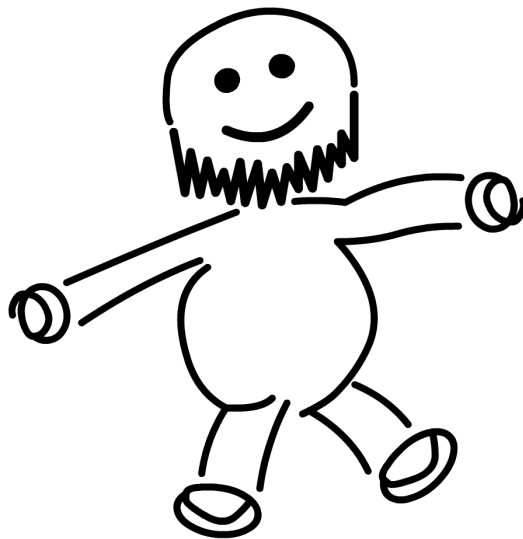


Physikalisches Praktikum für Fortgeschrittene

Versuch Laser Tweezer

Kraftmessung in mikroskopischen Dimensionen: Die optische Pinzette

Wintersemester 2006 / 2007



Name:	Daniel Scholz
Mitarbeiter:	Hauke Rohmeyer
E-Mail:	physik@mehr-davon.de
Gruppe:	FK 56
Assistent:	<i>keine Angabe</i>
Durchgeführt am:	12. Dezember 2006
Protokoll abgeben:	16. Januar 2007

Vorbereitung: ___ Versuch: ___ Protokoll: ___

Testiert: _____ Note: _____

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	3
2	Theorie	3
2.1	Optische Kräfte	3
2.2	Das Mie Regime	4
2.3	Das Rayleigh Regime	6
2.4	Kolloide	8
2.5	Brownsche Molekularbewegung	8
2.6	Diffusion	9
3	Aufgaben	12
3.1	Aufgabe 1	12
3.2	Aufgabe 2	12
3.3	Aufgabe 3	13
4	Versuchsdurchführung	14
4.1	Versuchsaufbau	14
4.2	Versuchsdurchführung	14
5	Auswertung	16
5.1	Laserleistung	16
5.2	Eichmessung	17
5.3	Anwendungen der Optischen Pinzette	19
6	Diskussion	20
7	Anhang	22

1 Einleitung

Das Festhalten von Teilchen ohne physischen Kontakt ermöglicht neue Einsatzgebiete innerhalb der Biophysik: Kraftmessungen an lebenden Zellen, Makromolekülen, etc. werden durch dieses Verfahren ermöglicht, ohne die Präparate zu verletzen.

Die Grundlage dieses Versuchs bildet das berührungslose Festhalten von Teilchen durch Ausnutzung der optischen Kräfte eines Lasers. Hierzu wird durch geeignete Strahlteilung eine in drei Dimensionen bewegliche Falle hergestellt, mit der man die Atome bzw. Moleküle fixiert. Auf Grund dieses Sachverhaltes wird die Apparatur auch als *optische Pinzette* oder als *Laser Tweezer* bezeichnet.

Ein besonderes Einsatzgebiet des Laser Tweezers findet man in der Biophysik: Hier ist eine Kraftmessungen an lebenden Zellen oder Makromolekülen möglich, ohne diese berühren und damit ggf. verletzen zu müssen.

2 Theorie

2.1 Optische Kräfte

Ordnen wir (wie in der Quantenmechanik) Licht einen Impuls \vec{p} zu, so entstehen *optische Kräfte* durch eine Impulsänderung

$$\Delta\vec{p} = \hbar \cdot \Delta\vec{k} = \hbar(\vec{k}' - \vec{k}).$$

Dabei sind \vec{k} bzw. \vec{k}' die Wellenvektoren, wenn an einem Teilchen gebrochen oder reflektiert wird. Dadurch entsteht die Kraft

$$\vec{F} = \frac{\Delta\vec{p}}{\Delta t}.$$

Wir wollen nun ein Teilchen mit Licht der Wellenlänge λ bestrahlen. Weiter bezeichnen wir mit d den Teilchendurchmesser. Dann unterscheiden wir zwischen drei Fällen:

- (1) **Das Mie Regime** ($d \gg \lambda$): In diesem Fall, bei dem der Teilchendurchmesser d sehr viel größer als die Wellenlänge λ ist, kann die geometrischen Strahlenoptik für die Beschreibung der auftretenden Kräfte eingesetzt werden.
- (2) **Das Rayleigh Regime** ($d \ll \lambda$): Da der Teilchendurchmesser d sehr viel kleiner als die Wellenlänge λ ist, nähert man das Teilchen durch einen Punktdipol und nutzt die elektromagnetische Theorie des Lichts.
- (3) **Das Übergangsregime** ($d \approx \lambda$): Der Teilchendurchmesser d und die Wellenlänge λ sind ungefähr gleich groß. Die zu Grunde liegende Theorie ist jedoch sehr schwer.

Obwohl wir im Versuch einen Laser mit einer Wellenlänge von $\lambda = 671 \text{ nm}$ und Teilchen mit Durchmessern zwischen 200 und 4.000 nm verwenden und wir uns damit im Bereich des Übergangsregimes befinden, wollen wir hier nur auf das Mie und das Rayleigh Regime eingehen. Der Grund liegt einfach in der zu hohen Komplexität des Übergangsregimes.

2.2 Das Mie Regime

Wie oben aufgeführt, kann man zur Beschreibung der Funktionsweise der Optischen Pinzette die Kenntnisse der geometrischen Optik nutzen, wenn $d \gg \lambda$ gilt. Hierzu betrachten wir das einfallende Licht als viele einzelne Lichtstrahlen, die sich geradlinig in einem homogenen Medium ausbreiten. Des Weiteren werden die zu untersuchenden Teilchen als perfekte Kugeln angenommen. Beugungserscheinungen treten nicht auf, da wir beim Mie Regime die geometrische Strahlenoptik verwenden. Unter diesen Annahmen kann man die optischen Kräfte durch Brechung von Lichtstrahlen an unterschiedlichen Medien verschiedener Brechungsindizes verstehen.

Dazu ordnen wir den zu untersuchenden Teilchen einen Brechungsindex n_2 und dem umgebenden Medium einen Brechungsindex n_1 zu. Nun betrachten wir den Übergang eines Lichtstrahls vom Medium in ein Teilchen bzw. umgekehrt. Auf Grund der auftretenden Reflexion und Brechung erfährt der Lichtstrahl eine Impulsänderung, welche eine Kraft \vec{F} auf das Teilchen ausübt. Diese Kraft lässt sich in die **Streu-** und **Gradientenkraft** aufteilen:

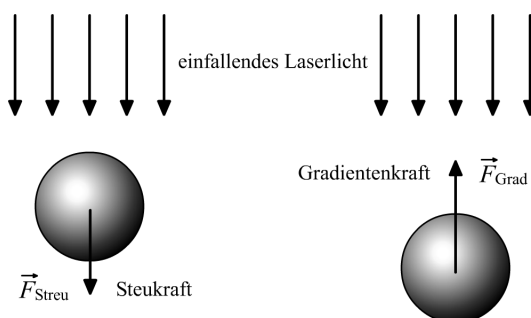


Abbildung 1: Zur Verdeutlichung von Streu- und Gradientenkraft.

- (1) **Streukraft:** Die Streukraft ist der Anteil der resultierenden Kraft in Einfallsrichtung des Lichtstrahls. Das Teilchen wird durch Reflexion des Lichts an Strahlein- und Strahlaustrittsfläche in Strahlrichtung beschleunigt. Diese Kraft sollte möglichst minimiert werden.
- (2) **Gradientenkraft:** Die Gradientenkraft wirkt entlang des Intensitätsgradienten in Richtung des Intensitätsmaximums, also in die Richtung,

aus der der Lichtstrahl eintrifft. Dieser Kraftanteil bewirkt gerade das Fangen eines Teilchens und sollte daher möglichst maximiert werden.

Für den Fall, dass mehrere Lichtstrahlen auftreten, sind die jeweiligen Kräfte als Vektorsumme definiert.

Wir wollen nun die Kräfte berechnen, die ein einfallender Laserstrahl der Leistung P auf ein kugelförmiges Teilchen unter dem Einfallswinkel θ ausübt.

Dazu lässt sich der Impuls p pro Zeit durch

$$p = \frac{n_1 P}{c}$$

beschreiben, wobei c die Lichtgeschwindigkeit im Vakuum sei. Den Anteil reflektierter und transmittierter Leistung lässt sich durch die Fresnelschen Reflektions- und Transmissionskoeffizienten R und T beschreiben¹:

$$R = \frac{I_r \cos \theta_r}{I_e \cos \theta_e} = \left(\frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right)^2,$$

$$T = \frac{I_t \cos \theta_t}{I_e \cos \theta_e} = \left(\frac{2n_1}{n_1 + n_2} \right)^2.$$

Dabei gilt $\theta_e = \theta_r$ und $n_1 \sin \theta_e = n_2 \sin \theta_t$ und der Index e ist auf die einfallenden Lichtstrahlen bezogen sowie analog r auf die reflektierten und t auf die transmittierten Strahlen. Allerdings sind diese Formel polarisationsabhängig und gelten nur für Licht, das senkrecht zur Einfallsebene polarisiert ist. Im Versuch werden wir dies dadurch realisieren, indem wir ein $\lambda/2$ -Plättchen verwenden.

Da Brechung und Transmission mehrmals auftreten können, müssen wir alle Reflexions- und Transmissionsmöglichkeiten beim Übergang eines Lichtstrahls vom Medium in die Teilchen aufsummieren. Diese Summe ergibt vor einer Brechung oder Transmission den Anfangsimpuls

$$p = \frac{n_1 P}{c}$$

für die Streukraft und 0 für die Gradientenkraft folgende Lösungen in Abhängigkeit des Einfallswinkels θ_e :

$$F_{Streu}(\theta_e) = \frac{n_1 P}{c} \left(1 + R \cos(2\theta_e) - \frac{T^2 (\cos(2\theta_e - \theta_t) + R \cos(2\theta_e))}{1 + R^2 + 2R \cos(2\theta_t)} \right),$$

$$F_{Grad}(\theta_e) = \frac{n_1 P}{c} \left(R \sin(2\theta_e) - \frac{T^2 (\sin(2\theta_e - \theta_t) + R \sin(2\theta_e))}{1 + R^2 + 2R \cos(2\theta_t)} \right).$$

¹ Diese Koeffizienten wurden bereits im Anfängerpraktikum untersucht und berechnet, siehe hierzu Versuch 25, *Fresnelsche Formeln und Polarisation*. Das Protokoll dazu steht unter <http://www.mehr-davon.de/content/protokolle/> zur Verfügung.

Damit das Teilchen im Strahlengang fixiert wird und nicht wieder von den Lichtstrahlen *weggestoßen* wird, muss für alle Strahlen, die unter verschiedenen Winkeln θ_e einfallen, die Gradientenkraft stärker sein als die Streukraft. Dazu vereinfachen wir die Kräfte mit einem Gütefaktor Q und erhalten damit

$$F_{Streu}(\theta_e) = Q_{Streu}(\theta_e) \cdot \frac{n_1 P}{c} \quad \text{und} \quad F_{Grad}(\theta_e) = Q_{Grad}(\theta_e) \cdot \frac{n_1 P}{c}.$$

In Abbildung 2 wurden die Gütefaktoren in Abhängigkeit des Einfallswinkels θ_e aufgetragen.

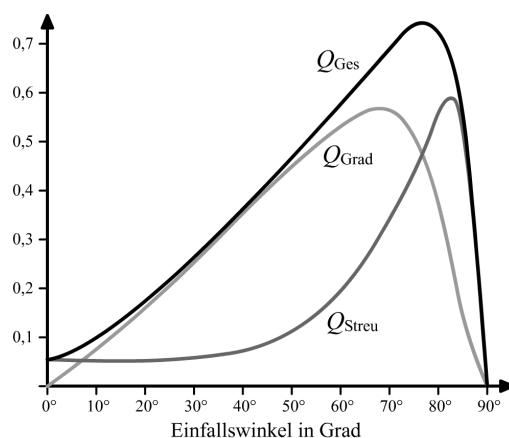


Abbildung 2: Beträge von Streu- und Gradientenkraft zur Gesamtkraft in Abhängigkeit vom Einfallswinkel θ_e .

Es ist zu erkennen, dass die Gradientenkraft für einen Einfallswinkel von $\theta_e \approx 70^\circ$ maximal wird, die Lichtstrahlen sollten daher einen möglichst großen Einfallswinkel besitzen.

2.3 Das Rayleigh Regime

Wie bereits beschrieben ist beim Rayleigh Regime der Teilchendurchmesser d sehr viel kleiner als die Wellenlänge λ , das Teilchen kann daher als Punktdipol angesehen werden. Da die elektromagnetische Theorie des Lichts in diesem Falle sehr schwierig ist und da wir zusätzlich im Versuch kaum mit dem Rayleigh Regime in Kontakt treten, werden wir hier nur kurz die Ergebnisse aufzeigen.

Wir betrachten wieder Teilchen mit einem Brechungsindex n_2 und das umgebende Medium habe den Brechungsindex n_1 . Weiter bezeichnen wir mit $m = n_2/n_1$ den relativen Brechungsindex und mit $k = 2\pi n_1/\lambda$ die Wellenzahl des Lichtes. Damit erhalten wir die folgenden Ergebnisse:

- (1) Die **Streuungskraft** beim Rayleigh Regime ist proportional zum Energiefluss und in Richtung des einfallenden Lichts gerichtet. Es gilt

$$\vec{F}_{Streu} = n_1 \frac{\langle \vec{S} \rangle \sigma}{c} \quad \text{mit} \quad \sigma = \frac{8}{3} \pi (kr)^4 r^2 \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2,$$

dabei ist σ der Wirkungsquerschnitt des Teilchens mit Radius r und $\langle \vec{S} \rangle$ der zeitliche Mittelwert des Poynting-Vektors.

- (2) Die **Gradientenkraft** beim Rayleigh Regime ist für $m > 1$ proportional und parallel zum Gradienten der Energiedichte. Es gilt

$$\vec{F}_{Grad} = \frac{\alpha}{2} \nabla \langle \vec{E}^2 \rangle \quad \text{mit} \quad \alpha = n_1^2 r^3 \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2,$$

dabei ist α die Polarisierbarkeit des Teilchens und $\langle \vec{E}^2 \rangle$ der zeitliche Mittelwert des Energiequadrates. Alle anderen Bezeichnungen sind wie zuvor.

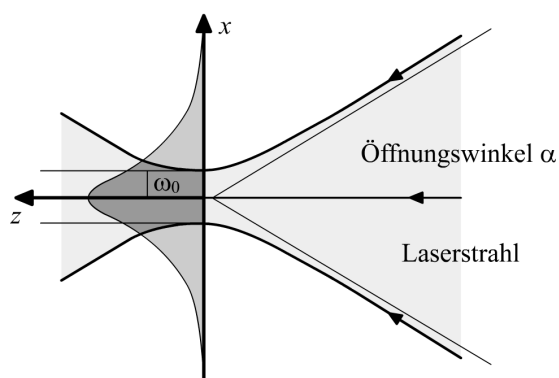


Abbildung 3: Verlauf der Lichtstrahlen im Fokus.

Die **Strahlentaille** ω_0 ist der Radius des Fokus, in dem sich das gefangene Objekt befindet. Es gilt

$$\omega_0 = \frac{\lambda}{\pi \cdot (NA)}, \quad (1)$$

wobei (NA) die numerische Apertur² der Objektivs bezeichnet. Siehe hierzu auch Abbildung 3.

² Die geometrische Strahlenoptik mit der numerischen Apertur wurde bereits im Anfängerpraktikum eingehend untersucht, siehe hierzu Versuch 22, *Das Mikroskop*. Das Protokoll dazu steht unter <http://www.mehr-davon.de/content/protokolle/> zur Verfügung.

Mit diesem Ergebnis fassen wir die Streu- und die Gradientenkraft zu einem Gütefaktor zusammen:

$$Q = \frac{F_{Grad}}{F_{Streu}} = \frac{3\sqrt{3} \cdot n_1^2 \cdot \lambda^5 \cdot (m^2 + 2)}{64\pi^5 \cdot (m^2 - 1) \cdot r^3 \omega_0^2}. \quad (2)$$

Alle Bezeichnungen sind dabei wie zuvor. Die Gradientenkraft muss der Streukraft überwiegen, ein Fangen ist also nur dann möglich, wenn für den Gütefaktor Q gerade $Q \gg 1$ gilt.

2.4 Kolloide

Kolloide sind Teilchen in einer Suspension, die groß genug sind, um keine Quanteneigenschaften mehr aufzuweisen, aber klein genug, damit ihre Bewegung von der Thermodynamik dominiert wird. Typischerweise haben sie einen Radius von etwa 100 bis 10.000 nm .

Für unsere Arbeit am Laser Tweezer verwenden wir Polystyrol- bzw. Latexkolloide aus einer Polymerisation des Monomers Styrol in wässriger Lösung, welche in verschiedenen Größen von 200 bis 4.000 nm Durchmesser zur Verfügung stehen.

Bei der Herstellung einer zu untersuchenden Probe ist auf die Teilchendichte und auf die Aggregation zu achten. Die Teilchendichte darf einerseits nicht zu niedrig sein, damit die Wartezeit bis zum Einfangen nicht zu groß wird. Andererseits behindern sich zu viele Teilchen gegenseitig, so dass das gefangene Objekt durch Stöße aus der Falle geschlagen werden könnte. Bei der Aggregation handelt es sich um Bildung gallertartiger Strukturen, welche durch van-der-Waals-Wechselwirkungen bei geringem Abstand der Partikel zueinander entstehen. Mit Hilfe von sterischer Stabilisation können wir jedoch einen genügend großen Abstand erreichen, so dass die Kolloide durch Wassermoleküle getrennt sind.

2.5 Brownsche Molekularbewegung

Da unsere Kolloide klein genug sind, um ihre Bewegungen mit Hilfe der Thermodynamik zu beschreiben, wollen wir an dieser Stelle noch auf die Brownsche Molekularbewegung eingehen.

Bewegliche Teilchen (bei uns die Kolloide) besitzen in einem System der Temperatur T nach der kinetischen Gastheorie eine mittlere kinetische Energie E von

$$E = \frac{3}{2} k_B T, \quad (3)$$

dabei ist k_B die Boltzmann-Konstante. Diese Energie führt zu einer ständig wechselnden und regellosen thermischen Translationsbewegungen, der so genannten **Brownschen Molekularbewegung**. Auf Grund des Gleichverteilungssatzes hat die Masse m eines Teilchens in Bezug auf seine Energie keine Auswirkung. Betrachtet man nun die mittlere Geschwindigkeit $\langle v^2 \rangle$ eines Teilchens in einer Dimension unter Vernachlässigung der Rotationsenergie, so ergibt sich

$$\frac{1}{2}k_B T = \frac{1}{2}m\langle v^2 \rangle \quad \text{sowie} \quad \bar{v} = \sqrt{\langle v^2 \rangle} = \sqrt{\frac{k_B T}{m}}. \quad (4)$$

Demnach besitzen schwerere Teilchen eine geringere mittlere Geschwindigkeit als leichtere.

Die Brownsche Molekularbewegung lässt sich gut unter einem Mikroskop beobachten. Andererseits besteht auch die Möglichkeit sie direkt über die willkürliche Zitterbewegung von Staubpartikeln in Sonnenlichtbündeln zu beobachten. Da bei diesem Umherbewegen nicht jede einzelne Richtungsänderung registriert werden kann, erhält man nur einen Mittelwert der Verschiebung x innerhalb einer Beobachtungszeit t . Für die mittlere quadratische Verschiebung unter Berücksichtigung der Wahrscheinlichkeitsgesetze für das mittlere Fehlerquadrat einer Messung ergibt

$$\langle x^2 \rangle = vlt = 2nDt. \quad (5)$$

Dabei ist l die mittlere freie Weglänge, n die Dimension (in der Regel $n = 2$ oder $n = 3$) und

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r}$$

ist die Diffusionskonstante mit der Viskosität η und dem Teilchenradius r .

Aufgrund des oben beschriebenen Verhaltens führt die Brownsche Molekularbewegung bei einer inhomogenen Konzentrationsverteilung eines Stoffes innerhalb eines Lösungsmittels zu einem Konzentrationsausgleich, so dass sich im Mittel eine homogene Verteilung einstellt: Wartet man nur lange genug werden Konzentrationsunterschiede aufgehoben und das Präparat homogen durchmischt³.

2.6 Diffusion

Zur Vervollständigung der Theorie wollen wir die Diffusion noch ein wenig erläutern, da sie auf der für den Versuch sehr wichtigen Brownsche Moleku-

³ Auch die Diffusion haben wir im Anfängerpraktikum kennengelernt, siehe Versuch 9, *Diffusion*. Das Protokoll dazu steht unter <http://www.mehr-davon.de/content/protokolle/> zur Verfügung.

larbewegung basiert.⁴

Diffusion bezeichnet den Nettostofftransport von Teilchen durch den Übergang von einer Nichtgleichgewichtsverteilung zu einer Gleichgewichtsverteilung infolge der Brownschen Molekularbewegung. Diffusion ist damit ein makroskopischer Transportvorgang, der durch diese Bewegung hervorgerufen wird.

Die Bewegungsrichtung eines einzelnen Teilchens ist vollkommen zufällig. Aufgrund der Wechselwirkung mit anderen Teilchen erfolgen ständige Richtungsänderungen.

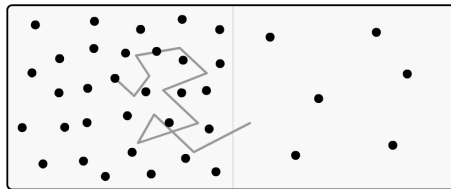


Abbildung 4: Zur Modellvorstellung der Diffusion.

Über einen längeren Zeitraum bzw. über viele Teilchen gemittelt kann sich dennoch ein Transport in eine bestimmte Richtung ergeben, z.B. wenn ein Sprung in eine bestimmte Richtung eine größere Wahrscheinlichkeit hat. Dies ist der Fall, wenn ein Konzentrationsunterschied bzw. **Konzentrationsgradient** vorhanden ist. Es entsteht dann ein Nettofluss an Teilchen, bis sich ein stationärer Zustand, das thermodynamische Gleichgewicht, einstellt. Zumeist ist der Gleichgewichtszustand die Gleichverteilung, bei der die Konzentration aller Teilchen an jedem Punkt im Raum gleich hoch ist.

Beispiel

Angenommen 1000 Kolloide wären in der linken Hälfte und 10 Kolloide in der rechten Hälfte eines mit Flüssigkeit gefüllten Gefäßes verteilt. Jedes Kolloid wird sich durch die Brownsche Molekularbewegung eine bestimmte Strecke in eine völlig zufällige Richtung bewegen. Die Wahrscheinlichkeit, dass sich eines der 1000 Kolloide zufälligerweise von der linken in die rechte Hälfte bewegt, ist damit 100mal größer als die Wahrscheinlichkeit, dass sich eines der nur 10 Kolloide von rechts nach links bewegt. Also werden nach einer gewissen Zeit mit hoher Wahrscheinlichkeit Kolloide von links nach rechts gewandert sein. Sobald die Wahrscheinlichkeit des Wanderns auf bei-

⁴ Teile dieser Beschreibung wurden <http://de.wikipedia.org/wiki/Diffusion>, aufgerufen am 09.01.2007, entnommen.

den Seiten gleich groß ist, sich also links und rechts je 505 Kolloide befinden, wird netto kein Massenfluss mehr stattfinden und die Konzentration bleibt überall gleich groß.

Physikalische Beschreibung

Physikalisch beschreibt man Diffusion durch die *Fickschen Gesetze*:

Liegt Diffusion vor, so herrscht ein *Diffusionsstrom*, dessen Stromdichte j dem Konzentrationsgefälle $\partial c/\partial x$ entgegengesetzt ist. Dieser Zusammenhang ist das *erste Ficksche Gesetz*:

$$j(x) = -D \cdot \frac{\partial c}{\partial x},$$

dabei ist D die materialspezifische Diffusionskonstante (siehe oben). Nun verlangt aber die Erhaltung der Teilchenzahl, dass die Teilchendichte in einem bestimmten Volumen abnimmt, wenn mehr Teilchen aus- als einströmen, also

$$\frac{\partial c}{\partial t} = -\frac{\partial c}{\partial x} j(x).$$

Setzt man nun in diese Gleichung das erste Ficksche Gesetz ein, erhält man die allgemeine Diffusionsgleichung, das *zweite Ficksche Gesetz*:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \cdot \frac{\partial^2 c}{\partial x^2}.$$

3 Aufgaben

3.1 Aufgabe 1

Untersucht werden Teilchen mit einem Radius von $r = 400 \text{ nm}$ mit Hilfe eines Laser Tweezers der Wellenlänge $\lambda = 671 \text{ nm}$.

Berechne den Gütefaktor Q im Falle des Rayleigh Regimes. Bestimme dazu zunächst die Strahlentaille ω_0 für eine numerische Apertur von $(NA) = 1,3$. Verwende weiter den Brechungsindex $n_1 = 1,33$ für das umgebene Medium und $n_2 = 1,59$ für die Teilchen.

Lösung

Nach Gleichung (1) erhalten wir

$$\omega_0 = \frac{\lambda}{\pi \cdot (NA)} = \frac{671 \text{ nm}}{\pi \cdot 1,3} \approx 164 \text{ nm} = 1,64 \cdot 10^{-7} \text{ m}.$$

Mit

$$m = \frac{n_2}{n_1} = \frac{1,59}{1,33} = 1.19549$$

folgt nach Gleichung (2)

$$Q = \frac{3\sqrt{3} \cdot n_1^2 \cdot \lambda^5 \cdot (m^2 + 2)}{64\pi^5 \cdot (m^2 - 1) \cdot r^3 \omega_0^2} \approx 0,2952.$$

Somit ist das Fangen eines Teilchens theoretisch nicht möglich, da die Gradientenkraft kleiner als die Streukraft ist. Wir betrachten mit einem Teilchendurchmesser von $d = 800 \text{ nm}$ und einer Wellenlänge von $\lambda = 671 \text{ nm}$ jedoch einen Vorgang, der mit dem Übergangsregime beschrieben werden müsste, da $d \approx \lambda$ gilt. Somit hat der Gütefaktor der Falle in diesem Beispiel keine große Aussagekraft. Dies wird auch im Versuch bestätigt, da wir dort, obwohl wir einen Aufbau mit ähnlichen Dimensionen verwenden, dennoch in der Lage sind, Teilchen mit der Falle zu fangen.

3.2 Aufgabe 2

Es seien drei Glycerin-Wasser-Lösungen mit den Verhältnissen $1 : 1,3 : 2$ sowie $4 : 1$ gegeben, in denen sich Latexkolloide mit einem Radius von $r = 400 \text{ nm}$ befinden. Die Viskositäten dieser Lösungen sind $6,05 \cdot 10^{-3} \text{ Pa s}$, $10,86 \cdot 10^{-3} \text{ Pa s}$ und $59,90 \cdot 10^{-3} \text{ Pa s}$.

Berechne, wie weit sich die Teilchen im Mittel innerhalb einer Sekunde, einer Minute und einer Stunde von ihrem ursprünglichen Anfangsort bei einer Temperatur von $T = 25^\circ \text{C}$ wegbewegen.

Berechne weiter die mittlere Geschwindigkeit und damit die kinetische Energie der Teilchen. Gegeben ist die Dichte der Teilchen von $\rho = 1,05 \text{ g/cm}^3$.

Lösung

Zunächst erhalten wir nach Gleichung (5)

$$\langle x^2 \rangle = 2nDt = t \cdot \frac{k_B T}{\pi \eta r}.$$

Damit erhalten wir die Ergebnisse aus Tabelle 1.

		$t = 1 \text{ s}$	$t = 60 \text{ s}$	$t = 3600 \text{ s}$
Verhältnis	η in $Pa \cdot s$	$\sqrt{\langle x^2 \rangle}$ in m	$\sqrt{\langle x^2 \rangle}$ in m	$\sqrt{\langle x^2 \rangle}$ in m
1 : 1	0,00605	$5,21 \cdot 10^{-7}$	$4,03 \cdot 10^{-6}$	$3,12 \cdot 10^{-5}$
3 : 2	0,01086	$3,88 \cdot 10^{-7}$	$3,01 \cdot 10^{-6}$	$2,33 \cdot 10^{-5}$
4 : 1	0,05990	$1,65 \cdot 10^{-7}$	$1,28 \cdot 10^{-6}$	$9,92 \cdot 10^{-6}$

Tabelle 1: Mittlere Entfernung der Teilchen zu ihrem Anfangsort in unterschiedlichen Zeitintervallen.

Da sich in allen Mischungen dieselbe Anzahl an Kolloiden befindet, erhalten wir für alle Verhältnisse nur eine Geschwindigkeit und eine kinetische Energie. Diese berechnet sich nach Gleichungen (3) und (4) durch

$$\bar{v} = \sqrt{\langle v^2 \rangle} = \sqrt{\frac{k_B T}{m}} \quad \text{und} \quad E = \frac{3}{2} m \langle v^2 \rangle.$$

Wir müssen also nur die Masse m eines einzelnen Teilchens berechnen. Aus der Dichte ρ und des Volumens V der Teilchen und erhalten wir

$$m = \rho \cdot V = \rho \cdot \frac{4}{3} \pi r^3 = 2,81 \cdot 10^{-10} \text{ kg}.$$

Damit ergibt sich nun

$$\bar{v} = 6,26 \cdot 10^{-8} \frac{m}{s} \quad \text{und} \quad E = 2,06 \cdot 10^{-21} \text{ J}.$$

3.3 Aufgabe 3

Nach Stokes wird die Reibung auf eine Kugel vom Radius r , die sich in einer mit der Geschwindigkeit v strömende Flüssigkeit der Viskosität η befindet, beschrieben durch die Kraft

$$F = 6\eta\pi r v. \quad (6)$$

Nutze die Ergebnisse aus Aufgabe 2, um die Fallkraft der drei Glycerin-Wasser-Lösungen nach Stokes zu bestimmen.

Lösung

Mit der Geschwindigkeit

$$\bar{v} = 6,26 \cdot 10^{-8} \frac{m}{s}$$

aus der Lösung von Aufgabe 2 und mit den Angaben aus der Aufgabenbeschreibung von Aufgabe 2 folgen die Ergebnisse aus Tabelle 2.

Verhältnis	η in $Pa \cdot s$	Kraft F in N
1 : 1	0,00605	$2,86 \cdot 10^{-15}$
3 : 2	0,01086	$5,13 \cdot 10^{-15}$
4 : 1	0,05990	$2,83 \cdot 10^{-14}$

Tabelle 2: Kräfte nach der Stokes-Reibung auf die Kolloide in den verschiedenen Lösungen.

Dies sind also gerade die Kräfte, die man braucht, um die Brownsche Molekularbewegung zu unterdrücken.

4 Versuchsdurchführung

4.1 Versuchsaufbau

Hinter dem DPSS (Diode Pumped Solid State) Laser steht ein Polarisationsfilter. Durch einen Polarisations-Beamsplitter (PBSC) wird der Strahl in zwei Strahlen aufgeteilt. Jeder Teilstrahl passiert nun zwei Linsen für die Bewegung in der z -Richtung und ein Gimbal Mounted Mirror (GMM) für die Bewegung in der x - y -Ebene. Einer dieser GMMs kann über eine Motorsteuerung über den Computer bewegt werden. Die Strahlen werden über einen weiteren Beamsplitter wieder zusammengeführt und über eine Linse aufgeweitet, um die Apertur (Öffnung) des Objektivs zu überfüllen.

4.2 Versuchsdurchführung

Präparation der Proben

Zunächst werden die zu untersuchenden Proben hergestellt. Dazu werden für jede der drei Glycerin-Wasser-Kolloid-Lösungen die folgenden Arbeitsschritte durchgeführt:

- (1) Objektträger und Deckgläschen werden mit Isopropanol und Wasser gereinigt.
- (2) Vier Parafilmblättchen werden passend zum Objektträger zugeschnitten und übereinandergelegt.

- (3) In den Parafilmstapel wird ein Loch (13 mm Durchmesser) gestanzt und auf den Objektträger gelegt. In die Mitte des Loches werden 15 μl der Glycerin-Wasser-Kolloid-Lösung pipettiert.
- (4) Das Deckgläschen wird auf den Objektträger gelegt und mit einem LötKolben wird die so entstandene Kammer luftdicht verschlossen.
- (5) Die Probe wird beschriftet.

Kennenlernen des Versuchs

Das Mikroskop und der Computer werden angeschaltet, die benötigten Programme werden gestartet. Da es sich um ein Immersionsmikroskop handelt, wird ein Tröpfchen Öl auf das Objektiv des Mikroskops gegeben.

Die vorgefertigten Proben sind leider sehr verschmutzt. Somit wird die eingene Probe mit dem Mischungsverhältnis 2:3 in den Strahlengang des Mikroskops gebracht. Nun wird das Objektiv so nahe an den Objektträger gebracht, dass das Öl den Objektivträger berührt. Mit der Feineinstellung des Mikroskops wird ein Latexkugelchen scharf gestellt. Nun kann der Lasertweezer eingeschaltet werden. Die Position der Falle wird bestimmt und mit einem wasserlöslichen Stift auf beiden Bildschirmen markiert. Das gefangene Teilchen kann nun mit dem Computerprogramm bewegt werden.

Bestimmung der Laserleistung

Ein Powermeter wird in den Strahlengang des Lasertweezers gebracht und die Maximalleistung des Lasers durch Drehung des Polarisationsfilters ermittelt. Nun wird in 2° Schritten die Laserleistung in Abhängigkeit von der Polarisatorstellung ermittelt (jeweils 90° nach rechts und nach links, ausgehend von der Maximalleistung; 91 Messwerte).

Eichmessung

Für jede der drei Proben werden die folgenden Arbeitsschritte durchgeführt:

- (1) Die Laserleistung wird durch Drehen des Polarisators maximiert und ein Latexkugelchen wird gefangen.
- (2) Mit 50 *steps/s* wird das Kugelchen hin und herbewegt.
- (3) Der Polarisator wird solange gedreht, bis das Kugelchen nicht mehr in der Falle gehalten werden kann. Die entsprechende Polarisatorstellung wird notiert.
- (4) Diese Schritte werden für die Geschwindigkeiten 100, 150, 200 und 250 *steps/s* wiederholt.

Nun wird noch notiert, welcher Längeneinheit ein *step* entspricht.

5 Auswertung

5.1 Laserleistung

Zunächst tragen wir in Abbildung 5 die gemessene Laserleistung in Abhängigkeit vom eingestellten Polarisatorwinkel auf.

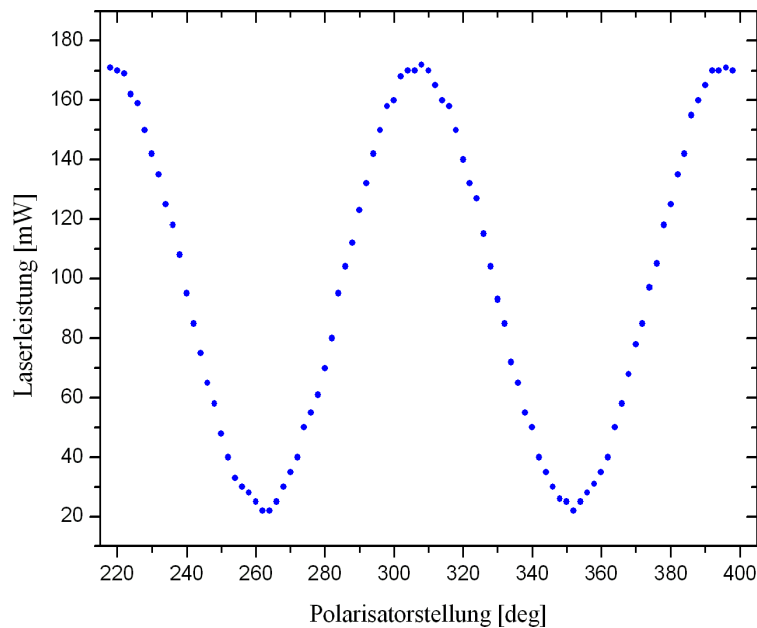


Abbildung 5: Laserleistung in Abhängigkeit von der Polarisatorstellung.

Da das $\lambda/2$ Plättchen bei einer Drehung um den Winkel α die Polarisationsrichtung des linear polarisierten Lichtes um $2\alpha =: \beta$ dreht, messen wir bei einer Drehung des Polarisators um 90° wieder die maximale Laserleistung, denn der Feldvektor hat sich nun um 180° gedreht. Um dies zu verdeutlichen, haben wir in Abbildung 6 die Drehung des Feldvektors gegen die Laserleistung aufgetragen. Ist der Feldvektor nicht gedreht, erhalten wir also die maximale Laserleistung.

Um nun den Verlauf des Graphen fitten zu können, müssen wir uns überlegen, dass, nach dem **Gesetz von Malus**, die Intensität I eines linear polarisierten Lichtstrahles nach dem Durchgang durch einen um den Winkel α zur Polarisationsrichtung des Lichtes gedrehten Polarisationsfilter

$$I(\alpha) = I_0 \cdot \cos^2(\alpha)$$

beträgt. Es ist jedoch zu beachten, dass der Polarisationsfilter den Laserstrahl nicht völlig auslöschen kann. Somit benötigen wir einen Korrekturterm A , welcher die Restleistung des Lasers bei einer Drehung des Feldvek-

tors um $\beta = 90^\circ$ beschreibt. Weiterhin benötigen wir einen zweiten Korrekturterm ω , welcher den Drehwinkel α des Polarisationsfilters rekonstruiert. Wir erwarten also einen Wert von $\omega = 0,5$. In Abbildung 6 ist das Ergebnis der Regression

$$I = A + I_0 \cdot \cos^2(\beta \cdot \omega)$$

mit den zugehörigen Parametern dargestellt.

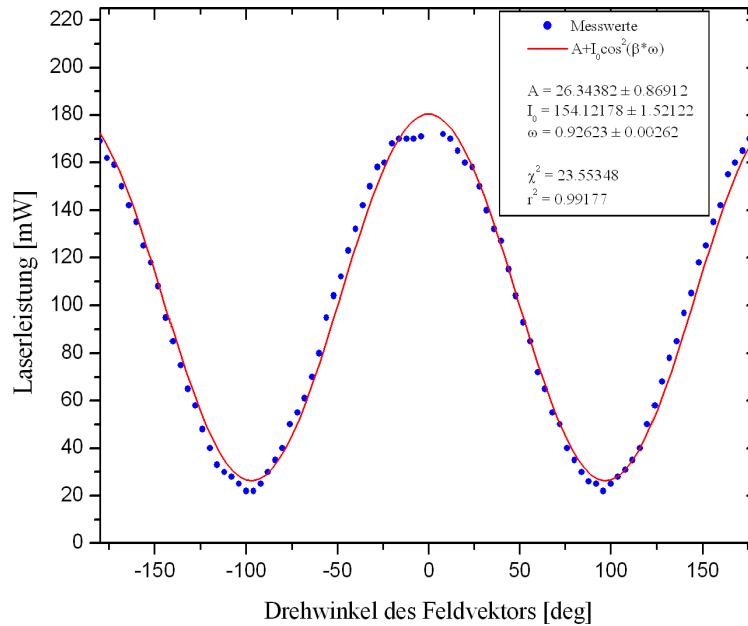


Abbildung 6: Laserleistung in Abhängigkeit vom dem Drehwinkel des Feldvektors.

Wir können uns den hohen Wert von $\omega \approx 0,9$ leider nicht erklären. Das Ergebnis für χ^2 und das daraus erhaltene reduzierte Chi-Quadrat (r^2) bestätigen jedoch, dass unsere Regressionsfunktion richtig gewählt war, da r^2 nahe an 1 liegt.

5.2 Eichmessung

Um die Fallkraft zu berechnen, nutzen wir Formel (6), denn dies ist genau die Kraft, welche die Falle aufbringen muss, um die Kugel festzuhalten.

Die untersuchten Kugeln hatten einen Radius von 400 nm , ein *step* entsprach $0,11802 \mu\text{m}$. Die Viskositäten für die Mischungen 20:80 (80% Glycerin) und 40:60 (60% Glycerin) waren in der Literaturmappe gegeben. Für die 10:90 (90% Glycerin) Mischung haben wir die gegebenen Daten halblogarithmisch aufgetragen und den zugehörigen Wert abgelesen (siehe Abbildung 8 im Anhang). Die berechneten Werte der Fallkraft sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Um die Laserleistung in Abhängigkeit von der Polarisatorstellung zu erhalten, benutzen wir den in Kapitel 5.1 berechneten Fit. Die Ergebnisse sind ebenfalls Tabelle 3 zu entnehmen.

Misch.	μ [Pa · s]	<i>steps</i> [1/s]	v [$\mu\text{m/s}$]	Fallenkr. [pN]	Polaris.- stellung	Laserleist. [mW]
40:60	0.01068	50	5.9	0.48	347	40.67
		100	11.8	0.95	345	46.97
		150	17.7	1.43	342	58.15
		200	23.6	1.9	340	66.57
		250	29.51	2.38	336	85.1
20:80	0.0599	50	5.9	2.67	341	62.27
		100	11.8	5.33	336	85.1
		150	17.7	8	332	104.86
		200	23.6	10.66	320	158.41
10:90	0.225	50	5.9	10.01	335	89.98
		100	11.8	20.02	327	129.26
		150	17.7	30.03	325	138.41

Tabelle 3: Berechnung der Fallenkraft und der Laserleistung.

In Abbildung 7 tragen wir die berechnete Fallenkraft in Abhängigkeit von der Laserleistung auf.

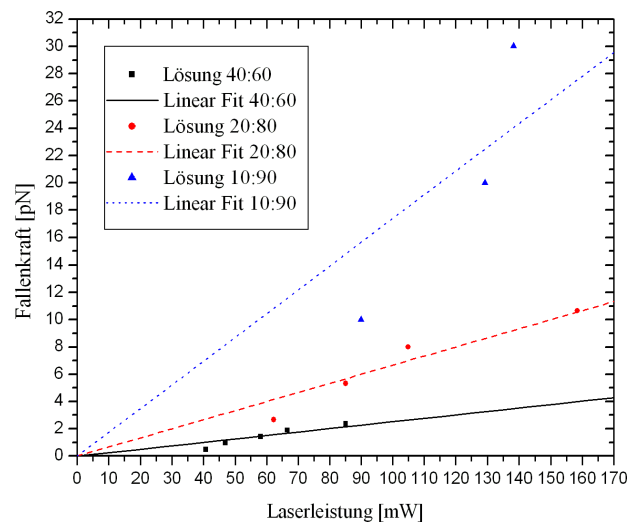


Abbildung 7: Fallenkraft in Abhängigkeit von der Laserleistung.

Eigentlich müssten alle Messwerte auf einer Geraden liegen. Dass dies nicht der Fall ist, liegt an den vielen Fehlerquellen und Annäherungen, die gemacht wurden. So konnten wir die Laserleistung nur annähernd bestimmen und

auch die Viskositäten der benutzen Mischungen sind nicht exakt. Zudem ist die Beschleunigung der Fallenposition nicht eingegangen, die ein Fangen eines Teilchens bei hohen Geschwindigkeiten sehr erschwerte.

5.3 Anwendungen der Optischen Pinzette

Die optische Pinzette eignet sich sehr gut, um Mikropartikel festzuhalten und diese so analysieren zu können. Selbst kleinste Stoffmengen können mit der optischen Pinzette qualitativ untersucht werden, was von großem Vorteil ist, wenn es sich um seltene, stark toxische oder teure Substanzen handelt.

Auch in der Biologie hat die optische Pinzette viele Anwendungsgebiete. Mit der optischen Pinzette kann jedoch ohne Beschädigung der Zellwand im Inneren der Zelle gearbeitet werden. Hierzu wird oft zusätzlich zur optischen Pinzette ein UV-Laser benutzt, welcher mit sehr hoher Genauigkeit schneiden, fräsen und bohren kann. Im Folgenden werden wir drei ausgewählte Anwendungsgebiete der optischen Pinzette in der Biologie kurz vorstellen.

Gentechnik

Durch das Festhalten einzelner Zellen kann die Zellwand mit dem UV-Laser an einer Stelle aufgeschnitten werden, und so fremde DNA mit Hilfe der optischen Pinzette in die Zelle eingebracht werden. Es können auch mehrere Zellen miteinander fusioniert werden, indem die Zellwände aufgeschnitten werden, nachdem die Zellen dicht aneinander gebracht wurden. Bei der Fusion der Zellen werden die genetischen Informationen der unterschiedlichen Zellen miteinander kombiniert und es entstehen Hybride mit neuen Eigenschaften⁵.

Mikromanipulation an Gameten

Die optische Pinzette kann dazu eingesetzt werden, um künstliche Befruchtungen durchzuführen oder die Wahrscheinlichkeit einer Befruchtung zu erhöhen. Hierzu wird die Eizellenhülle, welche manchmal verdickt ist und so das Eindringen eines Spermiums verhindert, gezielt verdünnt: Die Eizelle wird mit der optischen Pinzette festgehalten und die Wand mit Hilfe des UV-Lasers stellenweise abgefräst.

Die direkte Befruchtung wurde an Rindern schon erfolgreich durchgeführt. Hierzu werden einzelne Spermien mit der optischen Pinzette festgehalten, um den Schwanz des Spermiums abzuschneiden. Nun wird die Eizelle aufgeschnitten und mehrere Spermien in das Innere der Zelle gebracht. Die

⁵ siehe hierzu <http://www.iwf.de/iwf/do/mkat/details.aspx?Signatur=C+1897>, aufgerufen am 10.12.2006.

Immobilität des Spermiums erhöht nun die Befruchtungswahrscheinlichkeit. Es können auch Kräftermessungen an den Spermien zur Bestimmung der Fruchtbarkeit durchgeführt werden. Der Vorteil der optischen Pinzette in diesem Bereich ist, dass das Verfahren sehr schonend ist und die Zellen nicht unnötig stark beschädigt⁶.

Malariaforschung

Der Malariaparasit bewirkt eine Versteifung der roten Blutkörperchen. Außerdem verklumpen die Blutkörperchen leichter und lagern sich an den Wänden der Blutgefäße an. Mit der optischen Pinzette können die roten Blutkörperchen schnell und einfach aus dem strömenden Blut eingefangen werden und ihre viskoelastischen Eigenschaften untersucht werden. Mit den erlangten Daten kann die Bekämpfung des Malariaparasiten maßgeblich verbessert werden⁷.

6 Diskussion

Die Ergebnisse für die Laserleistung aus Kapitel 5.1 sind sehr erfreulich. Wir konnten das Gesetz von Malus verifizieren. Etwas schade und vermeidbar sind hier jedoch die großen Fehlerquellen. So war das Powermeter nur sehr schwer und ungenau abzulesen. Hier sollte über eine Neuanschaffung oder Auswechslung nachgedacht werden.

Das Fangen der Teilchen in den Proben mit hohem Glyceringehalt stellte sich als sehr schwer heraus, so dass die Ergebnisse aus Kapitel 5.2 nicht zufriedenstellend sind. Hier gibt es sehr viele Fehlerquellen, die im Rahmen des Versuches nicht ausreichend untersucht werden konnten.

Auf Grund wiederholter Missverständnisse weisen wir darauf hin, dass die eigenen Kommentare nur für die Praktikanten bzw. für den Autor des Protokolls gedacht sind und vom korrigierenden Assistenten nach Möglichkeit überlesen werden sollten!

Eigene Kommentare

[Interessanter Versuch mit nettem Einblick in die Biophysik, jedoch hätte ich mir das Fangen etwas einfacher und spannender vorgestellt.]^{Daniel}

⁶ siehe hierzu <http://www.iwf.de/iwf/do/mkat/details.aspx?Signatur=C+1921>, aufgerufen am 10.12.2006.

⁷ siehe hierzu <http://www.heise.de/tr/artikel/76500>, aufgerufen am 10.12.2006.

[Der Versuch war interessant und die Literaturliste gut geschrieben. Also ein Versuch, den man weiterempfehlen kann. Ich fand es schade, dass die Steuerung nur in einer Richtung funktioniert hat.]_{Hauke}

Literatur

- [1] A. Beerlink (2006): *Kraftmessungen in Mikroskopischen Dimensionen: Die Optische Pinzette*. Versuchsbeschreibung zum Fortgeschrittenen-Praktikum am Institut für Röntgenphysik der Universität Göttingen.
- [2] A. Ashkin (1970): *Acceleration And Trapping Of Particles By Radiation Pressure*. *Physical Review Letters* **24**, 156–159.
- [3] A. Ashkin et al. (1986): *Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles*. *Optical Letters* **11**, 288–290.
- [4] M.P. Sheetz (1998): *Laser Tweezers in Cell Biology*. Academic Press.
- [5] K. Svoboda und S.M. Block (1994): *Optical trapping of metallic Rayleigh particles*. *Optical Letters* **19**, 930–932.

7 Anhang

Bestimmung der Viskositäten

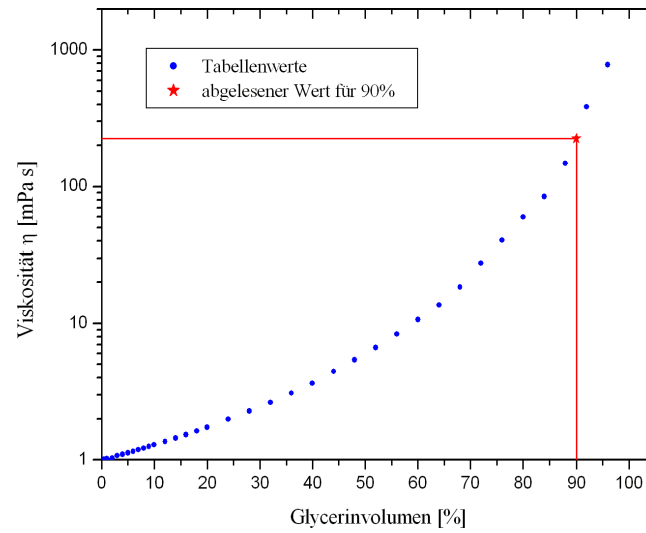


Abbildung 8: Viskosität der Wasser-Glycerin-Kolloid Mischung.

Aufgenommene Bilder

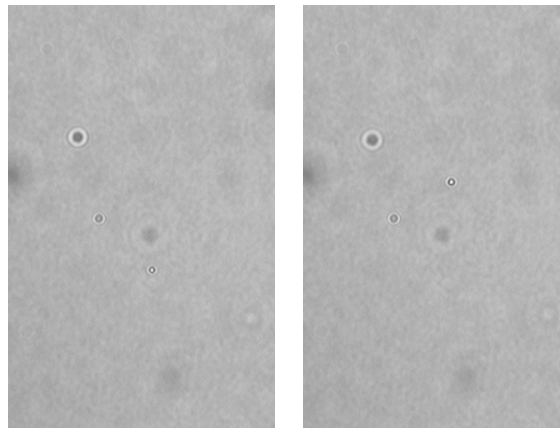


Abbildung 9: Gefangenes Kolloid wird in der Falle bewegt.