovským svazkem zpětně odraženým na rozhraní<sup>18, 21, 22</sup> a teprve před třemi lety byly použity komplexnější sestavy, které využívaly protiběžných besselovských svazků nebo protiběžných evanescentních vln. Nezávislé protiběžné vlny mají tu výhodu, že změna fáze jedné z nich způsobí posun celé interferenční struktury intenzitních maxim a minim. Protože částice jsou zachycené v interferenčních maximech nebo minimech, lze je na jednou dopravovat na vzdálenost dané rozsahem interferenční struktury, a to obousměrně. Tuto metodu jsme nazvali *optický dopravník*.<sup>23</sup>

#### 3.1 Zachytávání a doprava v besselovských svazcích

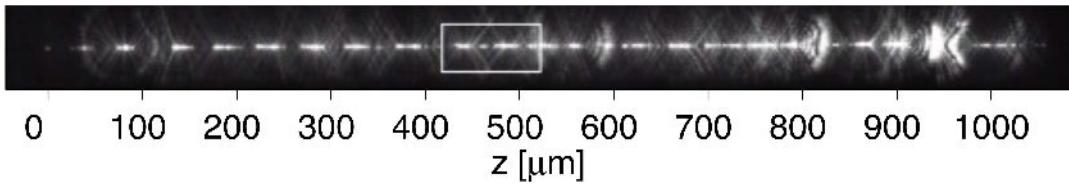


Obrázek 5: Sestava dvou protiběžných interferujících besselovských svazků s řízeným posunem fáze jednoho svazku. Lineárně polarizovaný svazek laseru (Coherent Verdi V5, maximální výkon 5 W,  $\lambda=532$  nm) je natočen půlvlnovou deskou a rozdělen polarizačním děličem svazku PBS1. Zrcadlem M1 je směrován na axikon A1, za kterým vzniká besselovský svazek, který je teleskopem T1 zmenšen na průměr jádra 2  $\mu\text{m}$ . Zrcadlo M2 vede svazek na polarizační dělič PBS2, který odrazí svazek přes čtvrtvlnovou desku na pohyblivé zrcadlo M3. Odtud je odražen zpět, prochází přes PBS2 na axikon A2 a vzniklý besselovský svazek je zmenšen na průměr jádra 2  $\mu\text{m}$ . Oba svazky interferují v kyvetě C. Kyveta je pozorována objektivem s dlouhou pracovní vzdáleností (Mitutoyo M Plan Apo SL, 50x / 0.42) a CCD.

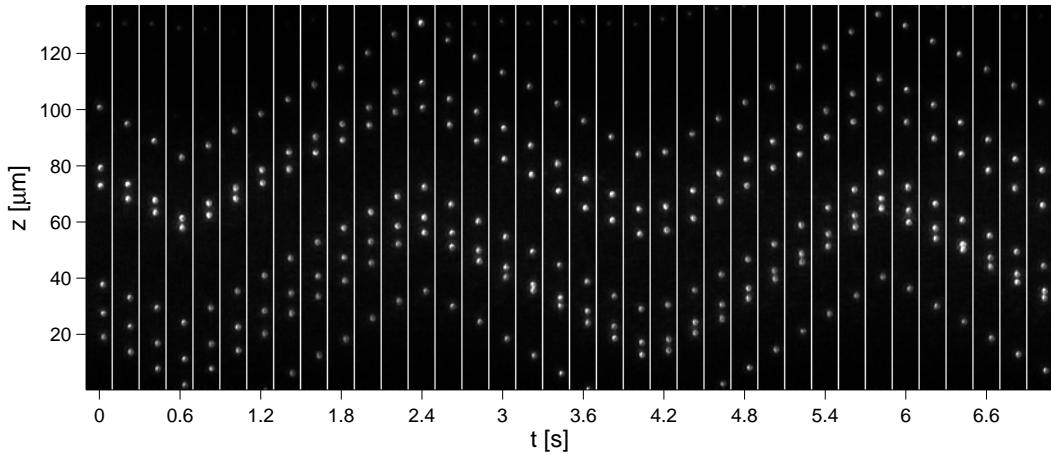
Besselovský svazek patří do skupiny tzv. nedifrakčních svazků, které v oblasti své existence během šíření nemění příčný intenzitní profil. V případě besselovského svazku je dán Besselovou funkcí prvního druhu a nultého rádu.<sup>24</sup> Další užitečnou vlastností besselovského svazku je jeho tzv. samorekonstrukce.<sup>25</sup> Je-li mu do cesty postavena překážka konečných rozměrů, v určité vzdálenosti za překážkou besselovský svazek znova vytvoří svůj původní příčný intenzitní profil. Tyto vlastnosti jsou dány tím, že ideální besselovský svazek je vytvářen interferencí roviných vln, jejichž vlnové vektory svírají s osou šíření výsledného besselovského svazku stejný úhel. Experimentálně se však k vlastnostem ideálního besselovského svazku můžeme pouze přiblížit.<sup>26</sup> S výhodou se používá kónická čočka (axikon) ozářená gaussovským svazkem. Za axikonom vzniká tzv. kvazi-besselovský svazek, který v příčném směru zachovává neměnný intenzitní profil, ale v podélném směru dochází ke změně osové intenzity. Besselovský svazek

má na ose výrazné intenzitní maximum následované slabšími maximy v radiálním směru. V závislosti na konfiguraci je možné získat šířku centrálního maxima v jednotkách mikrometrů, která se zachovává na podélné vzdálenosti až jednotek milimetrů.

Ve spolupráci se skupinou prof. K. Dholakia a prof. Z. Bouchala jsme provedli pilotní experimenty s manipulací mikroobjektů v protiběžných a souběžných interferujících besselovských svazcích.<sup>23,27,28</sup> Obrázek 5 zobrazuje schéma experimentální sestavy, která byla použita pro zachycení tisíců sub-mikrometrových objektů, jak je dokumentováno na obr. 6. Oboustranné přemístění objektů o poloměru 100 nm s využitím mechanismu optického dopravníku je uvedeno na obr. 7. Toto řešení přesného doručování mnoha částic nalezlo pozitivní ohlas v Physics News Update Americal Institute of Physics, Physics Today, v pořadu České hlavy, bylo zmíněno mezi nejvýznamnějšími vědeckými výsledky roku 2005 Akademie věd České republiky a ČT1 je uvedla i mezi nejvýznamnějšími českými vědeckými výsledky roku 2005.



Obrázek 6: Přibližně 1 mm dlouhý řetězec asi 5000 optických pastí, z nichž každá je 200 nm dlouhá a 2  $\mu\text{m}$  široká. Je v nich prostorově zachyceno asi 1000 polystyrénových kuliček o poloměru 175 nm. Obrázek vznikl složením 10 záběrů CCD kamery, velikost jednoho záběru označuje bílý obdélník. Změnou fáze jednoho svazku bylo možné všechny objekty přemísťovat doprava nebo doleva (tzv. optický dopravník).

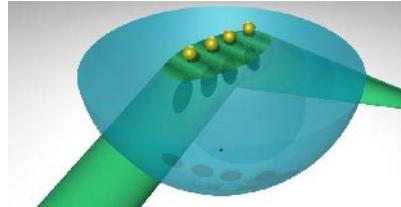


Obrázek 7: Příklad zachycení polystyrénových kuliček o poloměru 100 nm a jejich oboustranné přemístění optickým dopravníkem využívajícím protiběžných besselovských svazků. Veličina  $t$  označuje čas a  $z$  podélou polohu objektů.

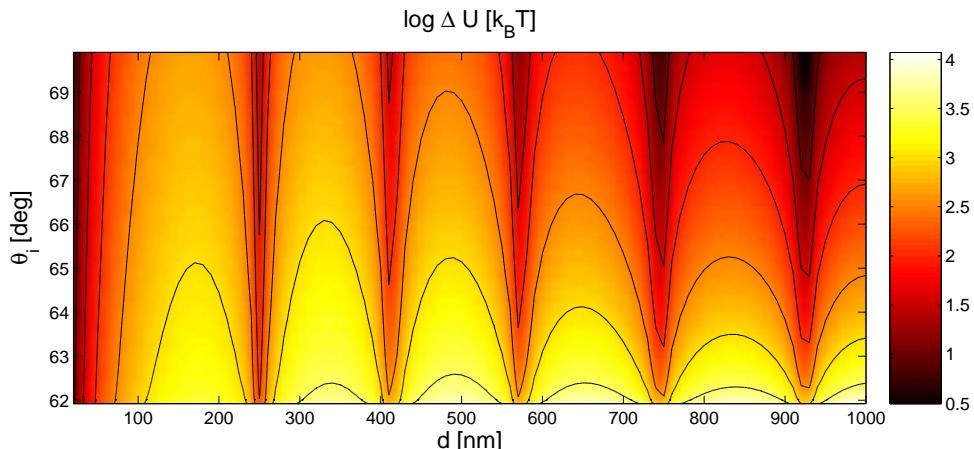
### 3.2 Zachytávání a doprava v nezářivých svazcích

Nezářivé (evanescentní) pole vzniká v prostředí o nižším indexu lomu při totálním odrazu. Toto pole existuje přibližně do vzdálenosti vlnové délky od rozhraní a jeho intenzita exponenciálně klesá s rostoucí vzdáleností od rozhraní. Z hlediska optických manipulací se

jedná o vhodný nástroj k manipulacím s mnoha objekty na povrchu, protože je zachován volný přístup k povrchu a možnost využít další analytické metody. Až v devadesátých letech byly experimentálně demonstrovány mechanické účinky nezářivého pole tak, že mikročástice umístěná na povrchu se pohybovala ve směru průmětu vlnového vektoru dopadající vlny do roviny povrchu.<sup>29</sup> Tyto silové účinky jedné evanescentní vlny jsou způsobeny rozptylovou silou a umožňují pouze pohyb částic po povrchu, ale ne jejich zachycení. K tomu je výhodné použít protiběžné evanescentní vlny, ve kterých jsou kompenzovány proti sobě působící rozptylové síly od obou svazků.<sup>30–32</sup> Interferující vlny vytvářejí evanescentní interferenční světelnou strukturu, ve které lze objekty zachytávat, přepravovat nebo i třídit<sup>32–34</sup> (viz obr. 8).



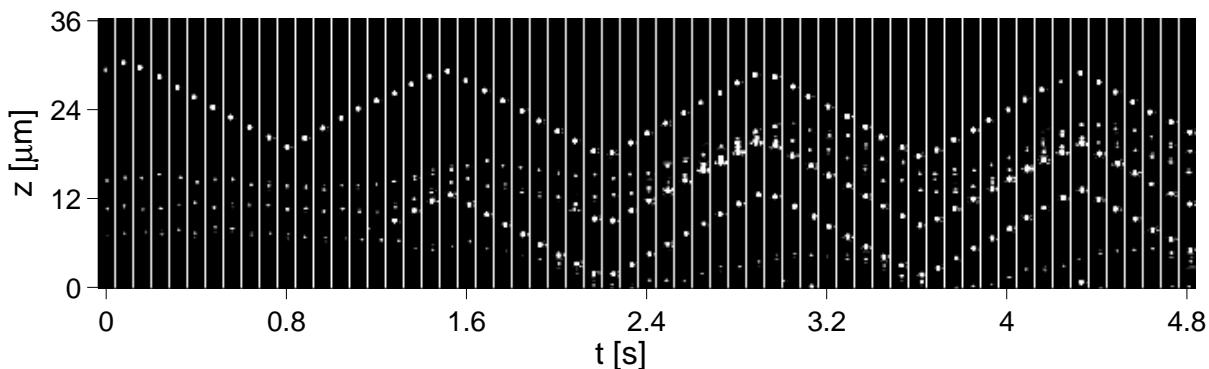
Obrázek 8: Příklad stojaté vlny vytvořené nad hranolem dvěma protiběžnými laserovými svazky dopadajícími na horní rozhraní pod úhly většími než mezními. Částice jsou na povrchu zachyceny do světelné interferenční struktury podle své velikosti v intenzitním maximu nebo minimu. Existují však i velikosti částic, které stojatá vlna silově neovlivňuje a které se teplným pohybem volně pohybují v podélném směru.



Obrázek 9: Teoretické výsledky znázorňující podélnou hloubku optické pasti vytvořené protiběžnými evanescentními vlnami v závislosti na průměru velikosti polystyrénové kuličky  $d$  a úhlu dopadu  $\theta_i$  na rozhraní.<sup>34</sup> Předpokládali jsme, že protiběžné evanescentní vlny jsou tvořeny rovinou vlnami dopadajícími na horní rozhraní hranolu pod stejnými dopadovými úhly, většími než je mezní úhel pro totální odraz. Polarizace obou vln byla stejná a kolmá k rovině dopadu (rovnoběžná s rovinou povrchu) a amplituda elektrického pole jedné dopadající vlny odpovídala maximální osové intenzitě gaussovského svazku o výkonu 1 W fokusovaného do poloměru pasu  $1 \mu\text{m}$  ( $E = 1,9 \cdot 10^7 \text{ V/m}$ ). Logaritmická stupnice je použita pro barevné kódování hloubky pasti, kontury označují hloubku pasti 33, 100, 333, 1000 a 3333  $k_B T$ , kde  $k_B$  je Boltzmannova konstanta a  $T$  absolutní teplota okolního prostředí. Tmavší odstíny označují oblasti, kde lze objekt hůře zachytit v uvažované stojaté vlně. Výrazně odlišné chování lze tedy očekávat pro objekty např. o průměrech 410 nm a 520 nm.

Zaměřili jsme se na teoretický popis silových interakcí v evanescentní stojaté vlně a kvantifikovali jsme vliv velikosti částice a dopadového úhlu na výslednou axiální hloubku optické

pasti (viz obr. 9). Tyto výsledky nám umožnily vybrat vhodné velikosti částic a elegantně experimentálně prokázat necitlivost určitých velikostí mikročástic na pohyb stojaté vlny. Obrázek 10 srovnává chování dvou velikostí polystyrénových kuliček, z nichž jedna o průměru 520 nm je zachycena do stojaté vlny a sleduje její pohyb v podélném směru, druhá o průměru 410 nm je k tomuto pohybu necitlivá a téměř nemění svou polohu. Tento efekt jsme využili k představení unikátní metody, která umožňuje trídit složky suspenze podle velikostí.<sup>34</sup>

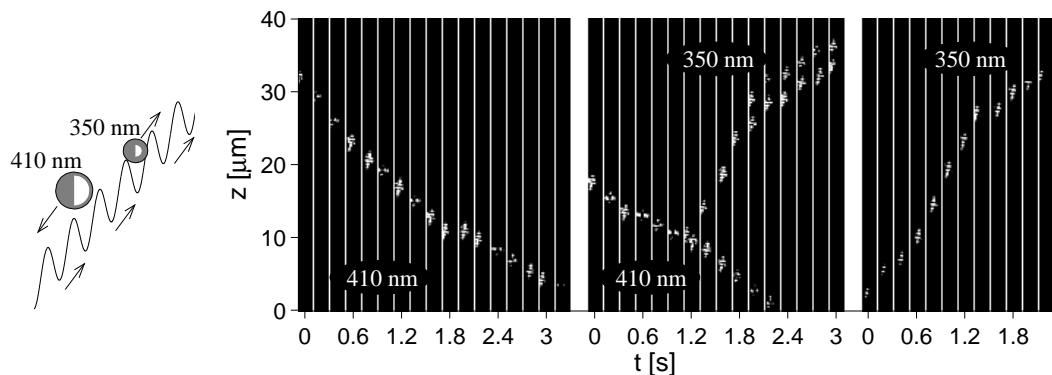


Obrázek 10: Srovnání chování dvou velikostí polystyrénových kuliček, z nichž jedna velikost o průměru 520 nm je zachycena do stojaté vlny a sleduje její pohyb v podélném směru, kuličky o průměru 410 nm jsou k tomuto pohybu necitlivé a téměř nemění svou polohu. Poloha interferenčních proužků byla řízena polohou zrcadla, které měnilo fázový posun mezi protiběžnými svazky, a tím i polohu intenzitních maxim a minim stojaté vlny spolu se zachycenými objekty (princip optického dopravníku zmíněný v předcházející části).

## 4 Optické třídění

Optické třídění představuje novou metodu, která umožnuje separovat mikročástice různých velikostí nebo materiálů rozptýlených v suspenzi pouhým osvícením světlem.<sup>35</sup> Z praktického hlediska se jedná o perspektivní metodu zejména v mikrofluidních systémech, které lze relativně snadno kombinovat s laserovým osvitem. V dnešní době již byla prezentována celá řada různých metod,<sup>35</sup> které lze obecně rozdělit na *aktivní* a *pasivní*. U historicky starších aktivních metod se využívá specifických vlastností jednotlivých objektů (např. fluorescenčního značení, tvaru apod.), které jsou vyhodnoceny a na základě výsledku je dán pokyn řídící jednotce k vychýlení objektu (laserovým svazkem). Pasivní metody jsou známé přibližně 5 let a nevyužívají řídící systém. Jsou založeny na specifickém chování objektů určitých vlastností (např. velikosti, tvaru, složení) ve světelném poli. Většinou se využívají interferenční světelné struktury (tzv. fotonické mřížky), ve kterých vlastnosti částice výrazně ovlivňují její trajektorii (viz např. závislost síly ve stojaté vlně na obr. 4). Historicky nejstarší metody většinou využívají toku kapaliny, který unáší částice do oblasti světelného svazku, kde dochází k jejich separaci.<sup>36</sup> Novější metody využívají statické suspenze a pohyb částice je vyvolán buď pohyblivou světelnou strukturou<sup>34,37,38</sup> nebo radiačním tlakem světelného záření.<sup>39,40</sup> V následující části představím dvě metody, kterými jsme přispěli k rozvoji tohoto oboru. Jedná se o třídění v evanescentním optickém dopravníku a v interferenčním poli tří gaussovských svazků.<sup>40</sup>

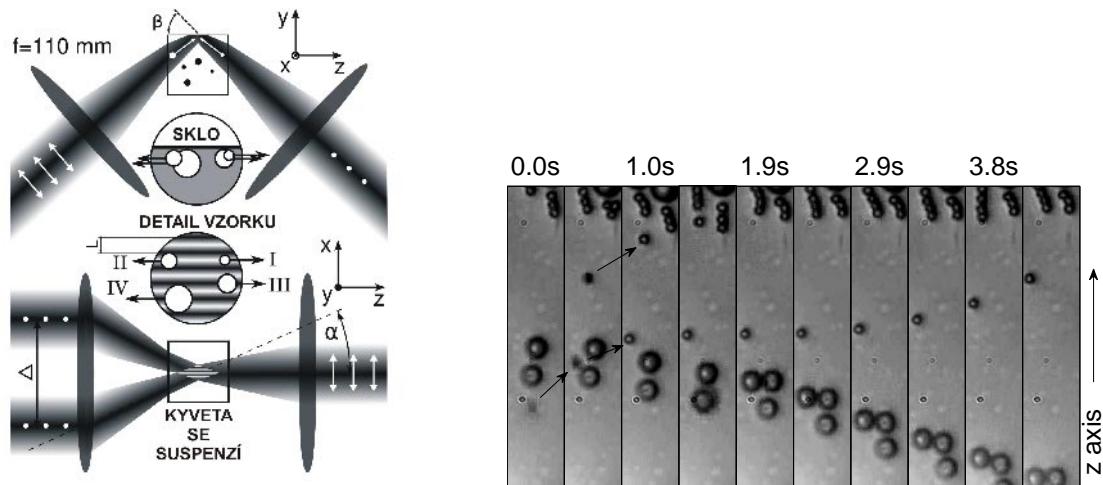
### 4.1 Optické třídění v evanescentním optickém dopravníku



Obrázek 11: Optické třídění koloidních částic podle jejich velikosti v evanescentní stojaté vlně. Větší částice necítí stojatou vlnu a jsou větším radiačním tlakem tlačeny doleva (naklonění je způsobeno větší optickou intenzitou svazku jdoucího zprava). Menší částice jsou zachyceny do stojaté vlny a principem optického dopravníku jsou pohyblivou stojatou vlnou přemísťovány doprava. Obrázek vpravo ukazuje chování a třídění polystyrénových kulových objektů o průměru 410 nm (pohyb k menším hodnotám z) a 350 nm (k větším hodnotám z).

Tato metoda je založena na rozdílné citlivosti různě velkých objektů vložených do světelné stojaté vlny a umožnuje v suspenzi od sebe oddělit dvě složky různých velikostí tak, že se pohybují opačnými směry. Objekty jedné velikosti jsou pevně zachyceny v pohyblivé interferenční struktuře a sledují její pohyb jedním směrem. Objekty druhé velikosti jsou necitlivé k pohybu interferenční struktury. Protože intenzita svazku, který je protiběžný ke směru pohybu optického dopravníku, je mírně vyšší, jsou necitlivé objekty tlačeny radiačním tlakem proti pohybu dopravníku. S využitím obr. 9 bylo dosaženo úspěšného třídění objektů řady velikostí, z nichž velikosti necitlivé k pohybu optického dopravníku byly 410 nm a 750 nm. Dospod nejmenší dosažený rozdíl ve velikostech roztrídených objektů byl 60 nm.<sup>34</sup> Tento výsledek byl rovněž popularizován formou příspěvku do pořadu České hlavy v roce 2006.

## 4.2 Optické třídění využívající tří gaussovských svazků



Obrázek 12: *Vlevo.* Experimentální uspořádání pro optické třídění třemi laserovými svazky. Lineárně polarizované svazky z laseru (Coherent Verdi V5,  $\lambda_0 = 532$  nm) byly fokusovány do kyvety (23/G/5, Starna Cells). Bílé šipky a tečky označují polarizaci každého ze svazků, která byla nastavena polarizačními děliči svazků a půlvlnovou fázovou destičkou. Všechny tři svazky se překrývaly na horní ploše kyvety a vytvářely oblast o rozměrech  $40 \times 60 \mu\text{m}^2$ , ve které docházelo ke třídění. Vzdálenost mezi interferenčními proužky  $L$  byla justována vzdáleností  $\Delta$  mezi dvěma svazky přicházejícími zleva. Číslice I–IV v detailu označují různé možnosti chování objektů, ze kterých lze určit vhodnost konfigurace pro jejich třídění.<sup>40</sup> *Vpravo.* Ukázka třídění polystyrénových kuliček typu I a II o průměrech  $2 \mu\text{m}$  (Duke Scientific 4K-02:  $1,998 \pm 0,022 \mu\text{m}$ ) a  $5,2 \mu\text{m}$  (Duke Scientific 240:  $5,2 \pm 0,5 \mu\text{m}$ ) umístěných v interferenčních proužcích vzdálených od sebe  $5 \mu\text{m}$ . Pro názornost je rychlý pohyb dvou menších částic ze spodní části kyvety označen šipkami.

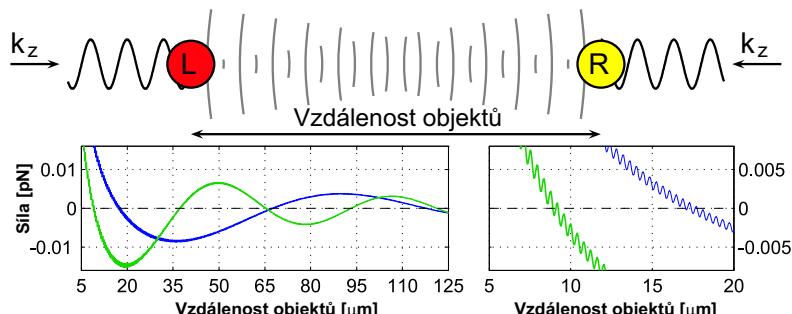
Další naše metoda, která také nevyužívá toku kapaliny, je založena na interferenci dvou souběžných gaussovských svazků, které se protínají v malém úhlu. Jejich interferencí se vytvoří proužky orientované podél osy šíření obou svazků. Částice různých velikostí se uspořádávají svým středem buď do intenzitního maxima nebo minima. Společný radiační tlak záření od obou svazků je však bude tlačit ve směru šíření svazků podél interferenčních proužků. Byl proto použit třetí svazek, který je protiběžný vůči pohybu objektů v interferenční struktuře. Jeho intenzita byla vhodně zvolena tak, aby pro objekty jedné velikosti či složení převládl pohyb jedním směrem podél interferenčních proužků a pro objekty jiné velikosti převládl pohyb opačný. Tato flexibilita spojená s možnou změnou úhlu souběžných svazků umožňuje třídit širokou škálu různě velkých objektů mikrometrových velikostí. Bylo použito prostorové uspořádání svazků, ve kterém svazky míří kyvetou vzhůru a protínají se na horní ploše skleněné kyvety. V této oblasti pak také dochází k roztrídění objektů, které jsou radiačním tlakem každého ze svazků vyzdvíženy z nižších částí kyvety<sup>40</sup> (viz obr. 12). Separované složky je pak možné odsát návazným fluidním systémem. Touto metodou byly úspěšně separovány polystyrénové kuličky o velikostech 2, 5 a 7  $\mu\text{m}$  a také živé kvasinky a jejich spory.<sup>40</sup>

## 5 Světlem samouspořádané struktury

Interakce mezi částicemi, která je založena na mechanických účincích světla rozptýleného částicí a působícího na jinou částici, je základem optického samouspořádávání nebo též optického vázání. Z podstaty této interakce plyne, že se stává významnou pouze v přítomnosti více častic. Pak dochází kromě silového působení dopadajícího svazku přímo na částice také k interakci mezi částicemi prostřednictvím rozptýleného záření. Tato interakce se stává dominantní a bude ovlivňovat vzájemné polohy častic, pokud dopadající svazek není fokusovaný a nevytváří prostorové gradienty intenzity elektrického pole. Poslední experimenty však naznačují, že i v případě interferenčních světelných polí s mnoha zachycenými objekty dochází k výrazné modifikaci prostorového rozložení pole v důsledku rozptýleného záření objekty a rovněž k prostorovému přerozdělení objektů. Vzniká tzv. optický vázaná hmota, ve které vzájemné polohy sousedních objektů jsou silně korelovány. Protože optické síly, které zprostředkovávají interakci mezi objekty, nejsou centrální a obecně nejsou ani konzervativní, přitahují takto uspořádané struktury pozornost badatelů. Dalším důvodem je rovněž skutečnost, že k jejich zkoumání není třeba nákladného přístrojového vybavení, postačuje laser, optický mikroskop, CCD kamera a počítač.

První zmínka o této světelné vazbě mezi objekty pochází z konce 90. let.<sup>41,42</sup> Autoři pozorovali chování mnoha objektů na podložním skle umístěných v interferenčním proužku a zjistili, že ve stabilním uspořádání jsou objekty od sebe vzdáleny v dobře definovaných polohách. Tento výsledek byl téměř 12 let dále nerozvíjen a v roce 2002 nezávisle dvě skupiny pozorovaly podobné chování objektů ozářených protiběžnými neinterferujícími gaussovskými svazky.<sup>43,44</sup> Atraktivnost této tématiky dokumentuje nárůst publikací v nejprestižnějších fyzikálních časopisech v posledních letech, ve kterých autoři popisují nové konfigurace, ve kterých dochází již nejen k jednodimenzionálnímu, ale i dvoudimenzionálnímu uspořádávání,<sup>45–48</sup> a prezentují detailnější teoretické popisy problematiky.<sup>49–52</sup>

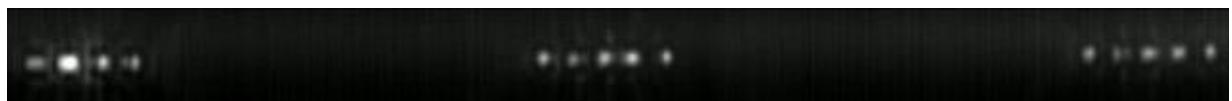
### 5.1 Jednorozměrný řetězec opticky vázaných častic v besselovských svazcích



Obrázek 13: Příklad optického vázání dvou kuliček v protiběžných nekoherentních besselovských svazcích. Křivky ukazují sílu působící na pravou částici v závislosti na vzdálenosti mezi objekty. Světlejší zelená křivka odpovídá poloměru intenzitního jádra besselovského svazku  $1,787 \mu\text{m}$  a modrá  $2,380 \mu\text{m}$ . Dále byly použity následující parametry: index lomu kuličky  $n_2 = 1,5755 + 0,0006i$  a okolního prostředí  $n_1 = 1,320$ ;  $\lambda_0 = 1070 \text{ nm}$ ; osová intenzita jednoho svazku byla  $1,93 \text{ mW}/\mu\text{m}^2$  a odpovídala experimentálně používaným hodnotám.

Nekoherentní protiběžné besselovské svazky byly zvoleny s ohledem na naše předcházející

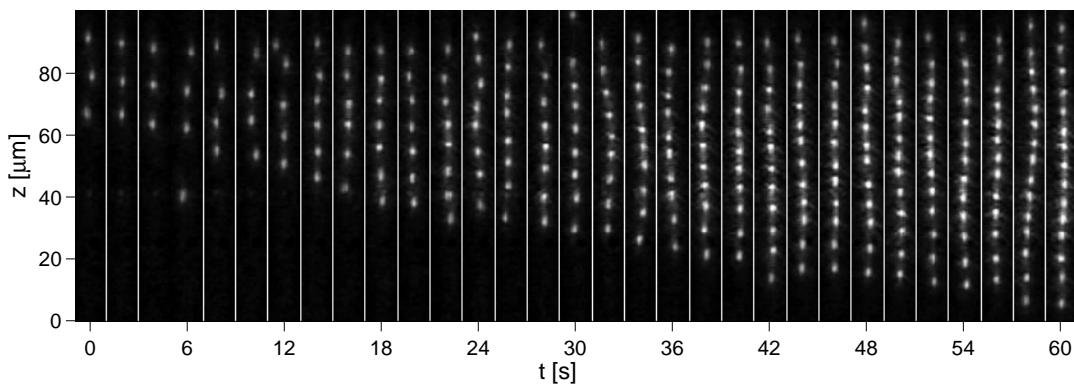
experimentální zkušenosti s nimi. Dále jsme předpokládali, že jejich velmi slabé podélné gradienty optické intenzity zajistí, že interakce mezi částicemi nebude překryta silovým působením dopadajícího svazku. Cílem bylo dosáhnout řetězce samouspořádáných částic, který by byl několik stovek mikrometrů dlouhý. Využili jsme vlastního modelu výpočtu sil mezi částicemi, který je založen na vázaných dipolech.<sup>50</sup> Zpočátku byla pozornost věnována dvěma částicím a výsledek je dokumentován na obr. 13. Místa s nulovou silou a zápornou směrnicí odpovídají rovnovážné poloze částic. Levá část obrázku ukazuje, že existuje několik rovnovážných poloh vzdálených od sebe desítky mikrometrů (tzv. vlny). Pravá část dokumentuje, že každá z výše uvedených poloh může obsahovat více rovnovážných konfigurací částic, které jsou od sebe vzdáleny přibližně o polovinu vlnové délky použitého světla (tzv. vlnky). Provedli jsme řadu experimentů, které poprvé prokázaly existenci vlnek a rovněž potvrdily, že rovnovážné polohy mezního počtu částic (do pěti) se velmi dobře shodují s teoreticky předpovězenými polohami.<sup>60</sup> Teoretickou analýzu většího počtu částic zatím limitují stávající výpočetní kapacity. Experimentálně bylo pozorováno i uspořádávání většího počtu částic, které tvořily shluky s dobře definovanými vzdálenostmi mezi shluky i uvnitř shluků (viz obr. 14). Vzdálenost mezi shluky přibližně odpovídá délce vln u dvoučásticového modelu.



Obrázek 14: Příklad experimentálního uspořádání více polystyrénových kuliček o průměru 802 nm do světlem vázaného řetězce.

## 5.2 Opticky vázané částice na povrchu

Ukazuje se, že je možné světlem uspořádávat částice v širším intervalu parametrů v blízkosti povrchu než v prostoru. Ke studiu optického vázání v blízkosti povrchu byly použity protiběžné evanescentní vlny vytvořené z gaussovských svazků, které měly na sebe kolmé polarizace. Následující obrázek 15 dokumentuje chování polystyrénových kuliček o průměru 520 nm. Je patrné, že částice zachovávají vzdálenosti mezi sebou a tato vzdálenost se zmenšuje s rostoucím počtem částic ve struktuře. Příčný pohyb je způsoben Brownovým pohybem částic a přenáší se celou strukturu.



Obrázek 15: Příklad samouspořádávání polystyrénových částic o průměru 520 nm v protiběžných neinterferujících svazcích.

## 6 Závěr

Optické mikromanipulační techniky otevřely v posledních dvaceti letech celou řadu možností nejen ve fyzice, ale i v biologii, chemii a technických vědách. Umožnily bezkontaktní manipulace s mikroobjekty, nanoobjekty, živými buňkami či uvnitř nich, měřily silové interakce mezi jednotlivými složkami molekulárních motorů či mezi koloidy. V posledních letech nabízí také třídění různě velkých mikroobjektů pouhým osvícením světlem či jejich samouspořádávání do jedno a dvou dimenzionálních struktur. Autor předložené práce již 13 let stojí v čele skupiny optických mikromanipulačních technik a tvůrcím způsobem se podílel na příspěvcích skupiny ke světovému rozvoji tohoto oboru, z nichž ty nejdůležitější jsou:

- chlazení a zachytávání atomů ve stojatých vlnách,<sup>53, 54</sup>
- optické zachytávání mikroobjektů a nanoobjektů ve statických zářivých i nezářivých interferenčních polích,<sup>14, 18, 19, 21, 22, 33, 55–58</sup>
- optický dopravník v zářivých i nezářivých polích,<sup>23, 28, 32</sup>
- využití interferujících protiběžných a souběžných nedifrakčních svazků k optickému zachytávání a dopravování mikroobjektů a nanoobjektů až na milimetrové vzdálenosti,<sup>23, 27, 28</sup>
- optické třídění ve statických a v pohyblivých světelných interferenčních polích,<sup>34, 35, 40</sup>
- opticky vázaná hmota v nedifrakčních svazcích,<sup>50, 59, 60</sup>
- využití nedifrakčních svazků k fotopolymeraci plných i dutých vláken o mikrometrových poloměrech a centimetrových délkách,<sup>61</sup>
- nová metoda detekce polohy mikroobjektů v interferenčních polích.<sup>62</sup>

Zmíněná problematika je v celosvětovém měřítku aktuální a rovněž i atraktivní, a proto zřejmě přitahuje zájem studentů. Osvědčuje se spolupráce vysokých škol a ÚPT, která nabízí studentům možnost zapojit se do aktuálních vědeckých problémů a projektů, prohloubit si teoretické znalosti a hlavně praktické dovednosti, získávat cenné poznatky a zkušenosti i v rámci mezinárodní spolupráce. Většina bývalých studentů, zapojených do problematiky optických mikromanipulací, našla uplatnění v tuzemských či zahraničních výzkumných institucích a vysokých školách.

## Poděkování

Chtěl bych touto cestou poděkovat všem spolupracovníkům, kteří se svou pilí, invencí a aktivním přístupem podíleli na výsledcích skupiny optických mikromanipulačních technik a bez kterých by výsledky popsané v této práci nevznikly. Rovněž bych chtěl vyjádřit svůj vděk manželce Jarce za pochopení a podporu v mé práci. Prezentované výsledky byly finančně podporovány projekty 6RP NEST ADVENTURE (ATOM3D č. 508952), GAAV (IAA1065203), MŠMT (Centra Moderní optiky-LC06007) a výzkumným záměrem AV ČR (AV0Z20650511).

## 7 Abstract

Optical micromanipulation techniques enabled, within the last twenty years, series of new applications in physics, biology, chemistry, and technical sciences. They provided non-contact manipulations with microobjects, nanoobjects, living cells, or sub-cellular structures. They also measured force interactions between components of molecular motors or colloids. Recently, they also offered sorting of microobjects according to their sizes just by illumination by light or their self-organization into one- or two-dimensional structures. The author of this work has been leading the group of optical micromanipulation techniques for 13 years and in a creative way participated in the group contributions to the world-wide development of this field. The most important results follow:

- cooling and trapping of atoms in standing waves,<sup>53, 54</sup>
- optical trapping of microobjects and nanoobjects in static radiative and evanescent interference fields,<sup>14, 18, 19, 21, 22, 33, 55–58</sup>
- optical conveyor belt in radiative and evanescent fields,<sup>23, 28, 32</sup>
- employment of interfering counter-propagating or co-propagating non-diffracting beams for optical trapping and delivery of microobjects and nanoobjects over distances up to millimeters,<sup>23, 27, 28</sup>
- optical sorting in static and traveling interference light fields,<sup>34, 35, 40</sup>
- optically bound matter in non-diffractive beams,<sup>50, 59, 60</sup>
- utilization of non-diffracting beams to photo-polymerization of full and hollow polymer fibers of micrometer radii and centimeters lengths,<sup>61</sup>
- new methods of detection of position of microobject in the interference fields.<sup>62</sup>

The mentioned topics are attractive and in the forefront of international scientific interest in this area, and probably that is why, they attract students' interest. We found the co-operation between universities and our institute extremely fruitful because it offers students a chance to participate in the actual scientific topics and projects, to deepen their theoretical knowledge and their practical skills and to get experiences from the international co-operations. Majority of former students, who participated in the field of optical micromanipulations, has found a job at domestic or foreign research institutions or universities.

# Reference

- [1] ASHKIN, A. AND DZIEDZIC, J. M. Radiation pressure on a free liquid surface. *Phys. Rev. Lett.* **30**, 1973, s. 139–142.
- [2] GUCK, J. *et al.* Optical deformability of soft biological dielectrics. *Phys. Rev. Lett.* **84**, 2000, s. 5451–5154.
- [3] LANG, M. J. AND BLOCK, S. M. Resource letter: Lbot-1: Laser-based optical tweezers. *Am. J. Phys.* **71**, 2003, s. 201–215.
- [4] MEHTA, A. D. *et al.* Single-molecule biomechanics with optical methods. *Science* **283**, 1999, s. 1689–1695.
- [5] BUSTAMANTE, C., BRYANT, Z., AND SMITH, S. B. Ten years of tension: single-molecule dna mechanics. *Nature* **421**, 2003, s. 423–427.
- [6] LANDAU, L. D. AND LIFSHITZ, E. M. *Electrodynamics of Continuous Media*. Pergamon Press, New York, 1960.
- [7] ROBINSON, F. N. H. Electromagnetic stress and momentum in matter. *Physics Reports* **16**, 1975, s. 313–354.
- [8] JONÁŠ, A. *Use of standing electromagnetic wave for manipulation of micron and submicron-sized objects*. PhD thesis, Brno univeristy of technology, 2001.
- [9] NOVOTNY, L. AND HECHT, B. *Principles of nano-Optics*. Cambridge University Press, Cambridge, 2006.
- [10] ASHKIN, A. Forces of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regime. *Biophys. J.* **61**, 1992, s. 569–582.
- [11] DE GROOT, S. R. AND SUTTORP, L. G. *Foundations of Electrodynamics*. North Holland, Amsterdam, 1971.
- [12] CHAUMET, P. AND NIETO-VESPERINAS, M. Time-averaged total force on a dipolar sphere in an electromagnetic field. *Opt. Lett.* **25**, 2000, s. 1065–1067.
- [13] DRAINE, B. The discrete-dipole approximation and its application to interstellar graphite grains. *Astrophys J.* **333**, 1988, s. 848–872.
- [14] ZEMÁNEK, P., KARÁSEK, V., AND SASSO, A. Optical forces acting on Rayleigh particle placed into interference field. *Opt. Commun.* **240**, 2004, s. 401–415.
- [15] ASHKIN, A. AND GORDON, J. P. Stability of radiation-pressure particle trap: an optical Earnshaw theorem. *Opt. Lett.* **10**, 1983, s. 511–513.
- [16] HARADA, Y. AND ASAOKURA, T. Radiation forces ona dielectric sphere in the Rayleigh scattering regime. *Opt. Commun.* **124**, 1996, s. 529–541.
- [17] ASHKIN, A. *et al.* Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles. *Opt. Lett.* **11**, 1986, s. 288–290.
- [18] ZEMÁNEK, P. *et al.* Optical trapping of nanoparticles and microparticles using Gaussian standing wave. *Opt. Lett.* **24**, 1999, s. 1448–1450.
- [19] ZEMÁNEK, P., JONÁŠ, A., AND LIŠKA, M. Simplified description of optical forces acting on a nanoparticle in the gaussian standing wave. *J. Opt. Soc. Am. A* **19**, 2002, s. 1025–1034.
- [20] BARTON, J. P., ALEXANDER, D. R., AND SCHaub, S. A. Theoretical determination of net radiation force and torque for a spherical particle illuminated by a focused laser beam. *J. Appl. Phys.* **66**, 1989, s. 4594–4602.
- [21] JONÁŠ, A., ZEMÁNEK, P., AND FLORIN, E. L. Single beam trapping in front of reflective surfaces. *Opt. Lett.* **26**, 2001, s. 1466–1468.
- [22] JÁKL, P. *et al.* Behaviour of an optically trapped probe approaching a dielectric interface. *J Mod. Optics* **50**, 2003, s. 1615–1625.

- [23] ČIŽMÁR, T. *et al.* Optical conveyor belt for delivery of submicron objects. *Appl. Phys. Lett.* **86**, 2005, s. 174101:1–3.
- [24] DURNIN, J., MICELI, J. J., AND EBERLY, J. Diffraction-free beams. *Phys. Rev. Lett.* **58**, 1987, s. 1499–1501.
- [25] BOUCHAL, Z., WAGNER, J., AND CHLUP, M. Self-reconstruction of a distorted non-diffracting beam. *Opt. Commun.* **151**, 1998, s. 207–211.
- [26] LAPOINTE, M. R. Review of non-diffracting bessel beam experiments. *Opt. Laser Technol.* **24**, 1992, s. 315–321.
- [27] ČIŽMÁR, T. *et al.* Sub-micron particle organization by self-imaging of non-diffracting beams. *New. J. Phys.* **8**, 2006, s. 43.
- [28] ČIŽMÁR, T., ŠILER, M., AND ZEMÁNEK, P. An optical nanotrap array movable over a milimetre range. *Appl. Phys. B* **84**, 2006, s. 197–203.
- [29] KAWATA, S. AND SUGIURA, T. Movement of micrometer-sized particles in the evanescent field of a laser beam. *Opt. Lett.* **17**, 1992, s. 772–774.
- [30] GU, M. *et al.* Laser trapping and manipulation under focused evanescent wave illumination. *Appl. Phys. Lett.* **84**, 2004, s. 4236–4238.
- [31] GARCÉS-CHÁVEZ, V., DHOLAKIA, K., AND SPALDING, G. C. Extended-area optically induced organization of microparticles on a surface. *Appl. Phys. Lett.* **86**, 2005, s. 031106:1–3.
- [32] ŠILER, M. *et al.* Optical forces generated by evanescent standing waves and their usage for sub-micron particle delivery. *Appl. Phys. B* **84**, 2006, s. 157–165.
- [33] ŠILER, M. AND ZEMÁNEK, P. Optical forces acting on a nanoparticles placed into an interference evanescent field. *Opt. Commun.* **275**, 2007, s. 409–420.
- [34] ČIŽMÁR, T. *et al.* Optical sorting and detection of sub-micron objects in a motional standing wave. *Phys. Rev. B* **74**, 2006, s. 035105.
- [35] DHOLAKIA, K. *et al.* Cellular and colloidal separation using optical forces. *Methods in Cell Biology* **82**, 2007, s. 467–495.
- [36] MACDONALD, M. P., SPALDING, G. C., AND DHOLAKIA, K. Microfluidic sorting in an optical lattice. *Nature* **426**, 2003, s. 421–424.
- [37] RICÁRDEZ-VARGAS, I. *et al.* Modulated optical sieve for sorting of polydisperse microparticles. *Appl. Phys. Lett.* **88**, 2006, s. 121116.
- [38] SMITH, R. L. *et al.* Colloidal sorting in dynamic optical lattices. *J. Opt. A* **9**, 2007, s. S134–S138.
- [39] PATERSON, L. *et al.* Light-induced cell separation in a tailored optical landscape. *Appl. Phys. Lett.* **87**, 2005, s. 123901.
- [40] JÁKL, P. *et al.* Static optical sorting in a laser interference field. *Appl. Phys. Lett.* **92**, 2008, s. in print.
- [41] BURNS, M. M., FOURNIER, J.-M., AND GOLOVCHENKO, J. A. Optical binding. *Phys. Rev. Lett.* **63**, 1989, s. 1233–1236.
- [42] BURNS, M. M., FOURNIER, J.-M., AND GOLOVCHENKO, J. A. Optical matter: Crystallization and binding in intense optical fields. *Science* **249**, 1990, s. 749.
- [43] TATARKOVA, S. A., CARRUTHERS, A. E., AND DHOLAKIA, K. One-dimensional optically bound arrays of microscopic particles. *Phys. Rev. Lett.* **89**, 2002, s. 283901.
- [44] SINGER, W. *et al.* Self-organized array of regularly spaced microbeads in a fiber-optical trap. *J. Opt. Soc. Am. B* **20**, 2003, s. 1568–1574.
- [45] MELLOR, C. D. AND BAIN, C. D. Array formation in evanescent waves. *Chem. Phys. Chem.* **7**, 2006, s. 329–332.

- [46] METZGER, N. K., DHOLAKIA, K., AND WRIGHT, E. M. Observation of bistability and hysteresis in optical binding of two dielectric spheres. *Phys. Rev. Lett.* **96**, 2006, s. 068102.
- [47] METZGER, N. K. *et al.* Measurement of the restoring forces acting on two optically bound particles from normal mode correlations. *Phys. Rev. Lett.* **98**, 2007, s. 068102.
- [48] REECE, P. J., WRIGHT, E. M., AND DHOLAKIA, K. Experimental observation of modulation instability and optical spatial soliton arrays in soft condensed matter. *Phys. Rev. Lett.* **98**, 2007, s. 203902.
- [49] NG, J. *et al.* Photonic clusters formed by dielectric microspheres: Numerical simulations. *Phys. Rev. B* **72**, 2005, s. 085130.
- [50] KARÁSEK, V., DHOLAKIA, K., AND ZEMÁNEK, P. Analysis of optical binding in one dimension. *Appl. Phys. B* **84**, 2006, s. 149–156.
- [51] GRZEGORCZYK, T. M., KEMP, B. A., AND KONG, J. A. Stable optical trapping based on optical binding forces. *Phys. Rev. Lett.* **96**, 2006, s. 113903.
- [52] CONTI, C., RUOCCHI, G., AND TRILLO, S. Optical spatial solitons in soft matter. *Phys. Rev. Lett.* **95**, 2005, s. 183902.
- [53] ZEMÁNEK, P. AND FOOT, C. J. Atomic dipole trap formed by a blue detuned strong gaussian standing wave. *Opt. Commun.* **146**, 1998, s. 119–123.
- [54] ZEMÁNEK, P. *Polarization stability of modes in internal mirror lasers and laser cooling of atoms in strong standing Gaussian wave*. PhD thesis, Masaryk University in Brno, 1994.
- [55] ZEMÁNEK, P. *et al.* Optical trapping of Rayleigh particles using a Gaussian standing wave. *Opt. Commun.* **151**, 1998, s. 273–285.
- [56] CASABURI, A. *et al.* Two-and three-beam interferometric optical tweezers. *Opt. Commun.* **251**, 2005, s. 393–404.
- [57] JÁKL, P. *et al.* Axial optical trap stiffness influenced by retro-reflected beam. *J. Opt. A* **9**, 2007, s. S251–S255.
- [58] MILNE, G. *et al.* Transverse particle dynamics in a bessel beam. *Opt. Express* **15**, 2007, s. 13972–13987.
- [59] KARÁSEK, V. AND ZEMÁNEK, P. Analytical description of longitudinal optical binding of two spherical nanoparticles. *J. Opt. A* **9**, 2007, s. S215–S220.
- [60] KARÁSEK, V. *et al.* Long-range one-dimensional longitudinal optical binding. submitted to *Phys. Rev. Lett.*
- [61] JEŽEK, J. *et al.* Formation of long and thin polymer fiber using nondiffracting beam. *Opt. Express* **14**, 2006, s. 8506–8515.
- [62] ČIŽMÁR, T. AND ZEMÁNEK, P. Optical tracking of spherical micro-objects in spatially periodic interference fields. *Opt. Express* **15**, 2007, s. 2262–2272.