

# 上下入射光による微粒子の操作

## —光トラップカの解析と応用—

橘 彰一\*・浮田 宏生\*\*

\*立命館大学大学院理工学研究科 〒525-8577 草津市野路東 1-1-1

\*\*立命館大学理工学部 〒525-8577 草津市野路東 1-1-1

## Optical Manipulation of Micro-Spheres with Upward-Directed and Downward-Directed Laser Beams

Shoichi TACHIBANA\* and Hiroo UKITA\*\*

\*Graduate School of Science and Engineering, Ritsumeikan University, 1-1-1, Nojihigashi, Kusatsu 525-8577

\*\*Faculty of Science and Engineering, Ritsumeikan University, 1-1-1, Nojihigashi, Kusatsu 525-8577

Optical tweezers are foreseen as a method for producing a three-dimensional micro-structure. In this paper, the optical trapping characteristics of spherical particles are theoretically and experimentally analyzed. In theoretical analysis, ray optics theory is used to calculate the optical trapping forces by considering the Brownian movement. In the experimental analysis, we have constructed an experimental setup to trap and manipulate particles with upward-directed and downward-directed laser beams, and have measured the minimum laser power for axially trapping particles. As a result, the experimental value is in fairly good agreement with the theoretical one (only about 1.5 times differences) for glass (heavy) particles 5.8  $\mu\text{m}$  in diameter. Furthermore, we confirm the possibility to manipulate particles with upward-directed and downward-directed laser beams at the same time to construct a three-dimensional micro-object.

### 1. はじめに

光の直接力作用である光圧を利用した光ピンセット技術は、ミクロンオーダーの物体を非接触、非破壊で3次元的に操作できる。また、複数の光ビームを用いるとマイクロ構造物を組み立てられる可能性があるため、マイクロマシンの分野でも注目されている<sup>1,2)</sup>。

筆者らは、このような観点から光ピンセット装置を試作した。本装置は高出力(16 W)のNd:YAGレーザー(波長1.06  $\mu\text{m}$ )を使用しているため、ガラスのような重粒子も容易に光トラップできる<sup>3)</sup>。また、上方向と下方向の2ビームにより同時に光トラップが可能である<sup>4,5)</sup>。

本論文では、まず幾何光学による光ピンセットの理論と試作装置の概要を述べ、次に従来報告例のなかった上下入射光によるポリスチレン球(軽粒子)とガラス球(重粒子)

の光トラップ特性を実験的・理論的に解析した。最後に、1本の光ビームが他方の光ビームの光トラップを妨害しない配置を想定し、上下2本の同時入射光による微粒子の同時光操作について実験検討した。

### 2. 光ピンセットの理論解析

#### 2.1 幾何光学理論

粒子サイズが光ビームの波長よりも十分大きい場合、微粒子に生じる光トラップ力 $F$ は幾何光学理論によって導くことができ、パワー $P$ のレーザー光が微粒子に及ぼす光圧は次式で表される。

$$F = Q \frac{n_1 P}{c} \quad (1)$$

ここに、 $n_1$ は周辺媒質の屈折率、 $c$ は真空における光速である。 $Q$ はトラッピング効率と呼ばれる無次元の係数で微粒子の形状や屈折率に依存する。したがって、光トラップ力の計算はこの $Q$ を解析することに帰着する。

\*現在：シャープ(株)電子部品事業本部 (〒639-2198 奈良県北葛城郡新庄町はじかみ 282-1)

\*\*E-mail: ukita@se.ritsumei.ac.jp

入射角  $\theta_1$  の光線が球状微粒子に及ぼす光圧  $F_t$  を、次の2つの成分に分解して考察する。すなわち、入射光線に平行な成分  $F_s$  と、それに垂直な成分  $F_g$  である。 $F_s$ ,  $F_g$  はそれぞれ散乱力、勾配力と呼ばれ、次式で表される<sup>9)</sup>。

$$F_s = Q_s \frac{n_1 P}{c} = \frac{n_1 P}{c} \times \left[ 1 + R \cos 2\theta_1 - \frac{T^2 \{ \cos 2(\theta_1 - \theta_2) + R \cos 2\theta_1 \}}{1 + R^2 + 2R \cos 2\theta_2} \right] \quad (2)$$

$$F_g = Q_g \frac{n_1 P}{c} = \frac{n_1 P}{c} \times \left[ R \sin 2\theta_1 - \frac{T^2 \{ \sin 2(\theta_1 - \theta_2) + R \sin 2\theta_1 \}}{1 + R^2 + 2R \cos 2\theta_2} \right] \quad (3)$$

ここに、 $R$ ,  $T$  はそれぞれ光ビーム入射点での反射率、透過率、 $\theta_2$  は光線の屈折角である。また、 $Q_s$ ,  $Q_g$  はそれぞれ、散乱力  $F_s$ , 勾配力  $F_g$  のトラッピング効率である。

この結果、1本の光線によって発生する光圧  $F_t$ , およびトラッピング効率  $Q_t$  は、

$$F_t = (F_s^2 + F_g^2)^{1/2} = Q_t \frac{n_1 P}{c} \quad (4)$$

$$Q_t = (Q_s^2 + Q_g^2)^{1/2} \quad (5)$$

となる。

Fig. 1 は、純水中(屈折率 1.33)のガラス球(屈折率 1.51)に、開口数 NA が 1.25 の対物レンズで、矩形強度分布の光ビームを集光照射したときの  $Q$  の計算結果である。微粒子と周辺媒質との境界付近に光ビームの焦点があるとき微粒子には最も大きな光圧が作用する。最小光トラップパワー(光トラップ可能な最小の光強度)では、効率が最も高い上記の境界位置で光トラップされる。

## 2.2 光軸方向トラップ力

光軸方向の光トラップ力  $F_a$  は、重力-浮力の次式を利用して測定される。

$$F_{ax} = \frac{\pi}{6} (\rho_s - \rho_m) d^3 g \quad (6)$$

ここに、 $\rho_s$ ,  $\rho_m$  はそれぞれ、微粒子、周辺媒質の比重、 $d$  は微粒子の直径、 $g$  は重力加速度である。この式は、熱運動の影響を無視できる十分大きい重粒子が対象となる。

一方、サイズが小さい微粒子、特に軽粒子の場合は、熱運動による力を考慮しなければならない<sup>7)</sup>。光トラップ力の弾性定数を  $K$ , 釣り合い位置からの変位を  $z$  とすると、微粒子が光トラップから離脱する瞬間、弾性力による位置エネルギーと熱エネルギーが等しくなるので次式が成り立つ。

$$\frac{Kz^2}{2} = \frac{kT}{2} \quad (7)$$

ここに、 $k$  はボルツマン定数、 $T$  は絶対温度である。よって、光トラップ力の弾性定数  $K$  は、

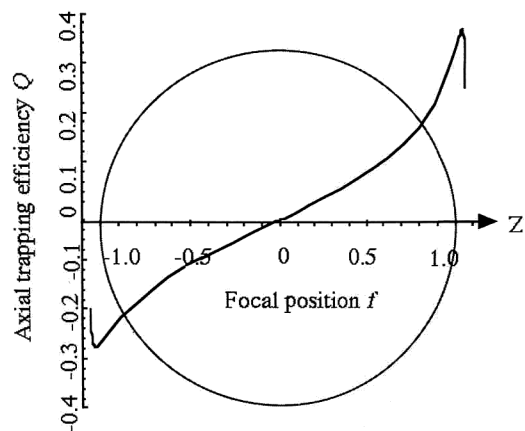


Fig. 1. Trapping efficiency  $Q$  along the  $Z$  axis calculated as a function of the focal position  $f$ .

$$K = \frac{kT}{z^2} \quad (8)$$

となる。最小光トラップパワーでは光ビームの焦点位置が微粒子の頂上付近でトラップされるので  $z = d/2$  とし、

$$F_{ax} = Kz = \frac{kT}{z^2} \cdot z = \frac{2kT}{d} \quad (9)$$

となる。本論文では、重力、浮力、熱運動を考慮した次式

$$F_{ax} = \frac{\pi}{6} (\rho_s - \rho_m) d^3 g + \frac{2kT}{d} \quad (10)$$

を用いる。

なお、以下の解析における光ビームの強度プロファイルは、実験条件(直径 8.2 mm のガウスビームを口径 4.5 mm, 開口数 NA=1.25 の対物レンズに入射する)と同一条件とした。

## 3. 試作光ピンセット装置

### 3.1 装置の構成

光ピンセット装置の概略を Figs. 2(a), (b) に示す。まず、レーザー(YAG, 1.06  $\mu\text{m}$ , 16 W) から出射した光ビームを  $\lambda/4$  波長板によって円偏光にし、光トラッピングにおける偏光特性を解消するとともに、ビームエキスパンダーによって直径 8.2 mm に拡大した。次に、ハーフミラーによって2方向に分け、それぞれ同一特性の上下対物レンズに導入した。したがって対物レンズにはほぼ矩形のエネルギー分布を有する光ビームが入射する。なお、同図(b)に各光学素子の反射率、透過率の測定値を示す。

Figs. 3(a), (b) は上下入射光用顕微鏡ステージ(オリンパス社製 BHSM-IR) の写真と詳細図である。微粒子を分散した純水をカバーガラスで挟み込み、厚み約 170  $\mu\text{m}$  の液の層(カバーガラスの厚み)をつくる。この液層内の微粒子を上下方向から口径 4.5 mm, 開口数 1.25 の油浸対物レンズを用いて光トラップする。本装置は上下入射光と

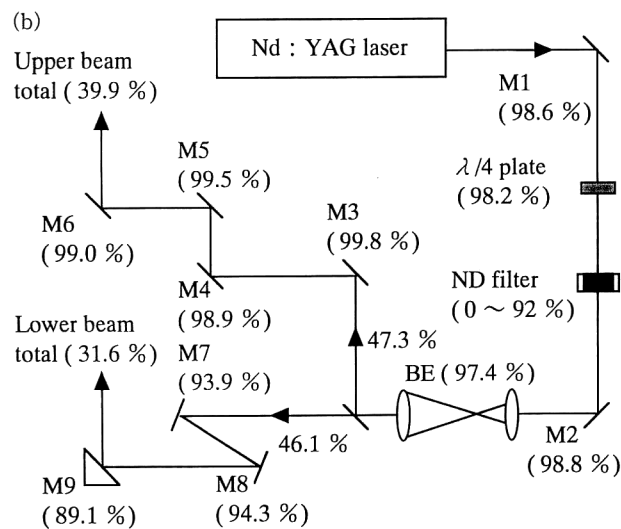
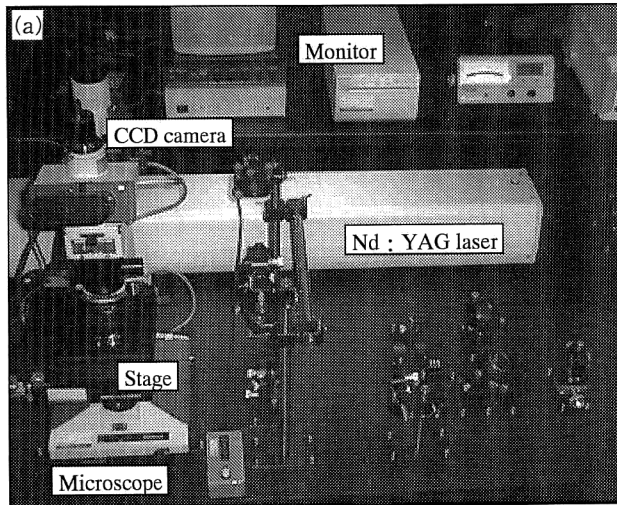


Fig. 2. (a) A photograph of an experimental setup to trap and manipulate particles using a YAG laser beam, (b) transmittance or reflectance of each optical element in the optical setup.

も、光学的には全く同一の特性になっている。実験は、静電気の影響を極力なくするため、実験室全体の湿度を上げ、導電性スリッパや制電エプロンなどを着用し行った。

なお、Table 1 は本稿で用いた微粒子の特性一覧である。

### 3.2 最小光トラップパワーの測定

測定方法はまず上または下対物レンズに光ビームを導入し、液層中で微粒子を光トラップする。次に ND フィルターを用いて、微粒子を照射する光パワーを徐々に減少させる。そして、重力によって微粒子が下に落ちる瞬間を、CCD カメラとモニターで観察しそのときの光パワーを測定する。

## 4. 上下入射光による光トラッピング特性

### 4.1 トラップ位置依存性

Fig. 4 は光軸方向の最小光トラップパワーのトラップ位

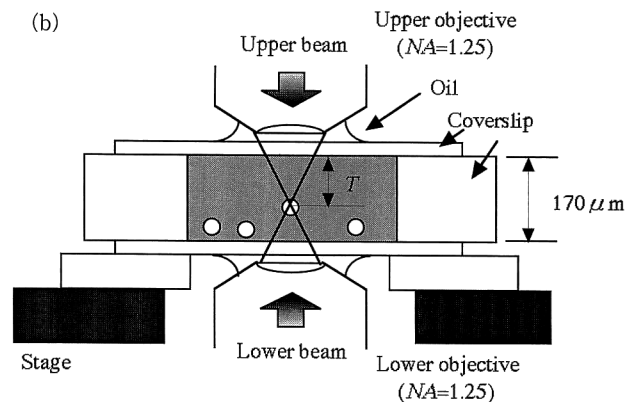
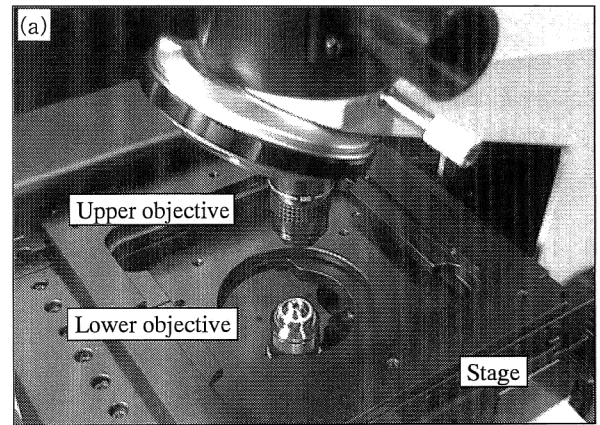


Fig. 3. (a) A photograph of the optical trapping microscope stage. Upper and lower objectives are seen in the figure. (b) Two objective lenses used to trap particles with downward-directed and upward-directed laser beams.

Table 1. Particles used for the experiment.

Material	Light particles			Heavy particles			
	Polystyrene			Glass			
Density (g/m)	1.06			2.54			
Index of refraction	1.6			1.51			
Diameter (μm)	3.23	5.85	7.73	1.0	2.5	3.1	5.8

置依存性測定結果である。測定に用いた微粒子は、熱運動や静電気の影響を受けにくい重粒子のガラス球（直径 3.1 μm, Table 1 参照）を選んだ。縦軸が最小光トラップパワー、横軸がトラップ位置  $T$  である。トラップ位置  $T$  とは光ビームの焦点とカバーガラス壁面との距離である（上方ビームでは液層上端からの距離：Fig. 3(b) 参照, 下方ビームでは液層下端からの距離）。測定値 6~10 点の平均値を ○ 印（上入射）、△ 印（下入射）で示した。

トラップ位置  $T$  が増すに従って最小光トラップパワーは直線的に増加し、微粒子を捕捉しにくくなる。これは、ガラスと純水の屈折率の違いから  $T$  が増すと球面収差が増加し、光ビームを効率よく集光できなくなってトラップ

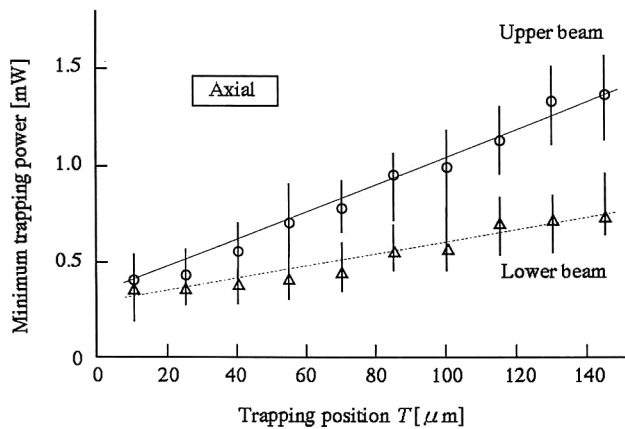


Fig. 4. Dependence of the minimum axial trapping power for a glass particle,  $d=3.1 \mu\text{m}$  in diameter, on the trapping position from a coverslip.

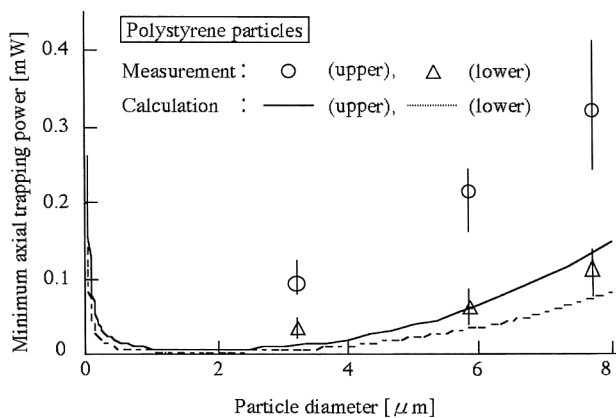


Fig. 5. Dependence of the minimum axial trapping power on the diameter for polystyrene particles.

力が減少するためである。

#### 4.2 軽粒子の場合の粒子径依存性

軽粒子 (Table 1 参照) に対する光軸方向最小光トラップパワーの粒子径依存性を Fig. 5 に示す。縦軸が最小光トラップパワー、横軸が微粒子の直径である。測定値を○印 (上入射,  $T=10 \mu\text{m}$ ), △印 (下入射,  $T=75 \mu\text{m}$ ) で示す。実線が上トラップ、波線が下トラップの理論値 (式(10)) である。実験値と理論値の差は大きい, その比は, 粒子径が  $3.25 \mu\text{m}$ ,  $5.85 \mu\text{m}$ ,  $7.73 \mu\text{m}$  の場合, 上トラップではそれぞれ 7.6, 3.5, 2.4, 下トラップでは 4.0, 1.7, 1.5 となり, 粒子径が大きくなるにつれ 1 に近づくことがわかる。Table 2, Table 3 に結果を要約して示す。

また, 実験では上入射の方が壁面との距離が短いため壁面の引力を強く受け, 壁面の効果を除くとより大きなパワーが必要になる。以上の結果, 下入射光では上入射光よりも少ない光パワーで微粒子を捕捉することができる。また, 熱運動を考慮したことにより, 理論曲線は粒子

Table 2. Trapping power (experimental/theoretical) for polystyrene particles.

Diameter ( $\mu\text{m}$ )	Upward-directed	Downward-directed
3.25	7.6	4.0
5.85	3.5	1.7
7.73	2.4	1.5

Table 3. Trapping power (experimental/theoretical) for glass particles.

Diameter ( $\mu\text{m}$ )	Upward-directed	Downward-directed
1.0	40	50
2.5	2.5	2.2
3.1	1.9	2.0
5.1	1.8	1.7
5.8	1.5	—

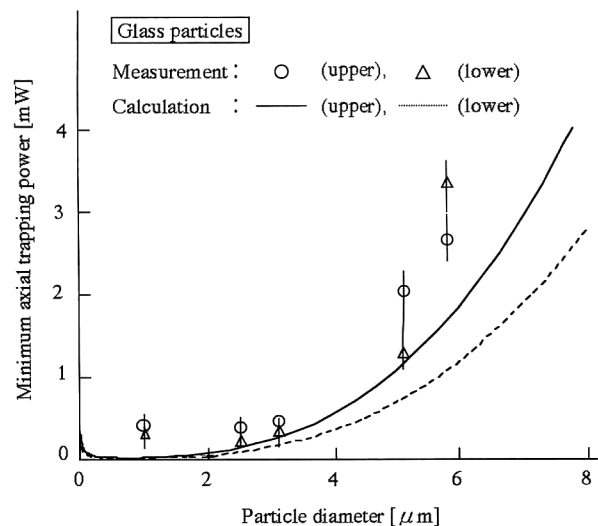


Fig. 6. Dependence of the minimum axial trapping power on the diameter for glass particles.

径  $1 \mu\text{m}$  以下で光トラップパワーが急増している。

#### 4.3 重粒子の場合の粒子径依存性

Fig. 6 は, 重粒子 (Table 1 参照) に対する光軸方向最小光トラップパワーの粒子径依存性である。上下入射光ともトラップ位置  $T$  は  $10 \mu\text{m}$  である。

軽粒子の場合 (Fig. 6) に比べて, 実験値と理論値のずれが少ない。軽粒子の場合と同じように, 粒子径が大きくなると実験値と理論値の比は 1 に近づく (上トラップの場合粒子径  $5.8 \mu\text{m}$  で比は 1.5) ことがわかる。なお, 図中,  $5.8 \mu\text{m}$  の場合の上下トラップ最小パワーの逆転現象の原因は以下のように推定される。微粒子が光トラップされる位置は微粒子の上表面近傍である。今  $T=10 \mu\text{m}$  なので, ガラス面と微粒子の間隔は上トラップの場合は約  $10 \mu\text{m}$  であるのに対し, 下トラップの場合は約  $4 \mu\text{m}$  ( $10-5.8 \mu\text{m}$ ) になるため, 下トラップでは壁面力の影響を強く受ける。壁

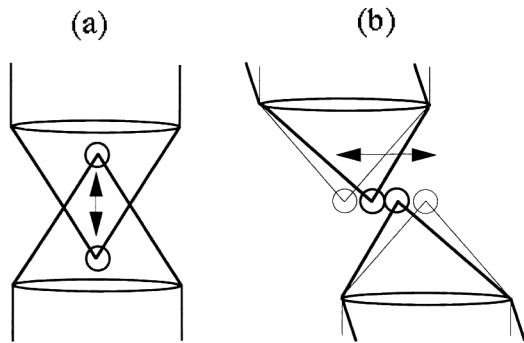


Fig. 7. Manipulation of particle(s) by upward-directed and downward-directed laser beams. (a) Transfer of a single particle in the vertical direction, (b) contact of two particles.

面力は引力なので、微粒子を下に引っ張ることになり、下トラップでは大きな力が必要になる。これに対し、上トラップでは壁面力自体が小さいだけでなく、壁面力は上向きでありこれは光トラップを助ける方向に作用している。この結果、上下トラップ力の大きさが逆転したように観測されている。

また、重粒子の場合でも直径が小さくなって  $1.0 \mu\text{m}$  程度に近づくと熱運動の影響が大きくなり、 $2.5 \mu\text{m}$  の微粒子よりも光トラップしにくくなっている。

#### 4.4 光トラッピング特性の要約

以上の解析の結果、上下入射光の光トラッピング特性は以下のように要約できる。

- (1) 上下入射光による光トラップ力の差異：下入射では上入射に比べ少ない光パワーで微粒子を光トラップできる。これは、上入射では微粒子を光ビームの焦点位置に引き寄せる力（勾配力）がトラップ力になり微粒子を光ビームの進行方向に押し出す力（散乱力）は光トラップを妨げるのに対し、下入射では勾配力と散乱力がともに光トラップ力となるためである。
- (2) レンズの球面収差の影響：球面収差は油浸対物レンズのオイルの屈折率（1.52）と周辺媒質である純水の屈折率（1.33）の違いによって生じ、水の層が厚いほど収差は大きい。このため、レンズから離れた位置ではトラップ力が低下する。
- (3) 壁面力の影響：壁面力は微粒子とカバーガラス壁面との相互作用（引力）によるもので、分子間力や粘性抵抗が考えられるが、詳細については不明である。
- (4) 熱運動の影響：微粒子の直径が  $1 \mu\text{m}$  以下の軽粒子で顕著であり、最小光トラップパワーが急増する。

最後に、本解析では (2)～(4) を最小限に抑え、上下入射光の光トラップ力を理論値と実験値から総合解析した。

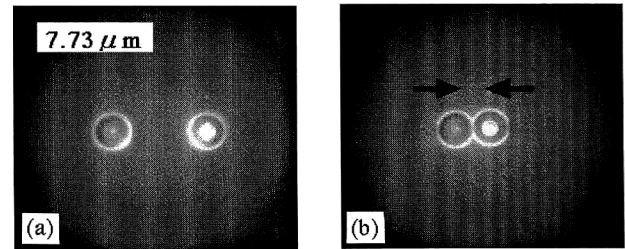


Fig. 8. Photographs showing how to contact two particles. (a) Trapped with upper laser beam (left) and with lower laser beam (right), (b) contact of two particles.

その結果、ガラス球のような重粒子では、粒径が直径  $5.8 \mu\text{m}$  になると実験値は理論値の 1.5 倍ぐらいまで近接するが、小さい粒径やポリスチレンラテックスのような軽粒子では差が大きいことが判明した。この原因としては、

- (i) 集光点近傍では実際の光ビームは平行（ビームウェスト）になるが、幾何光学による本解析では集光角（ $\text{NA}=1.25$  の場合  $70^\circ$ ）を一定とした、
- (ii) 波長程度ないしそれ以下の大きさの微粒子に対しては、幾何光学理論の適用限界である、
- (iii) ポリスチレンは帯電しやすいので、静電気力の影響を受けやすい、

が想定される。

なお、直径が  $7 \mu\text{m}$  のポリスチレン球で実験値が理論値の 2 倍程度となった報告例がある<sup>8)</sup>。

#### 5. マイクロアセンブリーに関する一考察

以上、上下入射光による光トラップ特性を実験的、理論的に解析するとともに、液層内で単一微粒子を自由に捕捉、操作できることを示した。このように上下対物レンズに光ビームを同時に導入する場合には、2本の光ビームが相互に妨害しないので、両ビームを人間の両手のように活用して、微粒子を微小空間で自在に操ることが可能である。

筆者らは、上下入射光の光パワーを変化させることにより単一微粒子を上下の焦点間で移動させ (Fig. 7(a))、また上下入射光でそれぞれ独立に微粒子をトラップし光ビームを走査することにより2つの微粒子を移動し接触できることを検証した (Fig. 7(b), Fig. 8)<sup>4,5)</sup>。この手法を用いれば従来のマイクロマシニング（平面加工）では困難であった3次元マイクロ構造物作製の可能性がある<sup>1,2,9,10)</sup>。

光ピンセット技術によりマイクロ構造物の組み立てを実現するには、本研究の光トラッピング解析をさらに発展させ、対象となる微粒子の物性や形状に基づく光トラップの位置、姿勢、安定性などを明らかにする必要がある。さら

に、微粒子同士の接着方法や安定な操作のための側方観察系などが必要である。

最近、大気中で微粒子を捕捉可能なことが示された<sup>11,12)</sup>。これにより、環境の影響が少なく取り扱いも容易になることが予想され、光ピンセット技術の応用範囲がさらに広がると思われる。

## 6. ま と め

本研究では、球状微粒子に対する光トラップ力を理論的、実験的に解析し、レーザー光の入射方向、媒質、壁面などの影響によって、光トラッピング特性が大きく異なることを示した。

まず幾何光学を用いた理論解析では、各種条件下で光軸方向のトラッピング効率を計算し、熱運動を考慮した光トラップ力の理論式を示した。

次に光ピンセット装置を試作し、上下入射光による光トラッピング特性を総合的に検討し、上記理論値と比較検討することにより以下の知見を得た。

- (1) 下入射では上入射に比べ微粒子の捕捉と操作が格段に容易になる。
- (2) 壁面近傍の微粒子は、光トラップに対するレンズの球面収差は小さいが、壁面から引力を受ける。
- (3) 粒子径が数 $\mu\text{m}$ 以下では幾何光学の波長限界や熱運動の影響が表れ、後者は特にポリスチレン球などの軽粒子で顕著になる。

最後に、上下入射光を用いて微粒子の移送や操作に関する一実験を行い、今後の課題を明らかにするとともに、光ピンセットによるマイクロアセンブリーの可能性を示

した。

学外実習でお世話になった NTT 光エレクトロニクス研究所 日暮栄治氏に感謝します。

## 文 献

- 1) 浮田宏生：“光ピンセット技術”，電学論 E, **61** (1996) 11-15.
- 2) 三澤弘明，三輪昌史：“レーザー光を利用した微粒子のマニピュレーション技術”，精密工学会誌, **63** (1997) 959-962.
- 3) 橘 彰一，浮田宏生：“上下入射光による光トラップ力に関する一実験”，電気関係学会関西支部連合大会, G7-2 (1997) p. G210.
- 4) 橘 彰一，浮田宏生：“上下入射光による微粒子の捕捉と操作”，電子情報通信学会総合大会, C-3-165 (1997) p. 350.
- 5) 橘 彰一，浮田宏生：“光ピンセット装置の試作と基本特性”，電気学会研究会資料（マイクロマシン研究会）(1998) pp. 49-54.
- 6) A. Ashkin: “Forces of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regime,” *Biophys. J.*, **61** (1992) 569-582.
- 7) H. Felgner, O. Muller and M. Schliwa: “Calibration of light forces in optical tweezers,” *Appl. Opt.*, **34** (1995) 977-982.
- 8) R. Omori, T. Kobayashi, S. Miyamoto and A. Suzuki: “Measurements of optical trapping efficiency for micron-sized dielectric particles in various surrounding media,” *Opt. Rev.*, **3** (1996) 11-13.
- 9) 三澤弘明：“マイクロマシン材料のレーザー化学加工”，レーザー研究, **24** (1996) 750-756.
- 10) 日暮栄治：“光マニピュレーションとマイクロエネルギー源”，レーザー研究, **24** (1996) 1169-1177.
- 11) 池野順一，沢木大輔，堀内 幸：“レーザー光線による微粒子の操作とその応用に関する研究（第4報）～空中における微粒子の浮上について～”，精密工学会春季大会学術講演会講演論文集 (1996) pp. 705-706.
- 12) R. Omori, T. Kobayashi and A. Suzuki: “Observation of a single-beam gradient-force optical trap for dielectric particles in air,” *Opt. Lett.*, **22** (1997) 816-818.