

Étude de la stabilité et l'efficacité des pièges d'une pince optique

Pavel YALE, Jean-Michel E. KONIN, Y. KOFFI, Michel A. KOUACOU et Jeremie T. ZOUEU*

*Laboratoire d'Instrumentation, Image et Spectroscopie(L2IS), Institut National Polytechnique
Félix Houphouët-Boigny (INPHB), BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire*

* Correspondance, courriel : jeremie.zoueu@inphb.edu.ci

Résumé

Dans cet article, nous étudions les influences de la variation de la distance entre des microbilles de silice et la face inférieure de la cuvette, ainsi que de la variation de la puissance du laser sur la force et l'efficacité du piège. Ces données constituent des paramètres importants pour les applications des pinces optiques. Les résultats présentés ont été obtenus en utilisant un détecteur à quatre quadrants pour l'acquisition des données et la méthode de la densité spectrale de puissance pour le traitement. À différentes puissances du laser et différentes hauteurs de piégeage, des billes de silice de diamètre 1 μm , 2 μm et deux billes accolées ont été piégées et étudiées. Nous constatons que la force du piège augmente avec la puissance du laser et diminue lorsque la distance de la face inférieure de la cuvette augmente, tandis que l'efficacité du piège n'a pas changé sur la gamme de puissance examinée pour la bille de 2 μm et diminue lorsque la distance de la surface du verre augmente. La contribution principale de ce travail est de déterminer les intervalles de puissance du laser où le piège est stable, afin de faciliter les futures mesures. Nous avons constaté qu'il existe une puissance minimale du laser à partir de laquelle le piège commence à se stabiliser.

Mots-clés : *pinces optiques, puissance du laser, efficacité de piège, billes de silice.*

Abstract

Study of the stability and efficiency of the trap in optical tweezers

In this paper, we investigate the effects of the distance between the beads and the glass surface, the laser power on the maximum trapping force and the trapping efficiency; these parameters are important for optical tweezers applications. The current results were obtained using a quadrant photodiode for data acquisition and the power spectral density method for the data processing. At a given trapping powers and distances from glass surface, silica beads of 1 μm , 2 μm and dual silica beads were trapped and studied. We find that the trapping force increases with the laser power and decreases when the distance from glass surface increases, whereas the trapping efficiency was unchanged over the power range examined for silica beads of diameter 2 μm and decreases when the distance from glass surface increases. The main contribution of this work is to determine the power of the laser intervals where the trap is stable. The results are useful for number of applications of optical tweezers techniques. We found that there is minimal laser power at which the trap begins to stabilize.

Keywords : *optical tweezers, laser power, trapping efficiency, silica beads.*

1. Introduction

C'est en utilisant pour la première fois un faisceau fortement focalisé qu'Arthur Ashkin est parvenu à produire et à observer les effets d'une pince optique [1]. Cette technique va donc permettre l'étude des microparticules et contribuer à des avancées majeures dans le domaine de la biophysique. Depuis la publication de ces travaux pionniers, ces pinces optiques sont devenues un véritable outil de recherche. Très utiles dans certains domaines de la biologie et de la physique. Aujourd'hui les pinces optiques sont utilisées dans un grand nombre d'expériences biophysiques comme des expériences de molécule unique, études de moteurs moléculaires et de la manipulation cellulaire [2]. Dans certains cas, on utilise des pinces optiques tout comme un outil de manipulation, mais elles peuvent également être utilisées pour exercer une force contrôlée sur un corps microscopique, ou de mesurer les forces impliquées dans les processus biologiques. Le mécanisme de piégeage est basé sur l'échange de quantité de mouvement entre le faisceau de piégeage et la particule piégée par un processus de diffusion. La force résultante peut être expliquée avec différents modèles en fonction de la taille des particules [3 - 5]. Les pinces optiques peuvent mesurer des forces comme un dynamomètre. Si le piège est calibré, alors il est possible de savoir quelle est la force externe appliquée en regardant le mouvement de la microparticule vers une nouvelle position d'équilibre. Habituellement, la force de piégeage est supposée harmonique, $F = -kx$ et il existe plusieurs méthodes d'étalonnage précises et fiables pour la caractériser [6]. Une conception simple d'étalonnage consiste à appliquer une force connue et mesurer le déplacement du spécimen emprisonné dans le centre du piège. La force appliquée est généralement une force de rappel. Une autre façon d'obtenir des informations sur la force de piège est d'étudier le mouvement brownien d'une particule piégée. La force F de piégeage peut également être estimée à partir de la puissance de laser envoyée sur l'objet par la relation suivante [6, 10] :

$$F = \frac{QPn}{c} \quad (1)$$

où, n est l'indice de réfraction, c la vitesse de la lumière dans le vide et Q l'efficacité du piège. L'efficacité du piège est la fraction entre la lumière incidente et celle qui est transférée à l'objet emprisonné, et varie de 0 à 1.

Les travaux de [7] ont montré que le facteur de conversion varie lorsqu'on utilise un objectif à huile à immersion, il y a aussi ceux de [8] qui ont également montré que la constante de rappel du piège et le facteur de conversion sont dépendants de la hauteur de piégeage. Mais les travaux de [9] ont montré que l'efficacité du piège dépendait de la puissance du laser pour des billes de rayon supérieur à la longueur d'onde utilisée. En effet, pour la meilleure utilisation des pinces optiques, il est important de maîtriser la stabilité et la qualité du piège. Nous proposons de déterminer les intervalles de puissance du laser dans lesquelles le piège est stable pour des billes de diamètre 1 μm , 2 μm et deux billes accolées de diamètre 2 μm chacune en utilisant la méthode de la densité spectrale de puissance, surtout que dans le cas des billes accolées, la connaissance de l'intervalle de puissance où le piège est stable constituera un avantage pour éventuellement mesurer les forces de contact avec précision.

2. Matériel et méthodes

2-1. Préparation des échantillons

Pour cette manipulation, nous avons utilisé des billes de silice de diamètre 1 μm et 2 μm dont trois types d'échantillon ont été préparés: Pour les deux premiers échantillons, nous avons introduit 50 μl de la solution concentrée des billes de silice dans 5000 μl d'eau distillée. Le troisième échantillon était composé d'un mélange de 50 μl de la solution concentrée des billes de silice (diamètre 2 μm) et 2000 μl d'eau distillée.

2-2. Dispositif expérimental

Notre dispositif expérimental est constitué d'un objectif à huile à immersion d'indice de réfraction 1,5 focalisant le faisceau laser pour former le piège optique. Cet objectif a une ouverture numérique de $NA = 1,25$ et un grossissement de 100 X, cette huile est utilisée afin que l'interface entre l'objectif et la lamelle ait le même indice optique que la membrane qui porte l'échantillon. Le laser à fibre (Thorlabs, PL980P330J) émet un faisceau laser dans le proche infrarouge de longueur d'onde 980 nm. Le choix de cette longueur d'onde est justifié par sa faible absorption par les spécimens biologiques. Le faisceau lumineux est émis et arrive dans un télescope, afin d'augmenter la largeur du faisceau lumineux sortant de la source, et permettre à celui-ci de couvrir toute l'étendue de la face d'entrée de l'objectif.

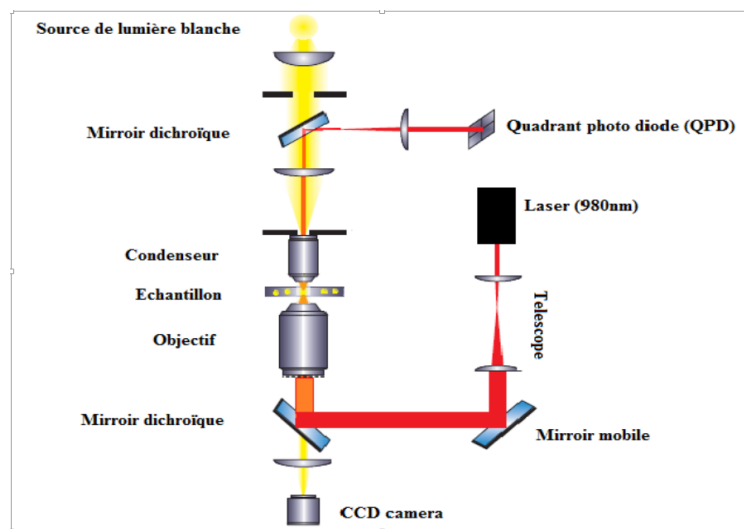


Figure 1 : Schéma du dispositif optique utilisé

Le faisceau traverse alors l'objectif 100 X à huile à immersion de haute ouverture numérique créant une taille étroite de faisceau où des particules sont emprisonnées et traverse alors un condenseur ; celui-ci transforme les faisceaux fortement divergents en rayons parallèles. Ce signal est alors réfléchi par un miroir dichroïque sur la surface du détecteur à quatre quadrants, produisant un signal de tension. Ce signal est ensuite envoyé sur une carte d'acquisition (Hamamatsu, C4758) qui l'amplifie. Grâce à une carte de conversion analogique numérique CAN, ce signal amplifié est envoyé sur l'ordinateur afin d'enregistrer les données. Pour éclairer l'échantillon et visualiser les manipulations, une source de lumière blanche (LED) est utilisée dont le faisceau est focalisé par le condenseur (Nikon 10 X). Le faisceau traverse ensuite l'objectif de microscope et est guidé jusqu'à la caméra CCD munie d'un miroir pour éliminer les réflexions parasites du laser. Le signal de la caméra est alors envoyé sur un moniteur vidéo.

2-3. Méthode d'analyse

Dans ce travail nous nous sommes basés sur les fluctuations de la position résultant du bruit thermique agissant sur la bille. Le mouvement brownien est un mouvement aléatoire d'un objet résultant des collisions avec les molécules d'un fluide. Nous avons utilisé la technique d'analyse du spectre du mouvement brownien [11]. Un signal de position généré à partir du mouvement brownien d'une particule dans un potentiel harmonique est considéré comme menant à un bruit blanc. La densité du spectre de puissance pour le signal est constante jusqu'à ce qu'on atteigne une fréquence correspondant à la fréquence de coupure f_c où la courbe s'infléchit.

Le spectre est décrit par la relation suivante [12] :

$$P^{exp}(f) = \frac{D^{exp}/(2\pi^2)}{f_c^2 + f^2} \quad (2)$$

La fréquence f_c dépend de la constante de raideur de la pince k_{trap} ainsi que de la trainée visqueuse γ :

$$f_c = k_{trap} / 2\pi\gamma \text{ avec } \gamma = 6\pi\eta r \quad (3)$$

Où η est la viscosité du milieu et r le rayon de la bille. Si nous traçons la courbe expérimentale de la densité spectrale de puissance, nous obtenons la fréquence de coupure f_c et le coefficient de diffusion expérimental D^{exp} (m^2/s). Le coefficient de diffusion est déterminé par la relation suivante :

$$D = K_B T / \gamma \text{ (m}^2/\text{s)} \quad (4)$$

Le facteur de conversion est déterminé par la relation :

$$\beta = D / D^{exp} \text{ (m/v)} \quad (5)$$

L'utilisation de toutes ces formules nous donne l'expression finale de la constante de rappel expérimentale [12] :

$$k_{trap} = 2\pi f_c \frac{K_B T}{D} \quad (6)$$

3. Résultats

Dans ce travail nous avons fait varier la puissance du laser à une hauteur fixe et ensuite fait varier la hauteur à une puissance fixe afin d'observer leurs influences sur certains paramètres du piège optique qui sont la force et l'efficacité du piège. Pour une puissance et une hauteur données, notre détecteur enregistre à chaque fois au total 524288 positions à une fréquence d'échantillon de 131 kilohertz en 4 secondes.

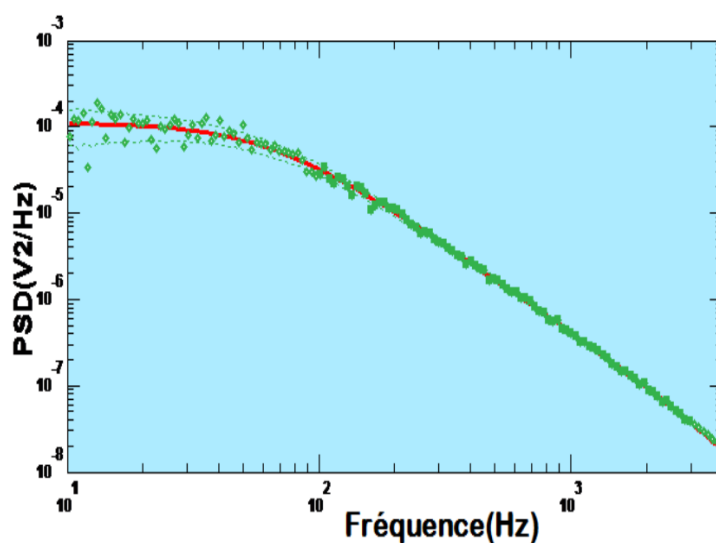


Figure 2 : Représentation de la densité spectrale de puissance pour une bille de silice de diamètre $2\ \mu\text{m}$ piégée à une hauteur de $215\ \mu\text{m}$ de la surface par une puissance de $13,17\ \text{mW}$ à 27°C

Pour chaque mesure, la représentation de la courbe de la densité spectrale de puissance nous permet d'extraire la fréquence de coupure et le coefficient de diffusion expérimentale pour calculer la force et l'efficacité du piège (*Figure 2*). Pour calculer la force du piège, le signal recueilli par le détecteur doit être converti en mètre. Nous avons alors déterminé le facteur de conversion β (m / v) pour chaque puissance du laser donnée, en utilisant *l'Equation (5)*. Une linéarité est observée (*Figure 3*).

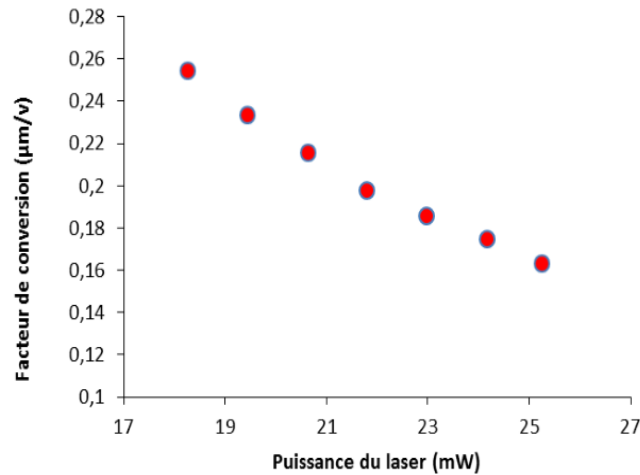


Figure 3 : Variation du facteur de conversion en fonction de la puissance du laser pour une bille de silice de diamètre $1 \mu\text{m}$ à $5 \mu\text{m}$ de la surface

3-1. Influence de la variation de la puissance du laser

La méthode de la densité spectrale de puissance, nous a permis de faire le traitement des données recueillies par le détecteur, nous avons donc obtenu les variations de la force et de l'efficacité du piège. (Voir *Figure 4* et *Figure 5* ci-dessous).

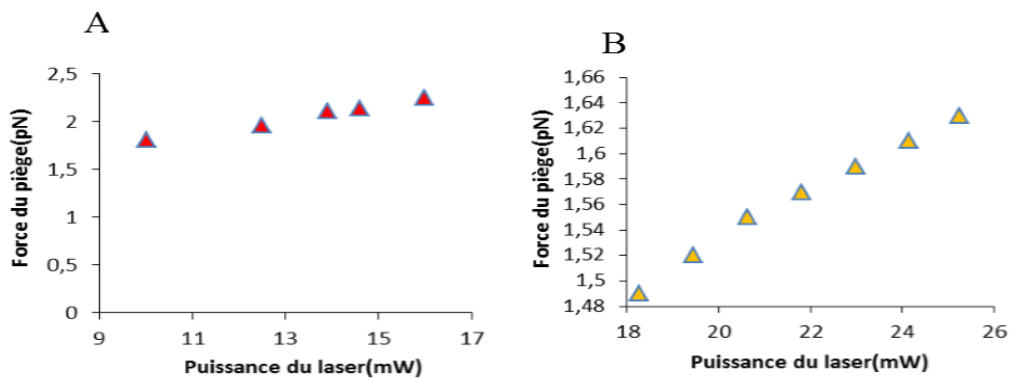


Figure 4 : (A) Variation de la force du piège en fonction de la puissance du laser pour une bille de silice de $2 \mu\text{m}$ à $205 \mu\text{m}$ de la surface et (B) variation de la force du piège en fonction de la puissance du laser pour une bille de silice de $1 \mu\text{m}$ à $5 \mu\text{m}$ de la surface

Pour ces deux types de bille, une relation linéaire entre la force du piège et la puissance du laser est observée pour chaque gamme de puissance laser donnée.

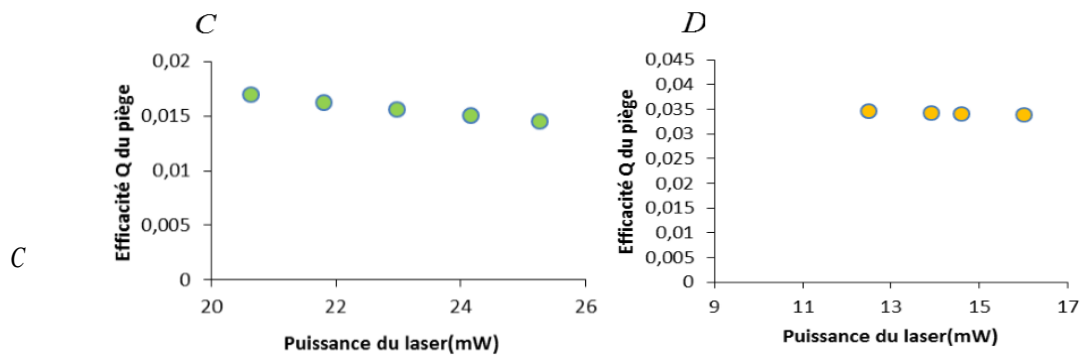
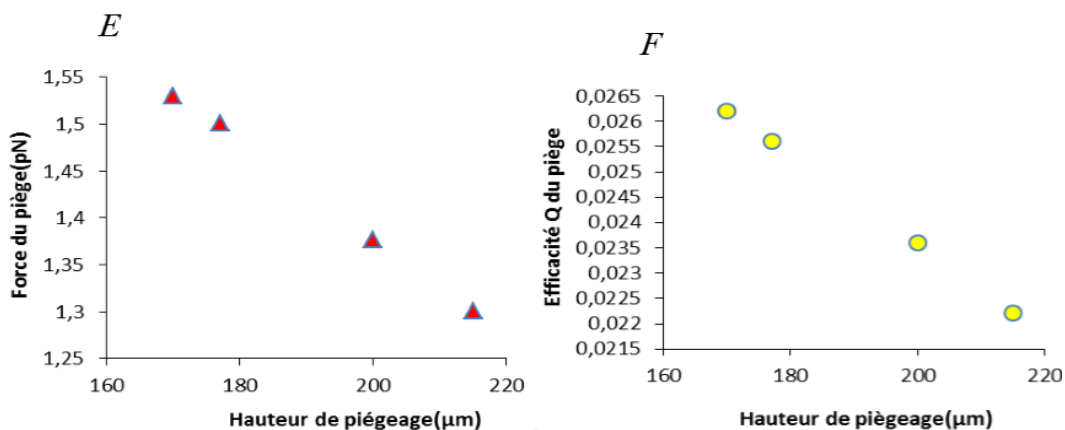


Figure 5 : (C) Variation de l'efficacité du piège (Q) en fonction de la puissance du laser pour une bille de diamètre $1 \mu\text{m}$ à $5 \mu\text{m}$ de la surface et (D) variation de l'efficacité du piège (Q) en fonction de la puissance du laser pour une bille de diamètre $2 \mu\text{m}$ à $205 \mu\text{m}$ de la surface

Pour la bille de $1 \mu\text{m}$, l'efficacité du piège décroît légèrement pour des puissances inférieures à 24 mW et au-delà, elle devient constante avec $Q \approx 0,016 \pm 0,002$. Nous remarquons que l'efficacité du piège pour la bille de $2 \mu\text{m}$ reste constante sur toute la gamme de puissance utilisée avec $Q \approx 0,034 \pm 0,001$.

3-2. Influence de la variation de la hauteur de piégeage

Dans cette partie nous nous sommes intéressés à la hauteur à laquelle la bille est piégée. Une bille de diamètre $2 \mu\text{m}$ a été piégée et en faisant varier la hauteur de piégeage à une puissance fixe de $13,17 \text{ mW}$, les évolutions linéaires de la force et de l'efficacité du piège en fonction de la hauteur ont été illustrées. (Figure 6).



3-3. Influence de la variation de la puissance du laser (cas de deux billes accolées)

Nous avons aussi porté un intérêt particulier à deux microbilles accolées de même diamètre $2 \mu\text{m}$ dont l'une est piégée et l'autre interagit avec celle qui est piégée (figure 7). Avec le détecteur à quatre quadrants, nous avons pu extraire les différentes positions de la bille piégée, ensuite la méthode de la densité spectrale de puissance nous a permis d'obtenir la fréquence de coupure et le coefficient de diffusion expérimental (figure 7). Les tendances de la force et de l'efficacité du piège ont été représentées (Figure 8).

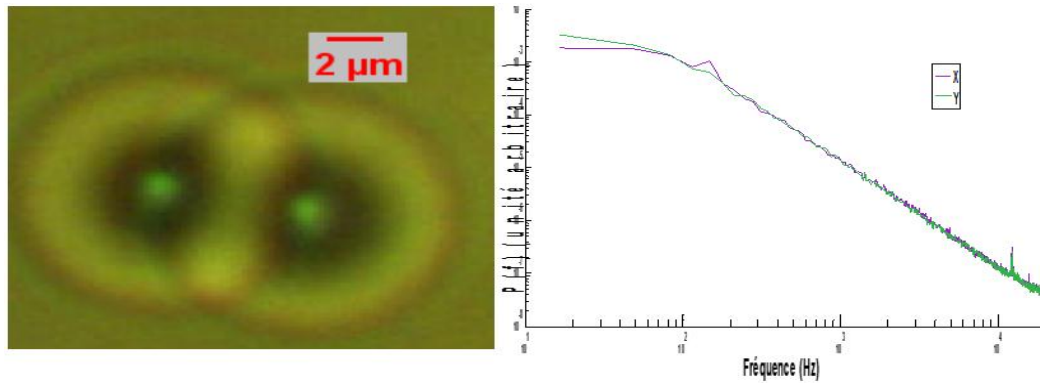


Figure 7 : Photo des deux billes accolées prise par la camera CCD et la représentation spectrale de la puissance en fonction de la fréquence pour ces deux billes accolées

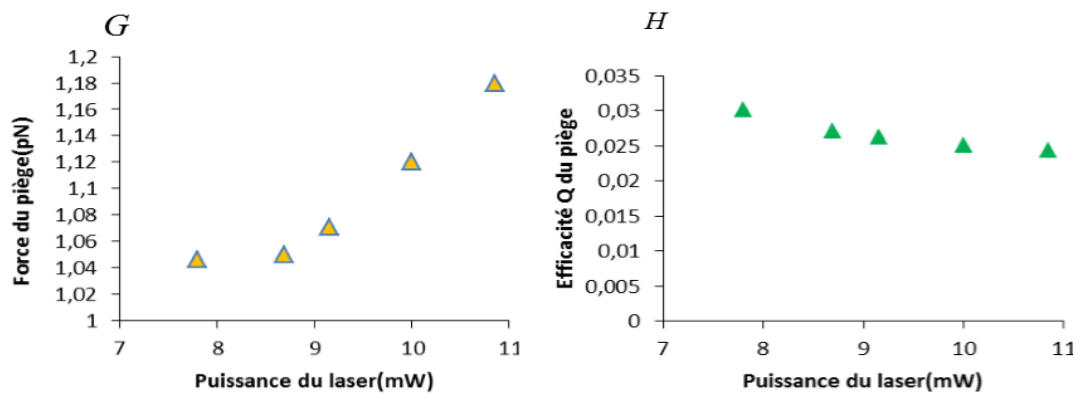


Figure 8 : (G) Variation de la force du piège en fonction de la puissance du laser pour deux billes de silice accolées de diamètre $2\ \mu\text{m}$ à la hauteur de $5\ \mu\text{m}$ de la surface et (H) variation de l'efficacité du piège en fonction de la puissance du laser pour deux billes de silice accolées de diamètre $2\ \mu\text{m}$ à la hauteur de $5\ \mu\text{m}$ de la surface

Nous constatons que la force du piège reste constante tant que la puissance du laser est inférieure à 9 mW et au-delà de cette puissance, une croissance linéaire est observée. Pour l'efficacité du piège, une légère décroissance linéaire est observée pour les puissances inférieures à 9 mW et au-delà, elle reste constante avec une valeur $Q \approx 0,025 \pm 0,001$.

4. Discussion

Le facteur de conversion qui permet de convertir les positions obtenues de volt en mètre ne varie pas en fonction de la hauteur de piégeage lorsqu'on utilise un objectif à eau à immersion [7]. Dans notre cas, nous avons remarqué que le facteur de conversion varie en fonction de la puissance et aussi en fonction de la hauteur, cela est due aux aberrations sphériques [13] puisque nous avons utilisé un objectif à huile à immersion. Dans leurs travaux, [9] ont piégé des billes de diamètre $4\ \mu\text{m}$, $10\ \mu\text{m}$ et $15\ \mu\text{m}$ et ont montrés que la force du piège croit en fonction de la puissance du laser et que l'efficacité ne varie pas lorsque la puissance du laser augmente. Nous avons également travaillé sur des billes de $1\ \mu\text{m}$ et $2\ \mu\text{m}$ de diamètre et nos résultats avec la bille de $2\ \mu\text{m}$ qui montrent que l'efficacité du piège ne dépend pas de la puissance du laser sont donc soutenus par ceux de [9]. Quant à la variation de la hauteur, nous avons observé une linéarité inverse entre l'efficacité du piège et la hauteur, de même pour la force du piège. Cela est due au fait qu'avec

les aberrations sphériques, plus on piège en profondeur, plus le piège devient fort. Nous pouvons dire que le piège perd son efficacité lorsqu'on piège en surface dans le liquide dans lequel sont suspendues les billes. Un second aspect du problème est celui de la taille de la particule à étudier. La bille de 2 μm a été piégée en surface par rapport à celle de 1 μm qui a été piégée en profondeur dans le liquide, nous remarquons que l'efficacité du piège est restée constante avec une valeur supérieure à l'efficacité du piège obtenue avec la bille de 1 μm . Nous affirmons que la stabilité et l'efficacité du piège dépendent fortement de la taille de la particule à étudier. Cela s'explique par le fait qu'en surface, le mouvement que les atomes de la molécule du liquide confèrent à la bille est élevé qu'en profondeur. Pour les deux billes accolées, cette décroissance observée est justifiée par le fait que pour de faibles puissances du laser, l'action de la deuxième bille non piégée influence la position axiale de la bille emprisonnée.

5. Conclusion

Les résultats que nous avons obtenus contribuent à une meilleure caractérisation de l'efficacité des pièges optiques ; nos mesures montrent que pour des particules de taille supérieure à la longueur d'onde du laser, l'efficacité du piège ne dépend pas de la puissance du laser ; de plus le piège perd son efficacité lorsque la hauteur à laquelle la bille est piégée augmente. Pour ces forces à l'échelle des pico-newtons, appelées à être appliquées aux spécimens biologiques, il est important de maintenir la qualité et la stabilité du piège. Il est ainsi commode de choisir une hauteur et la maintenir fixe pendant les expériences. Cette technique de la densité spectrale de puissance, nous a également permis d'étudier la situation de deux microbilles accolées latéralement ; nos mesures montrent que pour deux particules en interaction, il existe une puissance minimale du laser à partir de laquelle l'efficacité du piège commence à se stabiliser. Nous notons que cette méthode permet de déterminer rapidement le facteur de conversion qui varie à chaque mesure.

Références

- [1] - A. ASHKIN, Acceleration and trapping of particles by radiation pressure, *Phys Rev Lett.*, 24 (1970) 156-159.
- [2] - M. J. LANG and S. M. BLOCK, Resource letter: LBOT-1: laser-based optical tweezers, *Am. J. Phys.*, 71(3) (2003) 201 - 215.
- [3] - A. ASHKIN, Forces of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regime, *Biophysical Journal*, 61 (1992) 569 - 582.
- [4] - Y. HARADA and T. ASAKURA, Radiation forces on a dielectric sphere in the Rayleigh scattering regime, *Optics Communications*, 124 (1996) 529 - 541.
- [5] - G. GOUESBET, B. MAHEU and G. GRÉHAN, Light scattering from a sphere arbitrarily located in a Gaussian beam, using a Bromwich formulation, *J. Opt. Soc. Am. A.*, 5 No. 9 (1988) 1427 - 1443.
- [6] - K. NEUMAN C and S. M. BLOCK, Optical trapping, *Rev. Sci Inst.*, 75 (2004) 2787 - 2809.
- [7] - KAREN C. VERMEULEN, J. VAN MAMEREN, GER J. M. STIENEN, ERWIN J. G. PETERMAN, GIJS J. L. WUITE and C. F. SCHMIDT, Calibrating bead displacements in optical tweezers using acousto-optic deflectors, *Review of Scientific Instruments*, 77 (2006) 013704.
- [8] - A. BUOSCIOLO, G. PESCE, A. SASSO, New calibration method for position detector for simultaneous measurements of force constants and local viscosity in optical tweezers, *Optics Communications*, 230 (4-6) (2004) 357 - 368.
- [9] - N. KHATIBZADEH, Y. ROCHA, L. Z. SHI and M. W. BERNS, Effect of media viscosity and particle size on optical trapping of microspheres, *Proceedings of SPIE*, (2014) 8947.

- [10] - K. SVOBODA and S.M. BLOCK, Biological Applications of Optical Forces, *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 23 (1994) 247 - 285.
- [11] - S. YAMADA, D. WIRTZ and S. C. KUO, Mechanics of living cells measured by laser tracking microrheology, *Biophys J.*, 78 (4) (2000) 1736 - 47.
- [12] - S. F. TOLIC-NORRELYKKE, E. SHÄFFER, J. HOWARD, F. S. PAVONE, F. JÜLICHER, and H. FLYVBJERG, Calibration of optical tweezers with positional detection in the focal plane, *Review of Scientific Instruments*, 77 (2006) 1031013,4.
- [13] - KAREN C. VERMEULEN, GIJS J. L. WUITE, GER J. M. STIENEN and CHRISTOPH F. SCHMIDT, Optical trap stiffness in the presence and absence of spherical aberrations, *Applied Optics*, 45 (8) (2006) 1812 - 1819.