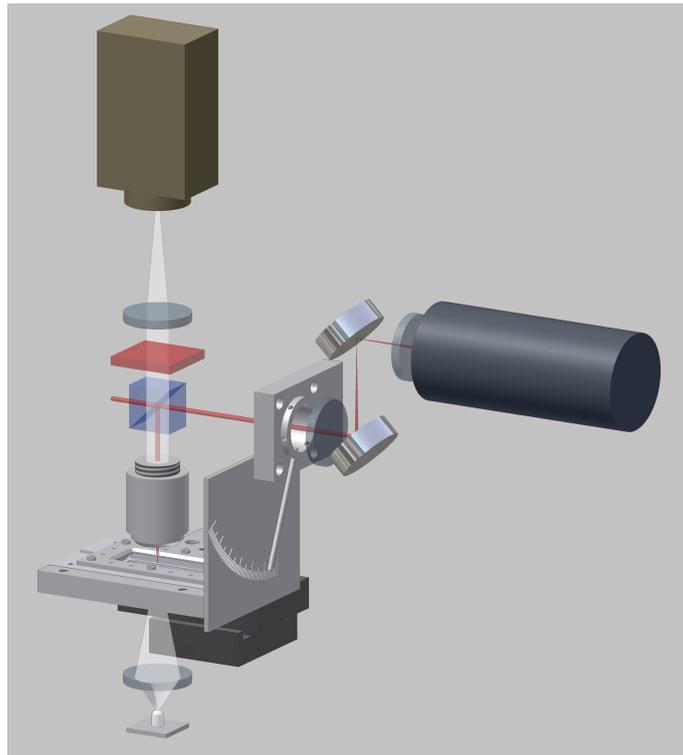


Aufbau und Konzeptionierung einer optischen Pinzette für das Anfängerpraktikum



Wissenschaftliche Arbeit
von Antje Tönnies

Universität Stuttgart
2. Physikalisches Institut
Lehrstuhl Prof. Dr. C. Bechinger
Mai 2005

„Das erstaunlichste an der Welt ist, dass man sie verstehen kann“

Albert Einstein

„Ich erkläre, dass ich die Arbeit selbstständig und nur mit den angegebenen Hilfsmitteln angefertigt und dass ich alle Stellen, die dem Wortlaut oder dem Sinne nach anderen Werken entnommen sind, durch Angabe der Quellen als Entlehnung kenntlich gemacht habe.“

„Im Falle der Aufbewahrung meiner Arbeit im Staatsarchiv erkläre ich mein Einverständnis, dass die Arbeit zugänglich gemacht wird.“

Stuttgart, den 11.05.2005

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	7
2. Grundlagen	9
2.1. Kolloidale Systeme	9
2.2. Wechselwirkungen in einem kolloidalen System	10
2.3. Bewegungen der Kolloide im System	12
2.4. Die optische Pinzette	14
2.5. Anwendung der Computerprogramme	18
2.5.1. Visiometrics IPS	18
2.5.2. Perl-Programme	20
3. Aufbau der optischen Pinzette	23
3.1. Der Aufbau im Überblick	23
3.2. Der Aufbau im Detail	25
3.3. Worauf bei der Planung geachtet wurde	29
3.4. Aufgetretene Probleme	29
3.5. Die Zellen und ihre Präparation	30
4. Die optische Pinzette als Praktikumsversuch	33
4.1. Der Praktikumsversuch	33
4.1.1. Messaufgabe der Studenten	33
4.1.2. Auswertung des ersten Versuchsteils	34
4.1.3. Auswertung des zweiten Versuchsteils	37
4.2. Messung der effektiven Viskosität in der Zelle	42
4.3. Lernziele für die Studenten	44
5. Hinweise für die Praktikumsbetreuung	45
5.1. Verständnisfragen	45
5.2. Mögliche Probleme bei der Durchführung	47
5.3. Hinweise zur Versuchsdurchführung	48
5.4. Hinweise zur Justage	49
6. Zusammenfassung	51

A. Eichkurve	
„Laserintensität in Abhängigkeit des Winkels“	53
B. Aufschlüsselung der Kosten	55
C. Mischverhältnis der kolloidalen Suspension	57
Literaturverzeichnis	59
Abbildungsverzeichnis	61

1. Einleitung

Das Jahr 2005 wird als „Einsteinjahr“ gefeiert, da Albert Einstein vor hundert Jahren fünf Artikel veröffentlichte, welche ein neues Weltbild der Physik erklärten. Seine Lichtquantenhypothese und die spezielle Relativitätstheorie ist den meisten Menschen ein Begriff. Die wenigsten wissen jedoch, dass Einstein auch eine Erklärung zur Brownschen Bewegung lieferte. Diese Bewegung kann mit einem optischen Mikroskop beobachtet werden und folgt aus thermischen Fluktuationen der Moleküle. Zur Untersuchung der Brownschen Bewegung bietet sich eine kolloidale Suspension an, in der sich mesoskopische Partikel in einem Lösungsmittel frei bewegen können. Mit einer Teilchenfalle kann die freie Bewegung der Partikel eingeschränkt werden. Eine mögliche Falle für Kolloidteilchen ist die optische Pinzette, welche die Partikel auf Grund von Lichtkräften fängt. In dieser wissenschaftlichen Arbeit wurde ein Praktikumsversuch für das physikalische Anfängerpraktikum der Universität Stuttgart entwickelt, der die Bewegung von Kolloidpartikeln und die Auswirkungen einer optischen Pinzette auf diese Bewegung behandelt. Die Idee, dieses Thema in das Anfängerpraktikum zu integrieren, entsprang der Tatsache, dass optische Pinzetten mittlerweile in vielen naturwissenschaftlichen Forschungseinrichtungen eingesetzt werden. Die zugehörige Theorie gewinnt deshalb in den Studienplänen der naturwissenschaftlichen Fächer an Bedeutung. Jedoch auch für Studenten der Ingenieurwissenschaften beinhaltet der neu konzipierte Praktikumsversuch interessante Aspekte. So werden die Partikelbewegungen mit Hilfe eines Bilderkennungsprogramms untersucht und aufgezeichnet. Die Studenten lernen dadurch eine Form der Videomikroskopie kennen, die in der heutigen industriellen Forschung und Entwicklung eine wichtige Rolle spielt. Denkt man z.B. an die Roboterindustrie, die Wettbewerbe für unbemannte Autos veranstaltet, die ihre Umgebung erkennen und daraufhin ihren Weg durch die Wüste finden müssen.

Die Arbeit gliedert sich in vier Teile. Auf die theoretischen Grundlagen in Kapitel 1 folgt mit Kapitel 2 eine Beschreibung des Aufbaus der optischen Pinzette. Das dritte und vierte Kapitel beschreiben den Praktikumsversuch. Dabei wird nicht nur die Messaufgabe für die Studenten und eine Beispielauswertung beschrieben, sondern auch mögliche Probleme, die bei der Versuchsdurchführung auftreten können. Weiter wird auf die Lernziele, die der Versuch den Studenten übermitteln soll, hingewiesen. Die Praktikumsanleitungen für die Studenten und Betreuer setzen sich aus Teilen dieser wissenschaftlichen Arbeit zusammen. Deshalb sind z.B. die theoretischen Grundlagen möglichst einfach und für Grundstudiumsstudenten verständlich verfasst.

2. Grundlagen

In diesem für das Anfängerpraktikum konzipierten Versuch sollen mit Hilfe einer optischen Pinzette Kolloide gefangen und bewegt werden. Da die Kolloidphysik noch jung ist, findet man in den Standardlehrbüchern kaum etwas darüber. Deshalb sind die folgenden Grundlagen sehr ausführlich geschrieben. Dieses Kapitel erklärt was ein Kolloid ist und wie es mit einer optischen Pinzette gefangen werden kann. Ergänzend folgt eine kurze Einführung in die Computerprogramme, mit denen die Praktikanten die Auswirkung der optischen Pinzette untersuchen werden.

2.1. Kolloidale Systeme

Als kolloidales System bezeichnet man ein System, in dem sich größere Partikel zwischen kleineren Molekülen frei bewegen können. Streng genommen heißt das ganze System „Kolloid“ (aus dem Griechischen, $\kappa\omicron\lambda\lambda\alpha = Leim$), meistens bezeichnet man jedoch nur die großen Partikel im System als Kolloide.

Kolloide sind mesoskopische Teilchen und haben eine Größe von ungefähr 10 nm-10 μm . Durch ihre Größe erfüllen sie zwei Eigenschaften, die in einem kolloidalen System gegeben sein sollten. Erstens sind sie groß genug um die anderen (wesentlich kleineren) Moleküle im System als eine homogene strukturlose Lösung zu betrachten und zweitens sind Kolloide so klein, dass sie die Brownsche Bewegung (s. Kapitel 2.3) ausführen.

Kolloidale Systeme liegen in verschiedenen Aggregatzuständen vor. In der folgenden Tabelle sind Beispiele für solche Systeme und ihre Zustände angegeben.

Systembezeichnung	Kolloide	Moleküle	Beispiele
Emulsion	flüssig	flüssig	Milch, Butter, Salbe
flüssiges Aerosol	flüssig	gasförmig	Nebel, Tabakrauch
Suspension/Dispersion	fest	flüssig	Zahnpasta, Farbe

Mit Kolloiden lassen sich Phänomene in mikroskopischen Systemen erforschen, da Kolloide einige Eigenschaften von Atome aufweisen. Als Beispiele seien hier das Phasenverhalten und die Diffusion genannt [Bec00]. Um ein atomares Vielteilchensystem zu untersuchen, bedarf es hoher technischer Voraussetzungen. Im Gegensatz dazu können Kolloide auf Grund ihrer Größe durch ein gewöhnliches Mikroskop beobachtet werden.

Ein weiterer Vorteil des kolloidalen Systems besteht darin, dass das Paarpotential zwischen den Partikeln direkt beeinflusst werden kann, was bei atomaren Systemen nicht möglich ist.

2.2. Wechselwirkungen in einem kolloidalen System

In einem kolloidalen System, das frei von äußeren Feldern ist, existieren Wechselwirkungskräfte zwischen den Kolloiden bzw. zwischen den Kolloiden und den Wänden, welche die Suspension einschließen. Für den Praktikumsversuch selbst sind diese Wechselwirkungen nicht essentiell, aber für das allgemeine Verständnis der Kolloidphysik grundlegend. Ausserdem spielt die Theorie der Wechselwirkungen im Kapitel 3.5, „Die Zellen und ihre Präparation“, eine wichtige Rolle.

Eine kolloidale Suspension ist vergleichbar mit einem System harter Kugeln, in dem attraktive und repulsive Wechselwirkungen existieren. So führt z.B. das van der Waals-Potential zu Anziehungskräften, während das Coulomb Potential gleichgeladener Partikel zu Abstoßung führt. Da das van der Waals-Potential unabhängig von permanenten Einflüssen, wie z.B. der elektrischen Ladung ist, ist ein kolloidales System primär instabil. Folglich würden die Kolloide auf Grund ihrer Anziehung aneinanderkleben. Um das System zu stabilisieren, müssen repulsive Kräfte zwischen den Kolloiden erzeugt werden. Im Folgenden werden die Wechselwirkungen in einem kolloidalen System und deren Ursache beschrieben.

Van der Waals-Wechselwirkung

Viele Moleküle haben kein permanentes Dipolmoment, jedoch kann bei diesen Molekülen, durch Verschieben der Elektronenwolken, ein zeitlich deterministisches Dipolmoment induziert werden. Auf Grund der Dipol-Dipol-Wechselwirkung zweier Moleküle entsteht der attraktive Term des van der Waals-Potentials, der proportional zu R^{-6} ist, wenn mit R der Abstand zwischen den Molekülen bezeichnet wird.

Für die Berechnung des van der Waals-Potentials zwischen zwei Kolloiden, die aus mehreren polarisierbaren Molekülen bestehen, muss man die Wechselwirkungen zwischen allen Molekülen miteinbeziehen. Für zwei kugelförmige Partikel mit gleichem Radius a und Abstand r erhält man folgendes Potential [Hun01]

$$\Phi_{vdW} = -\frac{A}{6} \left[\frac{2a^2}{r^2 - 4a^2} + \frac{2a^2}{r^2} + \ln \left(1 - \frac{4a^2}{r^2} \right) \right] . \quad (2.1)$$

Die Größe A ist die Hamaker-Konstante, die sich für jedes Kolloid explizit berechnen lässt. In [Hun01] (S. 533ff) findet man eine Herleitung zur Berechnung der Hamaker-Konstanten.

An der Formel (2.1) sieht man, dass für kleine Partikelabstände das Potential an Bedeutung gewinnt, denn für $r \rightarrow 2a$ geht $\Phi_{\text{vdW}} \rightarrow -\infty$ (A ist positiv). Das bedeutet, dass sich zwei Kolloide mit geringem Abstand stark anziehen und aneinander „kleben“, man sagt *koagulieren*. Die Abbildung 2.1 zeigt unter anderem ein van-der-Waals Potential (blaue Kurve) zwischen Kolloiden.

Elektrostatische Wechselwirkung

Die Studenten im Praktikum werden Kolloide untersuchen, deren Oberfläche negativ geladen ist, so dass sich positive Ionen des Lösungsmittels um die Kolloide herum ansammeln. Diese positiv geladene Ionenwolke schirmt die negative Oberflächenladung zweier Kolloide ab. Unter der Annahme, dass sich die Ionen kugelförmig um die Kolloide anordnen, beschreibt das DLVO-Potential (nach Derjaguin, Landau, Verwey und Overbeek) die Anziehung zweier Kolloide mit Radius a im Abstand r

$$\Phi_{\text{elektr.}}(r) = f(z_{\text{Kol}}) \cdot g(a) \cdot \frac{e^{-\kappa r}}{r} \quad (2.2)$$

$f(z_{\text{Kol}})$ und $g(a)$ sind Funktionen, die von der Kolloidladung z_{Kol} bzw. dem -radius a abhängen. Im dritten Faktor der Formel (2.2) steht die inverse Debyesche Abschirmlänge κ , die ein Maß für die Reichweite des Potentials ist. Sind in einer Lösung Ionen des Typs i mit Valenz z_i und einer über das ganze Volumen gemittelten Konzentration n_i^0 vorhanden, so gilt für κ [Hun01] (S. 320)

$$\kappa = \sqrt{\frac{e^2 \sum_i (n_i^0 z_i^2)}{\varepsilon_0 \varepsilon_L k_B T}} \quad (2.3)$$

ε_0 ist die Dielektrizitätskonstante, ε_L die Dielektrizitätszahl des Lösungsmittels, $k_B T$ ist die thermische Energie des Systems und e die Elementarladung.

Das elektrostatische Potential ist repulsiv, es stabilisiert somit das kolloidale System, man sagt auch „das System ist ladungsstabilisiert“. In Abbildung 2.1 ist ein DLVO-Potential (schwarze Kurve) abgebildet. Die rote Kurve in der Abbildung zeigt eine Linearkombination des attraktiven van der Waal-Potentials und des repulsiven elektrostatischen Potentials.

Weitere Wechselwirkungen

Verwendet man paramagnetische Kolloide, so kann durch ein äußeres Magnetfeld eine dipolartige Wechselwirkung zwischen den Partikeln erzeugt werden. Da in dieser Arbeit aber magnetischen Effekte keine Rolle spielen, soll auf diese Wechselwirkung nicht näher eingegangen werden.

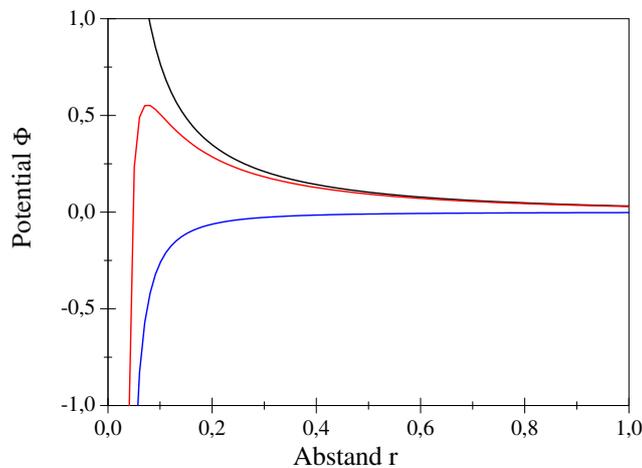


Abbildung 2.1.:

Die rote Kurve veranschaulicht schematisch das Potential in einem kolloidalen System. Die blaue Kurve ergibt sich aus dem attraktiven Term der van der Waals-Wechselwirkung (s. Formel (2.1)), während die schwarze Kurve das DLVO-Potential der Formel (2.2) darstellt.

Sofern die Dichte der Kolloide größer als die Dichte des Lösungsmittels ist, sinken die Kolloidpartikel auf Grund der Erdanziehungskraft nach unten. Bei den Zellen, welche die Studenten im Praktikum untersuchen, ist jedoch die Dichte der verwendeten Partikel und die des Lösungsmittels ungefähr gleich groß.

2.3. Bewegungen der Kolloide im System

Sind Kolloide in einem System freibeweglich, so führen sie eine Zitterbewegung aus. Der Schotte Robert Brown (1773-1858) entdeckte 1827 diese, später nach ihm benannte, Brownsche Bewegung beim Mikroskopieren von Pflanzenpollen. Durch Beobachtungen und Experimente wurden der Brownschen Bewegung schon im 19. Jh. bestimmte Eigenschaften zugewiesen. So ist sie in der gleichen Suspension über lange Zeit hinweg konstant, unabhängig von vielen äußeren Einflüssen (z.B. einem elektrischen oder magnetischen Feld) und abhängig von der Viskosität des Lösungsmittels. Obwohl diese Eigenschaften schon früh bekannt waren, wurde die genaue physikalische Erklärung erst 1905 durch Albert Einstein erbracht.

Nach Einstein wird die Brownsche Bewegung der Kolloide durch Stöße mit den Lösungsmittelmolekülen hervorgerufen. Da überall Moleküle sind, müsste jeder Gegenstand die Brownsche Bewegung ausführen. Jedoch sind große Körper (z.B. der Mensch) zu schwer und zu träge, als dass ein Impulsübertrag von den Molekülen eine messbare Bewegungsänderung hervorrufen würde. Aber Kolloide sind klein genug, um die Molekülstöße zu spüren. Ein durchschnittlich großes Kolloid stößt in 1 s ungefähr 10^{21} mal mit einem Lösungsmittelmolekül zusammen und ändert jedesmal seine Bewegungsrichtung. Die Trajektorie des Partikels beschreibt eine rein zufällige Bewegung. Man spricht von einem *random walk*.

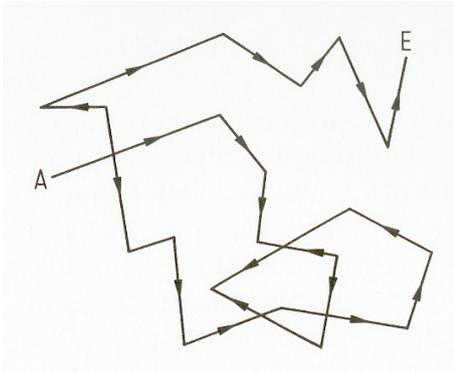


Abbildung 2.2.:
Hier ist ein zweidimensionaler
random walk schematisch darge-
stellt; aus [Ber98].

Die Abbildung 2.2 zeigt einen zweidimensionalen random walk. Die einzelnen Teilschritte der Bewegung sind statistisch unabhängig und bei Kolloiden nicht beobachtbar. Man sieht nur, dass sich das Partikel (in Abbildung 2.2) vom Punkt A zum Punkt E bewegt hat. Jeder Teilschritt der Brownschen Bewegung entspricht einer Richtungsänderung der Partikeltrajektorie. Bewegt sich das Partikel frei von äußeren Einflüssen, so ist seine Bewegungsänderung zu jedem Zeitpunkt in jede Raumrichtung gleich wahrscheinlich. Bei langen Beobachtungszeiten ergibt die Summe seiner Richtungsänderungen somit Null. Da Kolloide eine statistische Bewegung ausführen, kann ihr zukünftiger Aufenthaltsort nicht genau bestimmt werden. Man kann aber eine Wahrscheinlichkeit dafür angeben. Befindet sich ein kolloidales System im thermischen Gleichgewicht so ist die Wahrscheinlichkeit $P(x)$, dass sich ein Kolloid am Ort x befindet [Be02]

$$P(x) = \frac{1}{Z} e^{-\frac{U(x)}{k_B T}} . \quad (2.4)$$

Die Aufenthaltswahrscheinlichkeit $P(x)$ ist also boltzmannverteilt. In der Formel (2.4) ist $U(x)$ die potentielle Energie des Partikels an der Stelle x und $k_B T$ die kinetische Energie des Systems. Ohne äußere Einflüsse ist $U(x) = 0$, d.h. $P(x) = konst.$ $P(x)$ ist eine Wahrscheinlichkeit und muss somit normiert sein, d.h. $\int_{-\infty}^{\infty} P(x) dx = 1$ soll gelten. Der Vorfaktor $\frac{1}{Z}$ wird so gewählt, dass diese Normierung gegeben ist.

Die Dynamik der Kolloide in einer Lösung wird durch die Stokessche Reibungskraft beschrieben. Ein sich bewegendes Kolloid stößt ständig mit den Lösungsmittelmolekülen zusammen und wird dadurch in seiner Bewegung abgebremst. Genau wie eine Kugel in einer Flüssigkeit, auf die die Stokessche Reibungskraft

$$F_R = 6 \pi \eta a v \quad (2.5)$$

wirkt. Hierbei ist η die Viskosität der Flüssigkeit, a der Radius der Kugel und v ihre Geschwindigkeit.

Die Viskosität in einer kolloidalen Suspension wird durch die Hydrodynamik, die zwischen den Kolloiden und den Zellwänden wirkt, beeinflusst. Man spricht daher von einer effektiven Viskosität η_{eff} , die größer als die Viskosität des reinen Lösungsmittels ist.

2.4. Die optische Pinzette

Mit Hilfe einer optischen Pinzette, engl. „optical tweezers“, lassen sich Objekte in der Größenordnung von Kolloiden durch Laserlicht fangen. Man spricht von einer Pinzette, da man die Objekte nicht nur fangen, sondern auch greifen und transportieren kann.

Die ersten Untersuchungen mit einer optischen Pinzette veröffentlichte 1970 Arthur Ashkin [Ash70]. Seitdem wurden optische Pinzetten weiterentwickelt, so dass sie heutzutage in der Physik, der Chemie und der Biologie Basiswerkzeuge für die Forschung darstellen. Am Ende dieses Abschnitts wird auf solche Anwendungen eingegangen.

Eine optische Pinzette erzeugt mit Laserlicht eine Potentialmulde, in der ein Teilchen gefangen wird. Das Potential entsteht durch einen fokussierten Laserstrahl, der jedes Kolloid in Fokusnähe einfängt. Auf ein Kolloid wirken zwei Kräfte, eine Gradientenkraft F_G und eine durch den Lichtdruck erzeugte Kraft F_D . F_D beschleunigt die Partikel in Richtung des Laserstrahls, während F_G in Richtung des Laserfokus zeigt.

Im Folgenden werden zwei physikalische Modelle beschrieben, die die Entstehung der beiden Kräfte veranschaulichen. Beide Modelle sind als Grenzfälle der eigentlichen, im Experiment realisierten, Situation zu betrachten. Für große Partikel, d.h. Partikel mit einem Radius sehr viel größer als die Wellenlänge des Laserlichtes ($a \gg \lambda$), liefert die Strahlenoptik eine anschauliche Erklärung des Tweezers. Kleine Partikel ($a \ll \lambda$) hingegen können als punktförmige Dipole betrachtet werden, die durch eine Dipolwechselwirkung mit dem elektrischen Lichtfeld gefangen wird [Neu04].

Im Folgenden wird angenommen, dass der Laserstrahl ein gaußförmiges Intensitätsprofil hat, d.h. die Intensität ist in der Mitte des Strahls am größten und nimmt nach außen hin ab (dies ist die sogenannte Grundmode des Lasers).

Geometrische Erklärung durch die Strahlenoptik, $a \gg \lambda$

Für große Partikel ($a \gg \lambda$) gelten die Gesetze der geometrischen Strahlenoptik, d.h. der Laserstrahl kann in einzelne Teilstrahlen zerlegt werden. Ein Strahl, der auf ein Partikel trifft, wird an ihm gebrochen und reflektiert. Dabei ändert er seine Richtung was nach Newton zu einer Impulsänderung und damit zu einer resultierenden Kraft führt (s. Abbildung 2.3).

Durch jeden Teilstrahl des Lasers werden Brechungs- und Reflexionskräfte erzeugt, die zu einer resultierenden Gesamtkraft F_{GES} führen. Die Abbildung 2.4 zeigt schematisch den Strahlengang zweier paralleler Strahlen A und B, die auf ein Partikel treffen. In der Abbildung ist der Brechungsindex des Partikels größer als der des Lösungsmittels, so dass die grün und blau gezeichneten Kräfte resultieren. Links in Abbildung 2.4 ist das Intensitätsprofil des Laserstrahls skizziert. Der Teilstrahl B liegt weiter außen und ist daher intensitätsschwächer als der Teilstrahl A. Kräfte, die durch den Strahl B erzeugt werden, sind folglich geringer, als welche, die durch den Strahl A hervorgehen.

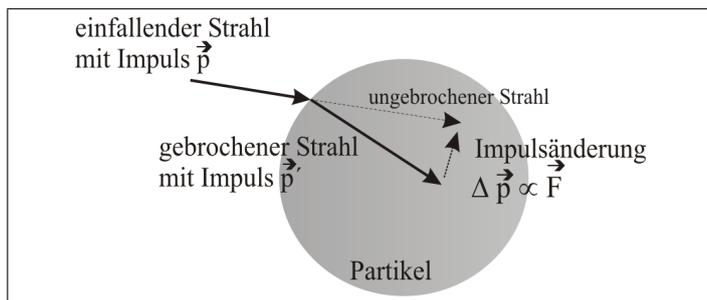


Abbildung 2.3.:
Schematische Darstellung der Impulsänderung eines an einem Partikel gebrochenen Strahls; aus [Gr00].

Summiert man über alle auftretenden Kräfte, so führt dies zu einer resultierenden Kraft F_{GES} , die das Partikel in die Strahlmitte und in Richtung des Strahls drückt (in Abb. 2.4 in Richtung $+z$ und $-r$).

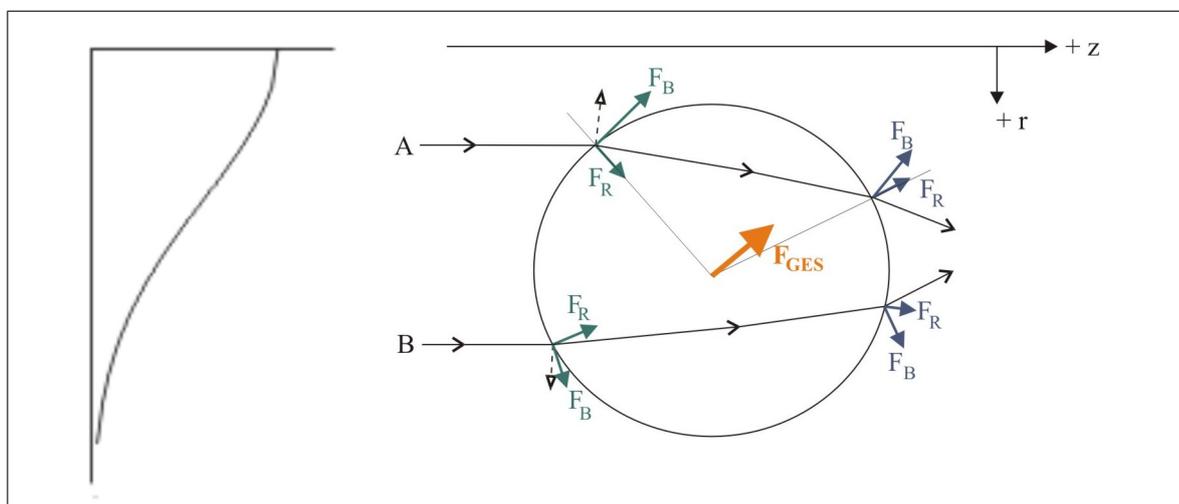


Abbildung 2.4.:

Die Strahlen A und B werden am Partikel gebrochen und reflektiert. F_B bzw. F_R bezeichnen die Kräfte, die aus dem gebrochenen bzw. reflektierten Strahl resultieren. Grüne Kräfte entstehen beim Eintritt der Strahlen in das Partikel und blaue beim Austritt. Die resultierende Gesamtkraft F_{GES} ist orange gezeichnet; aus [Ash70].

Ist das Partikel genau in der Strahlmitte, so heben sich die Kraftkomponenten in Richtung r auf und die resultierende Kraft zeigt nur noch in die positive z -Richtung. Die Partikel werden also immer weiter nach vorne beschleunigt, was dazu führen kann, dass sie irgendwann nicht mehr in der Beobachtungsebene liegen. Die in dieser Arbeit realisierte optische Pinzette trifft von oben auf die Kolloide, so dass der Laserstrahl sie maximal bis zur Zellwand drücken kann.

Zu Beginn des Kapitels wurde von der Lichtdruckkraft F_D und der Gradientenkraft F_G gesprochen. Die resultierende Kraft F_{GES} , die aus der geometrischen Betrachtung hervorgeht, setzt sich genau aus diesen beiden Kräften zusammen. Die Abbildung 2.4 macht deutlich, dass F_G die r -Komponente und F_D die z -Komponente von F_{GES} ist.

Bislang wurde angenommen, dass der Laserstrahl parallel auf das Partikel trifft. Eigentlich wird er jedoch durch eine Linse fokussiert, so dass sich ein Strahlenverlauf wie in der Abbildung 2.5 ergibt. Dies führt dazu, dass die resultierende Kraft in Richtung des Laserfokus zeigt, d.h. das Partikel ist in r - und in z -Richtung eingeschlossen. Dadurch fängt die optische Pinzette das Partikel nicht nur, sondern hält es auch fest [Ash86]. Die Abbildung 2.5 verdeutlicht schematisch die Ablenkung zweier fokussierter Teilstrahlen und der daraus resultierenden Kraft F_{GES} .

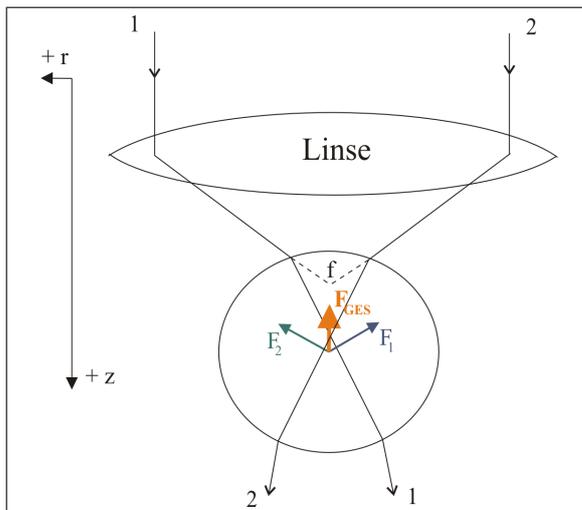


Abbildung 2.5.:

Parallele Laserstrahlen werden durch eine Linse fokussiert und treffen dann auf das Partikel. Die Ablenkung der Teilstrahlen 1 und 2 führt zu einer resultierenden Kraft F_{GES} , die in Richtung Fokus zeigt; aus [Ash92].

Erklärung durch die Dipolnäherung des Partikels, $a \ll \lambda$

Sind die Partikel sehr viel kleiner als die Wellenlänge des Laserlichts, ist das Modell der Strahlenoptik unzureichend. Die Kraft, die das Licht auf ein kleines Partikel ausübt, kann durch die Dipolwechselwirkung zwischen dem Partikel und dem elektrischen Lichtfeld beschrieben werden. Ist das Partikel polarisierbar, so wird in ihm ein Dipolmoment $\vec{p} = \alpha \vec{E}$ induziert, wobei α die Polarisierbarkeit des Partikels und E die elektrische Feldstärke ist. Auf \vec{p} wirkt durch das äußere Lichtpotential die Gradientenkraft

$$F_G = -\nabla U = -\nabla(-\vec{p} \cdot \vec{E}) = \alpha \nabla E^2 \propto \nabla I, \quad (2.6)$$

welche proportional zum Intensitätsgradienten ∇I ist [McD00].

Geht man von einem gaußförmigen, fokussierten Laserstrahl aus, so zeigt der Intensitätsgradient, und damit F_G , in Richtung Strahlmitte und Fokus.

Anwendung optischer Pinzetten

Mit einer optischen Pinzette lassen sich in Kombination mit kolloidalen Systemen eine Vielzahl von Strukturen herstellen, die mit Hilfe der Mikroelektronik nicht realisierbar wären. Im Folgenden sollen einige Beispiele dafür gegeben werden.

Man kann homogene oder heterogene Kolloidstrukturen herstellen (s. Abbildung 2.6 links), indem man lichtempfindliches Harz durch Laserphotonen zu Polymerisation anregt. Fängt man mehrere Harzpartikel mit einer optischen Pinzette, so bilden sich durch die Polymerisation kettenförmige Strukturen, da jedes Partikel in die Mitte des Laserstrahls gezogen wird [Ter02b]. Eine Kolloidkette kann, wie in der Mitte der Abbildung 2.6 zu sehen ist, ein Ventil bilden. Das in der Abbildung gezeigte Ventil wird mit einer optischen Pinzette bewegt und verhindert, in geschlossener Position, den Transport von Kolloidpartikeln in einer Lösung [Ter02b]. Desweiteren lassen sich mit optischen Pinzetten verschiedene Pumpen herstellen. Das rechte Bild der Abbildung 2.6 zeigt ein Beispiel für eine peristaltische Pumpe. Jedes Kolloidpartikel der Pumpe wird durch eine optische Pinzette gesteuert. Dadurch lässt sich ein Flüssigkeitsstrom erzeugen, der ein weiteres Kolloidpartikel nach rechts drückt [Ter02a].

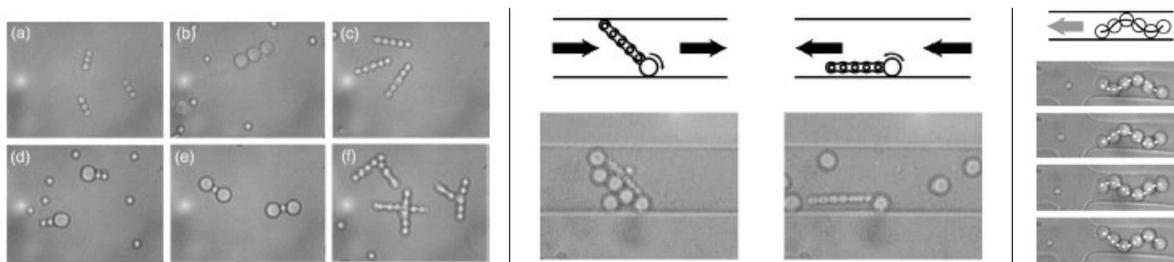


Abbildung 2.6.:

Links sind homogene (Bilder a,b,c,f) und heterogene (Bilder d,e) Kolloidstrukturen abgebildet, die auf Grund von Polymerisation entstanden sind (aus [Ter02b]). In der Mitte ist ein Ventil zu sehen, das aus einer Polymerstruktur besteht (ein $3\ \mu\text{m}$ und mehrere $0,64\ \mu\text{m}$ Partikel) und mit einer optischen Pinzette gesteuert wird (aus [Ter02b]). Die rechte Abbildung zeigt eine peristaltische Pumpe, die aus sechs $3\ \mu\text{m}$ großen Partikeln besteht, von denen jedes durch eine optische Pinzette bewegt wird (aus [Ter02a]).

Eine andere Anwendung optischer Pinzetten findet man in der Medizin. Dort werden sie unter anderem zum Zelltransport verwendet, z.B. bei der künstlichen Befruchtung im Labor [Gri03]. Desweiteren werden Laserpinzetten bei Elastizitätsmessungen von Zellwänden oder Zellbestandteilen, wie z.B. der DNS, angewandt [Gri03, Smi99].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass man mit der optischen Pinzette die mikroskopische Welt verändern und modulieren kann. Durch ihre vielseitigen Anwendungsmöglichkeiten wird sie mittlerweile in vielen wissenschaftlichen Gebieten eingesetzt.

2.5. Anwendung der Computerprogramme

Die Auswirkung einer optischen Pinzette auf Kolloide lässt sich an Hand der Kolloidbewegung untersuchen, welche mit einem Bilderkennungsprogramm erfasst werden kann. Die Praktikanten sollen hierfür mit dem Bilderkennungsprogramm *Visiometrics IPS* arbeiten. Dieses Programm erkennt die Partikeltrajektorie und speichert die Messdaten in einer Ausgabedatei. Weiter sollen die Studenten mit Hilfe zweier Scriptprogramme diese Messdaten auswerten. Im Folgenden wird eine kurze Einweisung in die Anwendung dieser Programme gegeben. Diese Einweisung beschreibt nur die für die Praktikumsdurchführung relevanten Komponenten, nicht die komplette Software.

	<i>Live Modus</i>	zeigt das Live Bild der Kamera an
	<i>Bild vom framegrabber lesen</i>	zeigt ein Standbild an
	<i>1:1 Darstellung</i>	Standbild füllt nur ein Viertel des Bildschirms aus
	<i>region of interest</i>	zeichnet ein Viereck; wird gesetzt um eine bestimmte Region zu kennzeichnen
	<i>line of interest</i>	zeichnet eine Linie; wird gesetzt um eine Strecke zu zeichnen und auszumessen
	<i>Objekt selektieren</i>	markiert roi's und loi's; um Größe und Form dieser Objekte zu ändern
	<i>Schwellwert einstellen</i>	öffnet das Fenster zum Schwellwerte setzen

Abbildung 2.7.: Hier sind die wichtigsten Icons in IPS aufgelistet und beschrieben.

2.5.1. Visiometrics IPS

Das Programm Visiometrics IPS ist ein Bilderkennungsprogramm, das Helligkeitswerte innerhalb eines Bildes erkennt und diese in einer Ausgabedatei speichert. Vor jeder Aufnahme müssen eine obere und untere Schwellwertgrenze zur Grauererkennung festgelegt werden, so dass IPS während der Aufnahme alle Punkte, die einen Grauwert innerhalb der gesetzten Schwellwertgrenzen haben, erkennt. Für die Aufnahme einer Partikeltrajektorie verarbeitet IPS viele einzelne Bilder, die zusammen eine Sequenz ergeben. Für jedes Bild wird die Position des erkannten Gegenstandes in eine Ausgabedatei gespeichert. Im Folgenden wird beschrieben wie die Schwellwerte gesetzt und Sequenzen aufgenommen werden. Zur Hilfestellung sind in Abbildung 2.7 die wichtigsten IPS-Icons und ihre Bedeutung aufgelistet.

Schwellwerte setzen

Um die Schwellwerte zu setzen nimmt man ein Standbild auf und zeichnet ein *roi* um die Region, die aufgenommen werden soll. Als nächstes öffnet man im Menü *Schwellwert einstellen* den Menüpunkt *Intensität*. Abbildung 2.8 zeigt den Bildschirm, nachdem das Menü *Schwellwert einstellen* geöffnet wurde. Im Fenster erscheint eine Intensitätsverteilung der Grauwerte, in der die untere Schwellwertgrenze durch einen grünen und die obere durch einen roten Strich markiert ist. Die untere Grenze setzt man auf Null während die obere so eingestellt wird, dass nur das Partikel und nicht seine Umgebung erkannt wird. IPS markiert Gebiete, die bei der Aufnahme erkannt werden, mit Grün. Während der Aufnahme kennzeichnet IPS alle registrierten Messpunkte mit einem gelben Kreuz, so dass zu Beginn einer Messung überprüft werden kann, ob die Schwellwerte richtig gesetzt wurden.

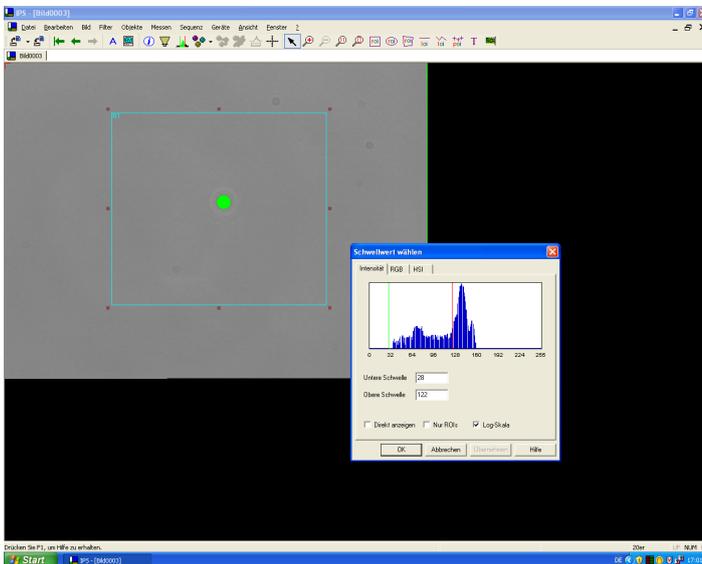


Abbildung 2.8.:
Screenshot des IPS Programms. Im Hintergrund sieht man das Standbild mit einem eingezeichneten *roi* und ihm Vordergrund das Fenster zur Einstellung der Schwellwerte. Die im Standbild grüne Fläche wird bei der späteren Aufnahme von IPS erkannt und verarbeitet.

Bildsequenz aufnehmen

Nachdem man die Schwellwerte zur Grauerkennung gesetzt hat, kann die Aufnahme gestartet werden. Hierzu bleibt man im Standbildmodus und öffnet im Menü *Sequenz* den Menüpunkt *Sequencer* (s. Abbildung 2.9). Unter *Ausgabedateien* gibt man an, unter welchen Namen IPS die Ausgabedatei speichern soll und wieviele Bilder für die Sequenz aufgenommen werden sollen. Die Bildfrequenz der Aufnahme lässt sich unter *Intervall* einstellen.

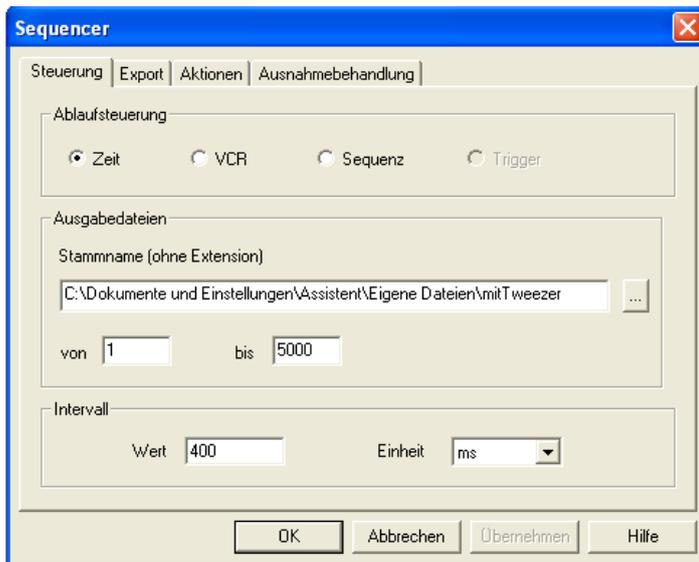


Abbildung 2.9.:
Menüfenster *Sequencer*, in das
die Aufnahmeparameter einzugeben
sind.

2.5.2. Perl-Programme

Zur Visualisierung und Auswertung der von IPS gespeicherten Daten wurden zwei Scriptprogramme in der Computersprache *perl* geschrieben, die über das DOS Fenster zu starten sind. Um die Programme zu starten muss man sie zuerst vom Desktop in den Ordner, der die von IPS aufgenommene Messdatei enthält, kopieren. Dann öffnet man das DOS Eingabeaufforderungsfenster (eine Verknüpfung hierzu befindet sich auf den Desktop) und wechselt in den Ordner mit der Messdatei. Mit dem Befehl „*perl Programmname*“ startet man die Programme, mit den Tasten „Strg + C“ beendet man sie.

Partikeltrajektorie.pl

Das Programm *Partikeltrajektorie.pl* erstellt aus den von IPS gespeicherten Daten drei Gnuplotdiagramme, die direkt auf den Bildschirm ausgegeben werden. Zudem werden die Daten der Diagramme in Postscriptdateien geschrieben, die über das Programm *Ghostview* betrachtet und ausgedruckt werden können.

Wird das Programm *Partikeltrajektorie.pl* gestartet, erfragt es zu Beginn den Dateinamen, die Pausenlänge zwischen zwei Gnuplotdiagrammen und die Wartezeit nach einem Durchlauf. Die Pausenlänge gibt an, wie lange eine Zeichnung auf dem Bildschirm zu sehen ist. Ausgegeben werden drei Diagramme, wobei das erste die aufgenommene Partikeltrajektorie, das zweite die Partikelbewegung in x-Richtung und das dritte die Bewegung in y-Richtung zeigt. In den beiden letzten Diagrammen sind die x- bzw. y-Koordinaten über der Zeit aufgetragen. Zusätzlich errechnet das Programm die mittlere x- und y-Koordinate und gibt die beiden Werte im DOS Fenster aus. Diese Mittelwerte dienen zur Festlegung einer oberen und unteren Grenze, innerhalb derer die Häufigkeitsverteilung des Partikels berechnet wird.

Histo_Berechnung.pl

Analog zum ersten Programm gibt auch *Histo_Berechnung.pl* Gnuplotdiagramme auf den Bildschirm und als Postscriptdateien aus. *Histo_Berechnung.pl* visualisiert jedoch nicht die Messdaten, sondern verarbeitet sie zu Histogrammen. Neben den schon oben beschriebenen Eckdaten (Dateiname, Pausenlänge und Wartezeit) erfragt dieses Programm eine obere und untere Grenze der x- bzw. y-Koordinaten. Für das Histogramm in x-Richtung werden alle Messdaten ausgewertet, deren y-Koordinate innerhalb der festgelegten y-Grenzen liegen. Zur Berechnung der Häufigkeitsverteilung wird der Abschnitt, in dem die x-Werte liegen, in 20 Intervalle unterteilt und jedem Intervall die Anzahl der Aufenthalte des Partikels zugeordnet. Eine analoge Rechnung wird für das Histogramm in y-Richtung durchgeführt.

3. Aufbau der optischen Pinzette

Optische Pinzetten findet man in vielen Forschungslabors, dort sind sie jedoch oft sehr komplex aufgebaut. Die Aufgabe in der wissenschaftlichen Arbeit war es, einen möglichst einfachen Aufbau zu realisieren, d.h. einen Aufbau mit wenigen und wenn möglich mit vergleichsweise günstigen Komponenten. Dieses Kapitel beschreibt den Aufbau und soll als Hilfestellung für all diejenigen dienen, die selbst eine optische Pinzette realisieren möchten. Deshalb wird auch auf die auftretenden Probleme bei der Umsetzung eingegangen. Der letzte Abschnitt des Kapitels beschreibt die mit einer kolloidalen Suspension gefüllte Zelle, die im Praktikum von den Studenten untersucht werden soll.

3.1. Der Aufbau im Überblick

Im wesentlichen besteht der Aufbau aus zwei Teilen, einem optischen Mikroskop und einer optischen Pinzette. Das linke Bild der Abbildung 3.1 zeigt eine Fotografie des Mikroskops, während rechts eine Skizze des Strahlengangs der Beleuchtung zu sehen ist.

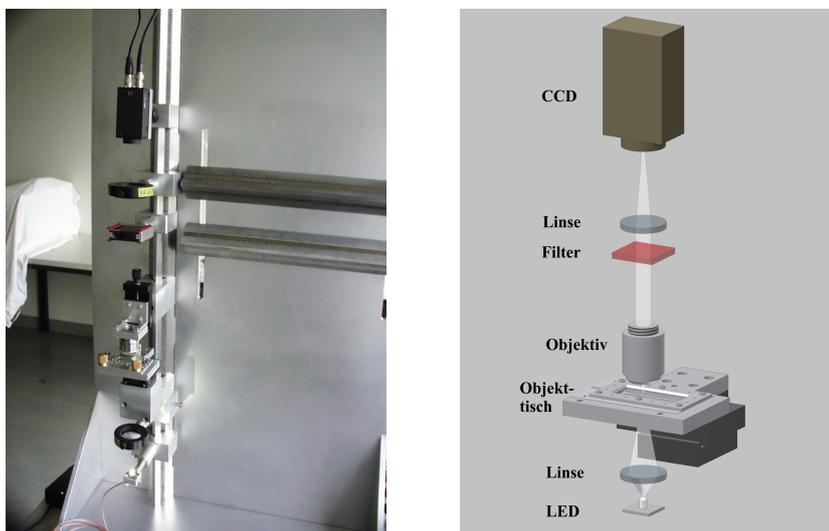


Abbildung 3.1.:

Links sieht man eine Fotografie des Mikroskops. Rechts ist der Strahlengang der Mikroskopbeleuchtung schematisch dargestellt.

Beleuchtet wird mit einer weißen LED, deren Licht mit einer Linse auf die Objektebene abgebildet wird. Durch ein Mikroskopobjektiv der Firma Zeiss (20fache Vergrößerung; Numerische Apertur von 0,4) wird ein Bild im Unendlichen erzeugt, das mit Hilfe einer Tubuslinse auf den Chip der CCD-Kamera abgebildet wird. Das Bild in der Kamera wird auf den Computer übertragen und dort mit einem Bilderkennungsprogramm weiterverarbeitet. Da die Laserpinzette auch durch das Mikroskop beobachtet wird, sind vor der Kamera zwei spektrale Kantenfilter angebracht, die das intensive rote Laserlicht herausfiltern, welches sonst das beobachtete Bild überblenden würde.

Der zweite Teil des Aufbaus ist die optische Pinzette (s. Abb. 3.2). Der Laserstrahl wird über zwei Spiegel und einen Polarisationsstrahlteilerwürfel auf das Mikroskopobjektiv gelenkt, das den Strahl auf die Objektebene fokussiert. Die beiden Linsen im Strahlengang dienen der Strahlaufweitung. Mit Hilfe des $\lambda/2$ -Plättchens vor dem Strahlteiler ist die Laserintensität in der Beobachtungsebene regelbar.

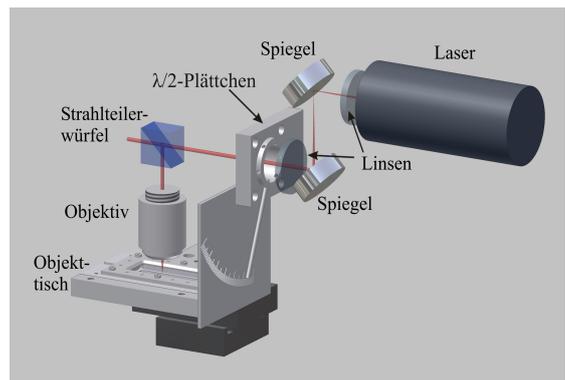


Abbildung 3.2.:

Links sieht man eine Fotografie der optischen Pinzette. Rechts ist der Laserstrahlengang schematisch dargestellt.

Die linke Fotografie in Abbildung 3.3 zeigt den kompletten Aufbau der optischen Pinzette. Links vom Objektisch ist ein Motor montiert, mit welchem der Tisch in horizontaler Richtung verschoben werden kann.

Der Versuchsaufbau der optischen Pinzette wurde für das Anfängerpraktikum konzipiert, so dass zum Schutz der Studenten der Laserstrahl durch Rohre verdeckt wurde. Die rechte Fotografie in Abbildung 3.3 zeigt den Versuchsaufbau wie er im Praktikum steht.

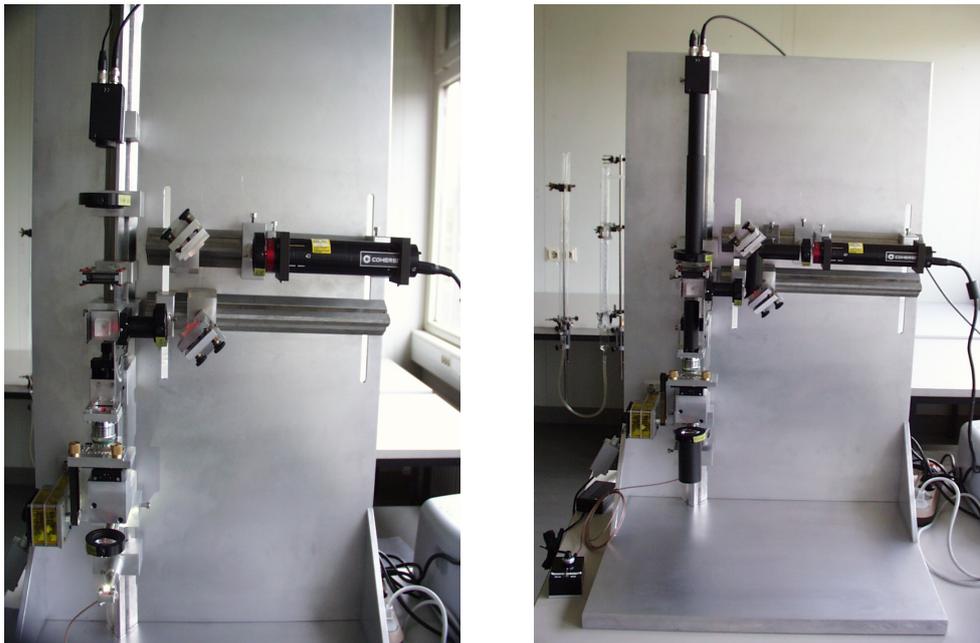


Abbildung 3.3.:

Links ist eine Fotografie des kompletten Versuchsaufbaus ohne verdecktem Laserstrahl zu sehen. Die Fotografie rechts zeigt den Aufbau wie er im Praktikum steht.

3.2. Der Aufbau im Detail

Nach diesem kurzen Überblick des Aufbaus, sollen im Folgenden die einzelnen Komponenten und ihre jeweilige Funktionsweise genauer beschrieben werden.

Das Grundgerüst

Das Grundgerüst des Aufbaus besteht aus einer Bodenplatte (60 x 50 x 3 cm) und einer Rückwand (60 x 100 x 1 cm), beides aus Aluminium. An der Rückwand sind drei Zeisschienen befestigt, auf die die einzelnen Gegenstände montiert sind.

Der Laser

Es wird ein Diodenlaser verwendet, der linear polarisiertes Licht der Wellenlänge 638 nm mit einer Leistung von 22 mW aussendet. Der Strahl verliert an den Linsen, am Objektiv und vor allem am Strahlteilerwürfel Intensität, so dass der fokussierte Strahl in der Objektebene maximal eine Leistung von ca. 12 mW hat. Durch das $\lambda/2$ -Plättchen und den Strahlteiler ist die Laserintensität in der Objektebene zwischen 12 mW und 0,5 mW regelbar. Prinzipiell könnte man auch einen schwächeren Laser verwenden, da

sich die Partikel auch mit der kleinsten einstellbaren Laserleistung fangen lassen. Für den ersten Teil der Versuchsdurchführung im Praktikum benötigt man jedoch die große Intensitätsspanne von ca. 11,5 mW (s. Kapitel 4.1 „Der Praktikumsversuch“).

Strahlaufweitung

Der Laserstrahl wird durch zwei Linsen um das Dreifache aufgeweitet. Die Brennweite der erste Linse beträgt $f_1 = 50$ mm und die der zweiten Linse $f_2 = 150$ mm. Die Aufweitung des Strahls reduziert das Fokusvolumen des Lasers in der Objektebene (s. Formel (3.1)) und erhöht somit die Kraft mit der die optische Pinzette ein Partikel fängt.

Durch Beugungseffekte des Laserstrahls am Objektiv ist der Laserfokus nicht punktförmig, sondern hat die Form eines Beugungsscheibchens, das von Beugungsringen umgeben ist. Der Durchmesser des zentralen Scheibchens, auch Airy-Scheibchen genannt, berechnet sich nach der Formel

$$d = 1,219 \frac{\lambda f}{D} . \quad (3.1)$$

Dabei ist d der Durchmesser des Airy-Scheibchens, λ die Wellenlänge des Laserlichtes, f die Brennweite der Objektivlinse und D der Durchmesser des Laserstrahls vor dem Objektiv.

Spiegel

Die Justage des Laserstrahls erfolgt über die beiden Spiegel. Damit der Strahl zentriert und senkrecht in das Objektiv trifft (s. Abbildung 3.4) müssen zur Justage zwei Freiheitsgrade regulierbar sein. Dies wird mit den Spiegeln realisiert.

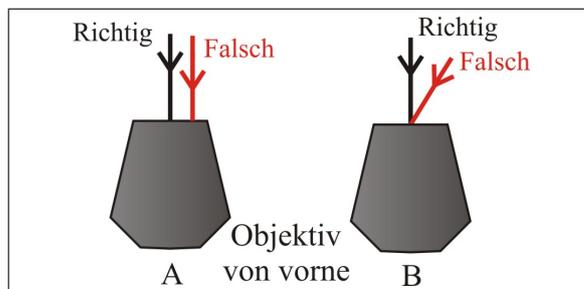


Abbildung 3.4.:

Schematische Darstellung des ins Objektiv einfallenden Laserstrahls. Die roten Strahlen sind falsch justiert, die schwarzen richtig. Der Laserstrahl muss das Objektiv mittig (Skizze A) und senkrecht (Skizze B) treffen.

Es werden dielektrische Spiegel verwendet, da diese die Polarisation des Laserstrahls, die für die Ablenkung am Strahlteiler wichtig ist, bei der Reflexion nicht ändern. Bei metallischen Spiegeln würde aus linear polarisiertem Licht, das nicht senkrecht auf die Spiegel fällt, elliptisch polarisiertes.

Polarisationsstrahlteilerwürfel und $\lambda/2$ -Plättchen

Der Strahlteilerwürfel besteht aus zwei rechtwinkligen Prismen. Auf die Hypothenuse eines Prismas ist eine dielektrische Schicht aufgedampft, deren Reflexionsvermögen für

den senkrecht zur Einfallsebene polarisierten Anteil des Lichtes groß und für den parallel polarisierten Anteil klein ist (siehe Abbildung 3.5).

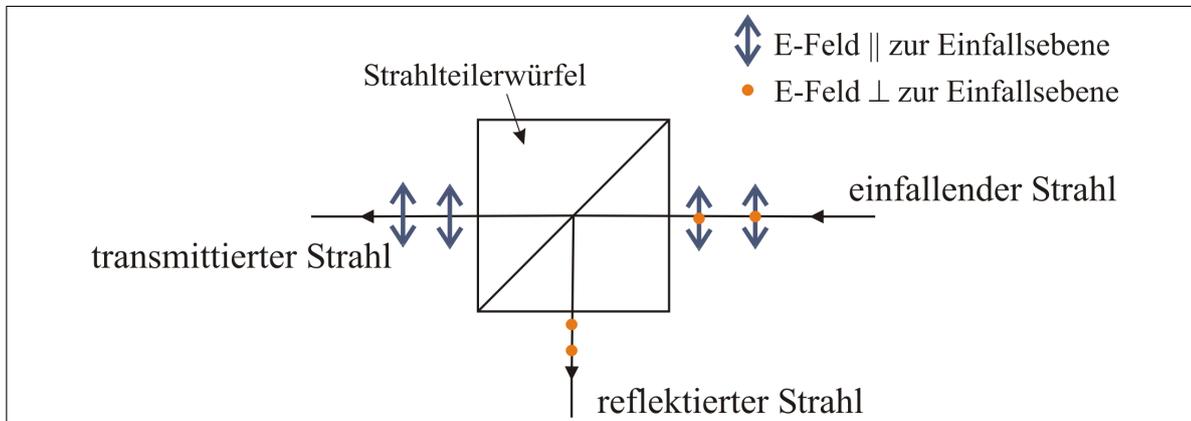


Abbildung 3.5.:

Schematische Darstellung eines polarisierten Strahlteilerwürfels. Zwischen den beiden Prismen liegt eine dielektrische Schicht, die das einfallende Licht je nach Orientierung des Lichtfeldes reflektiert oder transmittiert.

Das $\lambda/2$ -Plättchen vor dem Strahlteiler dreht die Polarisationsrichtung des linear polarisierten Laserstrahls und regelt dadurch die Laserintensität des nach unten reflektierten Strahls. An Hand der Winkelskala am $\lambda/2$ -Plättchen und der Eichkurve „Laserintensität in Abhängigkeit des Winkels“ (s. Anhang A) kann die Laserintensität in der Objektebene abgelesen werden.

Objektiv

Im Aufbau ist ein Mikroskopobjektiv der Firma Zeiss integriert, das 20 fach vergrößert, eine Numerische Apertur (N.A.) von 0,4 und einen Arbeitsabstand von 0,8 cm hat. Das Objektiv lässt sich senkrecht verschieben und ist auf unendlich korrigiert, d.h. das Bild eines Gegenstandes wird im Unendlichen erzeugt. Bei der Wahl des Objektivs wurde auf einen großen Arbeitsabstand geachtet. Bei einem kleinen Arbeitsabstand besteht die Gefahr, dass die Frontlinse des Objektivs verkratzen würde, falls die Praktikanten das Objektiv zu nahe an die zu untersuchende Zelle fahren.

Objekttisch und Motor

Der Objekttisch lässt sich horizontal in beide Richtungen verschieben. Hierzu wurden zwei Verschiebetische im Winkel von 90° aufeinandergesetzt. Neben dem Tisch ist ein Motor montiert, der leicht bedient werden kann und den Tisch in eine Richtung verschiebt.

LED und Linse

Die Beleuchtung spielt bei der Mikroskopie eine wichtige Rolle. August Köhler (1866-1948) entwickelte eine Technik die eine optimale Beleuchtung, d.h. ein gutes Auflösungsvermögen und einen hohen Kontrast, liefert. Das genaue Prinzip der Köhlerschen Beleuchtung kann auf der interaktiven Homepage [Lin02] nachgelesen werden. Im entwickelten Versuchsaufbau wurde hauptsächlich ein Aspekt dieser Technik ausgenutzt, nämlich dass nicht das gesamte Objekt ausgeleuchtet wird, sondern nur der zu beobachtende Ausschnitt. Dadurch reduziert man sogenanntes Falschlicht, das durch Streuung des Beleuchtungslichtes am Objekt entsteht. Im Aufbau wird dieses Prinzip durch eine Linse (Brennweite $f_3 = 50$ mm) realisiert, die das weiße LED Licht auf einen kleinen Ausschnitt der Beobachtungsebene abbildet.

Filter, Linse und Kamera

Die beiden verwendeten Kantenfilter absorbieren Licht mit einer Wellenlänge größer $\lambda_1 = 645$ nm bzw. $\lambda_2 = 665$ nm, so dass das intensive Laserlicht nicht in die Kamera gelangt.

Vor der Kamera ist eine Tubuslinse ($f_4 = 350$ mm) angebracht, die das vom Objektiv im Unendlichen erzeugte Bild auf den Kamerachip abbildet. Die Brennweite der Linse wurde so gewählt, dass ein genügend großes Bild entsteht.

Die im Aufbau integrierte Kamera ist eine gewöhnliche CCD-Kamera. Messungen bei Tageslicht sind nur durch das Rohr vor der Kamera (s. linkes Bild der Abbildung 3.3) möglich, da der CCD-Chip sehr lichtempfindlich ist.

Computer und Bildverarbeitungsprogramm

Das Bild auf dem Kamerachip wird in den Computer übertragen und dort mit einem Bilderkennungsprogramm verarbeitet. Das verwendete Programm heißt Visiometrics IPS („Image Processing System“) und wurde in der Forschungsgruppe um Prof. Dr. Bechinger entwickelt. Es erkennt Helligkeitsstufen im Bild und kann dadurch Partikel lokalisieren. IPS kann desweiteren eine Partikeltrajektorie verfolgen, indem es in einer vorgegebenen Frequenz Bilder aufnimmt und die Daten jedes Bildes in eine Ausgabedatei schreibt.

3.3. Worauf bei der Planung geachtet wurde

Der Versuchsaufbau wurde für das Anfängerpraktikum, also für Studenten im Grundstudium konzipiert. Das Ziel war deshalb eine optische Pinzette mit möglichst wenig Komponenten aufzubauen. So wird z.B. nur ein Objektiv verwendet, mit dem die Partikel beobachtet und gefangen werden. Viele optische Pinzetten sind dagegen mit zwei Objektiven realisiert, was den Versuchsaufbau flexibler macht. Für den konzipierten Praktikumsversuch ist dies jedoch nicht nötig, da sein Aufbau nicht verändert werden soll.

Ein zweites Augenmerk lag bei der Planung auf der Stabilität des Versuchsaufbaus. Diese wurde vor allem im massiven Grundgerüst berücksichtigt, aber auch in der Handhabung, z.B. sind alle Schrauben, die die Studenten bedienen sollen, gut erreichbar. Ebenso ist die zu untersuchende Zelle in einer Metallhalterung festgeschraubt und somit bruch sicher.

Da der Versuchsaufbau auch als Prototyp für andere optische Pinzetten gedacht ist, wurden einfache und in den meisten Laboren schon vorhandene Komponenten verwendet. Zusätzlich wurden die Kosten immer im Auge behalten. Im Anhang B findet sich eine Auflistung aller Komponenten und ihrer Kosten.

Die Lasersicherheit war ein weiteres wichtiges Thema bei der Konzeptionierung des Aufbaus. Der verwendete 22 mW Laser gehört zur Laserklasse 3B, d.h. seine Strahlung ist laut Laserschutzverordnung „gefährlich für das Auge und in besonderen Fällen auch für die Haut“. Deshalb wurde der Laserstrahl durch Rohre verdeckt, so dass die Studenten weder in den Strahl fassen noch etwas Reflektierendes hineinhalten können. Der verdeckte Strahl soll den Studenten zugleich deutlich machen, dass sie im Umgang mit Lasern vorsichtig handeln müssen.

3.4. Aufgetretene Probleme

Wie schon im letzten Abschnitt erklärt wurde, sollte der Aufbau möglichst einfach, d.h. mit wenigen Komponenten, realisiert werden. Darum wurde zu Beginn versucht, die optische Pinzette nur mit einem Laser, einem Objektiv, einem Objektisch, einer Kamera mit Tubuslinse, einem Strahlteiler und einer Beleuchtungsquelle aufzubauen. Dies erwies sich jedoch schon bei der Justage des Laserstrahls als schwierig. Denn Erstens war die Höhenverstellung des Lasers durch die verwendeten Zeisschienen und -reiter zu ungenau und Zweitens konnte man den Strahl nur in einem Freiheitsgrad verstellen (s. Abb. 3.4). Daraufhin wurden die beiden Spiegel in den Aufbau integriert. Mit diesem erweiterten Aufbau konnte der Laserstrahl justiert und die ersten Partikel gefangen werden.

Als nächstes wurde der Motor montiert, der die Zelle verschiebt. Dabei stellte sich heraus, dass der Laserfokus das Partikel nur für kleine Motorgeschwindigkeiten halten konnte. Um das Fokusvolumen des Lasers zu reduzieren und dadurch die Kraft der optischen Pin-

zette zu erhöhen, wurde der Laserstrahl durch eine Strahlaufweitung vergrößert. Denn je größer der Strahldurchmesser vor dem Objektiv, desto kleiner ist der Durchmesser des Fokus (s. Formel (3.1)). Durch die erhöhte Kraft der optischen Pinzette war jedoch die Bewegung eines im Laserfokus gefangenen Partikels zu gering für das Auflösungsvermögen des Bildverarbeitungsprogramms. Daraufhin wurde eine Tubuslinse mit größerer Brennweite eingesetzt, so dass das Bild größer wurde.

Ein weiteres Problem trat am Strahlteilerwürfel auf. Zuerst wurde irgendein Polarisationsstrahlteiler verwendet. Bis sich herausstellte, dass dieser den größten Teil des roten Laserlichts transmittierte, unabhängig von der Stellung des $\lambda/2$ -Plättchens. Das Problem lag darin, dass der verwendete Strahlteiler auf grünes Licht geeicht war und daher ausgetauscht werden musste. Der nun im Versuchsaufbau integrierte Strahlteilerwürfel reflektiert den zur Einfallsebene senkrechten Anteil der Wellenlänge $\lambda = 632,8 \text{ nm}$ und transmittiert den parallelen Anteil.

3.5. Die Zellen und ihre Präparation

Die Zellen, mit denen die Studenten im Praktikumsversuch arbeiten sollen, müssen zwei wichtige Anforderungen erfüllen, sie müssen lange stabil und einfach in der Herstellung sein. Die Zellpräparation übersteigt die Möglichkeiten des Anfängerpraktikums und muss daher von einem Mitarbeiter des 2. Physikalischen Institutes übernommen werden. Es wäre deshalb wünschenswert, wenn zu Beginn des Semesters bzw. des Praktikumszeitraumes drei bis vier Zellen angefertigt würden und diese bis zum Ende des Semesters bzw. Zeitraumes stabil blieben. Die Stabilität einer Zelle ist abhängig von ihrer „Bauart“, d.h. ob sie dicht verschlossen ist und keine Luft hinein lässt, und von der kolloidalen Suspension. In Kapitel 2.2 beschrieben, dass eine kolloidale Lösung z.B. durch elektrisch geladene Partikel stabilisiert werden kann.

Um die gewünschte Zelle zu finden, wurden verschiedene Arten von Zellen hergestellt und ihre Stabilität getestet. Dabei stellte sich heraus, dass eine „dünne Zelle“ den Anforderungen am besten entsprach. Eine solche Zelle ist ca. zwei Monate stabil und lässt sich schnell und einfach präparieren. Im Folgenden wird die verwendete Suspension und die Herstellung der Zelle beschrieben.

Die kolloidale Suspension besteht aus $2,8 \mu\text{m}$ und $10 \mu\text{m}$ großen Polystyrolpartikeln. Die großen Partikel dienen in der Zelle als Abstandhalter zwischen dem Deckglas und dem Objektträger, während die kleinen Partikel untersucht werden (s. Abb. 3.6). Das Mischverhältnis der Lösung ist im Anhang C beschrieben. Die Suspension ist über zwei Monate stabil, da die $2,8 \mu\text{m}$ Partikel elektrisch geladen sind und als Lösungsmittel stark deionisiertes Wasser verwendet wird. Weniger Ionen im Lösungsmittel bewirken eine kleinere Abschirmung des elektrostatischen Potentials zwischen den kleinen Partikeln.

Bei der Beobachtung der Kolloide ist zu beachten, dass die Stammsuspension der $2,8 \mu\text{m}$

Partikel polydispers ist. Dies bedeutet, dass die Partikel unterschiedlich groß sind. Die Erfahrung zeigte, dass sich manche der Partikeldurchmesser um fast einen μm unterscheiden.

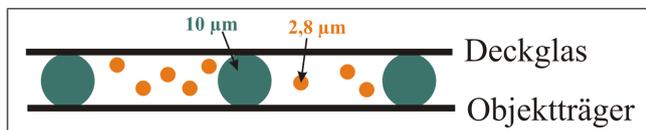


Abbildung 3.6.:

Skizze einer dünnen Zelle. Die Dicke der Zelle entspricht der Größe der großen Partikel. Die kleinen Partikel können sich frei in der Zelle bewegen.

Die dünne Zelle besteht aus einem Objektträger (25 x 53 mm) auf den ein kleines Deckglas (22 x 22 mm) geklebt ist. Bevor der Objektträger und das Deckglas zusammengeklebt werden reinigt man sie mit Isopropanol und legt sie für ca. 3 min in einen Plasmacleaner. Der Plasmacleaner befreit die Glasoberflächen von organischen Verunreinigungen, an denen die Kolloide festkleben könnten. Nach der Reinigung wird $15 \mu\text{l}$ der kolloidalen Suspension auf den Objektträger gebracht. Danach legt man das Deckglas auf den Tropfen der Lösung und beschwert es mit einem Gewicht. Entlang der Deckglaskanten wird ein Klebstoff aufgebracht und die Zelle 5 min mit einer UV-Lampe beleuchtet, so dass der Klebstoff hart wird.

4. Die optische Pinzette als Praktikumsversuch

Neben dem Aufbau der optischen Pinzette war die Konzeptionierung eines Praktikumsversuches ein weiterer Teil dieser wissenschaftlichen Arbeit. In diesem Kapitel wird die Messaufgabe und eine Auswertung des Praktikumsversuches "optische Pinzette" beschrieben. Die Messaufgabe ist direkt an die Praktikanten gerichtet, d.h. in einer Form verfasst, in der sie später in der Praktikumsanleitung vorliegen wird. Die Auswertung einer Beispielmessung dient unter anderem als Anhaltspunkt für die Betreuer im Praktikum. Zur Auswertung des ersten Versuchsteils ist den Studenten der Zahlenwert der effektiven Viskosität in der Zelle gegeben. Wie dieser für die verwendeten Zellen experimentell bestimmt wurde beschreibt der zweite Abschnitt des Kapitels. Zum Schluss folgt eine kurze Diskussion der Lernziele des Versuchs.

4.1. Der Praktikumsversuch

4.1.1. Messaufgabe der Studenten

Machen Sie sich mit dem Versuchsaufbau vertraut und schalten Sie die LED-Beleuchtung und den Computer ein. Als nächstes starten Sie das Bilderkennungsprogramm IPS und lassen sich das Livebild anzeigen. Durch Verschieben der Zelle und Fokussieren des Bildes ist ein kleines Partikel im Bildausschnitt zu suchen. Beachten Sie dabei, dass der Tisch manuell verschoben werden kann, wenn der Motor im Leerlauf steht. Wenn Sie ein Partikel gefunden haben, können Sie den Laser einschalten und mit der maximalen Laserintensität (s. Eichkurve „Laserintensität in Abhängigkeit des Winkels“) die Funktionsweise der optischen Pinzette testen. Hierfür wird ein kleines Partikel in die Nähe des Laserfokus geschoben und beobachtet, wie das Partikel vom Laser angezogen wird.

Erster Versuchsteil

Es soll die Haltekraft der optischen Pinzette in Abhängigkeit der Laserintensität gemessen werden. Fangen Sie dazu mit der optischen Pinzette bei maximaler Laserintensität ein Partikel und stellen Sie die maximale Motorgeschwindigkeit ein, bei der das Partikel noch vom Laserstrahl gehalten wird. Nun wird die Laserintensität solange reduziert, bis der Laserfokus das Partikel nicht mehr halten kann. Variieren Sie Intensität und Motor-

einstellung. Die Geschwindigkeit des Motors erhalten Sie über eine Weg-Zeit-Messung (IPS zeigt die Position des Mauszeigers an). Die gleiche Messung wird mit kleineren Motorgeschwindigkeiten durchgeführt. Zeichnen Sie mit ihren Messdaten und der Formel für die Stokesche Reibungskraft (2.5) ein Intensitäts-Kraft-Diagramm (mit Fehlerbalken). Beachten Sie dabei, dass der Partikeldurchmesser $2,8 \mu\text{m}$ beträgt und für die effektive Viskosität in der Zelle $\eta_{\text{eff}} = 0,0020 \pm 0,0004 \frac{\text{Ns}}{\text{m}^2}$ (bei 20°C) gilt.

Zweiter Versuchsteil

Nun wird die Aufenthaltswahrscheinlichkeit eines freien Partikels mit der eines gefangenen Partikels verglichen. Die folgende Messung ist für beide Partikel durchzuführen, wobei das gefangene Partikel bei minimaler Laserintensität zu beobachten ist. Vergleichen Sie zum Schluss Ihrer Auswertung die Ergebnisse beider Partikel und führen Sie eine Fehlerbetrachtung durch.

1. Starten Sie die Aufnahme der Partikeltrajektorie in IPS. Hierfür muss zuerst das Bild soweit defokussiert werden, dass das zu beobachtende Partikel einen schwarz ausgefüllten Kreis darstellt. Setzen Sie vor der Aufnahme die Schwellwerte zur Grauerkennung (s. Kapitel 2.5). Die Messung sollte 25 bis 30 Minuten dauern und mit einer Bildfrequenz von 2,5 Hz aufgenommen werden.
2. Visualisieren Sie nach der Messung mit Hilfe des Programms „Partikeltrajektorie.pl“ die Messdaten. Das Programm erstellt die Postscript-Datei „Name der Messdatei_xy_Trajektorie.ps“, die auszudrucken ist. Legen Sie an Hand des Ausdrucks und der im DOS Fenster ausgegebenen Mittelwerte *x-Mittel* und *y-Mittel* eine obere und untere Grenze in x- bzw. y-Richtung fest, zwischen denen das Histogramm gezeichnet werden soll.
3. Starten Sie das Programm „Histo_Berechnung.pl“, das Histogramme in x- und y-Richtung in die Postscript-Dateien „Name der Messdatei_x(y)histo.ps“ ausgibt. Zu einem der beiden Histogramme ist nach der Formel (2.4), welche die Aufenthaltswahrscheinlichkeit eines Partikels beschreibt, ein Potential zu zeichnen.

4.1.2. Auswertung des ersten Versuchsteils

Im ersten Teil des Praktikumsversuches soll die Laserintensität zum Halten des Partikels in Abhängigkeit von der Motorgeschwindigkeit gemessen werden. Die Motorgeschwindigkeit muss mit einer Weg-Zeit-Messung ermittelt werden, da die Anzeige am Motor auf $\frac{U}{\text{min}}$ geeicht und die Übersetzung bis zum Objektisch nicht bekannt ist. Zur Zeitmessung wird eine feste Motorgeschwindigkeit eingestellt und gestoppt in welcher Zeit ein Partikel im Bildausschnitt des Computerprogramms IPS von einem Bildschirmrand zum anderen gelangt. Dabei ergibt sich folgende Messreihe

Anzeige am Motor		1	0,3
1. Messung t	[s]	6,15	18,73
2. Messung t	[s]	6,34	18,91
3. Messung t	[s]	6,24	19,01
4. Messung t	[s]	6,44	18,82
5. Messung t	[s]	6,34	18,05
6. Messung t	[s]	6,35	19,01
7. Messung t	[s]	6,25	18,34
8. Messung t	[s]	6,44	18,44
9. Messung t	[s]	6,15	18,74
10. Messung t	[s]	6,43	18,93
Ø der Messungen	[s]	6,31	18,70

Zur Messung des Weges wird im Standbildmodus von IPS eine Linie (mit Hilfe des Icons *loi*) über den gesamten Bildschirm gezeichnet und mit Hilfe der Positionsanzeige der Maus die Länge $s = 158,1 \mu\text{m}$ ermittelt. Damit berechnen sich die Geschwindigkeiten zu

Anzeige am Motor	1	0,3
Geschwindigkeit v [$\frac{\mu\text{m}}{\text{s}}$]	25,06	8,45

Die Motorgeschwindigkeit wird nur für zwei Schalterstellungen am Motor ermittelt, da sich alle weiteren Geschwindigkeiten als Zehnerpotenzen ergeben.

Um die Laserintensität zum Halten eines Partikels in Abhängigkeit von der Motorgeschwindigkeit zu messen, wird ein Partikel mit der optischen Pinzette eingefangen und bei fester Motorgeschwindigkeit das $\lambda/2$ -Plättchen so lange gedreht, bis sich das Partikel aus dem Laserfokus „befreien“ kann. Die Winkelangabe am $\lambda/2$ -Plättchen wird notiert und die Messung für kleinere Motorgeschwindigkeiten wiederholt. Da die Kolloidsuspension polydispers ist (s. Kapitel 3.5), wird die Messung für zwei unterschiedlich große Partikel durchgeführt, wobei man für das kleinere Partikel folgende Messwerte erhält

Anzeige am Motor	1	0,3	0,01
Geschwindigkeit v [$\frac{\text{m}}{\text{s}}$]	25,06	8,45	2,50
Winkel am $\lambda/2$ -Plättchen α [$^\circ$]	24	10	3
Laserintensität I [mW]	7,5	2,25	0,75

Die Messung des größeren Partikels ergibt hingegen

Anzeige am Motor	0,3	0,01	0,03
Geschwindigkeit v [$\frac{\text{m}}{\text{s}}$]	8,45	2,50	0,85
Winkel am $\lambda/2$ -Plättchen α [$^\circ$]	19	9	2
Laserintensität I [mW]	5,5	2	0,6

Mit der durchgeführten Messung lässt sich die Haltekraft der optischen Pinzette bestimmen, da sich das Partikel genau dann vom Laserfokus befreien kann, wenn die Stokesche Reibungskraft gleich der Haltekraft der Pinzette ist. Zu diesem Zeitpunkt wird das Partikel vom Lösungsmittel, das sich mit der eingestellten Motorgeschwindigkeit bewegt, mitgerissen. Mit der Formel (2.5) der Stokeschen Reibungskraft ergibt sich also die Haltekraft der Pinzette

$$F_H(I) = 6 \pi \eta_{\text{eff}} a v(I) \quad .$$

Bei einer Temperatur von 20°C in der Zelle ist $\eta_{\text{eff}} = 0,0020 \frac{\text{Ns}}{\text{m}^2}$. Für beide Partikel wird der Radius $a = 1,4 \mu\text{m}$ angenommen, da dies der angegebene Durchschnittsradius der verwendeten polydispersen Kolloidsuspension ist. Damit erhält man für das kleinere Partikel

Laserintensität I	[mW]	7,5	2,25	0,75
Geschwindigkeit v	$\left[\frac{\text{m}}{\text{s}}\right]$	25,06	8,45	2,50
Haltekraft F_H	[pN]	1,293	0,436	0,129

und für das größere Partikel

Laserintensität I	[mW]	5,5	2	0,6
Geschwindigkeit v	$\left[\frac{\text{m}}{\text{s}}\right]$	8,45	2,50	0,85
Haltekraft F_H	[pN]	0,436	0,129	0,044

Mit den Werten der Tabellen lässt sich ein Intensitäts-Kraft-Diagramm zeichnen (s. Abbildung 4.1). Die Messpunkte liegen auf einer Ursprungsgeraden, da die Haltekraft des Lasers proportional zu seiner Intensität ist und für $I \equiv 0$ anschaulich $F = 0$ folgt. Die beiden Geraden haben eine unterschiedliche Steigung, da für jedes Partikel nicht der reale, sondern der angegebene Partikeldurchmesser angenommen wurde. Diese Beispielrechnung wurde für zwei unterschiedliche Partikel durchgeführt, um den Praktikumsbetreuern zu verdeutlichen, dass die Geradensteigung der Intensitäts-Kraft-Diagramms nicht eindeutig ist, sondern von der Größe des beobachteten Partikels abhängt. Die Praktikanten sollen die Messung jedoch nur für ein Partikel durchführen.

In der Abbildung 4.1 sind Fehlerbalken eingezeichnet. Für den Fehler der Intensität wird $\Delta I = 0,25 \text{ mW}$ angenommen. Er ergibt sich aus Ablesefehlern an der Winkelskala und der Eichkurve. Der Fehler der Haltekraft wird mit dem Fehlerfortpflanzungsgesetz ermittelt, d.h. durch die Formel

$$\begin{aligned} \Delta F_H &= \left| \frac{\partial F_H}{\partial \eta_{\text{eff}}} \cdot \Delta \eta_{\text{eff}} \right| + \left| \frac{\partial F_H}{\partial v} \cdot \Delta v \right| \\ &= 6 \pi a [v \Delta \eta_{\text{eff}} + \eta_{\text{eff}} \Delta v] \\ &= 6 \pi a \left[v \Delta \eta_{\text{eff}} + \eta_{\text{eff}} \left(\left| \frac{\partial v}{\partial s} \cdot \Delta s \right| + \left| \frac{\partial v}{\partial t} \cdot \Delta t \right| \right) \right] \\ &= 6 \pi a \left[v \Delta \eta_{\text{eff}} + \eta_{\text{eff}} \left(\frac{\Delta s}{t} + \frac{s \cdot \Delta t}{t^2} \right) \right] \quad . \end{aligned}$$

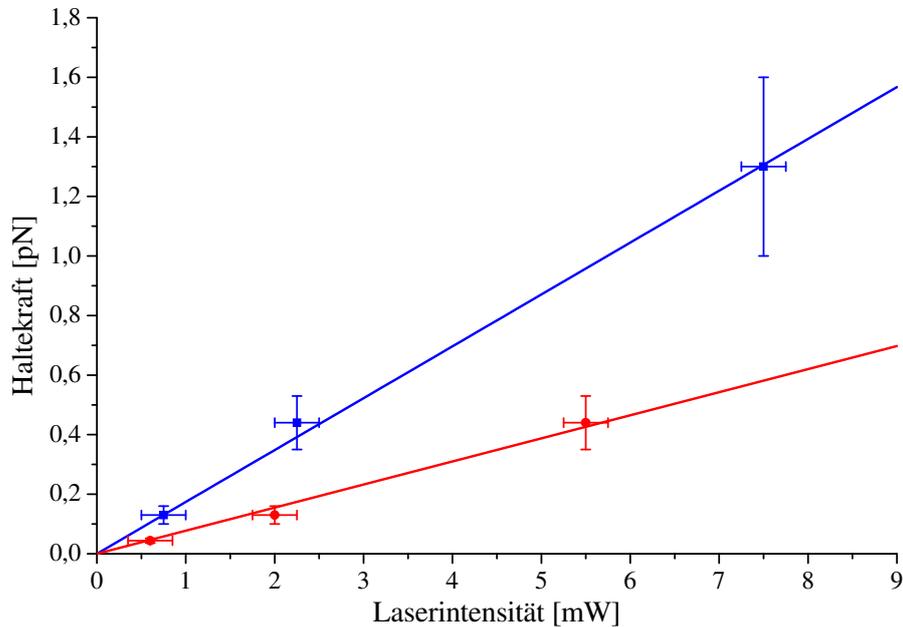


Abbildung 4.1.:

Haltekraft des Lasers aufgetragen über die Laserintensität. Die blaue Gerade ist die Messung des kleineren Partikels und die rote die des größeren.

Für die Fehler der Weg-Zeit-Messung werden $\Delta s = 0,2 \mu m$ und $\Delta t = 0,2 s$ angenommen. Mit $\Delta \eta_{\text{eff}} = 0,0004 \frac{Ns}{m^2}$ ergeben sich folgende Fehler der Haltekraft

Haltekraft F_H [pN]	1,3	0,44	0,13	0,044
Fehler ΔF_H [pN]	0,3	0,09	0,03	0,008

4.1.3. Auswertung des zweiten Versuchsteils

Im zweiten Versuchsteil werden die Aufenthaltswahrscheinlichkeiten eines freien und eines mit der optischen Pinzette gefangenen Partikels ermittelt und verglichen. Dazu werden die Trajektorien der beiden Partikel aufgenommen und mit dem Programm *Partikeltrajektorie.pl* visualisiert. Die Abbildung 4.2 zeigt die durch das Programm erstellten Postscriptdateien.

Die Trajektorie des freien Partikels ist zufällig und hat für jede Messung eine andere Form. Das gefangene Partikel hingegen ist durch den Laserfokus in seiner Bewegung eingeschränkt, ähnelt sich also bei jeder Messung.

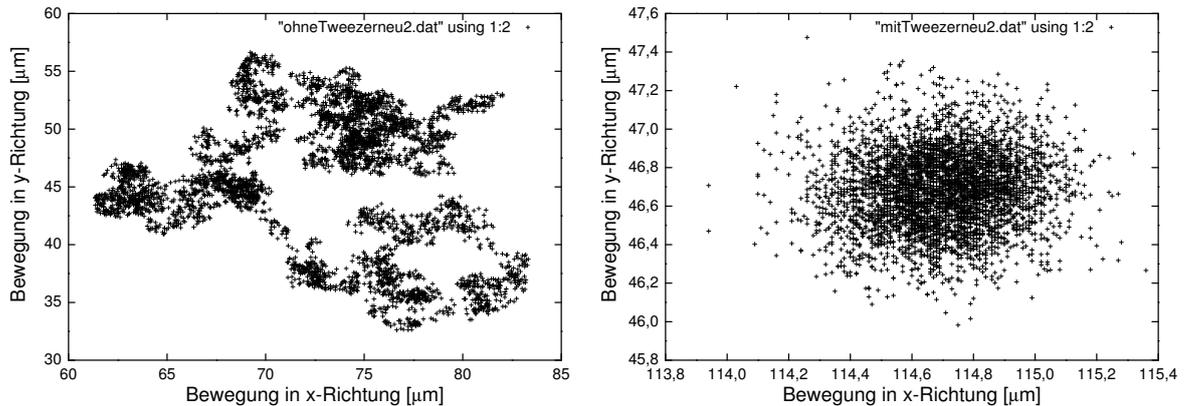


Abbildung 4.2.:

Links ist die Trajektorie des freien Partikels abgebildet und rechts die des gefangenen Partikels. Während die Bewegung des freien Partikels zufällig ist, ist die des gefangenen durch den Laserfokus eingeschränkt.

Das Programm *Partikeltrajektorie.pl* gibt zusätzlich die mittlere x- bzw. y-Koordinate der Partikeltrajektorie aus. In der vorliegenden Messung sind dies

	x-Mittel [μm]	y-Mittel [μm]
ohne Tweezer	72,73	45,52
mit Tweezer	114,70	46,68

Da die Häufigkeitsverteilung der Partikel nur innerhalb eines Schnittes betrachtet wird, sollen an Hand der Mittelwerte eine obere und untere Grenze der x- bzw. y-Koordinaten festgelegt werden. Nur x-Koordinaten deren zugeordnete y-Koordinaten innerhalb dieser festgesetzten y-Grenzen liegen, dienen zur Berechnung des Histogrammes in x-Richtung. Analoges gilt für das Histogramm in y-Richtung. Bei der Wahl der Grenzen muss beachtet werden, dass zur weiteren Auswertung noch ausreichend Messpunkte vorhanden sein müssen. Deshalb wurden die Grenzen des freien Partikels möglichst weit gefasst. Die festgelegten Grenzen der obigen Messung sind als Zahlenwerte in der folgenden Tabelle angegeben und grafisch in der Abbildung 4.3 dargestellt.

	x_{unten} [μm]	x_{oben} [μm]	y_{unten} [μm]	y_{oben} [μm]
ohne Tweezer	69,5	76	40	50
mit Tweezer	114,6	114,8	46,58	46,78

Nachdem die Grenzen festgelegt wurden, kann das Programm *Histo_Berechnung.pl* gestartet werden. Das Programm berechnet die Histogramme in x- und y-Richtung und gibt sie als Postscriptdateien aus. Die Abbildung 4.4 zeigt die Histogramme.

Wie oben bei den Partikeltrajektorien sieht man auch bei den Histogrammen deutlich die Unterschiede zwischen beiden Partikeln. Die Häufigkeitsverteilung des gefangenen Partikels (rechte Histogramme in der Abbildung 4.4) ist in der Mitte konzentriert, während

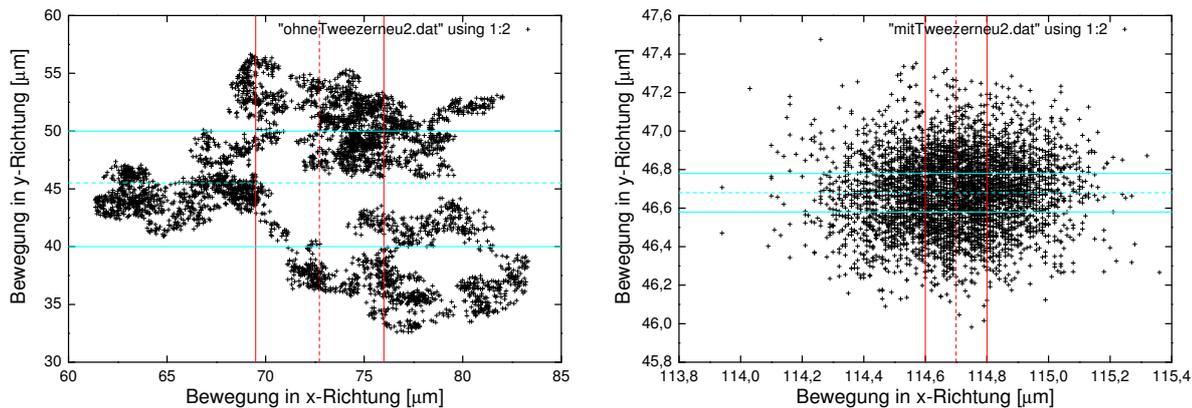


Abbildung 4.3.:

Trajektorien des freien des gefangenen Partikels. Mit Rot sind die Grenzen der x-Koordinaten und mit Blau die der y-Koordinaten eingezeichnet. Die mittleren Koordinaten sind durch die gestrichelten Linien markiert.

die des freien Partikels ohne erkennbare Präferenz ist. Theoretisch würde man für die Häufigkeitsverteilung des freien Partikels entlang aller x- bzw. y-Koordinaten den gleichen Wert erwarten, da sich das Partikel zufällig bewegt und sein Aufenthaltsort überall gleich wahrscheinlich ist. Dies ist in den Histogrammen des freien Partikels auf Grund der für statistische Messungen zu kurzen Messzeit nicht erkennbar.

Die Histogramme der beiden Partikel können nur qualitativ verglichen werden. Denn zur Berechnung der Histogramme (vgl. Kapitel 2.5) wird der gesamte Bereich der x- bzw. y-Koordinaten in 20 Intervalle eingeteilt und jedem Intervall die Anzahl der Aufenthalte des Partikels zugeordnet. Die Bewegung des freien Partikels erstreckt sich über einen Bereich von ca. 20 μm in x- und y-Richtung, die des gefangenen Partikels jedoch nur über 2 μm . Folglich sind die 20 Teilintervalle des freien Partikels wesentlich größer, als die des gefangenen Partikels. Deshalb darf die Anzahl der gezählten Ereignisse pro Intervall (also die Höhe der Balken im Histogramm) nicht direkt miteinander verglichen werden.

Im thermischen Gleichgewicht ist die Aufenthaltswahrscheinlichkeit des Partikels nach Formel (2.4) boltzmannverteilt, d.h. es gilt

$$P(x) = \frac{1}{Z} e^{-\frac{U(x)}{k_B T}} .$$

Aus den ermittelten Histogrammen lassen sich daher mit

$$U(x) = -k_B T \ln(P(x)) + C \quad \text{mit} \quad C = -k_B T \ln(Z) = \text{const}$$

die Potentiale, die auf das Partikel wirken, zeichnen. Die additive Konstante C verschiebt das Potential nur in y-Richtung, so dass für die Zeichnung $C \equiv 0$ gesetzt wurde. Abbildung 4.5 zeigt die Potentiale des freien und des gefangenen Partikels, jeweils in x-

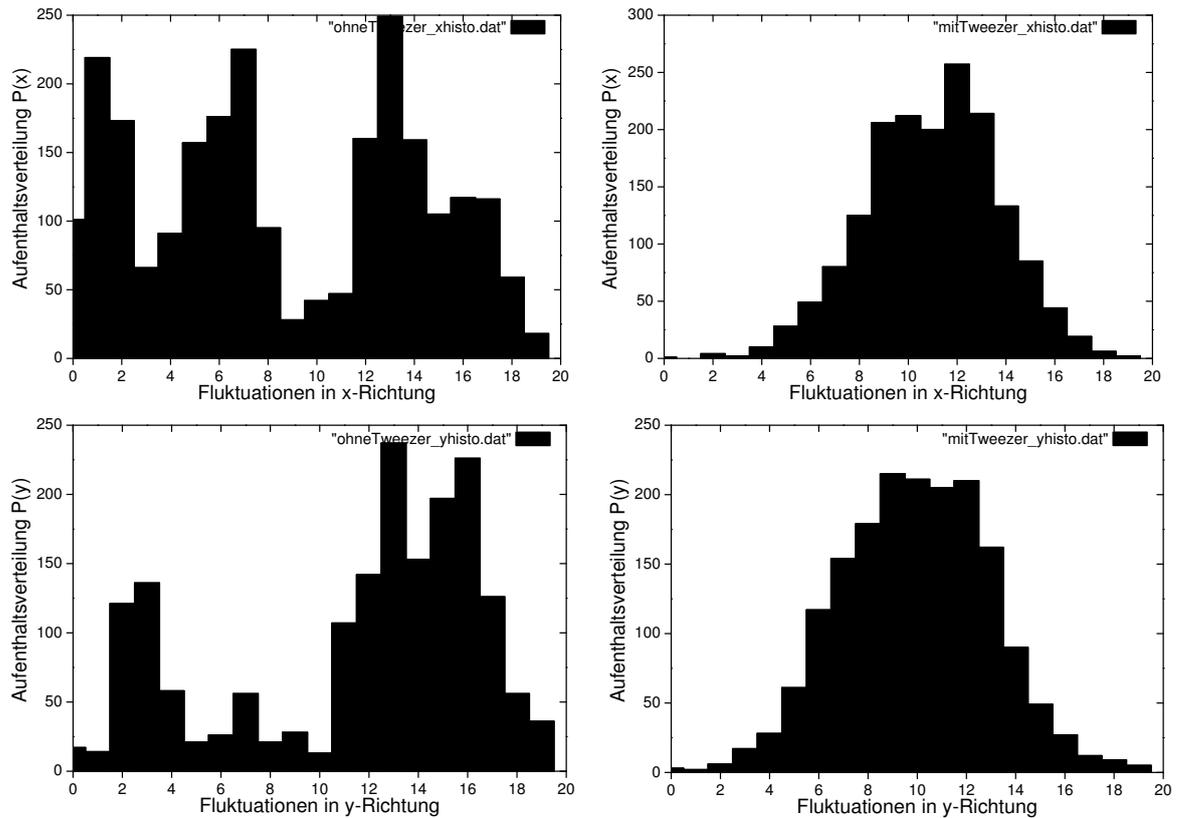


Abbildung 4.4.:

Links sind die Histogramme des freien und rechts die des gefangenen Partikels abgebildet. Die oberen Diagramme zeigen die Histogramme in x-Richtung und die unteren die in y-Richtung.

und y-Richtung. Die Potentiale des gefangenen Partikels machen deutlich, dass die optische Pinzette eine Potentialmulde erzeugt, in der das Partikel gefangen ist. Vergleicht man die Potentiale in x- und y-Richtung so lässt sich vermuten, dass die Potentialmulde parabolisch und annähernd rotationssymmetrisch ist. Auf das freie Partikel wirken hingegen, wie erwartet, kein Potential. Die Potentiale des freien Partikels haben zwar die gleiche Potentialtiefe wie das gefangene Partikel, jedoch ist dies nur eine Folge der nicht normierten Histogramme. Analog zu den Histogrammen können auch die Potentiale nur qualitativ miteinander verglichen werden.

Die Daten für den zweiten Teil des Versuches werden hauptsächlich vom Computer aufgenommen und ausgewertet. Deshalb bietet sich eine Fehlerbetrachtung anstatt einer Fehlerberechnung an.

Eine mögliche Fehlerquelle liegt beim Setzen der Schwellwerte zur Grauerkennung im Programm IPS. Bei ungeschickter Wahl der Schwellwertgrenzen erkennt IPS das Partikel möglicherweise nur zum Teil, was zu einer verfälschten Messung führt. Denn IPS speichert die Mittelpunktdaten des erkannten Objektes. Wird nur das halbe Partikel erkannt, nimmt IPS eine falsche Position des Mittelpunktes auf.

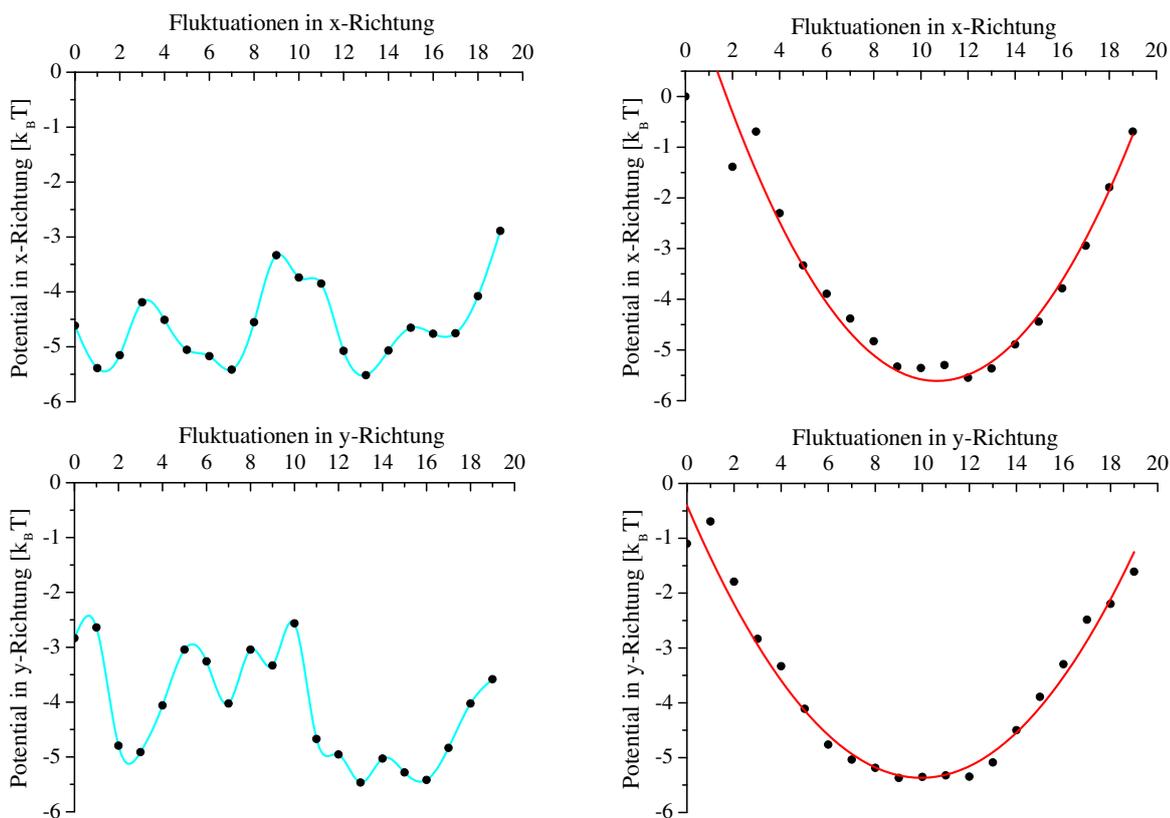


Abbildung 4.5.:

Links sieht man die Potentiale des freien und rechts die des gefangenen Partikels. Die oberen Diagramme zeigen die Potentiale in x- und die unteren in y-Richtung. Die Messpunkte der linken Potentiale wurden nur verbunden, während bei den rechten Potentialen eine Parabel angefitet wurde.

Bei der Wahl der oberen und unteren Grenze der x- bzw. y-Koordinaten zur Histogrammberechnung kann ein weiterer Fehler auftreten. Wählt man die Grenzen zu eng beieinander, so werden zu wenig Datenpunkte zur Berechnung des Histogramms verarbeitet, was zu einer schlechten Statistik führt. Darauf ist besonders bei der Auswertung des freien Partikels zu achten, da sich dessen Aufenthaltswahrscheinlichkeit nicht in der Mitte konzentriert.

Beobachtet man das gefangene Partikel nicht bei minimaler Laserintensität, so wird es von der optische Pinzette zu stark im Fokus gehalten. Die Partikelbewegungen wären dann für das Auflösungsvermögen von IPS zu gering. Bei der Visualisierung der Daten hätte die Partikeltrajektorie Lücken. Für die Histogrammberechnung würde dies bedeuten, dass sich das Partikel in manchen Bereichen nie aufgehalten hätte. Das Histogramm wäre somit verfälscht.

4.2. Messung der effektiven Viskosität in der Zelle

Die effektive Viskosität in einer Zelle wird durch hydrodynamische Wechselwirkungen zwischen den Partikeln und den Zellwänden hervorgerufen und beeinflusst die Beweglichkeit eines Partikels. Die Partikelbewegung in einem kolloidalen System ist analog zur Bewegung einer Kugel in einer Flüssigkeit (s. Kapitel 2.3). Die Diffusion eines freien Partikels mit der thermischen Energie $k_B T$ wird durch die Stokessche Reibungskraft (2.5) abgebremst und durch den Diffusionskoeffizienten

$$D = \frac{k_B T}{6 \pi \eta_{\text{eff}} a} \quad (4.1)$$

beschrieben. Hierbei ist, analog zur Formel (2.5), a der Partikelradius und η_{eff} die effektive Viskosität in der Zelle. Der Diffusionskoeffizient D ist ein Maß für die Beweglichkeit eines Partikels im System. Wie weit ein freies Partikel in der Zeit t diffundiert, ist daher proportional zu D und wird über die mittlere quadratische Verschiebung (engl. *mean square displacement*)

$$\langle |r(t + \tau) - r(\tau)|^2 \rangle_\tau = 4 D t \quad (4.2)$$

definiert. $r(t + \tau)$ bzw. $r(\tau)$ bezeichnen den Ort des Partikels zum Zeitpunkt $t + \tau$ bzw. τ . Der Vorfaktor 4 beschreibt die Bewegung in einer Ebene, im Raum wäre der Faktor 6.

Zur experimentellen Bestimmung der effektiven Viskosität wurden mit IPS die Trajektorien diffundierender Partikel aufgenommen und die mittlere quadratische Verschiebung jedes Partikels ermittelt, um mit den Formeln (4.1) und (4.2) η_{eff} zu bestimmen.

Abbildung 4.6 zeigt die Verschiebungskquadrate von fünf unterschiedlichen Partikeln in der gleichen Zelle. Aus der Formel (4.2) wird ersichtlich, dass die mittlere quadratische Verschiebung durch Mittelwertbildung über alle Zeiten τ bestimmt wird. Um gute Ergebnisse für kurze Zeiten t zu erhalten bedarf es somit einer langen Messdauer. Für die Graphen der Abbildung 4.6 wurde deshalb jedes Partikel eine Stunde beobachtet.

Aus Abbildung 4.6 liest man eine minimale Steigung M_{min} (rote Kurve) und eine maximale Steigung M_{max} (hellblaue Kurve) ab. Nach Formel (4.2) ist $M_{\text{min}/\text{max}} = 4 D$, so dass sich aus der Formel (4.1) die effektive Viskosität zu

$$\eta_{\text{eff, min/max}} = \frac{4 k_B T}{6 \pi a M_{\text{min/max}}} = \frac{2 k_B T}{3 \pi a M_{\text{min/max}}}$$

ergibt. Mit $k_B = 1,38 \cdot 10^{-23} \frac{\text{J}}{\text{K}}$, $a = 1,4 \mu\text{m}$ und $T = 20^\circ\text{C} = 293 \text{K}$ ergeben sich eine minimale und maximale Viskosität

$$\begin{aligned} M_{\text{min}} = 0,264 \frac{(\mu\text{m})^2}{\text{s}} &\Rightarrow \eta_{\text{eff, min}} = 0,001588 \frac{\text{Ns}}{\text{m}^2} \\ M_{\text{max}} = 0,386 \frac{(\mu\text{m})^2}{\text{s}} &\Rightarrow \eta_{\text{eff, max}} = 0,002322 \frac{\text{Ns}}{\text{m}^2} . \end{aligned}$$

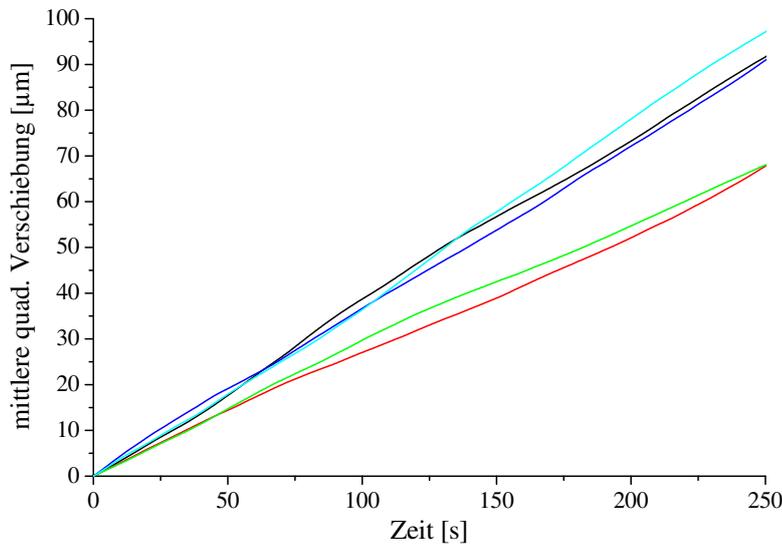


Abbildung 4.6.:
Mittlere quadratische Verschiebung der fünf Partikel für kurze Zeiten. Aus der roten Kurve ermittelt man eine minimale und aus der hellblauen eine maximale Steigung.

Durch Mittelwertbildung erhält man für die effektive Viskosität

$$\eta_{\text{eff}} = 0,0020 \pm 0,0004 \frac{\text{Ns}}{\text{m}^2} \quad (\text{bei } 20^\circ\text{C}) \quad ,$$

wobei sich der Fehler aus der Differenz $|\eta_{\text{eff,min/max}} - \eta_{\text{eff}}|$ ergibt.

In [Bre61] wird der Einfluß hydrodynamischer Kräfte auf ein Partikel in einer Zelle berechnet. Das Ergebnis dieser Rechnungen ist in Abbildung 4.7 (aus [Hel03]) illustriert. Das Diagramm zeigt die Änderung des Diffusionskoeffizienten eines Partikels mit Radius $r = 1,4 \mu\text{m}$ vor einer Wand.

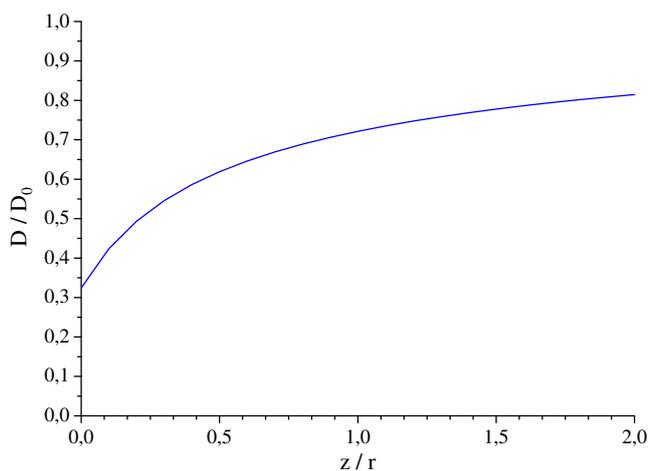


Abbildung 4.7.:
Diffusionskoeffizient eines Partikels mit Radius $r=1,4 \mu\text{m}$ in der Nähe einer Wand. z bezeichnet den Abstand zur Wand, D den effektiven Diffusionskoeffizienten und D_0 den Diffusionskoeffizienten eines freien Partikels; aus [Hel03].

In der obigen Messung wurden Partikel mit Durchmesser $2,8 \mu\text{m}$ in einer Zelle der Dicke $10 \mu\text{m}$ untersucht, d.h. der Abstand zwischen einem Partikel und einer Wand beträgt ma-

ximal den doppelten Partikeldurchmesser. Aus der Abbildung 4.7 folgt für ein Partikel, das sich um maximal $z = 2r$ von der Wand entfernt, ein mittlerer effektiver Diffusionskoeffizient $D = 0,5 D_0$. Der gemessene Wert von η_{eff} stimmt gut mit dieser Theorie überein, denn er ist in etwa doppelt so groß wie die Viskosität von Wasser ($\eta_{\text{Wasser}} = 0,001025 \frac{\text{Ns}}{\text{m}^2}$ bei 20°C ; aus [Ger04]).

4.3. Lernziele für die Studenten

Die optische Pinzette wurde für das physikalische Anfängerpraktikum der Universität Stuttgart konzipiert. Das Praktikum ist in fast allen natur- und ingenieurwissenschaftlichen Studiengängen Teil des Grundstudiums. Man muss sich daher fragen, was die Studenten durch diesen Praktikumsversuch lernen sollen und weshalb dieser Versuch für das Anfängerpraktikum sinnvoll ist.

Der Versuch bringt neue Aspekte in das Stuttgarter Anfängerpraktikum. Während die Studenten an vielen Praktikumsversuchen deterministische Bewegungsabläufe untersuchen, beinhaltet der neu konzipierte Versuch die Auswertung einer statistischen Bewegung. Damit wird den Studenten, denen vorwiegend Newtonsche Bewegungen bekannt sein werden, vermittelt, dass die Stochastik wertvolle physikalische Informationen beinhaltet, die nicht nur in der theoretischen sondern auch experimentellen Physik wichtig sind.

Ein weiterer neuer Aspekt für die Studenten ist der Computer als „Messinstrument“. Durch die Anwendung eines Bilderkennungsprogramms lernen sie eine Methode zur Datenerfassung durch den Rechner kennen. Den meisten Studenten wird der Computer vermutlich nur als Hilfe zur Datenauswertung vertraut sein. Zudem wird die Videomikroskopie in vielen natur- und ingenieurwissenschaftlichen Bereichen immer wichtiger. Für viele Fragestellungen, z.B. in der Biologie, werden Bildinformationen benötigt, da analoge Signalmessungen nicht mehr ausreichen.

Desweiteren sollte das Anfängerpraktikum den Studenten die Möglichkeit bieten, theoretisch gelernte Studieninhalte praktisch zu erfahren. Da die optische Pinzette in vielen naturwissenschaftlichen Bereichen an Bedeutung gewinnt, wird sie vermehrt in die Studienpläne eingebaut, so dass eine im Anfängerpraktikum integrierte optische Pinzette gut mit diesen Studienplänen korrespondiert.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Versuch „optische Pinzette“ das Anfängerpraktikum modernisiert. Der Versuch vermittelt den Studenten nicht nur neue Messmethoden, sondern gewährt, z.B. durch die Arbeit am Computer, einen Einblick in die moderne Art des wissenschaftlichen Arbeitens.

5. Hinweise für die Praktikumsbetreuung

Abschließend werden nun einige Tipps und Hinweise für die Praktikumsbetreuung gegeben. Zunächst werden drei Fragen diskutiert, die von den Praktikanten vor dem Versuch beantwortet werden müssen. Die Fragen sollen den Studenten die Versuchsdurchführung und -auswertung erleichtern. Weiter werden in diesem Kapitel mögliche Probleme und Fehlerquellen bei der Versuchsdurchführung vorgestellt. Zum Schluss folgen wichtige Tipps zur Justage des Laserstrahls, falls ein Neuaufbau des Versuches nötig sein sollte.

5.1. Verständnisfragen

Im Rahmen des Versuchsprotokolls sind von den Praktikumsstudenten Fragen schriftlich zu beantworten. Diese Fragen dienen zum besseren Verständnis der Theorie, die mit dem Praktikumsversuch erarbeitet werden soll. Zum Versuch, der in dieser wissenschaftlichen Arbeit entwickelt wurde, wird nur eine Frage zur Theorie gestellt, während die beiden anderen Fragen die Versuchsauswertung behandeln, da diese den Studenten Schwierigkeiten bereiten könnte. Durch die Fragen sollen die Studenten auf Probleme aufmerksam gemacht werden, die sie wahrscheinlich ohne Hilfe nicht gesehen hätten. Daher ist es wichtig, dass der Betreuer dieses Praktikumsversuchs die Fragen mit den Studenten vor der Versuchsdurchführung diskutiert. Im Folgenden werden die Fragen mit den möglichen Antworten vorgestellt.

Frage 1

Wovon ist die Kraft, mit der die optische Pinzette ein Partikel fängt, abhängig?

Antwort

Die Kraft der optischen Pinzette hängt primär von der Laserintensität ab, da die Kräfte, die das Partikel in den Fokus ziehen, intensitätsabhängig sind.

Weiter wird die Kraft der optischen Pinzette verändert, wenn der Laserstrahl defokussiert wird, d.h. der Laserfokus nicht mehr in der Partikelebene liegt. Der Intensitätsgradient und damit die Gradientenkraft, welche die Partikel anzieht, wird dadurch verringert.

Ein dritter Parameter, von dem die Kraft der optischen Pinzette abhängt, ist die Partikelgröße. Auf ein kleines Partikel wirkt eine geringere Kraft als auf ein großes, d.h. das

große Partikel lässt sich leichter fangen. Denn bei einem kleineren Partikel wirken die Kräfte des Laserstrahls auf eine kleinere Fläche, so dass die resultierende Gesamtkraft geringer ist (vgl. schematische Abbildungen des Kapitels 2.4).

Frage 2

Sind die Häufigkeitsverteilungen, die das Programm *Histo_Berechnung.pl* errechnet, für verschiedene Partikeltrajektorien vergleichbar? Wo liegen die Grenzen des Programms?

Antwort

Histogramme zu verschiedenen Partikeltrajektorien sind nicht zwingend quantitativ vergleichbar, da die ausgegebenen Histogramme nicht normiert sind. Das Programm *Histo_Berechnung.pl* teilt den gesamten Bereich der x- bzw. y-Koordinaten in 20 Intervalle ein und ordnet jedem Intervall die Anzahl der Partikelauenthalte zu. Für Partikeltrajektorien, die sich über einen größeren Bereich erstrecken, sind die Intervalle größer als für Partikel, die sich nur minimal bewegen. Als Gedankenspiel kann man zwei Partikel betrachten, von denen sich das eine 200 Mal in einem Intervall der Größe $1 \mu\text{m}$ aufhält, während das andere 200 Mal in einem Intervall der Größe $0,1 \mu\text{m}$ vorzufinden ist. Die Häufigkeitswerte pro Intervall (d.h. die angezeigten Balken im Histogramm) wäre für beide Partikel gleich groß, ihre Aufenthaltswahrscheinlichkeit für ein Intervall der Größe $0,1 \mu\text{m}$ jedoch unterschiedlich. Weiter ist zu beachten, dass auch die Wahl der oberen und unteren x- bzw. y-Grenze die Anzahl der Partikelauenthalte pro Intervall beeinflusst.

Die Histogramme zweier Partikeltrajektorien, die unter verschiedenen Bedingungen aufgenommen wurden, können also immer nur qualitativ, aber nicht quantitativ miteinander verglichen werden. Analoges gilt für den Vergleich zweier Potentiale, die aus den Histogrammen ermittelt wurden.

Frage 3

Die Aufenthaltswahrscheinlichkeit des Partikels ist nach der Formel (2.4) boltzmannverteilt. Wie groß ist der Parameter Z in der Formel? Was ergibt sich daraus für die Lage des Potentials?

Antwort

Im thermischen Gleichgewicht gilt für die Aufenthaltswahrscheinlichkeit eines Partikels

$$P(x) = \frac{1}{Z} e^{-\frac{U(x)}{k_B T}} .$$

Der Vorfaktor Z wird so gewählt, dass die Normierungsbedingung $\int_{-\infty}^{\infty} P(x) dx = 1$ erfüllt ist. Formal gilt also

$$Z = \int_{-\infty}^{\infty} e^{-\frac{U(x)}{k_B T}} dx = \text{const} .$$

Folglich ist Z nur ein konstanter Faktor. Löst man die Formel der Boltzmanverteilung nach $U(x)$ auf so ergibt sich

$$U(x) = -k_B T \ln(P(x)) - k_B T \ln(Z) \quad .$$

Das Potential $U(x)$ wird durch die additive Konstante $-k_B T \ln(Z)$ in y -Richtung verschoben. Qualitativ ändert sich an dem Potential nichts, so dass die Wahl von Z beliebig ist. Wählt man $Z \equiv 1$, so gilt $-k_B T \ln(Z) \equiv 0$.

5.2. Mögliche Probleme bei der Durchführung

Im Folgenden werden potentielle Fehlerquellen und mögliche Probleme, die bei der Versuchsdurchführung auftreten können, diskutiert.

Anwendung der Computerprogramme

Die Studenten könnten abhängig von ihren Vorkenntnissen bei der Anwendung der Computerprogramme Schwierigkeiten haben. Z.B. könnte die Arbeit mit einem DOS-Fenster für manche Studenten Probleme bereiten. Hier müsste der Praktikumsbetreuer die Studenten unterstützen.

Bild der Kamera ist zu dunkel

Wenn bei maximaler Beleuchtung der LED das Bild der Kamera zu dunkel ist, könnte die Kameraeinstellung verstellt sein. An der Kamera sind zwei Schalter angebracht, die auf „off“ (Schalter *Shutter*) und auf „fix“ (Schalter *Gain*) stehen sollten.

Kleine Partikel werden nicht gefunden

Die Studenten könnten zu Beginn der Versuchsdurchführung Probleme haben, ein kleines Partikel in der Zelle zu finden. Die Partikeldichte in der Zelle ist sehr gering, so dass es Bereiche gibt, an denen sich kein Partikel befindet. Zudem sind in der Zelle nicht nur $2,8 \mu\text{m}$ Partikel sondern zusätzlich noch Verunreinigungen und Bakterien. Die $2,8 \mu\text{m}$ Kolloide erkennt man an ihrer runden Form. Wirkt das Bild auf dem Monitor scharf, so sollten die Kolloide die Form eines schwarzen Kreisrings und eine Größe von ungefähr $0,5 \text{ cm}$ haben.

Partikel lässt sich nicht fangen

Lässt sich ein Partikel nicht mit der optischen Pinzette einfangen, so ist es irreversibel mit der Zellwand verbunden. Bei genauerer Betrachtung des Partikels stellt man fest, dass es auch keine Brownsche Bewegung ausführt. Das Partikel lässt sich dann nicht mehr zur Messung verwenden. Enthält die Zelle zu viele unbewegliche Partikel, muss sie durch eine neue ersetzt werden.

Partikel werden von IPS falsch erkannt

Entstehen bei der Aufnahme der Partikelbewegung in IPS Probleme, d.h. wird ein Partikel nur zum Teil erkannt, oder werden Hintergrundpunkte mitaufgenommen, so liegt die Ursache beim Setzen der Schwellwerte. Bevor man die Schwellwerte festlegt, muss das Bild defokussiert werden, so dass das Partikel als schwarzer Kreis erkennbar ist. Nur so ist gewährleistet, dass das Partikel als vollständiges Objekt erkannt wird. Erkennt IPS außer dem Partikel noch einige weitere dunkle Stellen im Hintergrund, so werden diese im Programm *Partikeltrajektorie.pl* herausgefiltert. Werden sehr viele Hintergrundpunkte erkannt, sollte man in IPS einen Filter einstellen, der das Hintergrundrauschen als solches erkennt und nicht mitaufnimmt. Hierzu öffnet man das Fenster *Sequencer*, wechselt zum Punkt *Aktionen* und fügt den Filter *LA HKG* hinzu. Die Standardeinstellung beibehalten den Filter *Gauss 3x3*. Mit dem neuen Filter sollte die Aufnahme zuerst für ein paar Sekunden gestartet werden, damit IPS das Hintergrundrauschen erkennt. Danach kann wie üblich fortgefahren werden.

5.3. Hinweise zur Versuchsdurchführung

Für die Versuchsdurchführung wurde bewusst die vorliegende Reihenfolge der Versuchsteile gewählt. Die Studenten sollen zuerst die Haltekraft der optischen Pinzette in Abhängigkeit der Motorgeschwindigkeit messen, da sie dabei direkt mit der optischen Pinzette arbeiten und die Eigenschaften der Pinzette kennenlernen. Der zweite Versuchsteil startet mit einer 30 minütigen Messung einer Partikelbewegung. In dieser Zeit können die Studenten ihre Ergebnisse der ersten Messung auswerten. Nachdem die Studenten die erste Partikeltrajektorie visualisiert und ausgedruckt haben, starten sie am besten die Aufnahme des zweiten Partikels, da sie während dieser halbstündigen Messung die erste Trajektorie auswerten können. Normalerweise sollen die Studenten zum zweiten Versuchsteil nur die Potentiale in einer Richtung (also entweder x oder y) zeichnen. Der Betreuer kann jedoch entscheiden, ob Praktikanten, die die Messaufgaben schnell durchführten, beide Richtungen auswerten sollen.

Durch die gewählte Reihenfolge der Versuchsdurchführung sollten die Praktikanten die Messungen und Teile der Auswertung innerhalb der gegebenen Praktikumszeit absolvieren können. Für die gewählte Reihenfolge spricht zusätzlich, dass die Studenten die erste Messung aktiv ausführen, während der zweite Teil vorwiegend durch den Computer aufgenommen wird. Wäre die Versuchsdurchführung umgekehrt so würden die Studenten eventuell schon bei der ersten Messung, bei der sie nichts zu tun hätten, das Interesse am Versuch verlieren.

5.4. Hinweise zur Justage

Der Aufbau der optischen Pinzette ist komplett justiert und sollte nicht verändert werden. Falls der Aufbau dennoch einmal dejustiert ist, folgen nun ein paar Tipps, welche die Justage erleichtern.

Die folgende Liste gibt einen Überblick über die Positionen der Gegenstände auf den Schienen.

senkrechte Schiene (die Angaben beziehen sich auf den oberen Rand des Reiters)

CCD-Kamera	4,0 cm
Linse ($f=350$ mm)	39,2 cm
Filter	zwischen Linse und Strahlteiler
Strahlteilerwürfel	45,7 cm
Objektiv	56 cm
Objekttisch	73,5 cm
Linse ($f=50$ mm)	direkt am Tisch
LED	85,4 cm

obere waagrechte Schiene (die Angaben beziehen sich auf den rechten Rand des Reiters)

Laser	1,9 cm und 19,1 cm
Linse ($f=50$ mm)	22,5 cm
Spiegel	33,1 cm

untere waagrechte Schiene (die Angaben beziehen sich auf den rechten Rand des Reiters)

Spiegel	29,4 cm
Linse ($f=150$ mm)	35,1 cm

Diese Angaben dienen nur der groben Orientierung, denn sobald der Aufbau verändert wurde muss die Justage des Laserstrahls kontrolliert werden. Wie in Kapitel 3.2 beschrieben wurde, ist der Laserstrahl justiert, wenn er zentriert und senkrecht auf das Objektiv trifft. Zur Grobjustage des Strahls verschiebt man das Objektiv entlang der senkrechten Schiene und verändert die Neigungswinkel der beiden Spiegel so lange, bis der Strahl für jede Position das Objektiv zentriert trifft.

Die Feinjustage des Strahls erfolgt mit dem Bild des Laserfokus auf dem Monitor. Damit der Fokus gut zu beobachten ist muss ausreichend viel Laserlicht in die Kamera gelangen. Die Erfahrung zeigt, dass das Bild des Fokus am besten ohne die beiden Filter, dafür mit dem Shutter der Kamera (Schalter *Shutter* auf „on“), und bei einer Winkeleinstellung von 0° am $\lambda/2$ -Plättchen sichtbar ist. Nun wird der Laserfokus beobachtet

und gleichzeitig das Objektiv, d.h. die Fokusebene, verschoben. Der Fokus eines richtig justierten Laserstrahls würde sich dabei kugelsymmetrisch ändern. Die Abbildungen 5.1 und 5.2 zeigen die Foki zweier Laserstrahlen, wobei der erste Strahl falsch und der zweite richtig justiert ist.

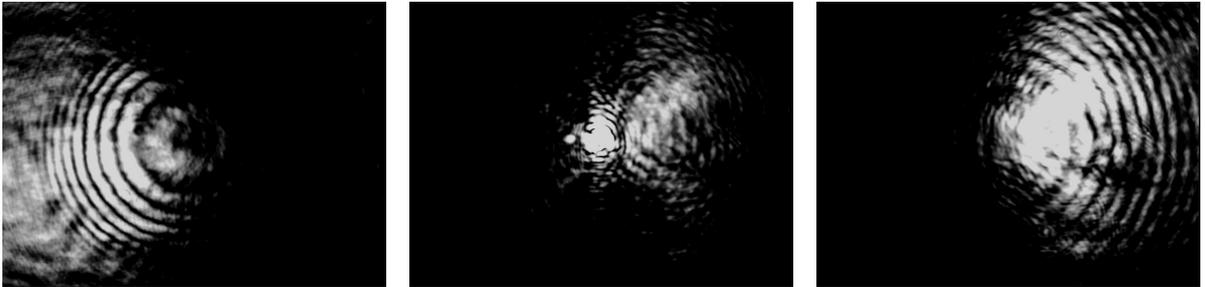


Abbildung 5.1.:

Laserfokus eines falsch justierten Laserstrahls. Verschiebt man die Fokusebene, so ändert sich der Fokus nicht kugelsymmetrisch. Hier im Bild wandert der Laserfokus von links nach rechts.

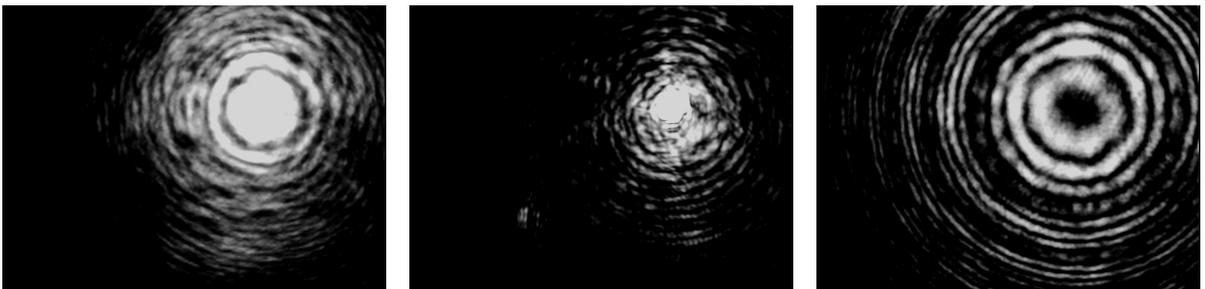


Abbildung 5.2.:

Laserfokus eines richtig justierten Laserstrahls. Der Fokus ändert sich kugelsymmetrisch, wenn seine Ebene verschoben wird.

Durch die Justage des Laserstrahls ist die Ebene des Laserfokus wahrscheinlich nicht mehr mit der Partikelebene identisch. Deutlich wird dies an einer verringerten Haltekraft der optischen Pinzette. Zur Korrektur der verschobenen Ebenen beobachtet man den Schatten eines Partikels auf einem hellen Hintergrund unterhalb der Zelle. Die Laserfokusebene wird solange verschoben bis man am Schatten beobachtet wie das Partikel vom Laserfokus gefangen wird. Danach muss die Tubuslinse vor der Kamera entsprechend positioniert werden, so dass sich wieder ein scharfes Bild auf dem Monitor ergibt.

6. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde der Versuch „optische Pinzette“ für das physikalische Anfängerpraktikum der Universität Stuttgart entwickelt. Der Versuchsaufbau besteht aus einer optischen Pinzette und einem optischen Mikroskop, das über eine CCD Kamera mit einem Computer verbunden ist. Bei der Konzeptionierung des Aufbaus wurde berücksichtigt, dass Grundstudiumsstudenten über mehrere Jahre hinweg daran experimentieren werden. Deshalb wurde auf einen stabilen und möglichst einfachen Aufbau, d.h. mit wenigen und vergleichsweise günstigen Komponenten, Wert gelegt.

Die Praktikumsstudenten werden, an Hand des neu entwickelten Versuchs, die Brownsche Molekularbewegung in einer kolloidalen Suspension und die Auswirkung einer optischen Pinzette auf diese Bewegung untersuchen. Der Versuch gliedert sich in zwei Teile. Zuerst lernen die Studenten die Funktionsweise der optischen Pinzette kennen, indem sie die Haltekraft des Laserstrahls in Abhängigkeit der Laserintensität bestimmen. Für den zweiten Versuchsteil ist die Aufenthaltswahrscheinlichkeit eines im Laserfokus gefangenen und eines freien Partikels zu vergleichen.

Der Praktikumsversuch beinhaltet zwei Aspekte, die im Stuttgarter Anfängerpraktikum neu sind. Erstens untersuchen die Studenten keine deterministische Bewegung, sondern werten die Statistik der Brownschen Bewegung aus und zweitens werden die Messdaten über Videomikroskopie aufgenommen. Diese erlangt in der heutigen natur- und ingenieurwissenschaftlichen Forschung immer mehr an Bedeutung, so dass die Integration dieser Technik in die Studienpläne dieser Fächer sinnvoll ist.

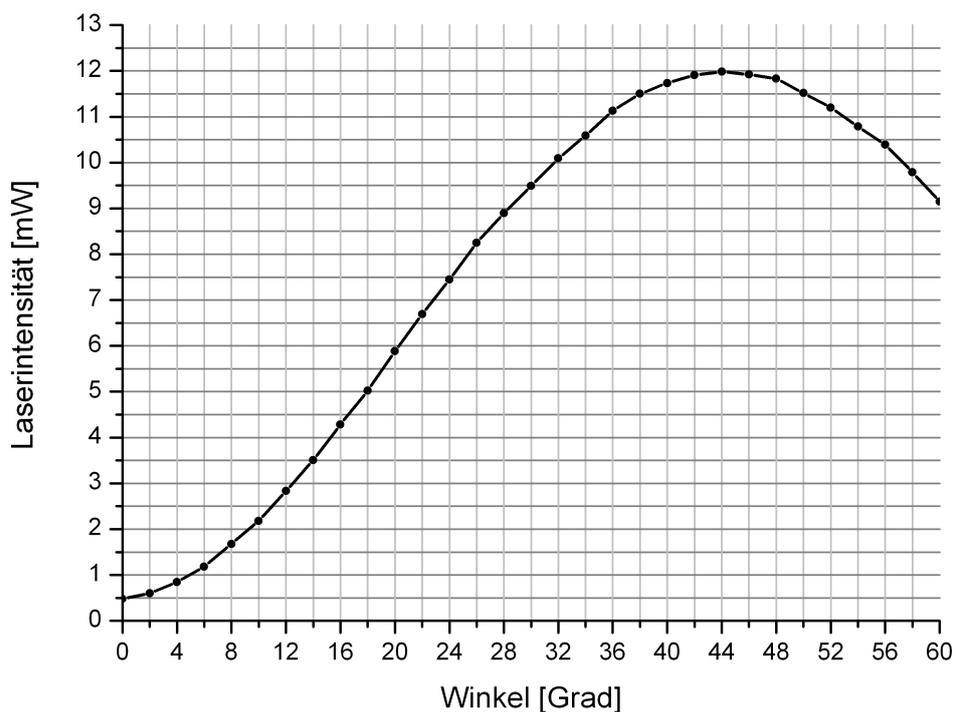
Der neu konzipierte Praktikumsversuch ist nicht nur für die Stuttgarter Universität einzigartig. Denn es findet sich bislang, wenn überhaupt, nur in wenigen physikalischen Praktika anderer Universitäten eine optische Pinzette an der Studenten experimentieren können. Ebenso ist das Versuchskonzept, die Auswertung einer statistischen Teilchenbewegung, etwas völlig Neues in einem Anfängerpraktikum.

A. Eichkurve

„Laserintensität in Abhängigkeit des Winkels“

Die untere Kurve zeigt die Abhängigkeit der Laserintensität von der Winkeleinstellung am $\lambda/2$ -Plättchen.

Zur Ermittlung der Eichkurve wurde die Laserintensität auf Höhe des Objektstischs für verschiedenen Winkeleinstellungen gemessen. Zur Bestimmung der Kurvenpunkte wurden die Mittelwerte aus zwölf Messreihen berechnet.



B. Aufschlüsselung der Kosten

Die folgende Tabelle soll einen Anhaltspunkt über die möglichen Kosten geben. Das Bildverarbeitungsprogramm und die Halterungen für die Komponenten waren schon im Labor vorhanden und sind deshalb nicht aufgelistet.

Produkt	Hersteller	Menge	Preis pro Stück
Dioden Laser	Coherent	1	2400,00
Objektiv	Zeiss	1	2200,00
Verschiebetische	OWIS GmbH	2	165,00
		1	285,00
Polarisationsstrahlteilerwürfel	Edmund Optics	1	284,78
Kantenfilter	<i>Restbestand im Labor</i>	2	40,00
LED mit Spannungsquelle	Lumileds	1	50,00
Linsen	<i>Restbestand im Labor</i>	4	40,00
$\lambda/2$ -Plättchen	Linios	1	500,00
Spiegel	Thorlabs	2	105,00
CCD Kamera	Tokyo Electronics Industry Corporation	1	500,00
PC & Monitor	Arlt		750,00
Material für das Grundgerüst	Metallhandel Hans Franke		500,00

C. Mischverhältnis der kolloidalen Suspension

In der kolloidalen Suspension werden folgende Partikel verwendet:

2,8 μm Partikel:	Firma	Interface Dynamics Corporation
	Bezeichnung	<i>Free White Sulfate Latex</i>
	Partikeldichte	8,2%
10 μm Partikel:	Firma	Duke Scientific Corporation
	Bezeichnung	<i>Polymer Microspheres in Water</i>
	Partikeldichte	0,2%

Aus den kolloidalen Stammsuspensionen werden verdünnte Lösungen hergestellt, die zur Mischung der endgültigen Suspension dienen.

Die Mischungen der einzelnen Lösungen setzen sich wie folgt zusammen:

- *verdünnte Lösung der 2,8 μm Partikel*
30 μl Stammlösung
+ 7 ml deionisiertes Wasser
- *verdünnte Lösung der 10 μm Partikel*
1 ml Stammlösung
+ 7 ml deionisiertes Wasser
- *endgültige Suspension*
100 μl der verdünnten Lösung der 2,8 μm Partikel
+ 1000 μl der verdünnten Lösung der 10 μm Partikel
+ deionisiertes Wasser

Bevor die endgültige Suspension zur Zellpräparation verwendet wird, muss sie drei bis viermal zentrifugiert werden (5-6 min bei 5000 U/min), damit das Lösungsmittel abgesaugt und durch deionisiertes Wasser ausgetauscht werden kann.

Literaturverzeichnis

- [Ash70] Arthur Ashkin, *Acceleration and trapping of particles by radiation pressure*, Phys. Rev. Let. **24** No.4, p. 156-159 (January 1970)
- [Ash86] Arthur Ashkin, *Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles*, Opt. Let. **11**, p. 288-290 (May 1986)
- [Ash92] Arthur Ashkin, *Forces of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regim*, Biophys. J. **61**, p. 569-582 (February 1992)
- [Be02] John Bechhoefer, Scott Wilson, *Faster, cheaper, safer optical tweezers for the undergraduate laboratory*, Am. J. Phys. **70** (4), p. 393-400 (April 2002)
- [Bec00] Clemens Bechinger, *Physik mit kolloidalen Suspensionen*, Phys. Blätt. **56**, 75 (2000)
- [Ber98] Bergmann, Schaefer, *Band 1 Mechanik, Relativität, Wärme, 11. Aufl.*, de Gruyter Verlag (1998)
- [Bre61] H. Brenner, *The slow motion of a sphere through a viscous fluid towards a plane surface*, Chem. Eng. Sci. **16**, 242 (1961)
- [Ger04] D. Meschede, *Gerthsen Physik, 22. Auflage*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg (2004)
- [Gri03] David G. Grier, *A revolution in optical manipulation*, Nature **424**, p. 810-816 (August 2003)
- [Gr00] Michael Grimm, *Speicherung und Charakterisierung von Nanopartikeln mit einer optischen Pinzette*, Diplomarbeit an der Technische Universität Chemnitz (Januar 2000)
- [Hel03] Laurent Helden, *Untersuchungen von Partikel-Wand-Wechselwirkungen mit evaneszenter Lichtstreuung*, Dissertation an der Universität Konstanz (Mai 2003)
- [Hun01] Robert J. Hunter, *Foundations of Colloid Science*, Oxford University Press (2001)

- [Lin02] Christian Linkenheld, *www.mikroskopie.de* (2002)
- [McD00] Kirk T. McDonald, *Laser tweezers*, Am. J. Phys. **68** No.5, p. 486-488 (May 2000)
- [Neu04] Keir C. Neuman, Steven M. Block, *Optical trapping*, Review of Scientific Instruments **75** No.9, p. 2787-2809 (September 2004)
- [Smi99] Stephen P. Smith, Sameer R. Bhalotra, Anne L. Brody, Benjamin L. Brown, Edward K. Boyda, Mara Prentiss, *Inexpensive optical tweezers for undergraduate laboratories*, Am J. Phys. **67** No.1, p. 21-35 (January 1999)
- [Ter02a] Alex Terray, John Oakey, David W.M. Marr, *Microfluidic Control Using Colloidal Devices*, Science **296**, p. 1841-1844 (June 2002)
- [Ter02b] Alex Terray, John Oakey, David W.M. Marr, *Fabrication of linear colloidal structures for microfluidic applications*, Phys. Let. **81**, 9 (August 2002)

Abbildungsverzeichnis

2.1.	Wechselwirkungspotentiale in einem kolloidalen System	12
2.2.	Zweidimensionaler random walk	13
2.3.	Impulsänderung eines am Partikel gebrochenen Strahls	15
2.4.	Ablenkung des Laserstrahls an einem Partikel	15
2.5.	Ablenkung eines fokussierten Laserstrahls an einem Partikel	16
2.6.	Beispiele zur Anwendung optischer Pinzetten	17
2.7.	IPS-Icons	18
2.8.	Screenshot - Schwellwert setzen	19
2.9.	Screenshot - Sequenzer	20
3.1.	Versuchsaufbau - optisches Mikroskop	23
3.2.	Versuchsaufbau - optische Pinzette	24
3.3.	Versuchsaufbau - komplett	25
3.4.	Eintretender Laserstrahl ins Objektiv	26
3.5.	Polarisationsstrahlteilerwürfel	27
3.6.	Dünne Zelle	31
4.1.	Diagramm - Haltekraft über Laserintensität	37
4.2.	Trajektorien eines freien und eines gefangenen Partikels	38
4.3.	Trajektorien eines freien und eines gefangenen Partikels mit eingezeichneten Grenzen	39
4.4.	Histogramme eines freien und eines gefangenen Partikels	40
4.5.	Diagramm - Potentiale eines freien und eines gefangenen Partikels	41
4.6.	Diagramm - mittlere quadratische Verschiebung über Zeit	43
4.7.	Diagramm - Diffusionskoeffizient vor einer Wand	43
5.1.	Screenshots eines falsch justierten Laserstrahls	50
5.2.	Screenshots eines richtig justierten Laserstrahls	50

Vielen Dank!

Ich möchte allen danken, die mich die letzten sechs Monate unterstützt und damit zum Gelingen dieser wissenschaftlichen Arbeit beigetragen haben. Mein besonderer Dank geht dabei an

- Prof. Dr. C. Bechinger, der die Idee für das Thema dieser Arbeit hatte und der mich die letzten Monate mit viel Engagement betreute.
- Dr. A Grupp, der die Verbindung zu Hr. Bechinger herstellte und für alle Neuerungen im Anfängerpraktikum offen war. Desweiteren bedanke ich mich für die finanziellen Mittel, die das Anfängerpraktikum für den Versuch zur Verfügung stellte.
- Laurent und alle Doktoranden der Kolloidgruppe (Jörg, Stefan, Valentin, Christoph und Carmen), die mir alle Fragen beantworteten und immer (wirklich immer!) Zeit für mich hatten. Nach ein paar Monaten wusste ich genau, wer mir von ihnen die Antwort auf mein Problem geben konnte - ihr ergänzt euch wirklich super!
- Uwe Rau. Ohne ihn und seine Ideen hätte der Versuchsaufbau nicht die elegante Form, die er jetzt hat. Danke auch für die tollen Computerskizzen!
- Olaf Marx, der sich in Zukunft um den Versuch im Praktikum kümmern wird (falls irgendwann nichts mehr funktioniert, ich bleibe in der Stuttgarter Umgebung...).
- alle Kaffeeeckensitzer. Ich werde die netten Gespräche und gemeinsamen Stunden mit euch vermissen.
- meine „Teststudenten“ Georg, Tessa und Simone, die voller Elan den Praktikumsversuch getestet und die Durchführung unter Realbedingungen geprüft haben.
- meine Korrekturleserinnen Simone und Katja, die noch einige Fehler gefunden haben.
- meinen Freund Philipp, der alle meine grundlegenden physikalischen Fragen beantwortete und der im Prinzip meine Arbeit „mitgelebt“ hat.