



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE FÍSICA

**“ESTUDIO DE RADIACIÓN LÁSER EN SISTEMAS DE
MICROPARTÍCULAS DE SILICA Y DE MICROBACTERIAS
USANDO LA TÉCNICA DE PINZA ÓPTICA EN EL
LABORATORIO DE ÓPTICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS -
ESPOCH.”**

Trabajo de Titulación

Tipo: Proyecto Integrador

Presentado para optar el grado académico de:

FÍSICO

AUTORES: RICARDO STEEVEN ULLOA CARVAJAL

JOSUÉ NATANAEL LLANOS URQUIZO

DIRECTORA: Biof. MARÍA FERNANDA HEREDIA MOYANO

Riobamba – Ecuador

2021

©2021, Ricardo Steeven Ulloa Carvajal; & Josué Natanael Llanos Urquizo

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Nosotros, Ricardo Steeven Ulloa Carvajal y Josué Natanael Llanos Urquizo, declaramos que el presente trabajo de titulación es de nuestra autoría y los resultados de este son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

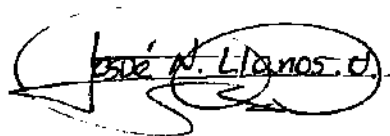
Como autores asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación. El patrimonio intelectual de la Tesis de Grado pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 19 de Agosto de 2021



Ricardo Steeven Ulloa Carvajal

060432170-3



Josué Natanael Llanos Urquizo



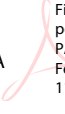
060424195-0

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA BIOFÍSICA

El Tribunal del trabajo de titulación certifica que: El trabajo de titulación: Tipo: Proyecto Integrador, **“ESTUDIO DE RADIACIÓN LÁSER EN SISTEMAS DE MICROPARTÍCULAS DE SILICA Y DE MICROBACTERIAS USANDO LA TÉCNICA DE PINZA ÓPTICA EN EL LABORATORIO DE ÓPTICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS - ESPOCH.”**, realizado por los señores: **RICARDO STEEVEN ULLOA CARVAJAL** y **JOSUÉ NATANAEL LLANOS URQUIZO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del trabajo de titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Mat. Luis Marcelo Cortez Bonilla PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	LUIS MARCELO CORTEZ BONILLA  <small>Firmado digitalmente por LUIS MARCELO CORTEZ BONILLA Nombre de reconocimiento (DN): c=EC, o=BANCO CENTRAL DEL EQUADOR, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION- ECBCE, l=QUITO, serialNumber=c000497075, cn=LUIS MARCELO CORTEZ BONILLA Fecha: 2021.08.23 09:58:51 -05'00'</small>	2021-08-19
Biof. María Fernanda Heredia Moyano DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	 <small>Firmado electrónicamente por: MARIA FERNANDA HEREDIA MOYANO</small>	2021-08-19
Dr. Richard Willians Pachacama Choca MIEMBRO DEL TRIBUNAL	RICHARD WILLIANS PACHACAMA CHOCA  <small>Firmado digitalmente por RICHARD WILLIANS PACHACAMA CHOCA Fecha: 2021.08.23 11:45:23 -05'00'</small>	2021-08-19

DEDICATORIA

El presente proyecto integrador lo dedico principalmente a mis padres, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy. Ha sido un enorme orgullo y privilegio el ser su hijo, son los mejores padres.

A mis hermanos y sobrinas, por estar siempre presentes, acompañándome y por el apoyo moral, que me brindaron a lo largo de esta etapa de mi vida. Y por último a todos mis queridos amigos que me han apoyado, que me brindaron su amistad y compartieron sus conocimientos, y lo más importante gracias a ellos los días en la carrera fueron los más gratos e interesantes. ¡¡¡Muchas gracias a todos!!!

Ricardo

Este trabajo de titulación está dedicado a mis padres que con su esfuerzo y apoyo constante me dieron la oportunidad de cumplir mis aspiraciones, también de manera especial quiero dedicar este trabajo a mi novia Valeria que con su amor y afectos me dieron la fuerza para luchar cada día incansablemente hasta llegar aquí.

Josué

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por bendecirme, por guiarme a lo largo de mi vida, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Gracias a mis padres: Hugo y Mery, por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar y creer en mí, por sus consejos, valores y principios que me han inculcado.

Agradezco a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por brindarme esta oportunidad de estudiar en algo innovador y excepcional, a mis docentes de Biofísica, por haberme compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de mi profesión, de manera especial, a Fernanda Heredia tutora de mi proyecto integrador quien ha guiado con su paciencia, y su rectitud como docente, y por su valioso aporte para nuestra investigación. A Gabriela Ureña técnico docente del laboratorio de óptica quien nos apoyó incondicionalmente y que sin ella no hubiésemos llegado acá.

Ricardo

Agradezco en primer lugar a Dios que es el hacedor de todo y con su amor nos brinda la sabiduría y la fuerza día tras día. También quiero agradecer de manera especial a la Biof. Gabriela Ureña y a la MSc. Fernanda Heredia por su valioso apoyo para la elaboración de este trabajo.

Josué

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xv
RESUMEN.....	xvii
ABSTRACT.....	xviii
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1	MARCO TEÓRICO.....	7
1.1	Introducción a las Pinzas Ópticas.....	7
1.1.1	<i>Elementos de las pinzas ópticas.....</i>	11
1.1.1.1	<i>Charged Couple Device (CCD) - image sensors.....</i>	12
1.1.2	<i>Aplicaciones de las pinzas ópticas.....</i>	15
1.1.2.1	<i>Ciencia coloidal.....</i>	16
1.1.2.2	<i>Nanopartículas.....</i>	17
1.1.2.3	<i>Aerosoles coloidales.....</i>	17
1.1.2.4	<i>Fotoforesis.....</i>	18
1.1.2.5	<i>Trayecto de la partícula.....</i>	18
1.1.2.6	<i>Estudio Biofísico de sistemas biológicos.....</i>	19
1.1.2.7	<i>Manipulación de nanopartículas de oro con pinzas ópticas.....</i>	20
1.1.3	<i>Captura óptica.....</i>	21
1.1.4	<i>Fuerzas que actúan sobre una partícula.....</i>	22
1.1.4.1	<i>Ondas Evanescentes y Fuerzas Ópticas.....</i>	23

1.1.4.2	<i>Fuerzas ópticas</i>	23
1.1.4.3	<i>Fuerza de dispersión</i>	25
1.1.4.4	<i>Fuerza de gradiente</i>	26
1.1.5	Tipo de Trampas Ópticas	26
1.1.5.1	<i>Régimen de rayos ópticos</i>	27
1.1.5.2	<i>Régimen de Rayleigh</i>	29
1.2	Haz Gaussiano	31
1.2.1	<i>Introducción del haz gaussiano</i>	31
1.2.2	<i>Demostración teórica del haz gaussiano</i>	31
1.3	Gel de Silica	54
1.3.1	<i>Introducción, Características e importancia para el estudio en pinzas ópticas</i>	54
1.4	Microorganismos en Agua estancada	55
1.4.1	<i>Introducción, Características e importancia para el estudio en pinza ópticas.</i>	55
1.4.1.1	<i>Microorganismo de Agua estancada</i>	55
1.4.1.2	<i>Virus</i>	55
1.4.1.3	<i>Parásitos protozoos</i>	56
1.4.1.4	<i>Bacterias</i>	56

CAPÍTULO II

2	MARCO METODOLÓGICO	58
2.1	Montaje por partes de la Pinza Óptica	58
2.2	Elementos, compuestos y piezas de la Pinza Óptica	59
2.2.1	<i>Linterna y Fuente láser para captura</i>	59
2.2.2	<i>Colimación del láser</i>	60
2.2.3	<i>Expansión del láser</i>	61
2.2.4	<i>Espejos de ángulo recto</i>	63
2.2.5	<i>Microscopio y Sistema de posicionamiento de la muestra</i>	64
2.2.6	<i>Componentes Adicionales</i>	69

2.2.7	<i>Kit de preparación de muestras (OTKGTK)</i>	71
2.3	Armado de la Pinza Óptica	72
2.3.1	<i>Parte A: enfoque y observación.</i>	75
2.4	Método de Calibración	76
2.5	Preparación y Enfoque de la Muestra	78
2.6	Uso de la cámara CCD	80

CAPÍTULO III

3	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	83
3.1	Resultados generales de la implementación del sistema de Pinzas Ópticas.	83
3.1.1	<i>Enfoque y obtención de resultados de la muestra de Silica</i>	83
3.1.2	<i>Interacción del láser con el sistema de micropartículas de Silica.</i>	86
3.1.3	<i>Obtención de resultados del sistema de Microbacterias</i>	89
3.1.4	<i>Análisis de los datos de imagen del software de Thorlabs (cámara CCD) – Perfil Gaussiano.</i>	92

	CONCLUSIONES	95
--	---------------------------	----

	RECOMENDACIONES	97
--	------------------------------	----

GLOSARIO

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2:	Linterna y Fuente láser para captura.	59
Tabla 2-2:	Colimación del láser.	60
Tabla 3-2:	Expansión del láser.	61
Tabla 4-2:	Espejos de ángulo recto.	63
Tabla 5-2:	Microscopio y Sistema de posicionamiento de la muestra.	64
Tabla 6-2:	Componentes Adicionales	69
Tabla 7-2:	Contenido del Kit de Prueba.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1.	Evolución de las pinzas ópticas. Las flechas indican la dirección de incidencia del haz (o de los haces) de captura en la partícula.....	7
Figura 2-1.	Objetos típicos que están atrapados en experimentos de manipulación óptica. Normalmente, la longitud de onda de captura se encuentra en la región espectral visible o de infrarrojo cercano.....	8
Figura 3-1.	Un arreglo experimental simple de pinzas ópticas.....	9
Figura 4-1.	Fuerza de gradiente óptico en una partícula con índice de refracción mayor que el medio circundante. La conservación del momento de los rayos difractados conduce a una fuerza neta que empuja a la partícula hacia el foco.	10
Figura 5-1.	Diagrama esquemático de un arreglo estándar de pinzas ópticas mostrando sus elementos básicos.....	11
Figura 6-1.	Diseño de un CCD trifásico típico.	13
Figura 7-1.	Arquitecturas CCD de matriz de área común. (A) CCD de fotograma completa, (B) CCD de transferencia de fotogramas, (C) CCD de transferencia entre líneas, (D) CCD de transferencia ortogonal.....	15
Figura 8-1.	a) Imagen de la correa formada por la deformación de la membrana de la célula (izquierda) debido al arrastre por perla de poliestireno atrapada ópticamente (derecha), b) Histograma de las fuerzas estáticas de la correa.	20
Figura 9-1.	Partícula en cada uno de los 3 regímenes.....	22
Figura 10-1.	El caso a) presenta una trampa por presión de radiación, mientras que el caso b) ilustra una trampa por levitación.	26
Figura 11-1.	La figura a) presenta el fenómeno de pinzas ópticas al jalar la partícula, y la imagen b) es el caso donde empuja a la partícula por presión de radiación siendo ambos casos estables.	27
Figura 12-1.	Esquema de la fuerza de gradiente en el régimen de rayos ópticos para dos haces con distribución de intensidad diferentes.....	28
Figura 13-1.	Régimen de Rayleigh.....	30
Figura 14-1.	Microfotografías de cocos (a) y bacilos (b).	57
Figura 15-2.	Contenido del kit de preparación OTKBTk con herramientas para la preparación de muestras de perlas de vidrio.....	71
Figura 16-2.	Esquema de la Pinza Óptica del Laboratorio de Óptica de la ESPOCH.....	73
Figura 17-2.	Pinza Óptica plano completo	74
Figura 18-2.	Posiciones de los componentes en la Breadboard	74

Figura 19-2. Parte A: Enfoque y Observación de la Pinza Óptica.....	76
Figura 20-2. Calibración del láser.	77
Figura 21-2. Monitoreo de la potencia de salida del láser.	77
Figura 22-2. Cubierta en forma de rosca SM1CP2 externa.	78
Figura 23-2. Muestra de Silica y microbacterias.	79
Figura 24-2. Enfoque y movimiento de la muestra (X, Y, Z).....	80
Figura 25-2. Ajustes en el software ThorCam CCD de cámara e imagen.	81
Figura 26-2. Autoscale, calibración de la imagen en presencia de distintos medios (normal, con luz UV y en presencia del láser rojo).....	82
Figura 27-2. Vista general del software de la cámara CCD, con el enfoque correcto de la muestra.....	82
Figura 28-3. Primer enfoque en la Pinza Óptica.....	84
Figura 29-3. Primera observación de las micropartículas de Silica.	84
Figura 30-3. Enfoque adecuado de un sistema de micropartículas de silica.	85
Figura 31-3. Primera interacción del láser con el sistema de micropartículas de silica.	87
Figura 32-3. Láser enfocado correctamente con el sistema de micropartículas de silica.	88
Figura 33-3. Dispersión del láser con el sistema de micropartículas de silica.	89
Figura 34-3. Captura débil del láser con respecto al sistema de microbacterias de aguas estancadas.....	90
Figura 35-3. Avistamiento de bacilos, cocos y vibrios en muestra de agua estancada del parque del estudiante de la ESPOCH.....	90
Figura 36-3. Microbacterias de la orina de un paciente con infección a las vías urinarias, que están interaccionando con el láser.	91
Figura 37-3. Microbacterias de la leche interaccionando con el láser	91
Figura 38-3. Hongo moho visto desde la Pinza Óptica.	92
Figura 39-3. Forma gaussiana del láser rojo de 640 nm.	93
Figura 40-3. Histogramas de la Intensidad del láser rojo a manera de una Campana de Gauss.	94

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-1.	Gráfico 3D de un Hiperboloide.....	48
Gráfico 2-1.	Curva de la divergencia del haz como un Hiperboloide	49
Gráfico 3-1.	Fuente Puntiforme y Frente de Onda Esférico.....	51
Gráfico 4-1.	Gráfico 3D de un Hiperboloide acostado	52
Gráfico 5-1.	Gráfico del $\arctan(\frac{\pi}{\pi} / \frac{\pi}{\pi} 0)$	53

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A. UBICACIÓN Y VISTA GENERAL DEL LABORATORIO.....	7
ANEXO B. VISTA DE LOS RECIPIENTES CONTENEDORES DE LAS MUESTRAS.....	8
ANEXO C. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS EN LA PINZA ÓPTICA	9
ANEXO D. OBTENCIÓN DE DATOS DE LA CÁMARA CCD.	10
ANEXO E. RESULTADOS OBTENIDOS DEL SOFTWARE IMAGEJ	11

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

UV	Ultravioleta
CCD	Dispositivo de Carga Acoplada
μm	Micrómetros
ηm	Nanómetros
cm	Centímetros
mm	Milímetros
m	Metros
INAOE	Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica.
pN	PicoNewtons
HeNe	Helio-Neón
CMOS	Condensador Semiconductor de Óxido Metálico
d/D	Diámetro de la micropartícula o microorganismo
λ_{cutoff}	Longitud de Onda Umbral
E_{bandgap}	Energía de la Banda Prohibida
IR	Infrarrojo
eV	electrón Voltio
OTCCD	Dispositivo de Carga Acoplada de Transferencia Ortogonal
μK	MicroKelvin
μL	MicroLitros
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ARN	Ácido Ribonucleico
CEM	Campo Electromagnético
H	Hamiltoniano
∇	Gradiente
Ψ	Función de Onda
E	Campo Eléctrico
SVEA	Slow Varying Envelope Amplitude
SiO ₂	Dióxido de Silicio

f	Punto Focal
mW	MiliWatts
W	Watt
P	Potencia
P	Momento
h	Constante de Planck
c	Velocidad de la Luz
η	Índice de Refracción
η_{part}	Índice de Refracción de la Partícula
η_{med}	Índice de Refracción del Medio
η_{H2O}	Índice de Refracción del Agua
η_{air}	Índice de Refracción del Aire
FPS	Fotogramas por Segundo
RGB	Red, Green, Blue, colores primarios de la luz.
IMAGEJ	Software de Análisis de Imágenes
Es	Esférico

RESUMEN

El objetivo de este proyecto fue estudiar el efecto de la radiación láser y el comportamiento gaussiano del haz sobre sistemas de micropartículas de silica y microbacterias que bordeaban un diámetro de entre 1 a 10 μm ; se prepararon varias muestras de silica y microbacterias para colocarlas en la pinza óptica que se encuentra en el laboratorio de óptica de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, todo esto con el afán de obtener una metodología óptima de trabajo y poder esquematizar los principios físicos apropiados para lograr la captura y manipulación de micropartículas. Se identificó que el régimen de los rayos ópticos es ideal a nuestra experimentación. Una vez definido esto, se ahondó en el estudio y comportamiento del haz gaussiano en un láser rojo de 640 nm que decidimos usar por tener las características necesarias. Con estos antecedentes, se logró el proceso de experimentación desarrollando el montaje físico de la pinza óptica en el laboratorio describiendo a detalle cada uno de sus componentes constitutivos, haciendo hincapié en la zona de enfoque y observación. Una vez que todo el sistema estuvo calibrado y se conocía la técnica de captura de imágenes mediante un software digital conectado a una cámara CCD, logramos ver la interacción del láser con las muestras hechas, para posterior poder analizarlas. Los resultados obtenidos pudieron ser observados de mejor manera en el sistema de microbacterias obtenidas en una muestra de agua estancada donde se pudo apreciar el fenómeno de captura óptica. Con todo lo descrito en nuestro proyecto, concluimos que la captura de micropartículas es un proyecto viable que se puede desarrollar en los laboratorios de la institución, usando esta investigación como un modelo base para futuros estudios sobre la interacción de la radiación láser en sistemas biológicos, u objetos microscópicos. Se recomienda adquirir componentes específicos y necesarios para que la pinza óptica opere de una manera eficaz.

PALABRAS CLAVE: <BIOFÍSICA>, <PINZA ÓPTICA>, <MICROPARTÍCULAS>, <BACTERIAS>, <GAUSSIANO>, <TRAMPA ÓPTICA>, <DISPERSIÓN>, <GRADIENTE>, <DIFRACCIÓN>.



Firmado electrónicamente por:
JHONATAN RODRIGO
PARREÑO UQUILLAS



02-07-2021

1279-DBRA-UTP-2021

ABSTRACT

The aim of this project was to study the effect of laser radiation and the Gaussian behaviour of the beam on systems of silica microparticles and microbacteria with a diameter of between 1 and 10 μm ; several samples of silica and microbacteria were prepared and placed in the optical tweezers in the optics laboratory of the Faculty of Science at ESPOCH, with the aim of obtaining an optimal working methodology and to outline the appropriate physical principles to achieve the capture and manipulation of microparticles. It was identified that the optical beam regime is ideal for our experimentation. Once this was defined, we delved into the study and behaviour of the Gaussian beam in a 640 nm red laser, which we decided to use as it had the necessary characteristics. With this background, the experimental process was carried out by developing the physical assembly of the optical tweezers in the laboratory, describing in detail each of its constituent components, with emphasis on the focusing and observation area. Once the whole system was calibrated and the image capture technique was known by means of digital software connected to a CCD camera, we were able to see the interaction of the laser with the samples made, to be able to analyse them later. The results obtained could be better observed in the system of microbacteria obtained in a sample of stagnant water where the phenomenon of optical capture could be appreciated. With everything described in our project, we conclude that the capture of microparticles is a viable project that can be developed in the laboratories of the institution, using this research as a base model for future studies on the interaction of laser radiation in biological systems, or microscopic objects. It is recommended that specific and necessary components be purchased for the optical tweezers to operate effectively.

KEYWORDS: <BIOPHYSICS>, <OPTICAL TWEEZERS>, <MICROPARTICLES>, <BACTERIA>, <GAUSSIAN>, <OPTICAL TRAP>, <SCATTERING>, <GRADIENT>, <DIFFRACTION>.



01-07-2021

1279-DBRA-UTP-2021

INTRODUCCIÓN

En la actualidad los trabajos interdisciplinarios han sido un motor fundamental para el avance de la ciencia, lo cual nos incentiva a ver la gran relación entre la física y biología. Estas materias que anteriormente parecían aisladas hoy trabajan juntas, gracias a los conocimientos físicos y su aplicación eficaz se ha podido tener avances significativos en el ámbito biológico, algunos de ellos son: saber cómo funcionan las estructuras moleculares, entender el funcionamiento de los motores celulares los cuales ayudan al desarrollo de la vida, y la labor de los sistemas biológicos a nivel celular y molecular, todo esto en su mayoría gracias al uso de un dispositivo muy importante de la física óptica que es el láser. Gracias a su invención se ha podido reunir suficiente luz en un área muy pequeña lo cual se ha aprovechado en el estudio de sistemas microscópicos con la aplicación de la Pinza Óptica.

En el Laboratorio de Óptica de la Facultad de Ciencias contamos con esta herramienta avanzada, sin embargo, se requiere de mayor experiencia y conocimiento para poder desarrollar una metodología adecuada aplicada para la micromanipulación. De ahí la necesidad de un proyecto de investigación experimental donde basados en los conocimientos adquiridos en nuestra formación académica sumados a las fuentes bibliografías de investigación podremos desarrollar un estudio local de las microbacterias presentes en las aguas estancadas de nuestra institución y de micro y nanopartículas sintéticas como la silica. Siendo este proyecto el primer trabajo enfocado a la manipulación de micropartículas en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y siendo uno de los pocos referentes sobre este tema a nivel nacional.

El estudio de las moléculas que conforman la vida es uno de los avances más importantes de la biología, todo esto debido a varias herramientas de investigación, enfocándose en una muy importante que se remonta desde los años 1970 cuando Arthur Ashkin demostró que las fuerzas ópticas podían desplazar y levitar partículas dieléctricas micrométricas (Ávalos, 2015, p. 40). Él desarrolló un aparato para comprender este fenómeno llamado la Pinza Óptica que en los últimos años ha ido mejorando, siendo una técnica eficiente para separar, clasificar y manipular grandes cantidades de micropartículas.

El principio usado por las pinzas ópticas se basa en una propiedad particular de la luz. Nosotros conocemos que la luz es una onda electromagnética que viaja por el espacio, pero no solo es energía en movimiento sino que también se propaga en un medio cuando hay una interacción transfiriendo momento, y que a su vez genera una fuerza muy pequeña conocida como “Presión de la Radiación”, la cual es una fuerza mecánica ejercida por la luz al momento de interactuar en un medio o material (vivo o inerte), esto hace que sea posible ejercer presión significativa en partículas u objetos muy pequeños; de ahí el principio fundamental de una trampa óptica.

Este trabajo nos ayuda a profundizar más en estos conocimientos desarrollando una metodología aplicable para el uso y calibración de la pinza óptica que se encuentra en el Laboratorio de Óptica de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, abriendo la posibilidad a futuras investigaciones más sistematizadas basadas en el fundamento de este primer proyecto lo cual abre un abanico de opciones que pueden ser estudios sobre las propiedades de las células, análisis de biopolímeros, motilidad de la célula, estudios que son importantes para la biología y que gracias a la aplicación experimental de la física se podrían desarrollar en nuestros laboratorios.

En el capítulo I, se aborda el marco teórico, abarcando a la Pinza Óptica, el fenómeno de captura óptica, las fuerzas que actúan y los regímenes que se aplicarán de acuerdo con el radio de la micropartícula, enfatizando en el haz gaussiano; las micropartículas y microorganismos usados en este proyecto y sus principales características.

En el capítulo II, se aborda el marco metodológico, el cual consta de los procedimientos de calibración y montaje de la Pinza Óptica, sumados a los procesos experimentales, preparación y enfoque de muestras, uso del software y procesamiento de los datos e información obtenidos.

El análisis e interpretación de resultados abarca el capítulo III, donde vemos los efectos del procedimiento más adecuado de la exposición de las micropartículas al láser de la pinza óptica, observando la evidencia capturada en la cámara CCD, posterior estableceremos los datos y analizaremos la aplicación de los conceptos teóricos comparándolos con los resultados de laboratorio.

ANTECEDENTES

De acuerdo con Sepúlveda et al. (2007: p. 18), en el siglo XVII se dieron a conocer los primeros antecedentes acerca de que la luz ejerce presión sobre los objetos materiales; cuando Johannes Kepler (1571-1630) sugirió que la cola de los cometas se debía a la presión de los rayos solares, ya que siempre señalaba en sentido contrario al Sol sin importar la dirección de movimiento del cometa (aunque en realidad tenía que ver el viento solar, ya que la presión de radiación de la luz solar no es lo suficientemente fuerte como para desviar la cola de los cometas). Más de dos siglos después fue desarrollada la teoría electromagnética por James Clerk Maxwell (1831-1879), con la cual demostró que la luz está constituida por ondas electromagnéticas que efectivamente ejercen presión al propagarse. Décadas después se observaron fenómenos que no podían explicarse con la teoría ondulatoria de Maxwell, lo cual dio paso a los inicios de una de las más grandes teorías del siglo XX: la mecánica cuántica.

En este contexto, los trabajos principalmente de Albert Einstein (1879-1955) y Max Planck (1858-1947) llevaron a la conclusión de que, bajo ciertas circunstancias, la luz se comporta como si estuviera formada por un flujo de partículas, es decir, el principio de *dualidad onda-partícula* de la luz (fotones). A cada fotón se le asocia una propiedad llamada momento lineal (que en física clásica se define como el producto de la masa por la velocidad de un cuerpo, aunque según la teoría de la relatividad, aún una partícula sin masa, como el fotón, puede tener momento lineal, cuya magnitud es igual a su energía dividida por la velocidad de la luz). Esto se traduce en el hecho de que el flujo de fotones en su conjunto ejerce presión al incidir sobre la materia, es decir, independientemente del comportamiento específico de la luz (ondulatorio o corpuscular), se reconoce que ésta es portadora tanto de energía como de momento lineal, y ambas cantidades se conservan en cualquier proceso de interacción entre radiación y materia. (Sepúlveda et al., 2007: pp. 18-19)

Con la aparición del láser la historia cambió radicalmente, en los años sesenta, pero ¿qué hace del láser una fuente de radiación tan especial? Por un lado, la radiación que emite es casi monocromática y coherente, esto quiere decir que está formada por un conjunto de ondas electromagnéticas que tienen casi toda la misma longitud de onda (es luz de un solo color) y que viajan de manera ordenada y sincronizada, por otro lado, la luz del láser concentra una gran potencia, y se propaga a lo largo de una dirección bien definida (como rayo). En óptica nos referimos a este tipo de propagación como un haz de luz. Por ejemplo, al enfocar un haz de luz láser de 1 watt de potencia en una superficie de unos 10 micrómetros de diámetro, la cantidad de fotones que atravesarán esa superficie por unidad de tiempo será más de nueve millones de veces mayor que la cantidad de fotones que la atravesarían si la misma superficie estuviera iluminada

por el Sol en el exterior de la atmósfera terrestre. En este caso, la presión de radiación es insignificante para objetos macroscópicos, pero llega a ser muy importante sobre objetos microscópicos. (Sepúlveda et al., 2007: p. 19)

Con base en este tipo de argumentos, en 1970 el científico norteamericano Arthur Ashkin que trabajaba en los laboratorios Bell de los Estados Unidos, diseñó un experimento para medir la presión de radiación ejercida por un láser continuo. Para evitar efectos de calentamiento debidos a la absorción de la luz, Ashkin utilizó microesferas transparentes de látex suspendidas en agua, cuyos diámetros iban desde fracciones de micrómetro hasta varios micrómetros, es así como, no sólo encontró que la presión de radiación efectivamente era capaz de empujar a las partículas en la dirección de propagación del haz láser, sino que también observó que, simultáneamente, las partículas eran atraídas hacia el centro del haz, en la dirección transversal. Partiendo de estos resultados Ashkin decidió colocar dos haces de luz propagándose en direcciones opuestas a lo largo de un eje horizontal, de modo que las fuerzas ejercidas por cada uno de los láseres se equilibraran entre sí en algún punto intermedio, donde la partícula quedaría atrapada por la luz. Estos descubrimientos marcaron el inicio de lo que hoy en día se ha convertido en una de las áreas de mayor impacto en la ciencia y la tecnología: la micromanipulación óptica. (Sepúlveda et al., 2007: p. 19)

En la década de los setenta y principios de los ochenta, tanto Ashkin y su equipo de colaboradores como otros grupos científicos del mundo centraron su atención en comprender mejor los fundamentos físicos del fenómeno y en desarrollar nuevas técnicas de captura óptica. Por ejemplo, se realizaron diversos experimentos de "*levitación óptica*" con partículas micrométricas de diferentes materiales y propiedades ópticas (partículas transparentes de alto y bajo índice de refracción, partículas metálicas, etcétera). La levitación se obtiene cuando la presión de radiación ejercida por un haz de luz que se propaga verticalmente hacia arriba equilibra a la fuerza de gravedad de tal manera que la partícula queda suspendida. (Sepúlveda et al., 2007: p. 20)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la falta de interés sobre una de las líneas de investigación de la física la cual es la óptica aplicada, nosotros queremos incentivar a los futuros físicos a ver la estrecha relación que tiene la física con la biología y que mejor manera que a través de la Pinza Óptica, la cual ha tenido un gran hincapié en la ciencia proporcionándonos un mundo nuevo de investigación y avances científicos tanto en la física, química y biología. En un futuro próximo esta herramienta nos permitirá descifrar cuales son los secretos guardados de las estructuras y sistemas celulares, y de

su comportamiento, debido a que podremos caracterizar cada uno de sus componentes sin alterar el sistema. Esta es una de las propiedades más importantes de este tipo de estudios, que permiten estudiar los procesos tal cual se desarrollan de manera natural.

Una de las complejidades abarcadas en este proyecto integrador es la calibración y el ensamblaje de la Pinza Óptica del Laboratorio De Óptica de la ESPOCH, debido a que no se han realizado este tipo de estudios a nivel local, lo cual genera una falta de recursos bibliográficos, teniendo solamente como referencia un par de estudios realizados en el Ecuador (EPN) y siendo necesario el buscar la experiencia de otros lugares de nuestro continente, en específico del Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica de México (INAOE), por ende, esto también genera una gran oportunidad para que se pueda desarrollar nuestro proyecto integrador que será un precursor en nuestra Institución.

Otro factor para tener en cuenta para realizar nuestra investigación es que la pinza óptica actualmente se encuentra en desuso por lo que no se puede aprovechar su máximo potencial para la investigación científica en el ámbito físico y biológico principalmente. La micromanipulación de partículas de tamaños nano y micro es un tema muy novedoso, el poder conocer las diversas características y propiedades únicas de este tipo de sistemas abre un abanico de opciones que otros de nuestros compañeros podrían retomar ayudados por este primer trabajo inicial para que nuestra Institución pueda ahondar más en este campo de la investigación científica, todo gracias a la Pinza Óptica.

FORMULACIÓN

¿Cuál es el mejor método de ejecución que se puede aplicar al equipo de Pinzas Ópticas para el estudio de un sistema de micropartículas?

JUSTIFICACIÓN

En los últimos años se han desarrollado varias técnicas eficientes orientadas a separar, clasificar y manipular grandes cantidades de micro y nanopartículas; la Pinza Óptica ha sido una herramienta que nos ha facilitado el poder aplicar varias de estas técnicas, una de las más importantes es la captura óptica en donde se ha empleado el uso de micro y nanopartículas de acuerdo con su índice de refracción, su tamaño (radio), sus propiedades dieléctricas, etcétera., brindándonos así un nuevo enfoque de estudio.

A lo largo de nuestra formación académica pudimos ver distintos conceptos y leyes que pueden aplicarse al estudio de la vida. Estas aplicaciones se ven reflejadas en el uso de la pinza óptica porque es importante que podamos conocer a profundidad cuales son los principios que la rigen, saber cuáles son los regímenes que permiten el proceso de micromanipulación y segregación de partículas, el cómo analizar diferentes muestras y en lo posterior capturarlas por medio de un haz de luz coherente.

En síntesis, todas estas cosas mencionadas se han abordado en parte a lo largo de nuestros estudios lo cual nos da la capacidad de poder emprender en una investigación de este tipo. Permitiendo aplicar en la experimentación todo lo visto en nuestra formación académica y ganando experiencia que es fundamental en el ámbito laboral. Sumado a esto la mayor motivación para poder hacer este trabajo es que nos ayudará a desarrollar y adquirir un conocimiento adicional sobre el proceso, calibración, uso y la síntesis de información con respecto a la pinza óptica que se encuentra en el Laboratorio de Óptica de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH, permitiéndonos presentar un modelo procedimental estandarizado que pueda ser aplicado en nuestros laboratorios, en futuras prácticas y sirva de guía en posteriores trabajos de integración curricular.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto de radiación láser en un sistema de partículas de silica y de microbacterias presentes en agua estancada usando la técnica de Pinza Óptica en el Laboratorio de Óptica de la Facultad de Ciencias – ESPOCH.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estudiar el principio y modelos de atrapamiento óptico de una micropartícula.

Estudiar y describir el fundamento físico del haz gaussiano.

Analizar cuál es la conformación física adecuada de un sistema de pinzas ópticas para la manipulación eficiente de micropartículas.

Documentar la interacción de los sistemas de micropartículas de silica y microbacterias con el láser en la Pinza Óptica, discutiendo los resultados obtenidos.

CAPÍTULO I

1 MARCO TEÓRICO

1.1 Introducción a las Pinzas Ópticas

Las pinzas ópticas surgen como un avance de los estudios preliminares que hizo Artur Ashkin, con esta base conceptual, más adelante Steven Chu, quién ganaría el premio Nobel en el año de 1997, desarrollo lo que hoy conocemos como pinzas o trampas ópticas, que permitieron atrapar partículas de una forma estable gracias a la particularidad que él uso un lente objetivo de microscopio lo que le permitió enfocar el haz en una zona mucho más pequeña y solamente usando un láser a diferencia de los primeros experimentos de Ashkin que utilizaba dos láseres, como se visualiza en la Figura 1-1.

Esto fue un gran avance para la investigación porque además de poder suspender las partículas, se pudo incrementar las fuerzas que permiten el atrapamiento y no era necesario que el láser estuviera perpendicular a la dirección de la fuerza de gravedad. Esto sin duda fue el precursor de instrumentación moderna que tenemos hoy, haciendo posible que el estudio de micropartículas sea accesible y además no se reduce solamente a partículas inorgánicas sino también a atrapar cierto tipo de bacterias y estructuras biológicas, se pudo analizar por ejemplo levaduras, hongos, células vivas y tenerlas suspendidas para poder ver su comportamiento de una manera no invasiva.

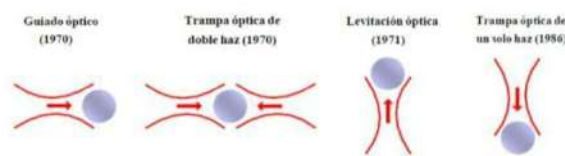


Figura 1-1. Evolución de las pinzas ópticas. Las flechas indican la dirección de incidencia del haz (o de los haces) de captura en la partícula.

Fuente: (Ricardez, 2007, p.12)

Las pinzas ópticas, también conocidas como trampas de gradiente de un solo haz (Figura 1-1), hacen uso de un haz láser focalizado para proporcionar una fuerza (en el rango de los pN) para atrapar y mover físicamente objetos microscópicos transparentes (desde los nanómetros hasta decenas de micras), como los enunciados en la Figura 2-1, que son colocados cerca del foco del haz. La captura es debida al gradiente de intensidad tridimensional en esa región. (Ricardez, 2007, p. 15)

En las pinzas ópticas, la interacción entre la luz y la materia se utiliza para controlar el movimiento de objetos del tamaño de micrómetros mediante un solo rayo láser. La Captura Óptica de partículas en un líquido fue demostrado por primera vez por Ashkin y sus colaboradores, quienes mostraron que las partículas dieléctricas en el rango de tamaño de 10 a 25 μm podrían quedar atrapadas en una solución acuosa usando un solo rayo láser. Poco después, demostraron que esta técnica también permite la captura y manipulación de objetos biológicos como las células, que ha inspirado mucho su uso en aplicaciones biológicas, así como en los campos de la ciencia coloides y nanopartículas. Aunque las pinzas ópticas se utilizan casi exclusivamente en líquidos, donde el arrastre hidrodinámico facilita una captura estable, ha habido un esfuerzo reciente para establecer esta técnica también para aerosoles. (Butt et al., 2018: p. 26)

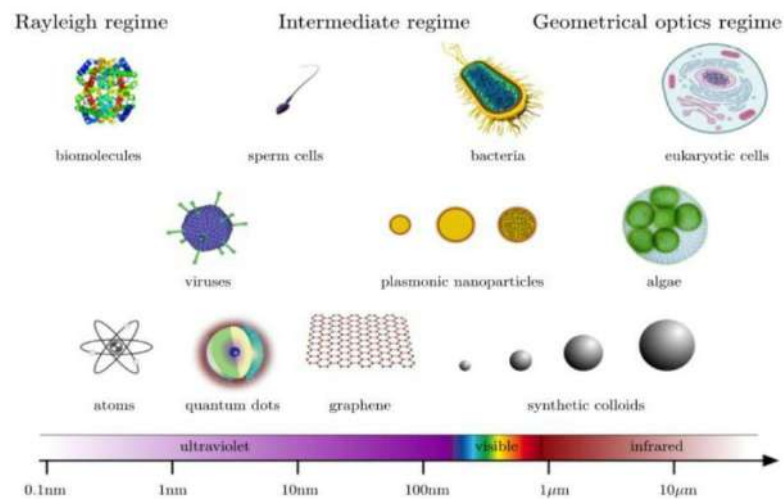


Figura 2-1. Objetos típicos que están atrapados en experimentos de manipulación óptica. Normalmente, la longitud de onda de captura se encuentra en la región espectral visible o de infrarrojo cercano.

Fuente: (Giuseppe Pesce et al., 2020, p. 2)

De acuerdo con Butt et al. (2018: p.26), las pinzas ópticas se basan en la premisa de que una partícula colocada en el foco de un rayo láser colimado sentirá dos fuerzas ópticas, las cuales son: la fuerza de dispersión, y la fuerza de gradiente. La fuerza de dispersión señala la dirección de propagación de la luz y es proporcional a la intensidad de la luz. Para una partícula dieléctrica con un índice de refracción más alto que el medio circundante, la fuerza de gradiente se dirige hacia una mayor intensidad de luz (es decir, hacia el punto focal) y es proporcional al gradiente de intensidad. Por lo tanto, la partícula quedará atrapada cerca del punto focal si la fuerza de gradiente es lo suficientemente grande (Figura 3-1).

Un tema importante es la elección de la longitud de onda láser; se puede utilizar cualquier láser con suficiente estabilidad de haz y potencia. En el caso de muestras biológicas, sin embargo, el daño por radiación por parte de la potencia del láser es un problema crítico. Una longitud de onda en el infrarrojo cercano es más adecuada debido a la baja absorción de agua en el rango de 800 - 1200 nm. (Butt et al., 2018: p. 28)

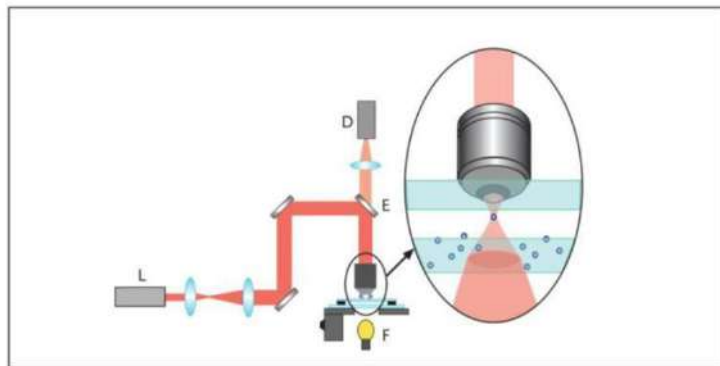


Figura 3-1. Un arreglo experimental simple de pinzas ópticas.

Fuente: (Sepúlveda et al., 2007: p. 23)

En el caso de las partículas con un gran diámetro en comparación con la longitud de onda láser, esta fuerza de gradiente se puede explicar por una óptica geométrica simple como se ve en la Figura 3-1; esto está dentro del marco de la teoría de Mie. Los rayos A y B son difractados por la partícula ópticamente más densa. La conservación del momento de los rayos difractados conduce a una fuerza neta en la partícula que se dirige hacia el foco del rayo láser (Figura 4-1). Los rayos reflejados contribuyen poco a la fuerza. Cuando el diámetro de la partícula es mucho más pequeño que la longitud de onda, se debe utilizar la óptica de onda y se puede aplicar la teoría de la dispersión de Rayleigh para calcular la fuerza de dispersión y gradiente. La teoría de Rayleigh trata la partícula de dispersión como un dipolo de un solo punto. (Butt et al., 2018: p. 26)

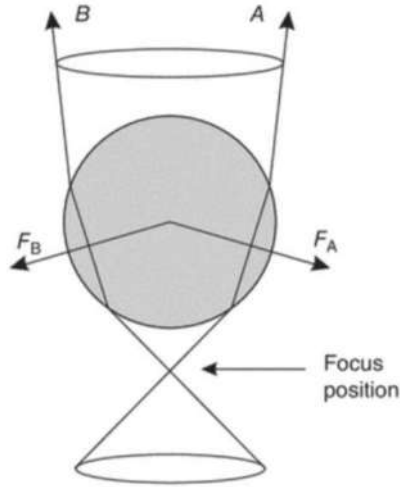


Figura 4-1. Fuerza de gradiente óptico en una partícula con índice de refracción mayor que el medio circundante. La conservación del momento de los rayos difractados conduce a una fuerza neta que empuja a la partícula hacia el foco.

Fuente: (Butt et al., 2018: p. 27)

En la Figura 4-1, la fuerza de dispersión surge de la absorción y reemisión de luz del dipolo y se da por la ecuación 1.1:

$$F_{\text{disp}} = \frac{128\pi^5 \epsilon_0^2 n_1^2 n_2^2 R_p^6 I_0}{3\pi^2 \hbar c^4} * \frac{(n_2/n_1)}{(n_2/n_1)^2 + 2} \quad (1.1)$$

I_0 es la intensidad del láser, R_p es el radio de partícula, c es la velocidad de la luz, y n_1 y n_2 son los índices refractivos del medio y la partícula, respectivamente.

La fuerza de gradiente surge de la interacción del dipolo inducido con el gradiente de intensidad ∇I_0 : (Butt et al., 2018: pp. 26-27)

$$F_{\text{grad}} = \frac{2\pi\epsilon_0 \hbar^2}{3\pi^2 c^3} * \frac{(n_2/n_1)}{(n_2/n_1)^2 + 2} \nabla I_0 \quad (1.2)$$

1.1.1 Elementos de las pinzas ópticas

La estructura necesaria para el confinamiento y manipulación de micropartículas se ve esquematizada en la figura 5-1. Los elementos más importantes de una pinza óptica básica son: láser de color rojo (640 nm), lentes focalizadores, espejos móviles, filtros pasa altos dependiendo de la longitud de onda del haz, cubo de división, cámara CCD, soporte o montura con montaje para plataforma de traslación, linterna con luz UV, objetivo del microscopio de 100, 40 o 10x, aceite de inmersión para objetivo 100x, y la muestra sintética o microbacteriana.

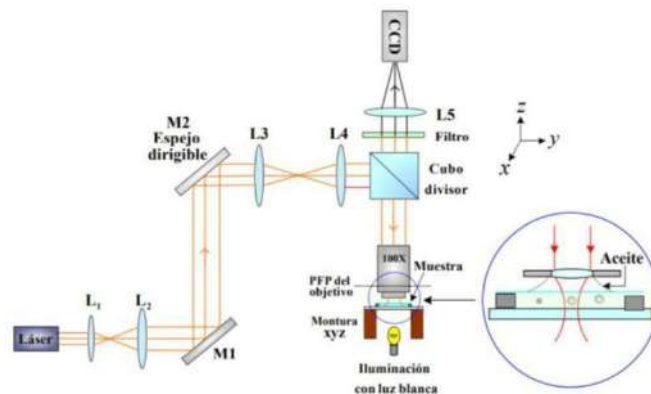


Figura 5-1. Diagrama esquemático de un arreglo estándar de pinzas ópticas mostrando sus elementos básicos.

Fuente: (Ricardez, 2007, p. 40)

Partiendo del eje principal de la pinza óptica que es el láser, es el que nos provee de la luz focalizada, su fuente puede ser de HeNe, Argón, etc., y de acuerdo al tipo de fuente y material nosotros tenemos distintas longitudes de onda que podemos aplicar de acuerdo al tipo de partícula que nosotros queramos manipular, por ejemplo para micropartículas inorgánicas sintéticas como el látex basta un láser en la longitud de onda del color verde, pero si nosotros queremos observar micropartículas biológicas es necesario usar un láser en el rango del rojo e infrarrojo, para evitar dañar la estructura celular de dichos microorganismos. (Ricardez, 2007, p. 40) (Vargas, 2007)

Una vez que tenemos el láser adecuado este debe expandirse mediante un sistema de lentes L1 y L2 que nos permite concentrar suficiente potencia en la muestra, con el fin de que el haz abarque toda la apertura del objetivo del microscopio aumentando la eficiencia de la pinza óptica.

El espejo M1 nos da seguridad de que la muestra cubre toda la apertura de entrada del objetivo y una vez que se captura se la puede divisar, el espejo M2 nos da la capacidad de manipular la partícula atrapada. Los lentes L3 y L4 son lentes adicionales que permiten crear planos conjugados entre el espejo móvil M2 y la abertura de entrada del objetivo del microscopio.

Una vez en este punto el haz es desviado al objetivo del microscopio por intermedio del cubo de división del haz o un espejo dicróico que refleje la longitud de onda para el cual fue diseñado y transmite el resto en forma de luz visible que alcanza al detector de la cámara CCD para la observación de la muestra. (Ricardez, 2007, p. 40)

1.1.1.1 Charged Couple Device (CCD) - image sensors

Los dispositivos acoplados de carga (CCD) han sido el detector de imágenes de alto rendimiento más común para casi todas las aplicaciones de imágenes científicas e industriales desde la década de 1980. Si bien las modernas técnicas de procesamiento de silicio han permitido avances sorprendentes en las capacidades de los semiconductores de óxido metálico (CMOS), el uso de imágenes CCD sigue siendo un componente importante del mercado de detectores, especialmente para aplicaciones de gama alta. (Durini, 2019, p.75)

Para detectar la imagen, las cámaras CCD tienen una estructura especializada en detectar fotones, esto gracias a los detectores de silicio los cuales son sensibles a las longitudes de onda de estos donde los electrones se pueden crear a través del efecto fotoeléctrico. Esto ocurre cuando la energía del fotón $h\nu$ de la longitud de onda λ es mayor que la banda energética o prohibida del silicio con el fin de excitar un electrón de la banda de valencia del silicio a la banda de conducción,

$$h\nu > E_g \quad (1.3)$$

Donde h es la constante de *Planck* y c es la velocidad de la luz. Para el silicio $E_g = 1.1\text{eV}$, y la $\lambda = \frac{hc}{E_g} = 1.12\mu\text{m}$. Por lo tanto, los detectores de silicio son excelentes detectores para casi todas las longitudes de onda de $1\mu\text{m}$, en la región del infrarrojo cercano (IR). (Durini, 2019, pp.75-76)

En cuanto a su diseño o arquitectura tenemos que un CCD es un detector de imágenes que consiste en una matriz de píxeles que producen pozos de potencial a partir de señales digitales aplicadas para almacenar y transportar paquetes de carga, estos paquetes de carga se componen de

electrones que son generados por el efecto fotoeléctrico de fotones incidentes o de señal oscura interna. Las estructuras de compuerta en la superficie del silicio definen estos píxeles, donde se aplica una secuencia de voltaje variable de tiempo a estas compuertas en un patrón específico que desplaza físicamente la carga a un amplificador de salida que actúa como un convertidor de carga a voltaje. La electrónica externa y a menudo un ordenador convierte la secuencia de salida de voltajes en una imagen digital bidimensional (2D).

Los píxeles se componen de fases cada una de las cuales tiene una conexión eléctrica a la secuencia de voltaje aplicada externamente. Cada fase actúa como un condensador semiconductor de óxido metálico (MOS). La matriz de píxeles en cada dirección (filas o columnas) tiene una estructura repetitiva de estas fases en las que cada fase del mismo nombre tiene el mismo voltaje o señal digital aplicada. (Durini, 2019, p.76)

Hay CCD de dos, tres (Figura 6-1) y cuatro fases en un uso bastante común, aunque también existen dispositivos monofásicos. La distancia de un mínimo potencial al siguiente define la resolución del detector y es el tono de píxel. Por lo tanto, un CCD trifásico tiene fases separadas 1/3 del tamaño de píxel. Los tamaños de píxeles CCD típicos son de 2 a 30 μm , siendo los tamaños más pequeños más comunes en los sensores más recientes. (Durini, 2019, p.77)

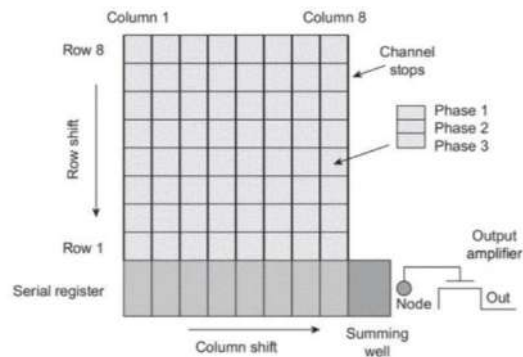


Figura 6-1. Diseño de un CCD trifásico típico.

Fuente: (Durini, 2019, p.76)

Los CCD se pueden dividir en dos tipos principales: matrices lineales y matrices de área. Las matrices lineales constan de una (o unas pocas) columnas de píxeles sensibles a la luz, mientras que las matrices de área consisten en una matriz 2D de píxeles sensibles a la luz. Las matrices lineales suelen ser menos costosas y se leen muy rápido. Las matrices de área son mucho más comunes para la ciencia y para imágenes de gama alta. Sin embargo, la mayoría de las propiedades de las matrices de área se aplican directamente a matrices lineales.

Un CCD de fotograma completo utiliza toda el área (todos los píxeles) para recopilar luz. Este es el uso óptimo de la zona de silicio y el detector científico más común. Estos detectores requieren que el obturador de la cámara se cierre durante la lectura para que no se generen electrones cuando se transfiere la carga, lo que resultaría en rayado de la imagen. (Durini, 2019, p.77)

Un CCD de almacén de fotogramas tiene la mitad de los píxeles cubiertos con máscara opaca k (área de almacén de fotogramas) y la mitad de los píxeles abiertos a la luz incidente (almacén de imágenes) que recopilan fotones durante la integración. Este permite un cambio muy rápido de 10^{-6} – 10^{-4} s, desde el almacén de imágenes hasta el almacén de marcos después de la integración. (Durini, 2019, pp.77-78)

Los CCD de transferencia entre líneas tienen un registro de desplazamiento opaco junto a cada columna de píxeles sensibles a las fotos para que se pueda realizar una transferencia muy rápida desde los píxeles al registro de turnos. Los píxeles del registro de desplazamiento se pueden leer mientras se expone el siguiente fotograma de imagen. Esto permite un tiempo de fotograma más rápido y no se requiere ningún obturador externo. Los dispositivos de transferencia entre líneas son más complejos (en términos de fabricación), se utilizan comúnmente en imágenes de alta velocidad y muchas aplicaciones comerciales como la televisión. Rara vez se utilizan para imágenes científicas de alta gama.

Un CCD de transferencia ortogonal (OTCCD) tiene sus paradas de canal reemplazadas por una fase digital de tiempo activo para que la carga cambie en ambas direcciones (a lo largo de filas y columnas). Si el centro de gravedad de un objeto en movimiento en la escena se realiza con otro detector, la retroalimentación se puede utilizar para cronometrar el OTCCD en cualquier dirección para minimizar el desenfoque de la imagen. Por lo tanto, los OTCCD son más útiles para la creación de imágenes de alta resolución, eliminando la necesidad de espejos de inclinación/punta y sus pérdidas ópticas asociadas que se utilizan más normalmente para redirigir el haz óptico en función de una señal de retroalimentación. (Durini, 2019, p.78)

A continuación, en la Figura 7-1 se puede ver las arquitecturas de matriz de la cámara CCD:

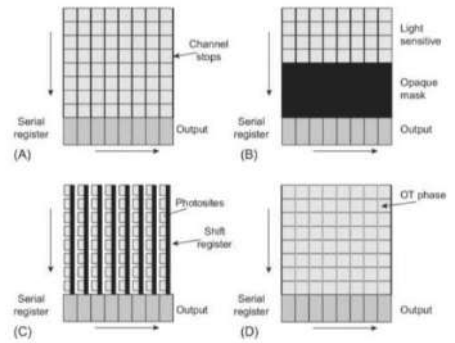


Figura 7-1. Arquitecturas CCD de matriz de área común. (A) CCD de fotograma completa, (B) CCD de transferencia de fotogramas, (C) CCD de transferencia entre líneas, (D) CCD de transferencia ortogonal.

Fuente: (Durini, 2019, p.77)

1.1.2 Aplicaciones de las pinzas ópticas

Algunas de las posibles aplicaciones son la separación de partículas en líquidos, la levitación óptica de partículas en el aire y el vacío, la aceleración a alta velocidad de partículas eléctricamente neutras, la separación de isótopos y el análisis de haces atómicos. (Ashkin, 1972, p.64)

Entre otras tenemos; en física atómica el uso de la técnica de captura óptica ha permitido enfriar átomos hasta temperaturas tan bajas como unos cuantos μK , unas cuantas millonésimas de grado sobre el cero absoluto, a la condensación de Bose-Einstein, a avances prácticos en relojes atómicos y la medida de fuerzas gravitacionales. (Sánchez, 2010, p.2)

El estiramiento de una sola molécula de ácido desoxirribonucleico es otro tipo de aplicación que ha sido fundamental para entender sus propiedades mecánicas y por tanto sus funciones en la operación de la maquinaria celular. Una manera de lograr esto es adherir uno de los extremos de la molécula (previamente marcada con un material fluorescente y detectada mediante microscopía de fluorescencia) a una esfera de látex que es atrapada con pinzas ópticas.

Posteriormente se utiliza la fuerza hidrodinámica de un líquido que fluye para estirar la molécula de ADN (hasta una longitud de 64.5 micrómetros). Cuando el flujo se detiene, la molécula se relaja volviendo a su forma original. (Sepúlveda et al., 2007: p. 23)

También se ha podido combinar el uso de las pinzas ópticas con lo que se conoce como “escalpelo óptico” para realizar fertilización in vitro. El escalpelo óptico consiste básicamente en enviar un pulso corto y controlado de luz láser de muy alta energía y longitud de onda ultravioleta (menor de 0.40 micrómetros) que “taladra” un agujero en la zona pelúcida de un óvulo (la capa protectora que lo rodea) con gran precisión, para facilitar la llegada del espermatozoide, el cual a su vez es arrastrado hasta el óvulo utilizando pinzas ópticas. El escalpelo óptico es también una herramienta muy poderosa, que permite entre muchas otras cosas, aislar células individuales de un tejido sano o enfermo para estudiar las diferencias a nivel molecular.

Por último, el estudio de los procesos de transporte por motores moleculares (enzimas especiales, como la kinesina, que catalizan algunas reacciones químicas en el interior de la célula y utilizan la energía liberada para realizar trabajo mecánico, como el transporte de cromosomas a través del citoplasma, que los arrastra a lo largo de los filamentos proteicos llamados microtúbulos). (Sepúlveda et al., 2007: p. 23)

1.1.2.1 Ciencia coloidal

El uso de pinzas ópticas en la ciencia coloidal es muy útil en la medición de fuerzas de interacción, diferenciándose de las fuerzas de adhesión, unión o estructurales implicadas en procesos biológicos. Las fuerzas entrópicas de largo alcance son un claro ejemplo, donde estas se miden utilizando, en este caso, una línea escaneada de la pinza óptica. Lográndose con una resolución espacial muy alta, permitiendo trazar la forma del potencial.

Se han empleado técnicas similares que utilizan pinzas de doble haz, estudiando, por ejemplo, las fuerzas entre partículas en cristales líquidos; las técnicas que emplean una pinza de haz único y una micropipeta han examinado las fuerzas de interacción en soluciones salinas acuosas en situaciones en las que los coloides tienen una carga específica, una demostración de la flexibilidad de la técnica, al menos cuando se miran pequeños números de coloides y sus interacciones. También es posible medir los coeficientes de fricción coloidal y explorar la dinámica de interacción, no sólo en solución a granel, sino entre líquidos en una interfaz.

Las pinzas holográficas pueden atrapar objetos no esféricos, actuando como una pared deformable. Esto se puede utilizar para realizar mediciones de la presión osmótica en geometrías altamente confinadas, como aplicación significativa en sistemas biológicos. La capacidad de las pinzas ópticas holográficas para sintonizarse a formas y números de partículas complejas ofrece una gran flexibilidad para estudiar una gama mucho más amplia de tipos de coloides. (Fernandez-Nieves et al., 2016, pp.122-123)

1.1.2.2 Nanopartículas

La localización de partículas de tamaños nano y micro son uno de los grandes desafíos de la nanociencia; mientras están confinados en una trampa, son libres de moverse bajo el movimiento Browniano, dentro de la región focal relativamente grande (en comparación con el tamaño de partícula) del rayo láser. La captura de nanopartículas fue uno de los primeros experimentos llevados a cabo por Arthur Ashkin utilizando sus pinzas ópticas, enfocándose en el poliestireno de diámetro de 38 nm. Svobo y Blockin en 1994 demostraron por primera vez la capacidad de atrapar partículas metálicas, proporcionando así un gran impulso en el campo de la Física Óptica. El uso de partículas metálicas, cuyo pequeño tamaño da lugar a una dispersión reducida, pero con una mayor polarizabilidad, conduce a una fuerza de gradiente suficiente que permite que se produzca una trampa tridimensional. Se ha hecho mucho trabajo en la observación de la captura de diferentes tipos metálicos y otros tipos de nanopartículas como nanohilos y puntos cuánticos.

Además, hay aplicaciones en áreas como en la poración de las células, mediante las cuales se puede utilizar una trampa óptica para colocar partículas metálicas en la membrana celular. Esto ayuda a perforar la membrana para permitir la toma celular del medio circundante. (Fernandez-Nieves et al., 2016, p.123)

1.1.2.3 Aerosoles coloidales

Uno de los desarrollos más interesantes en estudios de manipulación óptica dentro de la esfera coloidal ha sido el desarrollo de herramientas que pueden atrapar y sondear partículas en el aire. Estos aerosoles son típicamente líquidos, pero también incluyen partículas sólidas, y algunas técnicas pueden incluso implicar partículas altamente absorbentes. Las gotas se generan normalmente mediante nebulizadores, pero también se pueden introducir de maneras más integradas utilizando, por ejemplo, la nebulización de onda acústica superficial.

La idea de que uno puede atrapar partículas en el aire no es nueva, y algunos de los trabajos originales de Arthur Ashkin brindan información relevante sobre ello. La levitación óptica se utilizó posteriormente para sondear una de las propiedades muy útiles de tales gotas líquidas: su estructura de modo de galería susurrante que surge si se inyecta luz en la gota, que luego puede actuar como una cavidad óptica en su evolución en el tiempo.

En 1997, Omori y otros demostraron que también era posible atrapar partículas en el aire en una trampa de gradiente tridimensional, trabajo que no se reconoció, hasta que el grupo de Jonathan Reid, en la Universidad de Bristol demostró que se podía combinar la captura de aerosoles líquidos con espectroscopia Raman mejorada de cavidad, y hacer mediciones excepcionalmente precisas del tamaño de la gota y la composición. (Fernandez-Nieves et al., 2016, pp.123-124)

1.1.2.4 Fotoforesis

Es otro tipo de proceso de interacción entre los sistemas coloidales con la luz. Este es un mecanismo impulsado térmicamente inducido por la luz, aunque en conjunto de su accionar con la presión de radiación recibe otro nombre el cual es, un mecanismo que mueve el polvo interestelar a través del Universo. En los últimos tiempos, se ha utilizado como una técnica de manipulación óptica, que implica específicamente la absorción de partículas, y la manipulación de un cierto tipo de partículas especiales difíciles de manejar con la pinza óptica.

La fotoforesis impulsa a las partículas a través de la generación de un gradiente térmico a través de la partícula debido al calentamiento óptico de un lado de la partícula. El impacto de las moléculas del aire que rodea el lado más cálido imparte un mayor impulso que las del lado más frío y, por lo tanto, la partícula se moverá en oposición al gradiente térmico. Un grupo de la Universidad Nacional Australiana ha sido pionero en esta técnica, inicialmente utilizando rayos láser en forma de haces de vórtice, demostrando que la absorción de partículas en el rango de 0.1–10 μm podría guiarse a velocidades de 1cm/s. Al hacer uso de una geometría de contrapropagación, el atrapamiento era posible. Los tipos de partículas considerados aquí incluían nanoclusters de carbono, y como tal estos tipos de trampas podrían ser de interés para aquellos que examinan las partículas de nucleación atmosférica. (Fernandez-Nieves et al., 2016, p.125)

1.1.2.5 Trayecto de la partícula

El seguimiento de partículas es la técnica clave para mediciones cuantitativas con pinzas ópticas. La mayoría de las mediciones que se pueden realizar con una configuración de pinzas ópticas se basan en el conocimiento de la posición de la partícula. Hay dos posibilidades para medir la posición de partícula: la primera es imaginar la partícula atrapada utilizando una cámara CCD o CMOS, mientras que la segunda es utilizar detectores capaces de medir la distribución espacial de la intensidad en el patrón de interferencia que se produce entre la luz dispersada por la partícula atrapada y la luz láser sin dispersión.

Dado que una configuración típica de pinzas ópticas viene ya equipada con una cámara digital, el medio más sencillo para medir el movimiento de una partícula Browniana es grabar un video de su posición y luego rastrear la posición del marco de partículas por fotograma. Esta técnica, conocida como microscopía de vídeo digital, ha encontrado una aplicación generalizada en varios campos y en estudios coloidales. Es especialmente adecuado para sistemas de estudio donde hay múltiples partículas presentes, pero es relativamente lento estar limitado por la velocidad de fotogramas de la cámara, que normalmente sube a unos pocos miles de fotogramas por segundo. (Giuseppe Pesce et al., 2020, p. 22)

1.1.2.6 Estudio Biofísico de sistemas biológicos

Las aplicaciones de la física óptica han sido varias para el reconocimiento de los procesos celulares y la comprensión de las estructuras que forman parte del modelo celular. Una de estas aplicaciones se refiere a comprender el funcionamiento de la membrana celular que es uno de los componentes más importantes, debido a que por medio de ella la célula realiza el intercambio de materiales necesarios para el metabolismo y también es la responsable de su protección, porque sin la membrana celular, la célula estaría expuesta y su contenido no estaría correctamente delimitado.

Por todo esto, se puede concluir que las actividades celulares se encuentran íntimamente relacionadas con la membrana. Si podemos profundizar en el conocimiento de la membrana celular podemos alterar los procesos de acuerdo con la necesidad de estudio, lo cual abre la puerta a la manipulación celular, por este medio conocer cómo actúa el cáncer a nivel celular y combatirlo a este nivel.

Con esta premisa la aplicación de la física óptica se da en experimentos de manipulación de micropartículas y microestructuras celulares, un experimento de esta forma es cuando se usa una esfera de poliestireno para relacionarla con la célula para ver cómo es su comportamiento. Se coloca esta microesfera cerca de una célula afectada con cáncer de mamá (Figura 8-1), el objetivo era analizar cuál es el módulo de flexión y tensión de un enlace que ocurría entre la partícula y la membrana celular. Además, se calcula el coeficiente de resistencia viscosa de la membrana. Todos estos resultados implican que podemos tomar la propiedad mecánica de la membrana como criterio para identificación de células normales y patológicas y para distinguir células patológicas antes y después del tratamiento. La información es de gran importancia para el diagnóstico de enfermedades y la detección de drogas.

Esta es solamente una de las aplicaciones que podemos hacer en el campo de la biofísica con las pinzas ópticas. Esta herramienta es tan importante y será una precedente para el avance de la investigación celular.

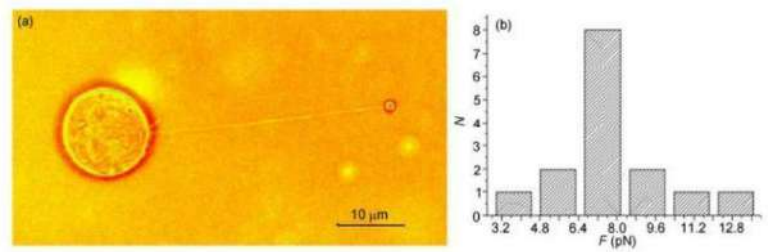


Figura 8-1. a) Imagen de la correa formada por la deformación de la membrana de la célula (izquierda) debido al arrastre por perla de poliestireno atrapada ópticamente (derecha), b) Histograma de las fuerzas estáticas de la correa.

Fuente: (HongLian y ZhiYuan, 2013, p.2354)

1.1.2.7 Manipulación de nanopartículas de oro con pinzas ópticas

Las aplicaciones de la pinza óptica no se limitan solamente a las ciencias biológicas, sino que también se puede incursionar en la nanofotónica y plasmónica, ciencias que se encargan de estudiar la interacción entre la materia y la luz, la energía electromagnética puede generar interacciones con los materiales conductores y estas propiedades son muy importantes para estudiarse a nivel nano y microscópico.

En el caso de la nano manipulación del oro debemos empezar analizando rápidamente cuáles son los procesos necesarios para poder atraparla. Para poder manipular una partícula muy pequeña, del tamaño nanométrico, es necesario que la fuerza del gradiente supere a la fuerza de dispersión y a la fuerza del movimiento Browniano. Generalmente a este tamaño la mayoría de las partículas no cumplen esta condición debido a que la fuerza del Browniano es muy comparable con la fuerza del gradiente, sin embargo, en las partículas nanométricas de oro la condición se sigue cumpliendo. Esto se debe a que la fuerte interacción plasmónica (oscilaciones colectivas de los electrones de conducción) de la luz con la partícula de oro lo cual da la capacidad de manipular y atrapar nanopartículas de oro con un láser y evitando ser invasivos con la muestra. Esta aplicación permitiría utilizar una pinza óptica como técnica viable para la construcción de nanoestructuras plasmónicas complicadas como nanoesferas de oro y nanobarras.

1.1.3 Captura óptica

Las pinzas ópticas se basan en la capacidad de las fuerzas ópticas para ejercer presión sobre las partículas que atrapa. La fuerza que ejerce la luz al interactuar sobre la materia es producida por la transmisión, reflexión, refracción, absorción y dispersión de la luz sobre la materia. Esto se puede explicar considerando la interacción de un haz láser altamente enfocado por un lente sobre una partícula dieléctrica. De esta forma, se tendrá que la luz incide sobre la partícula, produciendo transferencia de momento y generando un desplazamiento en la dirección de propagación de la luz, lo cual es denominado fuerza de dispersión y es proporcional a la intensidad del haz incidente.

El gradiente de intensidad producido por el perfil del haz láser junto con el enfoque de este generará una fuerza en dirección a la zona de mayor intensidad del campo, desplazando la partícula hacia ese punto. Esta fuerza es denominada fuerza de gradiente y es proporcional al gradiente de intensidad y a la polarizabilidad de la partícula dieléctrica. El confinamiento de las partículas en la pinza óptica se debe a que la luz es altamente transmitida por la partícula atrapada. (Alegría, 2018, p.7)

Por lo tanto, produciendo un equilibrio entre la fuerza de gradiente y de dispersión, condición que debe cumplirse para que se produzca el atrapamiento óptico estable. Una vez que la partícula es atrapada, la fuerza restauradora que siente la partícula cuando es sacada de la posición de equilibrio puede determinarse mediante la ecuación (1.4).

$$F_{\text{rest}} = \frac{P}{c} \frac{dQ}{dx} \quad (1.4)$$

Esta expresión de fuerza es la principal relación entre la fuerza de atrapamiento y la potencia del láser (P). El término Q es un parámetro de eficiencia adimensional, n es el índice de refracción del medio y c es la velocidad de la luz en el espacio libre. (Alegría, 2018, p.7)

Sumado al análisis de las fuerzas nosotros debemos tener en cuenta que en la descripción teórica sobre el efecto de atrapamiento óptico también depende de otros parámetros como: el tamaño, la forma y el índice de refracción de la partícula atrapada; la longitud de onda y la potencia del láser de atrapamiento y la apertura numérica del objetivo de microscopio.

Uno habla del régimen de óptica de rayos, cuando la dimensión del objeto d es mucho más grande que la longitud de onda del láser de atrapamiento: $d \gg \lambda$. En este caso, los efectos de difracción pueden ser despreciados y las fuerzas de atrapamiento de la luz pueden explicarse en términos de óptica geométrica. El régimen en el cual $d \ll \lambda$ es nombrado régimen de Rayleigh.

En este caso, se necesita una descripción basada en dipolos electromagnéticos. En muchos casos las partículas de tamaño micrométrico son atrapadas usando una fuente en el rango visible o cercano al infrarrojo de similar longitud de onda ($d \approx \lambda$). Esto provoca hacer una nueva propuesta teórica entre los dos límites para obtener una estimación cuantitativa para las fuerzas de atrapamiento, esta propuesta es nombrada régimen generalizado de Lorenz-Mie (Martinez, 2009, pp. 14-15), todo esto está ilustrado en la Figura 9-1.

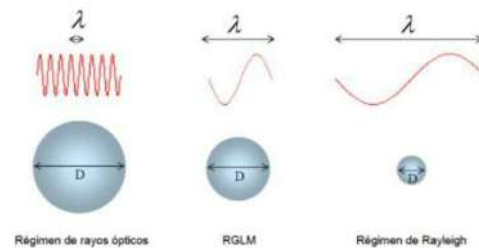


Figura 9-1. Partícula en cada uno de los 3 regímenes.

Fuente: (Ricardez, 2007, p.17)

1.1.4 Fuerzas que actúan sobre una partícula

Desde los inicios históricos de la física óptica se sabe que la luz posee momento lineal y angular, esto le permite ejercer la presión de radiación y momentos sobre objetos de tamaños micro y nano.

No mucho después de la aparición del láser, Ashkin en 1970 demostró que la presión de radiación de un haz de laser focalizado puede afectar la dinámica de las micro y nanopartículas, transparentes y neutras. Identificando así dos componentes básicas de la *presión de radiación*: la fuerza de dispersión, en la dirección del haz incidente, y la fuerza de gradiente, en dirección del gradiente de la intensidad del haz. (Aleja, 2005, p.71)

Más tarde demostraría en varios de sus experimentos que usando únicamente estas dos fuerzas se podía acelerar, manipular, y capturar partículas neutras en el rango de las micras usando haces focalizados. La trampa tridimensional tiene un punto de equilibrio estable en el espacio y cualquier movimiento respecto de este se traduce en una fuerza restituyente. De acuerdo con Ashkin et al. con el paso de los años se ha podido capturar átomos, moléculas, partículas metálicas y macroscópicas, células vivas y orgánulos sin llegar a dañarlos. (Aleja, 2005, p.71)

1.1.4.1 Ondas Evanescentes y Fuerzas Ópticas

Las ondas evanescentes son componentes inhomogénea del campo cercano tales como los modos de galería susurrante (tipo de onda que puede viajar alrededor de una superficie cóncava) o los plasmones (cuantos oscilantes del plasma). La fuerza que ejercen las ondas evanescentes en las partículas cerca de la superficie es de gran interés como: proporcionan alta resolución en la señal del campo dispersado, más allá del límite de resolución de media longitud de onda. (Aleja, 2005, p.72)

Estos campos pueden presentar concentraciones en regiones de menor tamaño al de la longitud de onda, generando gradientes gigantes que producen intensas fuerzas de atrapamiento posibilitando el manejo de partículas en distancias micro y nanométricas. Las ondas evanescentes se han usado también para controlar la posición de una partícula sobre una superficie, y estimando su interacción entre la partícula y su superficie. (Aleja, 2005, p.72)

Las partículas dieléctricas son atraídas hacia los máximos de intensidad del campo electromagnético de los haces focalizados del láser, o hacia superficies que sustentan ondas evanescentes. Por otro lado, las partículas metálicas grandes de diámetro por encima de los 50 nm sufrirán fuerzas de gradiente repulsivas, mientras que partículas de mucho menor tamaño presentan fuerzas atractivas de gradiente.

Las fuerzas de dispersión y absorción (repulsivas), empujan a la partícula en dirección de propagación. En base a la óptica de rayos, las fuerzas repulsivas se forman por reflexiones en la superficie, mientras que las fuerzas atractivas provienen de ondas superficiales sobre la partícula. (Aleja, 2005, p.90)

1.1.4.2 Fuerzas ópticas

Las Fuerzas Ópticas puede actuar sobre el propio sustrato (por ejemplo, afectando el movimiento de los coloides en líquidos) o posiblemente directamente sobre las propias sondas. Las fuerzas láser tienen una larga tradición en el campo de la manipulación óptica de partículas desarrollada por el trabajo pionero de A. Ashkin en los años 80, lo que finalmente condujo al desarrollo de pinzas láser. Pero la mayor parte del trabajo fundamental sobre la manipulación láser de partículas se ha realizado, principalmente, en una amplia gama de partículas dieléctricas, que incluyen objetos como bacterias o células (en el rango de $\sim 1\mu\text{m}$ de tamaño). El estudio del efecto de las fuerzas ópticas en las partículas metálicas en el rango de nanómetros, por otro lado, es

relativamente reciente y fue alimentado principalmente (pero no sólo) por el interés en SERS y plasmonics. (Le Ru et al., 2010, p.455)

Las suposiciones iniciales sobre las fuerzas ópticas se establecen en función del tamaño de la microesfera con respecto a la longitud de onda del haz. Para un objeto pequeño, cuando su fuerza óptica es mucho más pequeña que la longitud de onda del haz, el objeto se comporta como un dipolo eléctrico de acuerdo con la dispersión de Rayleigh. Por lo tanto, se establece una descripción simple para las fuerzas ópticas que actúan sobre un dipolo electromagnético, y esto se conoce como el régimen de Rayleigh. Sin embargo, para los objetos mayores que la longitud de onda, el haz de captura se trata como el régimen de rayos ópticos.

La fuerza óptica se describe así en términos de óptica geométrica, considerando múltiples reflejos de los rayos en la microesfera atrapada para determinar el cambio neto en el impulso. Sin embargo, en el caso de la mayoría de los experimentos, el diámetro del objeto atrapado está dentro del orden de la longitud de onda del láser, y las aproximaciones antes mencionadas fallan. (Ranha y Lenz, 2019, pp. 1525-1526)

En las fuerzas ópticas se deben considerar varios aspectos como: la energía asociada a un fotón (cuánto):

$$E_{\text{fot}} = \frac{h \nu}{c} \quad (1.5)$$

donde h es la constante de Planck y ν es la velocidad de la luz en el vacío; el momento del fotón asociado,

$$p_{\text{fot}} = \frac{h}{c} \mathbf{e} \quad (1.6)$$

\mathbf{e} : es el vector unitario que indica la dirección de propagación del fotón. (Samaniego, 2020, p. 15)

Cuando el fotón es dispersado a consecuencia de un choque elástico con un objeto su energía se conserva, pero su momento cambia de dirección, lo que produce una fuerza de retroceso actuante sobre el objeto.

Si un rayo de luz se define como un conjunto de fotones viajando en la misma dirección, entonces para un rayo de luz con potencia P_{fot} tendremos $\frac{P_{\text{fot}}}{h \nu}$ fotones por segundo. Por tanto, para un rayo de luz cuyos fotones chocan con la superficie plana tendremos una fuerza o un cambio total de

momento por unidad de tiempo igual a $-2\frac{P}{c}$, y sustituyendo en las ecuaciones (1.5) y (1.6), tenemos $-2\frac{P}{c}$ (Samaniego, 2020, p. 15)

Por la Ley de reacción de Newton, tenemos que la fuerza de retroceso que experimenta la superficie reflectante es:

$$F_{\text{retroceso}} = \frac{2P}{c} \quad (1.7)$$

De esta forma se evidencia que la fuerza óptica máxima que puede generar un rayo de luz es proporcional a su potencia P . Así, por ejemplo, para el caso de un rayo láser con una potencia $P=1\text{W}$ se puede tener una fuerza óptica máxima de 7 pN. Esta es comparable con fuerzas capaces de mover micro objetos, como las fuerzas generadas por motores moleculares o las de movimiento Browniano. (Samaniego, 2020, p. 16)

De forma general, de acuerdo con la teoría electromagnética de la luz, se considera que la fuerza F_{total} se puede dividir en la fuerza de dispersión F_{disp} y la fuerza de gradiente F_{grad} . (Samaniego, 2020, p. 17)

$$F_{\text{total}} = F_{\text{disp}} + F_{\text{grad}} \quad (1.8)$$

1.1.4.3 Fuerza de dispersión

Cuando una partícula polarizable no absorbente dispersa radiación de un haz de luz incidente, no hay pérdida de energía total; la energía que se pierde por el haz incidente forma parte de la energía de la radiación dispersa. Una pérdida de energía e impulso a lo largo de la dirección "hacia adelante" de propagación del haz incidente resulta en una fuerza que actúa empujando a la partícula de dispersión hacia adelante. (Milonni, 2020, p.62)

La fuerza de dispersión F_{disp} se relaciona con fenómenos de esparcimiento. Dicha fuerza es proporcional al campo eléctrico y se aplica en la dirección de propagación del haz de luz incidente \hat{k} como muestra la ecuación (1.9).

$$F_{\text{disp}} = F_{\text{disp}} \hat{k} \quad (1.9)$$

Dentro de las características de una pinza óptica de alta calidad, se requiere que F_{grad} sea más baja que la fuerza F_{disp} para que el sistema acelere y capture una microesfera. (Samaniego, 2020, p. 18)

1.1.4.4 Fuerza de gradiente

El gradiente de intensidad de luz en el foco produce una fuerza de gradiente que compensa la fuerza dispersiva del haz de luz posibilitando el atrapamiento óptico de objetos microscópicos. En buena aproximación el potencial de atrapamiento óptico es de tipo armónico. (Ritort, 2018, p.39)

La fuerza de gradiente F_g depende del gradiente espacial de la intensidad de la luz. La dirección de esta fuerza es la que va a lo largo del gradiente de intensidad y perpendicular al haz de luz F_d , como muestra la ecuación (1.10). (Samaniego, 2020, p. 19)

$$F_g = -\frac{1}{2} \nabla I \quad (1.10)$$

1.1.5 Tipo de Trampas Ópticas

Se aplican diversos principios para la captura y atrapamiento óptico en las Pinzas Ópticas. El comportamiento de la partícula se puede predecir por diversos modelos y aspectos tales como: el tamaño de la partícula con respecto a la longitud de onda utilizada, la densidad de la partícula, el índice de refracción que presenta, la potencia del haz que se emplea para el atrapamiento, así como la apertura numérica y la distancia focal del objetivo de microscopio que enfoca el haz. Existen dos tipos de configuraciones de pinzas ópticas (Figura 10-1) dependiendo si empujan o jalan a la partícula que se quiere confinar. El tipo de trampa que jala la partícula recibe el nombre de pinza óptica tipo trampa, mientras que el arreglo de pinzas ópticas que ejerce una fuerza de empuje sobre el micro objeto se le denomina pinzas ópticas de levitación, en donde actúa las Fuerzas de Lorentz. (Martinez, 2011, p.18)

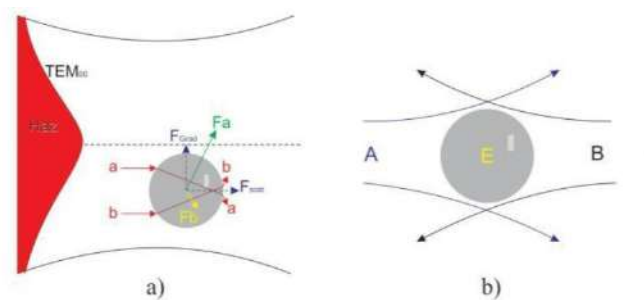


Figura 10-1. El caso a) presenta una trapa por presión de radiación, mientras que el caso b) ilustra una trampa por levitación.

Fuente: (Martinez, 2011, p.19)

La acción de la trampa en una esfera dieléctrica se describe por la fuerza total de un par de rayos a y b convergentes del haz incidente, suponiendo por simplicidad que la reflexión sea cero. En esta aproximación las fuerzas F_a y F_b se encuentran en dirección al cambio de momento a causa de la refracción. Se observa que para desplazamientos arbitrarios de la esfera medidos desde su centro hasta el punto de convergencia de los haces (suma vectorial de F_a y F_b) la fuerza de restauración neta F se dirige hacia un punto detrás del foco, en este caso, la trampa es estable como lo muestra la Figura 11-1. (Martínez, 2011, p.19)

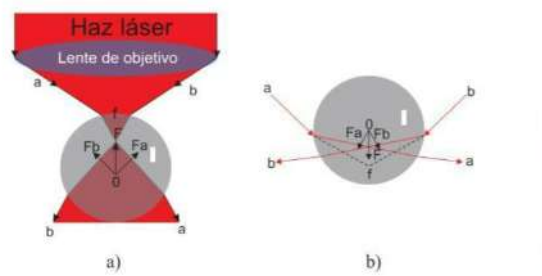


Figura 11-1. La figura a) presenta el fenómeno de pinzas ópticas al jalar la partícula, y la imagen b) es el caso donde empuja a la partícula por presión de radiación siendo ambos casos estables.

Fuente: (Martínez, 2011, p. 19)

1.1.5.1 Régimen de rayos ópticos

Con el pensamiento de García (2014, p.4), el atrapamiento óptico puede entenderse cualitativamente en términos de óptica de rayos cuando el tamaño de la partícula D es mayor comparado con la longitud de onda de la luz ($D \gg \lambda$).

En las pinzas ópticas el principio básico es la transferencia de momento del grupo de fotones que impactan sobre el micro objeto. Este razonamiento descompone el haz incidente en rayos individuales con su propia dirección y potencia, que al cambiar la dirección de su trayectoria a causa de pasar por medios dieléctricos transfieren momento a la partícula en procesos ya sea de reflexión o de refracción. Hay que considerar que en este tipo de razonamiento los efectos difractivos debido a la longitud de onda empleada resultan despreciables.

La trampa óptica formada consiste en un haz paralelo de estructura y polarización arbitrarias que entra por completo en la pupila de entrada de un objetivo de microscopio y es enfocado rayo por rayo a un punto focal adimensional. (Martinez, 2011, pp. 20-21)

Consideremos ahora:

Una partícula transparente esférica con índice n en un campo de luz con una distribución

de intensidad inhomogénea en un plano transversal al eje óptico (Figura 7-1). El haz incidente puede descomponerse en dos rayos individuales con intensidades diferentes cada uno asociado con un flujo de momento lineal $\vec{p} = \vec{p}_{\text{bright}} - \vec{p}_{\text{dim}}$, donde p : es la potencia del rayo,

viajando en línea recta en un medio no dispersivo con índice de refracción n . La partícula esférica actúa como una lente positiva que modifica el grado de divergencia o convergencia del campo. Después que la luz viaja a través de la partícula, su momento cambia en dirección y magnitud originando una respuesta de la misma magnitud, pero dirección contraria en el objeto. En la Figura 12-1. a), b) se muestra que la partícula tiende a ir hacia la región de mayor intensidad del haz, sin embargo, solo el segundo caso es estable considerando que la fuerza de dispersión es despreciable. (García, 2014, p.4)

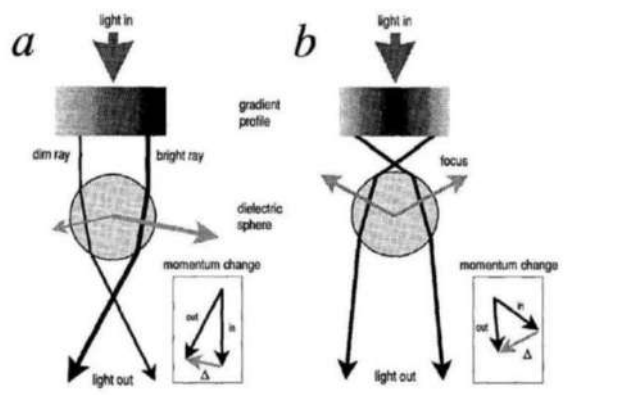


Figura 12-1. Esquema de la fuerza de gradiente en el régimen de rayos ópticos para dos haces con distribución de intensidad diferentes.

Fuente: (García, 2014, p.5)

1.1.5.2 Régimen de Rayleigh

La dispersión de Rayleigh se atribuye a Sir John Rayleigh, quien es bien conocido por describir el color azul del cielo. Concluyó que la relación entre la intensidad de la luz dispersa y la intensidad de la luz incidente es proporcional a la sexta potencia del radio de partícula e inversamente proporcional a la distancia desde la partícula cuadrada y la cuarta potencia de la longitud de onda de la luz. (Astronautics, 2010, p.3)

La dispersión de Rayleigh se define como:

La dispersión elástica donde la frecuencia de la luz dispersa es equivalente a la frecuencia de la luz incidente. Fundamentalmente, la dispersión de Rayleigh es una aproximación de la teoría general de la dispersión de Mie que también es elástica en la naturaleza. Sin embargo, hay una limitación importante en la dispersión de Rayleigh. El radio de la partícula debe ser al menos diez veces menor que la longitud de onda de la luz incidente. Si la partícula es más grande, la teoría no se ajusta a los valores obtenidos utilizando la teoría Mie. Una ventaja de la dispersión de Rayleigh sobre la dispersión de Mie es la relativa simplicidad en el cálculo de los poderes dispersos previstos. La teoría de Mie es un proceso complicado que involucra varias sumas infinitas de polinomios Legendre o múltiples sumas infinitas de Bessel de varios tipos y funciones de Hankel. (Astronautics, 2010, p.3)

Bajo este régimen, la partícula es tratada como un pequeño dipolo eléctrico en presencia de un campo electromagnético (CEM), por lo que la descripción de la fuerza óptica que sufre la partícula puede obtenerse utilizando las ecuaciones electromagnéticas. (Alegría, 2018, p. 10)

En este régimen las partículas son muy pequeñas comparadas con la longitud de onda y son tratadas como dipolos puntuales. Es bien conocido que una esfera de radio r en un campo eléctrico homogéneo E_0 se polarizará y tendrá un momento dipolar inducido dado por: (García, 2016, p.34)

$$p = 4\pi r^3 \epsilon_0 \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} E_0 \quad (1.11)$$

donde m es la razón entre el índice de refracción de la partícula y el medio ($m = n_p / n_m$).

En dicho régimen una partícula con momento dipolar experimenta una fuerza gradiente dada por:

$$F_{\text{grad}} = \frac{1}{2} \nabla |E_0|^2 \cdot \frac{4\pi r^3 \epsilon_0}{2} \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \quad (1.12)$$

que es atractiva cuando $m > 1$. Para partículas pequeñas, esta ecuación es válida para un campo eléctrico variante en el tiempo y la fuerza puede reescribirse en términos de la intensidad, como (García, 2016, p.34)

$$F_{\text{grad}} = \frac{2\pi \epsilon_0 n^2 m^2 V \chi^3}{3} \nabla I, \quad (1.13)$$

Observamos que esta fuerza depende del gradiente de la intensidad, de ahí su nombre. En el caso de un campo variante en el tiempo, las oscilaciones de los dipolos pueden considerarse como fuentes radiantes de energía que es absorbida y reemitida por las partículas. La diferencia vectorial entre la energía removida del campo incidente y la energía re irradiada representa una cantidad asociada de cambio en el flujo de momento y por tanto resulta en una fuerza de dispersión de magnitud:

$$F_{\text{scat}} = -\frac{8\pi \epsilon_0 n^2 m^2 V \chi^3}{3} \frac{I}{c} \quad (1.14)$$

Con un aumento en el grado de enfocamiento, la intensidad tridimensional del gradiente aumenta, la fuerza gradiente se vuelve más fuerte que la de dispersión; y el atrapamiento en tres dimensiones resulta posible. (Figura 13-1) (García, 2016, p.34)

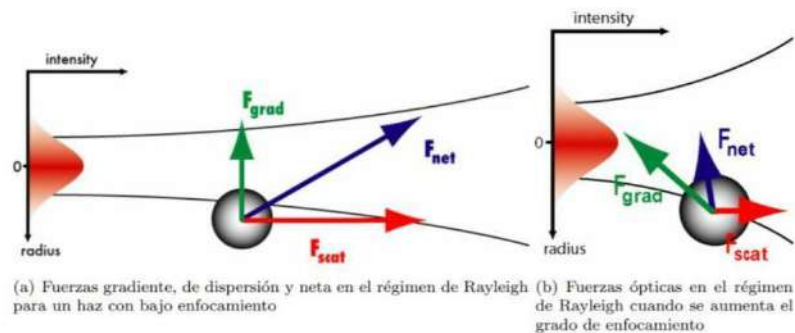


Figura 13-1. Régimen de Rayleigh

Fuente: (García, 2016, p.35)

Por su parte, cuando el tamaño de la partícula es del orden de la longitud de onda empleada, el tratamiento matemático se complica mucho pues son requeridas seis componentes para el campo electromagnético y cada una debe de ser derivada en la superficie de la partícula; a la fecha no ha sido desarrollada por completo su teoría. (García, 2014, p.6)

1.2 Haz Gaussiano

1.2.1 Introducción del haz gaussiano

En este apartado consideraremos la propagación de modos ópticos o haces de luz gaussianos del tipo producido por osciladores láser. Se analiza la propagación de estos haces a través de sistemas ópticos como lentes, cubos divisorios y medios similares a lentes bastante generales, incluidos los medios que exhiben un perfil de pérdida o ganancia no uniforme de potencia. Un ejemplo de un medio con un perfil de ganancia no uniforme es el medio de un amplificador láser de gas (HeNe) donde la ganancia disminuye con la distancia desde el eje del tubo láser. (Kogelnik, 1965, p.1562)

El haz gaussiano juega un papel importante en el láser óptico, así como en otros sistemas de longitud de onda más larga. La mayoría de los autores y escritos se enfocan en los sistemas ópticos, basándose en la propagación de haces gaussianos. Hay otros casos, de sistemas con longitud de onda milimétrica o muy cortas, enfatizándose en aspectos de propagación ecuasióptica que han demostrado ser de mayor importancia en estas longitudes de onda relativamente largas.

En la siguiente sección se da a conocer la derivación de fórmulas de haz gaussiana basadas en la ecuación de onda paraxial, en coordenadas cilíndricas.

1.2.2 Demostración teórica del haz gaussiano

Derivación de la Ecuación del Haz Gaussiano en un medio homogéneo partiendo de las ecuaciones de Maxwell.

Ecuaciones de Maxwell

$$\nabla \times \vec{E} = -\dot{\vec{H}} \quad (1.15)$$

$$\nabla \times \vec{H} = \dot{\vec{E}} \quad (1.16)$$

$$\nabla \cdot (\vec{E}) = 0 \quad (1.17)$$

Para un medio homogéneo, isotrópico sin cargas libres, un medio normal en la que se estudia la propagación de la luz.

Aplicamos el rotor ∇ a la ec. 1.16, obteniendo:

$$\nabla \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{H}}{\partial t}$$

$$\nabla \times (\nabla \times \mathbf{E}) = -\frac{\partial (\nabla \times \mathbf{H})}{\partial t}$$

Reemplazando la ec. 1.15 en $(\nabla \times \mathbf{E})$, tenemos:

$$\nabla \times (\nabla \times \mathbf{E}) = -\frac{\partial}{\partial t} \left(\frac{1}{\mu} \nabla \times \mathbf{H} \right)$$

$$\nabla \times (\nabla \times \mathbf{E}) = -\frac{\partial}{\partial t} \left(\frac{1}{\mu} \nabla \times \left(\frac{1}{\epsilon} \nabla \times \mathbf{E} + \mathbf{J} \right) \right) \quad (1.18)$$

Se sabe que la función gradiente-divergencia es:

$$\nabla \times (\nabla \times \mathbf{E}) = \nabla(\nabla \cdot \mathbf{E}) - \nabla^2 \mathbf{E} \quad (1.19)$$

Entonces el gradiente de la divergencia de E menos el laplaciano de E es:

$$\nabla(\nabla \cdot \mathbf{E}) - \nabla^2 \mathbf{E} = \frac{\partial \mathbf{H}}{\partial t} \quad (1.20)$$

Reescribimos la ec. 1.20, con el término temporal a la izquierda:

$$\nabla^2 \mathbf{E} - \frac{\partial \mathbf{H}}{\partial t} = \nabla(\nabla \cdot \mathbf{E}) \quad (1.21)$$

Usamos la ec. 1.17 (Ec. Maxwell):

$$\nabla \cdot \mathbf{H} = \nabla \times \mathbf{E}$$

Despejo el gradiente de E:

$$\nabla \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{H}}{\partial t} \quad (1.22)$$

Pero en un medio homogéneo la variación de ϵ respecto a \mathbf{E} es $\frac{\partial \epsilon}{\partial \mathbf{E}} \approx 0$, en un medio homogéneo la constante dieléctrica no debe cambiar respecto al mismo \mathbf{E} , por lo que:

$$\begin{aligned} \nabla \cdot \vec{E} &= -\frac{\nabla \cdot \vec{H}}{\omega^2} \\ \nabla \cdot \vec{E} &= 0 \end{aligned} \quad (1.23)$$

Entonces vemos que la divergencia de \vec{E} es 0.

Reemplazando la ec. 1.23 en 1.21 tenemos que:

$$\nabla^2 \vec{E} - \frac{\omega^2}{c^2} \vec{E} = 0 \quad (1.24)$$

Ec. de Onda.

$\nabla^2 \vec{E}$ =indica la variación del campo eléctrico – Término espacial.

$-\frac{\omega^2}{c^2} \vec{E}$ indica la variación en el tiempo – Término temporal.

Ahora consideramos el caso clásico, en el cual suponemos tener una solución a la Ec. de Onda de tipo ondulatorio.

$$\vec{E}(x, y, z) = \vec{E}(z, t) = \vec{E}_0 e^{i(kz - \omega t)} \quad (1.25)$$

Sustituimos esta solución en la Ec. de Onda (1.24), y consideramos que la propagación de onda se da en el eje z (solución de onda plana). Tenemos:

$$\begin{aligned} \nabla^2 \vec{E} - \frac{\omega^2}{c^2} \vec{E} &= 0 \\ \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial z^2} - \frac{\omega^2}{c^2} \vec{E} &= 0 \end{aligned} \quad (1.26)$$

Realizamos las derivadas temporal y espacial de la ec. 1.25:

$$\frac{\partial \vec{E}}{\partial t} = -i\omega \vec{E}(z, t) \quad (1.27)$$

$$\frac{\partial \vec{E}}{\partial z} = ik \vec{E}(z, t) \quad (1.28)$$

$$\frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2} = -\omega^2 \vec{E}(z, t) \quad (1.29)$$

$$\frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial z^2} = -k^2 \vec{E}(z, t) \quad (1.30)$$

Reemplazamos las ecs. 1.28 y 1.30 en 1.26, obteniendo:

$$\begin{aligned}
 -\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} - \frac{\partial^2 \phi}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 \phi}{\partial z^2} - \frac{\partial^2 \phi}{\partial t^2} &= 0 \\
 \frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \phi}{\partial y^2} - \frac{\partial^2 \phi}{\partial z^2} + \frac{\partial^2 \phi}{\partial t^2} &= 0
 \end{aligned}
 \tag{1.31}$$

$$-\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \phi}{\partial y^2} - \frac{\partial^2 \phi}{\partial z^2} = 0
 \tag{1.32}$$

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} = \frac{\partial^2 \phi}{\partial y^2}$$

Sacando raíz cuadrada, se obtiene:

$$\frac{\partial \phi}{\partial x} = \frac{\partial \phi}{\partial y}
 \tag{1.33}$$

Encontramos una relación de dispersión típica, en el cual $\frac{\partial \phi}{\partial x}$ viene en términos de $\frac{\partial \phi}{\partial y}$, $\frac{\partial \phi}{\partial x}$ identifica

la propagación espacial y $\frac{\partial \phi}{\partial t}$ da la dependencia temporal.

Otro caso, considerando ahora una solución con la dependencia temporal al contrario del tiempo, nos permitirá explicar mejor su comportamiento.

$$\bar{E}(x, y, z, t) = \bar{E}\left(\frac{x}{v}, y, z\right) e^{i\omega t}
 \tag{1.34}$$

Realizamos de igual manera la derivada temporal de las ec. 1.34:

$$\frac{\partial^2 \bar{E}}{\partial x^2} - \frac{\partial^2 \bar{E}}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 \bar{E}}{\partial z^2} - \omega^2 \bar{E} = 0
 \tag{1.35}$$

$$\frac{\partial^2 \bar{E}}{\partial x^2} - \frac{\partial^2 \bar{E}}{\partial y^2} - \omega^2 \bar{E} = 0
 \tag{1.36}$$

Entonces reemplazamos las ecs. 1.35 y 1.36 en la ec. 1.24:

$$\nabla^2 \bar{E} - \frac{\partial^2 \bar{E}}{\partial t^2} = 0$$

$$\nabla^2 \bar{E} + \frac{\partial^2 \bar{E}}{\partial t^2} = 0$$

De la relación de dispersión $\omega^2 = v^2 k^2$, se reemplaza en la ec. anterior y se obtiene:

$$\nabla^2 \bar{E} + \frac{\partial^2 \bar{E}}{\partial t^2} = 0
 \tag{1.37}$$

Ec. de Helmholtz.

Así eliminamos la dependencia temporal.

Partiendo de la Ec. de Helmholtz.

En el haz gaussiano, buscamos la solución en un caso estacionario, al variar el tiempo el haz gaussiano permanece en el espacio y no varía en el tiempo.

Hablamos de un láser típico, que permanece constante en el tiempo, este láser continuo tiene amplitud estacionaria en el tiempo.

Otra consideración: Asumimos que ψ depende de la posición \mathbf{r} . $\psi(\mathbf{r}, t)$ dependencia temporal.

Utilizamos también coordenadas cilíndricas, tomando en cuenta a ϕ la dirección de propagación.

$$\nabla^2 = \nabla_{\mathbf{r}}^2 + \frac{\partial^2}{\partial \phi^2} + \frac{1}{\rho} \frac{\partial}{\partial \rho} \left(\rho \frac{\partial}{\partial \rho} \right) \quad (1.38)$$

Esta ec. 1.38, representa el plano transverso a la dirección de propagación.

Tenemos un plano $\phi = \phi_0$ perpendicular a ϕ donde cambia la amplitud de la onda que estamos

considerando \mathbf{r} es una posición en el plano $\phi = \phi_0$.

E , la amplitud del campo eléctrico E .

Escogemos una solución de prueba:

Esta solución es diferente a una solución de onda plana.

$$E(\mathbf{r}, \phi, t) = E_0 E(\mathbf{r}, \phi, t) e^{-i(\omega t - \phi)} \quad (1.39)$$

E_0 = módulo del campo eléctrico.

$E(\mathbf{r}, \phi, t)$ = función que puede variar en todas las dimensiones.

$e^{-i(\omega t - \phi)}$ = término de fase.

Nota: en particular es más cómodo trabajar en sistema de coordenadas cilíndricas.

Sustituyendo la solución de onda plana (ec. 1.39) en la ec. 1.38, tenemos lo siguiente:

$$\nabla_{\mathbf{r}}^2 E_0 E(\mathbf{r}, \phi, t) + \frac{\partial^2}{\partial \phi^2} E_0 E(\mathbf{r}, \phi, t) + \frac{1}{\rho} \frac{\partial}{\partial \rho} \left(\rho \frac{\partial}{\partial \rho} E_0 E(\mathbf{r}, \phi, t) \right) + \omega^2 E_0 E(\mathbf{r}, \phi, t) = 0 \quad (1.40)$$

Después realizamos las derivadas parciales:

$$\frac{\partial^2}{\partial \rho^2} E_0 E(\mathbf{r}, \phi, t) + \frac{\partial^2}{\partial \phi^2} E_0 E(\mathbf{r}, \phi, t) - \omega^2 E_0 E(\mathbf{r}, \phi, t) = 0 \quad (1.41)$$

$$\frac{\nabla_{\text{품}}^2 \frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2} - \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2}}{\text{휠품}^2} = \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} - \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} - \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} - \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} \quad (1.42)$$

Sustituimos las ecs. 1.41 y 1.42 en la ec. 1.40:

$$\begin{aligned} \nabla_{\text{품}}^2 \frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2} + \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} + \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} &= \\ \nabla_{\text{품}}^2 \frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2} + \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} - 2 \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} - \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} + \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} &= \\ \nabla_{\text{품}}^2 \frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2} + \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} - 2 \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} &= \emptyset \\ \nabla_{\text{품}}^2 \frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2} + \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} - 2 \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} &= \emptyset \end{aligned} \quad (1.43)$$

$$\frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} = \text{SVEA}$$

La segunda derivada de $\frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2}$ en 품 , donde 휠 representa la amplitud de la onda, asumimos que esta amplitud 휠 no varía bruscamente cuando se propaga en 품 , la 2da derivada de $\frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2}$ en 품 es

despreciable, varía lentamente en el espacio.
SVEA = Slow Varying Envelope Amplitude.

Aproximación de amplitud de variación lenta.

$$\nabla_{\text{품}}^2 \frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2} - 2 \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} = \emptyset \quad (1.44)$$

Estamos buscando una solución de tipo Gaussiano, para lo cual se plantea la siguiente ecuación de prueba diferente.

$$\frac{\nabla_{\text{품}}^2 \left(\frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2} \right)}{\left(\frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2} \right)} = \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} - \left[\frac{1}{2} \left(\frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2} \right) \right] \quad (1.45)$$

$$\left(\frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} - \frac{1}{2} \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} \right) \frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2} - 2 \frac{\nabla_{\text{품}}^2 \text{휠}^2}{\text{휠품}^2} = \emptyset \quad (1.46)$$

Hacemos las derivadas parciales con respecto a 품 :

$$\frac{\nabla_{\text{품}}^2 \left(\frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2} \right)}{\left(\frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2} \right)} = \exp \left\{ - \left[\frac{1}{2} \left(\frac{\text{휠}^2}{\text{휠품}^2} \right) \right] \right\} \quad (1.47)$$

$$\frac{\text{월}}{\text{월}} = -\frac{1}{\text{월}} \left\{ 2 \frac{\text{월}}{\text{월}} \exp\left\{-\left[\frac{1}{2}\right]\right\} + \right.$$

$$\frac{\text{월}}{\text{월}} = -\frac{1}{\text{월}} \left\{ \left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right) \exp\left\{-\left[\frac{1}{2}\right]\right\} + \right. \quad (1.48)$$

$$\frac{\text{월}^2}{\text{월}} = -\frac{1}{\text{월}} \left\{ \left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right) \exp\left\{-\left[\frac{1}{2}\right]\right\} + \right. \quad (1.49)$$

$$\left. - \frac{\text{월}^2}{\text{월}} \left\{ \left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right) \exp\left\{-\left[\frac{1}{2}\right]\right\} + \right\} \right\}$$

Reemplazando las ecs. 1.48 y 1.49 en la ec. 1.46 tenemos:

$$\left(\frac{\text{월}^2}{\text{월}} + r \frac{\text{월}}{\text{월}}\right) \text{월} = 0$$

$$\left(\frac{\text{월}^2}{\text{월}} + r \frac{\text{월}}{\text{월}}\right) \text{월} = -\left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right) \exp\left\{-\left[\frac{1}{2}\right]\right\} +$$

$$- \frac{\text{월}^2}{\text{월}} \left\{ \left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right) \exp\left\{-\left[\frac{1}{2}\right]\right\} + \right\} - \left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right) \left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right) +$$

$$+ \frac{1}{r} \left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right) \exp\left\{-\left[\frac{1}{2}\right]\right\} +$$

$$\left(\frac{\text{월}^2}{\text{월}} + r \frac{\text{월}}{\text{월}}\right) \text{월} = -\left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right) - \frac{\text{월}^2}{\text{월}} \left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right) - \left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right)$$

$$\left(\frac{\text{월}^2}{\text{월}} + r \frac{\text{월}}{\text{월}}\right) \text{월} = -2 \left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right) - \frac{\text{월}^2}{\text{월}} \left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right)$$

$$\left(\frac{\text{월}^2}{\text{월}} + r \frac{\text{월}}{\text{월}}\right) \text{월} = -2 \left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right) \text{월} - \quad (1.50)$$

Ahora hacemos la derivada respecto a $\frac{\text{월}}{\text{월}}$:

$$\frac{\text{월}}{\text{월}} = -\frac{\text{월}}{\text{월}} \frac{\text{월}}{\text{월}} \frac{2}{2} \frac{\text{월}}{\text{월}} \quad (1.51)$$

Reemplazando la ec. 1.51 en la ec. 1.46 tenemos:

$$-2 \frac{\text{월}}{\text{월}} \left[\frac{\text{월}}{\text{월}} \left(2 \frac{\text{월}}{\text{월}} \frac{\text{월}}{\text{월}} + \frac{\text{월}}{\text{월}} \left(\frac{\text{월}}{\text{월}}\right) \right) \right] \quad (1.52)$$

Entonces completando las ecs. 1.50 y 1.52 en la ec. 1.46 obtenemos:

$$\begin{aligned} & \left(\frac{h^2}{r^2} + r \frac{h}{r} \right) h - 2 \frac{h}{h} \frac{h}{h} = 0 \\ & -2 \left(\frac{p}{h} \frac{h}{h} - p^2 \frac{p}{h} \right) \frac{h}{h} - 2 \frac{h}{h} \frac{h}{h} \left(\frac{p}{h} \right) \frac{h}{h} = 0 \\ & -2 \left(\frac{p}{h} \right) - p^2 \frac{p}{h} - 2 \frac{h}{h} \left(\frac{p}{h} \right) \frac{h}{h} = 0 \end{aligned} \quad (1.53)$$

Ec. Válida $\forall p$

Simplificamos h porque es común en todos los términos.

En esta ec. 1.53 tenemos términos que están multiplicados por p^2 y podemos decir que términos se multiplican por p^0 . Para verificar esta ecuación, los factores que multiplican p son nulos, para cada valor de p posible debemos encontrar los factores que hagan \emptyset a la ec. y simplemente resolvemos un sistema de dos ecuaciones.

Para p^2 tenemos:

$$p^2 \left(\frac{p}{h} + \frac{h}{h} \right) \frac{p}{h} = 0 \quad (1.54)$$

Para p^0 tenemos:

$$\left(\frac{p}{h} \right) + \frac{h}{h} \frac{p}{h} = 0 \quad (1.55)$$

Tenemos 2 ecs. con dos incógnitas. Para resolver debemos hacer otra sustitución.

Introducimos una función:

$$p \left(\frac{p}{h} \right) = \frac{p}{h} \quad (1.56)$$

$$\frac{p}{h} = p + \frac{p}{h} \quad (1.57)$$

En la ec. 1.54, para resolver esta ecuación se utiliza un truco. Escribimos la solución $p \left(\frac{p}{h} \right)$ como:

$$p \left(\frac{p}{h} \right) = \frac{p'}{h} \quad (1.58)$$

$$p^2 \left(\frac{p'}{h} \right) + \frac{h}{h} \frac{p'}{h} = 0 \quad (1.59)$$

La derivada $\frac{f'(x)}{f(x)}$ la podemos escribir como la derivada de un cociente:

$$\frac{f'(x)}{f(x)} = \frac{f''(x)f(x) - (f'(x))^2}{f(x)^2} \quad (1.60)$$

Entonces sustituimos la ec. 1.60 en la ec. 1.59:

$$\begin{aligned} f(x)^2 \frac{f'(x)}{f(x)} + f(x) \frac{f'(x)}{f(x)} &= 0 \\ f(x)^2 \frac{f'(x)}{f(x)} + f(x) \frac{f''(x)f(x) - (f'(x))^2}{f(x)^2} &= 0 \\ \cancel{f(x)^2} \frac{f'(x)}{\cancel{f(x)}} + f(x) \frac{f''(x)\cancel{f(x)} - (f'(x))^2}{\cancel{f(x)}^2} &= 0 \\ f(x) \frac{f'(x)}{f(x)} + f(x) \frac{f''(x) - (f'(x))^2}{f(x)} &= 0 \\ f'(x) + f''(x) - (f'(x))^2 &= 0 \end{aligned} \quad (1.61)$$

Para lo cual $f''(x) = 0$. Por conveniencia podemos simplificar $f(x)^2$ con $f(x)$.

La 2da derivada de $f(x)$ respecto a x es igual a 0 entonces $f'(x) = C$ (la primera derivada es una

constante) y la función $f(x)$, la podemos escribir como una recta.

$$f(x) = Cx + D \quad (1.62)$$

Entonces reemplazando la ec. 1.62 en la ec. 1.58 tenemos:

$$\begin{aligned} \frac{f'(x)}{f(x)} &= \frac{C}{Cx + D} \\ \frac{f'(x)}{f(x)} &= \frac{C}{Cx + D} + \frac{C}{Cx + D} \\ \frac{f'(x)}{f(x)} &= \frac{2C}{Cx + D} \\ \frac{f'(x)}{f(x)} &= \frac{2C}{Cx + D} \left(\frac{1}{Cx + D} \right) \\ \frac{f'(x)}{f(x)} &= \frac{2C}{Cx + D} \left(\frac{1}{Cx + D} \right) \end{aligned} \quad (1.63)$$

Aún no conocemos que valores toman a y b.

Entonces, sustituimos la ec. 1.63 en la ec. 1.56:

$$\begin{aligned}
 \text{푸}(\text{푸}) &= \frac{\text{픽}}{\text{핀}(\text{푸})} \\
 \text{푸}(\text{푸}) &= \frac{\text{픽}}{\text{픽} \left(\frac{1}{\text{푸} + \text{핀}} \right)} \\
 \text{푸}(\text{푸}) &= \frac{\text{핀}\text{푸} + \text{핀}}{\text{핀}} \tag{1.64}
 \end{aligned}$$

Para 푸_0 es el valor de 푸 en $\text{푸} = \emptyset$.

$$\text{푸}_0 \rightarrow \text{푸} = \emptyset \quad \text{핀}$$

Entonces vemos lo siguiente en la ec. 1.64:

$$\begin{aligned}
 \text{푸}(\text{푸}) &= \frac{\text{핀}\text{푸} + \text{핀}}{\text{핀}} \\
 \text{푸}(\text{푸}) &= \frac{\text{핀}\text{푸}}{\text{핀}} + \frac{\text{핀}}{\text{핀}} \\
 \text{푸}(\text{푸}) &= \text{푸} + \text{핀} \tag{1.65}
 \end{aligned}$$

Para lo cual:

$$\text{핀}(\text{푸}) = \frac{\text{픽}}{\text{푸} + \text{푸}_0} \tag{1.66}$$

Se puede reemplazar la ec. 1.66 en la ec. 1.55:

$$\begin{aligned}
 (\text{푸}) + \frac{\text{헬}}{\text{픽}} \text{핀}(\text{푸}) &= \emptyset \\
 \frac{\text{픽}}{\text{푸} + \text{푸}_0} + \frac{\text{헬}}{\text{픽}} \frac{\text{픽}}{\text{푸} + \text{푸}_0} \text{핀}(\text{푸}) &= \emptyset \\
 \frac{\text{헬}}{\text{헬}\text{픽}} \text{핀}(\text{푸}) &= \frac{\text{픽}}{\text{푸} + \text{푸}_0} \tag{1.67}
 \end{aligned}$$

Para encontrar la solución $\psi(r)$ integramos, se cambia ψ (derivada parcial) por ψ (derivada total):

$$\int_{\psi_0}^{\psi} \frac{d\psi}{\psi} = - \frac{\psi}{\psi + \psi_0}$$

$$\ln\left(\frac{\psi}{\psi_0}\right) - \psi_0 = - \left(\frac{\psi}{\psi + \psi_0}\right)$$

$$\ln\left(\frac{\psi}{\psi_0}\right) - \psi_0 = - \left[\ln\left(\frac{\psi + \psi_0}{\psi_0}\right) - \psi_0\right]$$

$$\ln\left(\frac{\psi}{\psi_0}\right) - \psi_0 = - \ln\left(\frac{\psi + \psi_0}{\psi_0}\right) + \psi_0$$

$$\ln\left(\frac{\psi}{\psi_0}\right) = - \ln\left(1 + \frac{\psi_0}{\psi}\right) + \psi_0 \quad (1.68)$$

Tenemos así las soluciones siguientes (ecs. 1.66 y 1.68):

$$\psi(r) = - \ln\left(1 + \frac{\psi_0}{\psi}\right)$$

$$\psi(r) = \frac{\psi_0}{\psi + \psi_0}$$

Asumimos que el parámetro ψ_0 toma ahora un valor particular:

$$\psi_0 = \frac{\psi_0 \psi}{\psi} \quad (1.69)$$

Con ψ el índice de refracción, λ la longitud de onda. Con el nuevo ψ_0 las soluciones quedan:

$$\psi(r) = - \ln\left(1 + \frac{\psi_0}{\psi \lambda}\right) \quad (1.70)$$

$$\psi(r) = \frac{\psi_0}{\psi + \frac{\psi_0}{\lambda}} \quad (1.71)$$

Reescribimos la solución de la ec. 1.45, con las ecs. 1.66 y 1.68:

$$\frac{\psi(r, \psi, \psi_0)}{\psi(r, \psi, \psi_0) r^2} = \frac{1}{\psi \psi_0} \left\{ - \left[\frac{1}{2} \psi(r) + \psi(r) \right] + \right.$$

$$\left. \frac{\psi(r, \psi, \psi_0)}{\psi(r, \psi, \psi_0)} = \frac{1}{\psi \psi_0} \left\{ - \ln\left(1 + \frac{1}{2} \frac{\psi_0 r^2}{\psi + \psi_0}\right) + \right. \right. \quad (1.72)$$

Esta ec. con dos términos al multiplicar los imaginarios ya no será un término de fase, en el primer término, e influirá en la amplitud de la onda, el segundo término si se mantiene como término de fase.

$$\frac{\text{f}(\text{f}, \text{f}, \text{f})}{(1 - \frac{\text{f}}{\text{f}})} = \left\{ - \ln \left(1 - \frac{\text{f}}{\text{f}} \right) + \frac{1}{2} \frac{\text{f} r^2}{\text{f} + \frac{\text{f}}{\text{f}}} \right\} \quad (1.73)$$

La solución que estamos buscando tendrá un cambio en el espacio, la amplitud cambiará en el espacio.

La solución cuando reemplazamos f_0 , se convierte en una ec. Con números complejos.

Expresamos un número complejo de la forma:

$\text{f} = |\text{f}| \text{f}$; tiene un módulo y un término de fase.

Retomando la ec. 1.73, el primer término:

$$\frac{\text{f} \text{f} \text{f}}{-} \left\{ - \ln \left(1 - \frac{\text{f}}{\text{f}} \right) \right\} = \frac{1}{1 - \frac{\text{f}}{\text{f}}}$$

Aquí introducimos la forma del número complejo.

$$\frac{\text{f} \text{f} \text{f}}{-} \left\{ - \ln \left(1 - \frac{\text{f}}{\text{f}} \right) \right\} = \frac{1}{\sqrt{1 + \frac{\text{f} \text{f}^2}{\text{f}}}} \exp \left\{ - \left(\frac{\text{f} \text{f}}{\text{f}} \right) \right\}$$

Nota el arctan es θ que pertenece a la parte real y a la imaginaria.

$$\frac{\text{f} \text{f} \text{f}}{-} \left\{ - \ln \left(1 - \frac{\text{f}}{\text{f}} \right) \right\} = \frac{1}{\sqrt{1 + \frac{\text{f} \text{f}^2}{\text{f}}}} \exp \left\{ - \left(\frac{\text{f} \text{f}}{\text{f}} \right) \right\} \quad (1.74)$$

En la ec. 1.73, con respecto al segundo término:

$$\frac{\text{f} \text{f} \text{f}}{-} \left\{ \frac{1}{2} \frac{\text{f} r^2}{\text{f} + \frac{\text{f}}{\text{f}}} \right\} = \exp \left\{ - \frac{\text{f} r^2 \left(\text{f} - \frac{\text{f}}{\text{f}} \right)}{2 \left| \text{f}^2 + \frac{\text{f}}{\text{f}} \right|^2} \right\}$$

Multiplicamos y dividimos por el complejo conjugado para tener el término del número complejo en el numerador.

$$\frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{-} \left\{ \frac{1}{2} \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f} + \text{f}\text{f}\text{f}} \right\} = \exp \left\{ - \left(\frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f} + \text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{2|\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}|} \right) \right\}$$

$$\frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{-} \left\{ \frac{1}{2} \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f} + \text{f}\text{f}\text{f}} \right\} = \exp \left\{ - \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{2|\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}|} - \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{2|\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}|} \right\}$$

$$\frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{-} \left\{ \frac{1}{2} \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f} + \text{f}\text{f}\text{f}} \right\} = \exp \left\{ - \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{2\text{f}\text{f}\text{f}^2 |1 + \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f}}|} - \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{2\text{f}\text{f}\text{f}^2 \left(\frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f}} \right) |1 + \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f}}|} \right\}$$

$\frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f}}$ = Este término se coloca para reducir la expresión, es el mismo del denominador.

$$\frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{-} \left\{ \frac{1}{2} \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f} + \text{f}\text{f}\text{f}} \right\} = \exp \left\{ - \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{2\text{f}\text{f}\text{f} |1 + \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f}}|} - \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{2 \left(\frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f}} \right) |1 + \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f}}|} \right\}$$

fff = vector de onda $\frac{2\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f}}$ lo reemplazo en el numerador de la expresión y puedo simplificar.

$$\frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{-} \left\{ \frac{1}{2} \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f} + \text{f}\text{f}\text{f}} \right\} = \exp \left\{ - \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{2\text{f}\text{f}\text{f} |1 + \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f}}|} - \frac{2\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{2\text{f}\text{f}\text{f} \left(\frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f}} \right) |1 + \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f}}|} \right\}$$

$$\frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{-} \left\{ \frac{1}{2} \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f} + \text{f}\text{f}\text{f}} \right\} = \exp \left\{ - \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{2\text{f}\text{f}\text{f} |1 + \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f}}|} - \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f} |1 + \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f}}|} \right\} \quad (1.75)$$

A este punto podemos proponer expresiones de una manera sintética.

$$\text{f}\text{f}\text{f}(\text{f}\text{f}\text{f}) = \text{f}\text{f}\text{f} \left| 1 + \frac{\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}\text{f}}{\text{f}\text{f}\text{f}} \right| \quad (1.76)$$

$$\frac{r}{r_0} = \frac{r_0}{r} \quad (1.77)$$

La ec. 1.76 representa el rayo de curvatura del frente de onda de la ec. del haz gaussiano.

A este $\frac{r}{r_0}$ de la ec. 1.77 se le conoce como parámetro de Rayleigh.

Entonces:

$$\frac{r}{r_0} = \frac{r_0}{r} \left[1 + \left(\frac{r_0}{r} \right)^2 \right] \quad (1.78)$$

Del segundo término de la ec. 1.75 tenemos:

$$\begin{aligned} \frac{r}{r_0} &= \frac{r_0}{r} \left| 1 + \frac{r_0^2}{r^2} \right| \\ \frac{r}{r_0} &= \frac{r_0}{r} \left| 1 + \left(\frac{r_0}{r} \right)^2 \right| \end{aligned} \quad (1.79)$$

Sustituimos las ecs. 1.78 y 1.79 en la ec. 1.75:

$$\begin{aligned} \frac{r}{r_0} \left\{ \frac{1}{2} \frac{r^2}{r_0 + r} \right\} &= \exp \left\{ - \frac{r^2}{2r_0 \left| 1 + \frac{r_0^2}{r^2} \right|} - \frac{r^2}{r_0 \left| 1 + \frac{r_0^2}{r^2} \right|} \right\} \\ \frac{r}{r_0} \left\{ \frac{1}{2} \frac{r^2}{r_0 + r} \right\} &= \exp \left\{ -r^2 \left[\frac{1}{2r_0 \left(1 + \frac{r_0^2}{r^2} \right)} + \frac{1}{r_0 \left(1 + \frac{r_0^2}{r^2} \right)} \right] \right\} \end{aligned}$$

Tenemos el factor real para la amplitud y un término para la normalización del haz Gaussiano.

De la ec. 1.74 tenemos lo siguiente:

$$\frac{r}{r_0} \left\{ - \ln \left(1 + \frac{r_0^2}{r^2} \right) \right\} = \frac{1}{\sqrt{1 + \frac{r_0^2}{r^2}}} \exp \left\{ - \left(\frac{r_0}{r} \right)^2 \right\}$$

Ahora, del segundo término de la ec. 1.75 tenemos:

$$\frac{r}{r_0} = \frac{r_0}{r} \left| 1 + \frac{r_0^2}{r^2} \right|$$

Despejando tenemos lo siguiente:

$$\frac{w(z)}{w_0} = \left| 1 + \frac{w_0^2}{w(z)^2} \right| \quad (1.80)$$

$$\frac{w(z)}{w_0} = \sqrt{\left| 1 + \frac{w_0^2}{w(z)^2} \right|} \quad (1.80a)$$

Reemplazando la ec. 1.80a en la ec. 1.74 nos da:

$$\left\{ -\ln \left(1 + \frac{w_0^2}{w(z)^2} \right) \right\} = \frac{1}{w(z)} \exp \left| - \left(\frac{w_0}{w(z)} \right)^2 \right|$$

$$\left\{ -\ln \left(1 + \frac{w_0^2}{w(z)^2} \right) \right\} = \frac{w_0}{w(z)} \exp \left| - \left(\frac{w_0}{w(z)} \right)^2 \right| \quad (1.81)$$

Llamamos $w(z) = \frac{w_0}{w(z)}$

Reemplazando $w(z)$ en la ec. 1.81, tenemos:

$$\left\{ -\ln \left(1 + \frac{w_0^2}{w(z)^2} \right) \right\} = \frac{w_0}{w(z)} \exp \left| - \left(\frac{w_0}{w(z)} \right)^2 \right| \quad (1.82)$$

En definitiva, de la ec. 1.73 general tenemos lo siguiente:

$$w(z) = \left\{ -\ln \left(1 + \frac{w_0^2}{w(z)^2} \right) + \frac{1}{2} \frac{r^2}{w_0^2 + w(z)^2} \right\}$$

$$\left\{ -\ln \left(1 + \frac{w_0^2}{w(z)^2} \right) \right\} = \frac{w_0}{w(z)} \exp \left| - \left(\frac{w_0}{w(z)} \right)^2 \right| + \exp \left\{ -r^2 \left[\frac{1}{2} \frac{r^2}{w_0^2 + w(z)^2} \right] \right\}$$

$$\left\{ -\ln \left(1 + \frac{w_0^2}{w(z)^2} \right) \right\} = \frac{w_0}{w(z)} \exp \left| - \left(\frac{w_0}{w(z)} \right)^2 \right| - r^2 \left[\frac{1}{2} \frac{r^2}{w_0^2 + w(z)^2} \right] \quad (1.83)$$

Discusión de la solución del Haz Gaussiano

La ec. 1.83 tiene un término de fase y un término de amplitud. Ahora queremos ver el verdadero comportamiento de un haz láser como un haz gaussiano.

Asociamos a la ec. 1.39 del campo eléctrico.

$$E(\frac{r}{\rho}, \frac{r}{\rho}, \frac{r}{\rho}) = E_0 \frac{r}{\rho} \left(\frac{r}{\rho}, \frac{r}{\rho} \right)$$

Entonces la solución completa es:

Sustituyendo la ec. 1.83 en la ec. 1.39 tenemos:

$$E(\frac{r}{\rho}, \frac{r}{\rho}, \frac{r}{\rho}) = \frac{E_0}{\rho} \exp \left\{ - \frac{r^2}{\rho^2} \right\} - \left[\frac{r}{\rho} - \frac{r}{\rho} \right] \frac{r^2}{\rho^2} \quad (1.84)$$

$$E_0 \frac{r}{\rho} \exp \left\{ - \frac{r^2}{\rho^2} \right\} = \text{Término de Amplitud}$$

$$\exp \left\{ - \left[\frac{r}{\rho} - \frac{r}{\rho} \right] \frac{r^2}{\rho^2} \right\} = \text{Término de Fase}$$

Si consideramos el término de amplitud del campo:

$$E_0 \frac{r}{\rho} \exp \left\{ - \frac{r^2}{\rho^2} \right\}, \text{ este se reduce en:}$$

Para $r = 0$ al centro de la gaussiana, resulta:

$$E_0 \frac{r}{\rho} \quad (1.85)$$

Al máximo valor de la gaussiana.

Para $r = \rho$ tenemos:

$$E_0 \frac{1}{\rho} \quad (1.86)$$

Asumimos que a una cierta distancia del centro de la gaussiana la amplitud del campo eléctrico decae como $\frac{1}{\rho}$ del valor máximo.

Entonces decae en manera gaussiana:

$$\frac{r}{\rho} = \sqrt{\frac{r^2}{\rho^2} + \dots} \quad (1.87)$$

Para la intensidad de la onda elevamos al cuadrado la ec. 1.84, obteniendo:

$$I \propto |E|^2 = \frac{E_0^2}{\rho^2} \exp \left\{ - \frac{2r^2}{\rho^2} \right\} \quad (1.88)$$

Si consideramos la condición para $\frac{\mu}{\sigma} = \frac{\mu}{\sigma} \left(\frac{\mu}{\sigma} \right)$. Cuando se reduce a $\frac{1}{\sigma}$, tenemos:

$$\frac{\mu}{\sigma} + \frac{\mu}{\sigma} = \frac{\mu}{\sigma} \left(1 + \frac{\mu^2}{\sigma^2} \right) \quad (1.89)$$

Lo que sabemos de la ec. 1.79:

$$\frac{\mu}{\sigma} \left(\frac{\mu}{\sigma} \right) = \frac{\mu}{\sigma} \left[1 + \frac{\mu^2}{\sigma^2} \right]$$

Entonces reemplazamos la ec. 1.79 en la ec. 1.89:

$$\frac{\mu}{\sigma} + \frac{\mu}{\sigma} = \frac{\mu}{\sigma} \left(1 + \frac{\mu^2}{\sigma^2} \right)$$

$$\frac{\mu}{\sigma} + \frac{\mu}{\sigma} = \frac{\mu}{\sigma} \left(\frac{\mu_0^2 + \mu^2}{\sigma^2} \right)$$

$$\frac{\mu_0^2 (\mu^2 + \mu^2)}{\mu^2} = \frac{\mu}{\sigma} \left(\frac{\mu}{\sigma} \right) +$$

$$\frac{(\mu + \mu)}{\frac{\mu}{\sigma}} = 1 + \frac{\mu^2}{\frac{\mu}{\sigma}}$$

$$\frac{\mu^2}{\frac{\mu}{\sigma}} + \frac{\mu^2}{\frac{\mu}{\sigma}} = 1 + \frac{\mu^2}{\frac{\mu}{\sigma}}$$

$$\frac{\mu^2}{\frac{\mu}{\sigma}} + \frac{\mu^2}{\frac{\mu}{\sigma}} - \frac{\mu^2}{\frac{\mu}{\sigma}} = 1 \quad (1.90)$$

La curva del haz gaussiano de $-\infty$ a $+\infty$ es una hipérbola en el extremo.

Si estudiamos la forma de $\frac{\mu^2}{\sigma^2}$, notamos que $\frac{\mu}{\sigma}$ es un mínimo

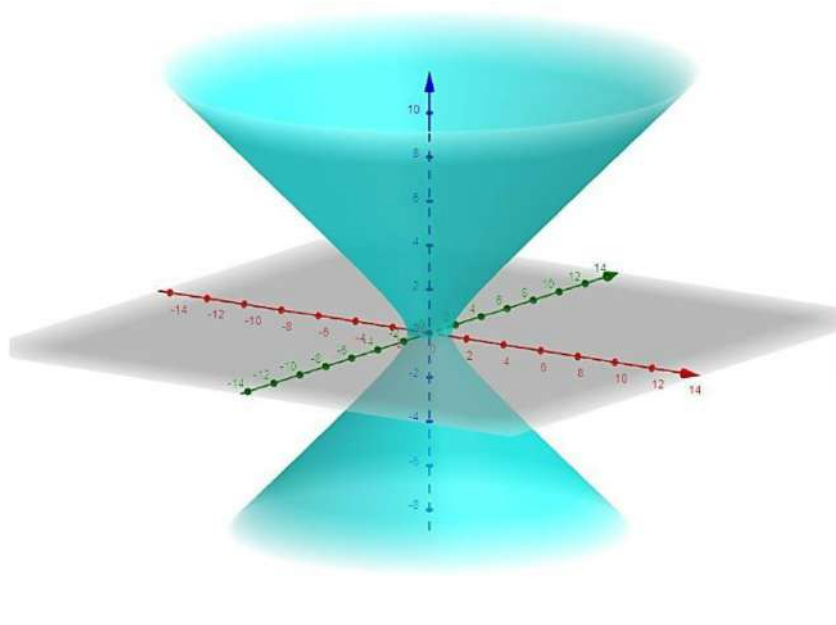


Gráfico 1-1. Gráfico 3D de un Hiperboloide

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

$\omega(r)$ se define como “spot size”

Sacando raíz cuadrada a la ec. 1.79 tenemos:

$$\omega(r) = \omega_0 \sqrt{1 + \frac{r^2}{r_0^2}} \quad (1.91)$$

Sabemos que la ec. 1.77 es igual a:

$$r_0 = \frac{\omega_0 \omega(r)}{\omega}$$

Si $r = 0 \rightarrow \omega(r=0) = \omega_0$ asume el valor mas pequeño y ω_0 se define como “beam waist”
 r_0 cintura del haz”.

Si $r = r_0 \rightarrow \omega(r=r_0) = \omega_0 \sqrt{1 + \frac{r_0^2}{r_0^2}} = \omega_0 \sqrt{2}$. Respecto al beam waist es $\sqrt{2} \omega_0$.

Si $r \gg r_0 \rightarrow \frac{r^2}{r_0^2} \gg 1 \rightarrow \omega(r) \sim \omega_0 \frac{r}{r_0}$ ()

Si graficamos la curva:

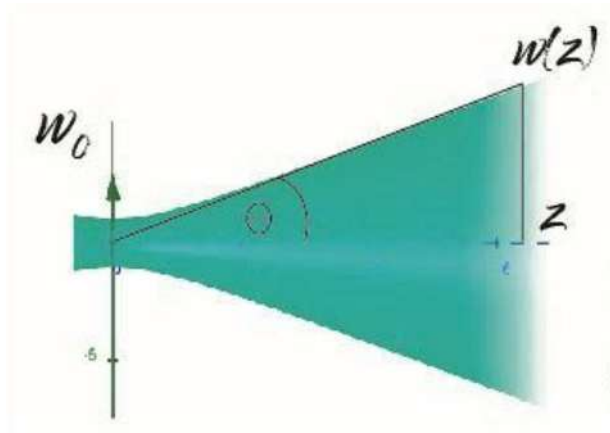


Gráfico 2-1. Curva de la divergencia del haz como un Hiperboloide

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

θ = ángulo de divergencia.

Partiendo del valor mínimo el haz tiende ligeramente a divergir como un hiperboloide.

Sacando la $\tan(\theta)$ tenemos:

$$\frac{\theta}{\text{rad}} = \tan(\theta) = \frac{w_0}{z}$$

Reemplazando la ec. 1.77 en la $\tan(\theta)$ y simplificando, tenemos lo siguiente:

$$\tan(\theta) = \frac{w_0}{z} = \frac{w_0}{\frac{2\pi z}{k}} = \frac{w_0 k}{2\pi z}$$

$$\tan(\theta) = \frac{w_0}{z} \quad (1.92)$$

La $\tan(\theta)$ contiene la longitud de onda del haz, el beam waist del haz y el índice de refracción por lo que el haz se está propagando.

Vemos también que el ángulo de divergencia es proporcional a la longitud de onda, por lo que será diferente si usamos un láser rojo, verde o azul.

Si como estamos en una aproximación Paraxial $\tan(\theta) \sim \theta$ entonces el ángulo de divergencia es:

$$\theta = \frac{r}{R} \approx \frac{r}{R_0} \quad (1.93)$$

Donde $\theta \propto \frac{1}{R_0}$.

Frente de Onda del Haz Gaussiano

Para establecer la forma del frente de onda del haz gaussiano condicionamos los puntos a fase constante.

De la ec. 1.84, agrupamos de diferente manera:

$$E(r, z) = \frac{E_0}{R} \exp\left\{ -\frac{r^2}{2R^2} \right\} \exp\left\{ -i\left[kR - \frac{\pi}{2} \right] - i\frac{k r^2}{2R} \right\}$$

$$E(r, z) = \frac{E_0}{R} \exp\left\{ -\frac{r^2}{2R^2} \right\} \exp\left\{ -i\left[kR - \frac{\pi}{2} + \frac{k r^2}{2R} \right] \right\}$$

Para $\frac{r^2}{2R} = \text{cte}$

Reemplazamos la ec. 1.87 en $\frac{r^2}{2R}$ de la ec. anterior:

$$\frac{r^2}{2R} = \frac{r^2}{2R_0} = \frac{r^2}{2R_0} = \frac{r^2}{2R_0}$$

$$\frac{r^2}{2R} = \frac{r^2}{2R_0} = \frac{r^2}{2R_0} = \frac{r^2}{2R_0}$$

Entonces:

$$\frac{r^2}{2R} = \frac{r^2}{2R_0} \quad (1.94)$$

Representa un paraboloides.

Estudiando la fase constante, $\frac{r^2}{2R}$ representa un paraboloides, el frente de onda no es plano.

Podemos considerar una aproximación de una frente de onda esférico.

“Esférico = Es”

$$\frac{r^2}{2R} = \frac{r^2}{2R_0} \quad (1.95)$$

Con:

$$r = \left(\frac{R}{2} + \frac{z}{2} + \frac{1}{2} \right)^2 \quad (1.96)$$

Reemplazamos la ec. 1.96 en la ec. 1.95:

$$\frac{1}{r} \exp(-\sqrt{r}) \quad (1.97)$$

Para valores grandes de R

Cuando $R \gg z$ se puede representar, tomando en cuenta que $R \gg R^2 + z^2$

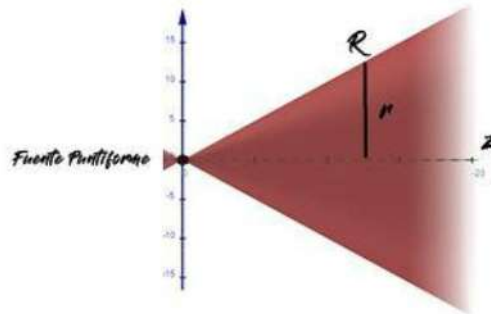


Gráfico 3-1. Fuente Puntiforme y Frente de Onda Esférico

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

De la ec. 1.96 sacamos factor común $\frac{R^2}{2}$, sustituimos la ec. 1.87 y obtenemos lo siguiente:

$$r = \left| \frac{R^2}{2} \left(\frac{z}{R} + \frac{z}{R} \right) + 1 \right|^{\frac{1}{2}}$$

$$r = \frac{R}{2} \left(1 + \frac{z^2}{R^2} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (1.98)$$

Pero $\sqrt{1 + \frac{z^2}{R^2}} \sim 1 + \frac{1}{2} \frac{z^2}{R^2}$, (para $\frac{z^2}{R^2} \ll 1$), entonces de la ec. 1.98, tenemos lo siguiente:

$$r = \frac{R}{2} \left(1 + \frac{z^2}{R^2} \right) \quad (1.98)$$

Ahora consideramos que $\frac{r}{\lambda} \sim \frac{r^2}{\lambda^2}$, por ende:

$$\frac{r}{\lambda} = \frac{r^2}{\lambda^2} \sim \frac{r^2}{2\lambda^2} \quad (1.99)$$

Entonces, sustituyendo la ec. 1.99 en la ec. 1.95, tenemos:

$$\frac{r}{\lambda} \sim \frac{1}{\lambda} \exp\left(-\frac{r^2 + \lambda^2}{2\lambda^2}\right) \quad (1.100)$$

Si $\frac{r}{\lambda} \sim \frac{1}{\lambda}$, el límite con respecto a la ec. 1.78 es:

$$\lim_{\frac{r}{\lambda} \rightarrow 0} \frac{r}{\lambda} \left(\frac{r}{\lambda}\right) = \lim_{\frac{r}{\lambda} \rightarrow 0} \frac{r^2}{\lambda^2} \left[1 - \frac{r^2}{\lambda^2}\right] \quad (1.101)$$

Para esta condición $\frac{r}{\lambda} \left(\frac{r}{\lambda}\right)$ tiende al ∞ .

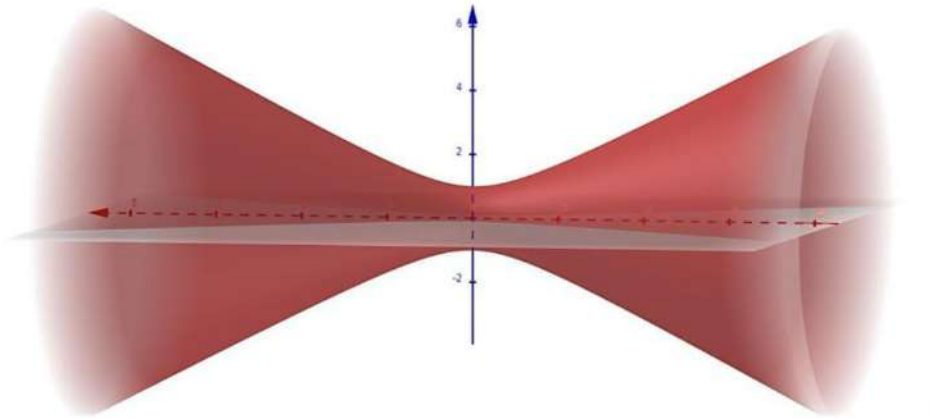


Gráfico 4-1. Gráfico 3D de un Hiperboloide acostado

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

Para valores grandes de $\frac{r}{\lambda}$ se puede suponer que $\frac{r}{\lambda} \left(\frac{r}{\lambda}\right)$ como el radio de curvatura de una onda esférica.

De la ec. 1.78 consideramos entonces:

$$\frac{r}{\lambda} \left(\frac{r}{\lambda}\right) = \frac{r^2}{\lambda^2} \left[1 - \frac{r^2}{\lambda^2}\right] \quad \infty$$

Para $\frac{\omega}{v} = \frac{\omega}{c}$ (igual al parámetro de Rayleigh), $\frac{\omega}{v}(\frac{\omega}{v}) \approx \frac{\omega}{2v}$.

Para $\frac{\omega}{v} \rightarrow \infty$

$$\lim_{\frac{\omega}{v} \rightarrow \infty} \frac{\omega}{v}(\frac{\omega}{v}) = \infty \quad (1.102)$$

Así se ha estudiado como varia el radio de curvatura.

Para la Anomalía de Fase

$$\frac{\omega}{v}(\frac{\omega}{v}) = \arctan\left(\frac{\omega}{v}\right) \quad (1.103)$$

Tiene una variación de $\frac{\omega}{v}$ de $-\frac{\omega}{v}$ a $\frac{\omega}{v}$, una variación brusca.

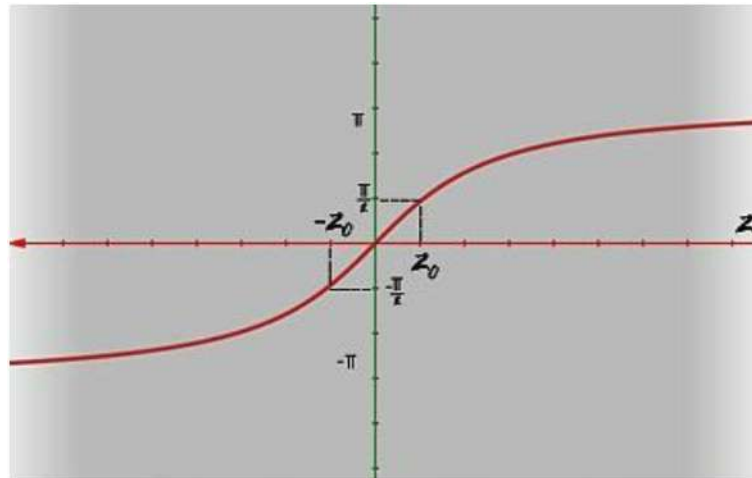


Gráfico 5-1. Gráfico del $\arctan(\frac{\omega}{v}/\frac{\omega}{v_0})$

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

El término $\frac{\omega}{v}(\frac{\omega}{v})$ introduce una variación de fase del campo electromagnético y es bastante brusco al pasar de $\frac{\omega}{v} = -\frac{\omega}{v}$ a $\frac{\omega}{v} = \frac{\omega}{v}$ ($\frac{\omega}{v} = \frac{\omega}{v_0}$ a $\frac{\omega}{v} = \frac{\omega}{v_0}$).

1.3 Gel de Silica

1.3.1 *Introducción, Características e importancia para el estudio en pinzas ópticas*

Para nuestra experimentación es muy importante contar con un elemento capaz de interactuar con el láser. Este elemento es el gel de Silica, pero no es uno tradicional que nosotros podemos encontrar en el mercado como un poderoso agente contra la humedad sino es un gel muy especial dispuesto para este tipo de experimentos. A continuación, vamos a detallar algunas de sus características y porque es ideal para utilizarlo en la pinza óptica.

El gel de Silica que viene incluido en el kit de experimentación fue elaborado por Bangs Laboratories y una de las principales diferencias con el gel de Silica tradicional es que este gel de Silica creado para el experimento es uniforme, es decir, no es poroso. Su composición química es óxido de silicio (SiO_2) y se encuentran disponible en distintos tamaños, acoplándose a la necesidad del investigador, las esferas de silica van desde 150 nm hasta 8 μm de diámetro.

Estas microesferas también son conocidas como soportes inorgánicos que sirven para un sin número de aplicaciones como la separación celular y el aislamiento de los ácidos nucleicos. Todos estos procesos se dan por las características únicas que posee este sustrato de silica para los estudios referidos. A continuación, vamos a citar algunas de las propiedades más interesantes de la silica.

Presenta una Silanización química flexible que permite que el recubrimiento de un material, en este caso de la silica, sea adecuado para trabajar en un medio acuoso y ayuda para que las esferas no se queden adheridas a las paredes de los cubreobjetos de vidrio o entre ellas.

Las microesferas de silica poseen un índice de refracción y densidad únicos

Baja autofluorescencia

Baja unión inespecífica de muchas biomoléculas

Hidrofilicidad

Facilidad de manejo y para preparación de la muestra

Por último, como datos importantes de nuestra muestra de silica tenemos:

Composición: SiO_2 , no poroso.

Índice de refracción: 1,43-1,46 (589 nm).

Densidad: 2,0 g / cm^3 .

1.4 Microorganismos en Agua estancada

1.4.1 Introducción, Características e importancia para el estudio en pinza ópticas.

1.4.1.1 Microorganismo de Agua estancada

El agua es un elemento esencial para la supervivencia del ser humano, pero también es un medio adecuado para la proliferación de muchas otras formas de vida que no podemos ver a simple vista, es aquí donde entra un campo muy importante de las ciencias biológicas, la microbiología. Esta rama estudia todos los seres vivos de tamaños microscópicos y también virus que pueden tener una existencia aislada o pueden encontrarse en asociación.

En una descripción más general se conoce que estos organismos a diferencia de los de tamaño macro son capaces de realizar procesos siendo independientes de otras células ya sean del mismo tipo o diferentes. Estos procesos pueden ser generación de energía, reproducción y crecimiento entre los más comunes.

Otro factor interesante para tener en cuenta es que las microbacterias se dividen en dos grandes grupos, las procariotas y las eucariotas. Estos dos grupos representativos son importantes porque sería una primera clasificación de estos organismos, los procariotas son en su mayoría bacterias que poseen una estructura sencilla mientras tanto las eucariotas son más complejas estructuralmente debido a que sus organelos o componentes intracelulares se encuentran delimitados por membranas. Estas eucariotas con la unidad estructural de hongos, protozoarios y algas cuyo tamaño también puede incluirse en el estudio de microorganismos.

Una vez que hemos repasado rápidamente la clasificación de los microorganismos en agua vamos a ver qué tipo de seres vivos se encuentran presentes en fuentes de agua. Podemos identificar 3 grupos principalmente: virus, bacterias y protozoos parásitos.

1.4.1.2 Virus

Virus son organismos que pueden causar infecciones y que solo se reproducen en células huésped. Los virus fuera de células huésped están en forma inactiva. Los virus se caracterizan por presentar una capa protectora. Su forma puede ser espiral, esférica o como células pequeñas, de tamaño entre 0.02 y 0.009 μm . Al tener un tamaño menor que las bacterias, pueden pasar filtros que permiten la retención de bacterias. (LENNTECH, 2021, p.1)

Al contrario que las bacterias y protozoos parásitos, los virus contienen un solo tipo de ácido nucleico (ARN o ADN). No se pueden reproducir por sí solas, sino que necesitan el metabolismo de la célula huésped para asegurar que el ADN se copia en la célula huésped, para su reproducción. Al contrario que las bacterias, los virus no están presentes en el ser humano de manera natural. Cuando las personas quedan afectadas por un virus, estos generalmente se eliminan del cuerpo humano mediante secreciones. (LENNTECH, 2021, p.1)

1.4.1.3 Parásitos protozoos

Parásitos protozoos son organismos unicelulares. Estos se caracterizan por presentar un metabolismo complejo. Se alimentan a base de nutrientes sólidos, algas y bacterias presentes en organismos multicelulares, como los humanos y animales. Se encuentran frecuentemente en forma de quistes o huevos. Por ejemplo, los huevos de *Cryptosporidium* y quistes de *Giardia* son comunes en aguas afectadas por contaminación fecal. En forma de quistes los patógenos son resistentes a la desinfección por cloro. Los parásitos protozoos se eliminan mediante la filtración y aplicación de dióxido de cloro. (LENNTECH, 2021, p.1)

1.4.1.4 Bacterias

Bacterias son organismos de una sola célula. Su forma puede ser esférica, espiral, etc. Pueden existir como organismos individuales, formando cadenas, grupos o pares. Las bacterias son las formas de vida más abundantes en la tierra. Tienen una longitud entre 0,4 y 14 μm y sobre 0,2 a 12 μm de ancho. Consecuentemente solo se pueden ver mediante microscopio. Las bacterias se reproducen mediante la replicación del ADN, y división en dos células independientes. En circunstancias normales este proceso dura entre 15 y 30 minutos. (LENNTECH, 2021, p.1)

Algunas bacterias pueden formar esporas. Estas esporas se caracterizan por presentar una capa protectora resistente al calor y que protege la bacteria de la falta de humedad y comida. Las bacterias tienen un papel funcional ecológico específico. Por ejemplo, algunas se encargan de la degradación de la materia orgánica, otras bacterias forman parte del metabolismo del hombre. (LENNTECH, 2021, p.1)

Para poder identificar en el microscopio y para interés de nuestra investigación por último abordaremos las formas más comunes de las bacterias.

Los principales tipos de formas que presentan las bacterias son: esférica, bastón alargado o espiral. Las bacterias de forma esférica se denominan cocos (redondeados, ovoides o elípticos); las de forma de bastón alargado se denominan bacilos (cilíndricos, fusiformes, etc.) como se aprecia en la Figura 14-1, y las de forma de bastón curvado se denominan espirilos. Aquellas bacterias cuya imagen proyectada sobre el plano tienen forma de coma, se llaman vibrios. Otras formas que pueden presentar las bacterias son filamentosas (ramificada o no), anillos y también estructuras con prolongaciones. (Apella y Araujo, 2010, p.35)

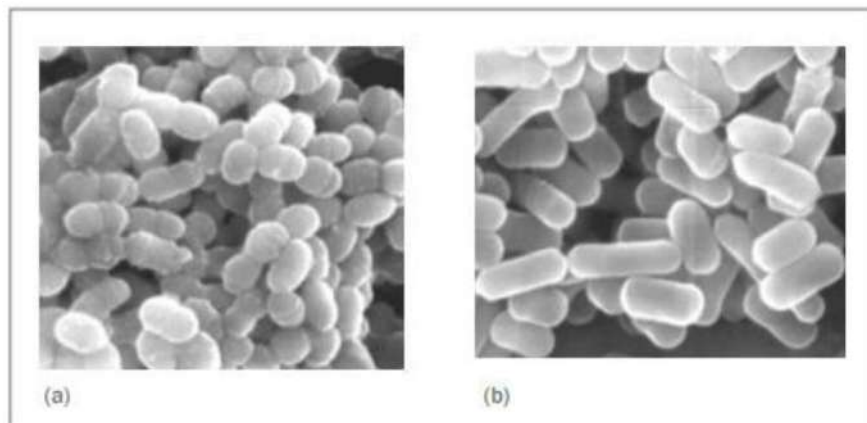


Figura 14-1. Microfotografías de cocos (a) y bacilos (b).

Fuente: (Apella y Araujo, 2010, p.35)

CAPÍTULO II

2 MARCO METODOLÓGICO

En el presente proyecto integrador se realizó el montaje y armado de la pinza óptica, clasificación de los elementos y diversos componentes de la pinza óptica, la calibración, y el análisis estadístico muestral, los cuales se detallarán a continuación.

2.1 Montaje por partes de la Pinza Óptica

Para el montaje de la pinza óptica se distinguen dos partes principales que son la parte B de colimación y expansión y la parte A de enfoque y observación, en nuestro caso únicamente usamos la parte A de enfoque y observación debido a la potencia del haz que no era lo suficientemente fuerte para poder capturar micropartículas y microbacterias, por lo que se omitió la parte B, cabe recalcar que ambas partes se encuentran disponibles para usarlas, pero en las condiciones correctas. Tanto la parte A y B fueron proporcionados por Thorlabs Inc, todo este sistema se encuentra en la *breadboard* que vino por default en la Pinza Óptica.

En la parte A nosotros usamos un láser de $\lambda=640 \text{ nm}$, que por pertenecer al rango del UV-visible presenta una absorción mínima al interactuar con muestras biológicas principalmente, evitando dañar la muestra o interrumpir sus procesos naturales. Con el juego de lentes ópticas focalizadoras, debemos colimar el haz láser controlando su divergencia y convergencia, logrando que no se desenfoque, se distorsione o se ensanche más de lo normal en ningún punto de la trayectoria hacia la muestra y después al detector de la cámara.

Posterior a ello se usó un sistema de microscopía de enfoque invertido, que consta de un objetivo de microscopio de alta apertura numérica (100x y 40x), adicionando a este, un sistema de visualización que consta de una cámara CCD. Se implementó también un soporte de desplazamiento con una base de montaje para las traslaciones en los ejes X, Y, Z, en el punto de la imagen del objetivo para posicionar correctamente la muestra. El movimiento del soporte de desplazamiento se lo hace de forma manual con las tres perillas.

Una vez que el haz láser esta colimado, y focalizado, se dirige hacia el objetivo. Este interacciona en la muestra colocada en el porta y cubreobjetos. La intensidad del haz es regulada de acuerdo con su distancia (posición del láser). La intensidad se midió en la entrada del sistema y a la salida del objetivo, a la muestra, con un Medidor de potencia lumínica Modelo PM121D Digital Power&Energy Meter, Sensor de Silicio, 400-1100 nm, 500 nW - 500 mW.



2.2 Elementos, compuestos y piezas de la Pinza Óptica

Los elementos que se usarán para el armado experimental de la pinza óptica se presentan a continuación. Las partes estructurales y ópticas se obtuvieron de Thorlabs Inc. Algunas partes estructurales fueron adaptadas debido a que no vino todo en el pedido como por ejemplo la fuente de luz laser con potencia regulable. Como ya se mencionó antes la parte B de colimación y expansión no se usó debido a la baja potencia del láser, esta parte generabas gran pérdida de la potencia por lo que no era posible visualizar en la muestra, pero como son materiales de suma importancia se los considera de igual manera, para posteriores proyectos.

2.2.1 Linterna y Fuente láser para captura

La linterna y el láser son dos elementos muy importantes, el primero nos permite visualizar la muestra de micropartículas y microorganismos, y el segundo es vital para la interacción con el sistema. A continuación, los describimos en detalle:

Tabla 1-2: Linterna y Fuente láser para captura.

Cantidad	Modelo	Descripción	Gráfico
1	MRL-III-640-100mW 17011033	Peakpower < 500mW, Wavelength 640 nm (color rojo)	
1		Linterna (Energizer)	

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

2.2.2 Colimación del láser

La parte de la colimación es muy importante debido a que podemos regular la potencia necesaria para la interacción de la muestra con el láser, es importante tener en cuenta que debemos evitar pérdidas de potencia en el camino óptico. Se detalla a continuación los materiales usados:

Tabla 2-2: Colimación del láser.

1	KC1-T (KC1-T/M)	Tip/Tilt Cage Mount Kinematic, SM1-Threaded, 30 mm-Cage-Compatible Mount for Ø1" Optic PO-01	
1	A230TM-B	Mounted Aspheric Lens, $f = 4.51$ mm $f = 4.51$ mm, $NA = 0.55$, Mounted Rochester Aspheric Lens, AR: 650-1050 nm PO-02	
1	E09RMS	Aspheric Lens to RMS Adapter Extended RMS to M9 x 0.5 Adapter PO-03	
1	SM1A3	RMS to SM1 Adapter Adapter with External SM1 Threads and Internal RMS Threads PO-04	

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021


2.2.3 Expansión del láser

El láser es una herramienta importante, y debido a la interacción con los distintos elementos tiende a perder enfoque y potencia, es por ello necesario una zona de expansión que permite que el láser cubra completamente la entrada del objetivo hacia la muestra. Los elementos usados en la parte de la expansión se describen en seguida:

Tabla 3-2: Expansión del láser.

4	ER8	<p>Ø6 mm Cage Rod, 8" Long</p> <p>Cage Assembly Rod, 8" Long, Ø6 mm</p> <p>PO-05</p>	
2	CP02	<p>SM1-Threaded 30 mm Cage Plate, 0.35" Thick, 2 Retaining Rings</p> <p>PO-06</p>	
1	LA1074-A	<p>Ø1/2" Plano- Convex Lens, f = 20 mm</p> <p>N-BK7 Plano- Convex Lens, Ø1/2", f = 20.0 mm, AR Coating: 350-700 nm</p> <p>PO-07</p>	

1	LA1509-A	<p>Ø1" Plano-Convex Lens, f = 100 mm</p> <p>N-BK7 Plano-Convex Lens, Ø1", f = 100.0 mm, AR Coating: 350-700 nm</p> <p>PO-08</p>	
1	SM1A6	<p>SM05 to SM1 Adapter</p> <p>PO-09</p>	
1	SM05L03	<p>SM05 Lens Tube, 0.3" Long</p> <p>SM05 Lens Tube, 0.30" Thread Depth, One Retaining Ring Included</p> <p>PO-10</p>	
1	TR3 (TR75/M)	<p>Ø1/2" (Ø12.7 mm) Post, 3" (75 mm) Long</p> <p>PO-11</p>	
1	PH3 (PH75/M)	<p>Ø1/2" (Ø12.7 mm) Post Holder, 3" (75 mm) Long</p> <p>PO-12</p>	



1	BA1 (BA1/M)	Mounting Base, 1" x 3" x 3/8" (25 mm x 58 mm x 10 mm) PO-13	
---	-------------	--	--

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

2.2.4 Espejos de ángulo recto

Los espejos de ángulo recto nos permiten la reflexión y redirección del haz en 90° hacia el cubo divisorio. Posteriormente se detallan cada uno de los elementos usados:

Tabla 4-2: Espejos de ángulo recto.

2		Right Angle Kinematic Mirror Mount Right-Angle Kinematic Mirror Mount with Tapped Cage Rod Holes, 30 mm Cage System and SM1 Compatible, 8-32 and 1/4"-20 Mounting Holes PO-14	
2	PF10-03-P01	Ø1" Protected Silver Mirror Ø1" Protected Silver Mirror, 6.0 mm Thick PO-15	

2	SM1L10 ^c	Ø1" Lens Tube, 1" Long SM1 Lens Tube, 1.00" Thread Depth, One Retaining Ring Included PO-16	
2	SM1T2 ^d	SM1 Lens Tube Coupler SM1 (1.035"-40) Coupler, External Threads, 0.5" Long PO-17	

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021






2.2.5 Microscopio y Sistema de posicionamiento de la muestra

Para el posicionamiento de la muestra debe implementarse un sistema de microscopio de enfoque invertido muy bien estructurado, podemos ver sus elementos detallados a continuación:

Tabla 5-2: Microscopio y Sistema de posicionamiento de la muestra.

1	MAX3SLH	Fixed Microscope Slide Holder PO-18	
1	PTE/25mm XYZ	PO-19	

1	DCC1645C	<p>Color CMOS Camera</p> <p>USB 2.0 CMOS Camera, 1280 x 1024, Color Sensor</p> <p>PO-20</p>	
2	SM1T2 ^d	<p>SM1 Lens Tube Coupler</p> <p>SM1 (1.035"-40) Coupler, External Threads, 0.5" Long</p> <p>PO-21</p>	
3	C1498 (C1498/M)	<p>Ø1.5" Post Clamp</p> <p>PO-22</p>	
1	SM1L20	<p>SM1 Lens Tube, 2" Long</p> <p>SM1 Lens Tube, 2.00" Thread Depth, One Retaining Ring Included</p> <p>PO-23</p>	
4	CP02 (CP02/M) ^a	<p>SM1-Threaded Cage Plate</p> <p>SM1-Threaded 30 mm Cage Plate, 0.35" Thick, 2 Retaining Rings, M4 Tap</p> <p>PO-24</p>	

1	CP02T (CP02T/M)	<p>Thick SM1-Threaded Cage Plate</p> <p>SM1-Threaded 30 mm Cage Plate, 0.50" Thick, 2 Retaining Rings, M4 Tap</p> <p>PO-25</p>	
2	FGB37	<p>Ø1" BG40 Colored Glass Bandpass Filter</p> <p>Ø25 mm BG40 Colored Glass Bandpass Filter, 335 - 610 nm</p> <p>PO-26</p>	
1	FES0650	<p>Ø1" Shortpass Filter, 650 nm Cut Off</p> <p>Ø1" Shortpass Filter, Cut-Off Wavelength: 650 nm</p> <p>PO-27</p>	
1	FES0500	<p>Shortpass Filter, 500 nm Cut Off</p> <p>PO-28</p>	
1	LB1676	<p>Ø1" Bi-Convex Lens, f = 100 mm</p> <p>N-BK7 Bi-Convex Lens, Ø1", f = 100.0 mm, Uncoate</p> <p>PO-29</p>	

1	SM1A9	<p>C-Mount to SM1 Adapter</p> <p>Adapter with External C-Mount Threads and Internal SM1 Threads</p> <p>PO-30</p>	
1	CCM1-BS013 (CCM1-BS013/M)	<p>Cube-Mounted 50:50 Beamsplitter Cube</p> <p>30 mm Cage Cube-Mounted Non-Polarizing Beamsplitter, 400 - 700 nm, M4 Tap</p> <p>PO-31</p>	
1	SM1CP2	<p>SM1 End Cap</p> <p>Externally SM1-Threaded End Cap</p> <p>PO-32</p>	
1	DP14A (DP14A/M)	<p>Ø1.5" Damped Mounting Post</p> <p>Ø1.5" Dynamically Damped Post, 14" Long, Metric</p> <p>PO-33</p>	
4	ER3	<p>Ø6 mm Cage Rod, 3" Long</p> <p>Cage Assembly Rod, 3" Long, Ø6 mm</p> <p>PO-34</p>	

4	ER2	<p>Ø6 mm Cage Rod, 2" Long</p> <p>Cage Assembly Rod, 2" Long, Ø6 mm</p> <p>PO-35</p>	
2	MCWHL5	<p>Cold White Mounted LED</p> <p>6500 K, 800 mW (Min) Mounted LED, 1000 mA</p> <p>PO-36</p>	
2	LEDD1B	<p>T-Cube LED Driver</p> <p>T-Cube LED Driver, 1200 mA Max Drive Current (Power Supply Not Included)</p> <p>PO-37</p>	
1	KPS101	Power Supply	 <p>Location-Specific Adanter Provided</p>
1		Microscope objective (100x, 40x)	


1	SM1L10 ^c	SM1 Lens Tube, 1" Long SM1 Lens Tube, 1.00" Thread Depth, One Retaining Ring Included PO-38	
1	SM1A17	M27 x 0.75 to SM1 Adapter Adapter with External SM1 Threads and Internal M27 x 0.75 Thread PO-39	






Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021


2.2.6 Componentes Adicionales

Hay elementos indispensables, sin los cuales no se podría montar el sistema de la pinza óptica, van desde lo estructural hasta lo funcional. Estos elementos son los siguientes:

Tabla 6-2: Componentes Adicionales

1	MB1224 (M B3060/M)	Aluminum Breadboard, 1' x 2' (30 cm x 60 cm) Aluminum Breadboard, 300 mm x 600 mm x 12.7 mm, M6 Taps PO-40	
---	--------------------	---	--

1	RDF1	<p>Set of 4 Rubber Damping Breadboard Feet</p> <p>PO-41</p> 	
4	ERSCA	<p>Ø6 mm Cage Rod Adapters</p> <p>Rod Adapter for Ø6 mm ER Rods</p> <p>PO-42</p>	
1	BBH1	<p>Set of 2 Breadboard Handles</p> <p>Breadboard Lifting Handles (set of 2)</p> <p>PO-43</p>	
1	CPA1	<p>Cage Alignment Plate</p> <p>30 mm Cage System Alignment Plate with Ø1 mm Hole</p> <p>PO-44</p>	
1	Vikingo	<p>Adapters 6 mm Balldriver</p>	

1	PM121D	1 Medidor de potencia: Digital Power&Energy Meter, Si Sensor, 400-1100 nm, 500 nW - 500 mW EF-16	
---	--------	---	--

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

2.2.7 *Kit de preparación de muestras (OTKBTK)*

El sistema de pinzas ópticas que posee el laboratorio de óptica de la ESPOCH incluye un pequeño kit (Figura 15-2) que nos permite preparar distintos tipos de muestra de acuerdo con el tipo de observación que vayamos hacer.

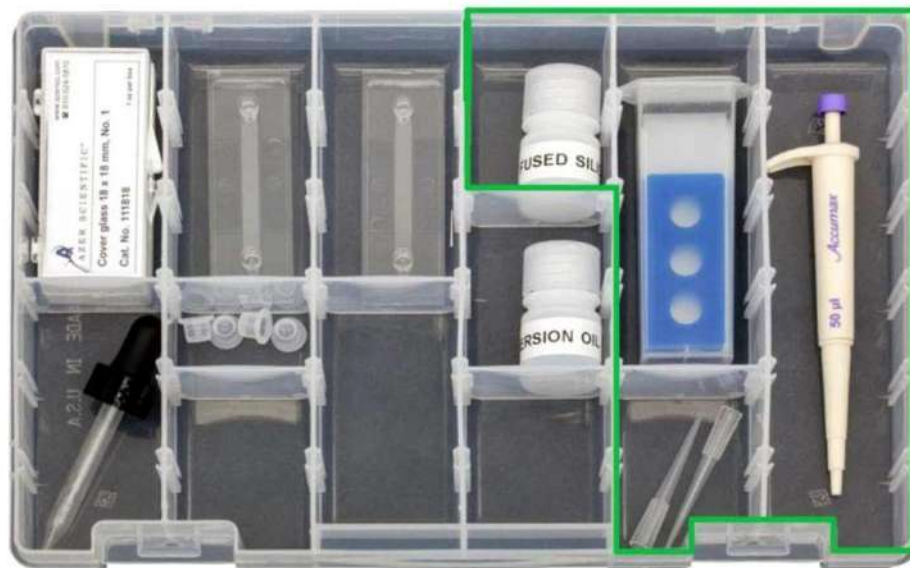


Figura 15-2. Contenido del kit de preparación OTKBTK con herramientas para la preparación de muestras de perlas de vidrio.

Fuente: (Thorlabs, Inc., 2019, p.63)

Este es un kit de preparación que cuenta con lo necesario para realizar una experimentación básica. En la Tabla 7-2 se describe su contenido y las características de cada uno de sus elementos:

Tabla 7-2: Contenido del Kit de Prueba

CONTENIDO DEL KIT DE PRUEBA	Aceite de Inmersión para Microscopía, Cargille Tipo LDF
	Bangs Laboratories, Inc. P/N SS04N – Perlas de Silica Fundida No Funcionalizado en Agua Desionizada, $\Phi 2.06 \mu\text{m}$, 2 g/ml – Temperatura recomendada de almacenaje: 2°C a 8°C
	Minipipeta con un volumen de 50 μL
	Dos portaobjetos de plástico desplazables con canal incorporado, 400 μm de altura, 100 μL de volumen, No.1.5 (0.18 mm de grosor) cubreobjetos.
	5 Portaobjetos de vidrio para microscopio con paredes de reacción, 20 μm de profundidad, 10 mm de diámetro; 100 piezas de 18 mm x 18 mm cubreobjetos, No.1.5 de grosor.
	Gotero para Aceite de Inmersión.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

2.3 Armado de la Pinza Óptica

Inicialmente, consideramos una ubicación precisa para colocar a la pinza óptica debido a que el sistema necesita estar estable (en ausencia de vibración) y de eso dependerá la calidad de los resultados que se obtengan. Para experimentos, como el estudio de micro y nanopartículas, se necesita que el sistema este en la mesa óptica estándar o un *breadboard*.

Las condiciones óptimas en las que la pinza óptica debe estar son un lugar hermético y cerrado que no entre luz blanca (solar), la mesa óptica o el *breadboard* deben estar aislados de la vibración y de la acústica, entre otras consideraciones las cuales todas están implementadas en el Laboratorio de Óptica de la ESPOCH.

La manipulación de las partes que conforman la pinza óptica debe hacerse con sumo cuidado debido a su fragilidad y delicadeza, y al gran costo de cada uno. Especialmente los de vidrio. Para la limpieza se necesita una franela antipolvo la cual no vino junto al resto de elementos de la Pinza Óptica, pero se usó uno que había de otro laboratorio perteneciente al equipo *PHYLON*.

El laboratorio debe estar en las mejores condiciones y ordenado ya que esto puede generar perdidas, inconsistencias y demás problemas al momento de su uso, y en el caso de la Pinza Óptica puede generar algún error al momento de la calibración, toma de datos, posicionamiento de la muestra, etc.

Una pinza óptica simple necesita un haz láser monocromático focalizado y enfocado con una potencia ≥ 1 mW, juntamente con un microscopio óptico de enfoque invertido, como se puede ver en la Figura 17-2.

En el laboratorio contamos con un sistema de pinzas ópticas basadas en secciones que pueden montarse y desmontarse de acuerdo con la necesidad, en la Figura 16-2 encontramos el esquema de la pinza óptica que usamos para el presente trabajo integrador.

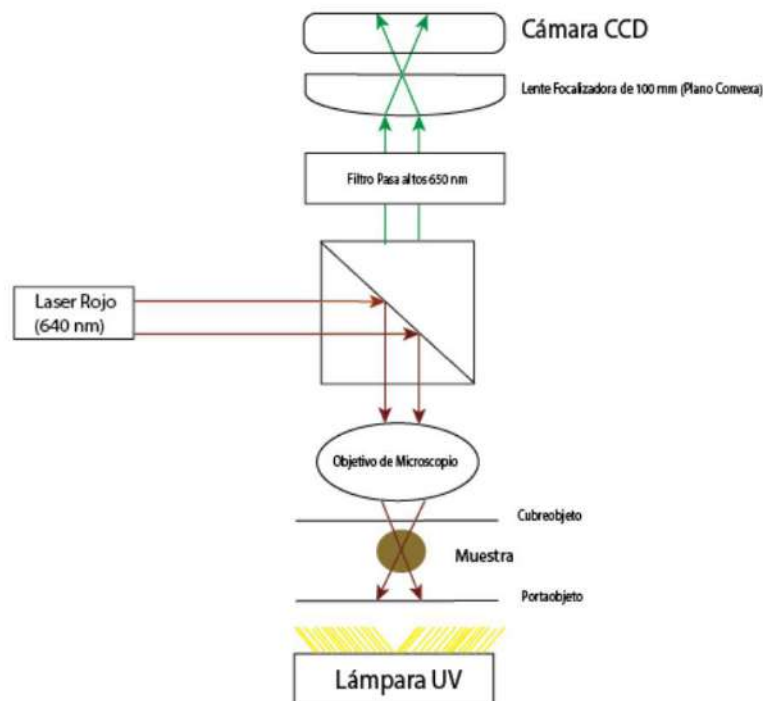


Figura 16-2. Esquema de la Pinza Óptica del Laboratorio de Óptica de la ESPOCH

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

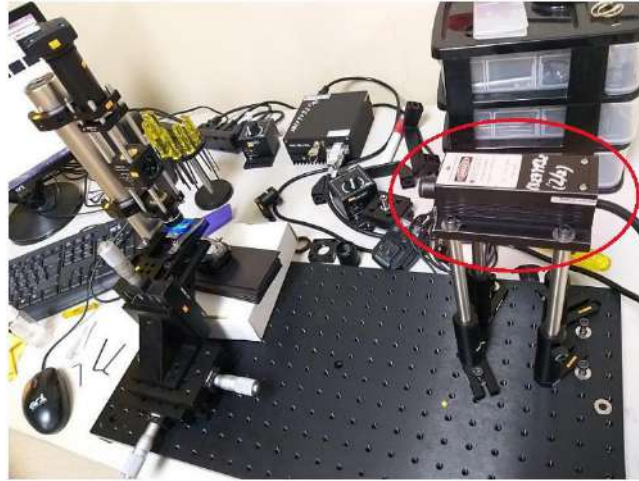


Figura 17-2. Pinza Óptica plano completo

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

En la parte del ensamblaje, la pinza óptica se configura en una *breadboard* MB1224 (MB3060/M), que permite estabilidad a los ruidos vibratorios cercanos. No es necesario disponer de amortiguación adicional, como el uso de una mesa óptica. La Figura 18-2 muestra la *breadboard*, y las posiciones de los componentes a montar están señaladas por las partes rojas, cada una con sus tornillos hexagonales. En el caso que se necesite disponer de todos los elementos o se requiera hacer uso de estos por secciones, se puede seguir la guía preestablecida para cada parte de la Pinza Óptica.

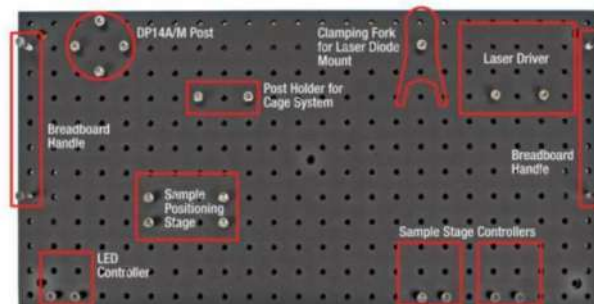


Figura 18-2. Posiciones de los componentes en la *Breadboard*

Fuente: (Thorlabs, Inc., 2019, p.25)

A continuación, se detalla el montaje de la parte A de la Pinza Óptica, con cada uno de sus elementos constitutivos:

2.3.1 *Parte A: enfoque y observación.*

Los elementos que se usarán para armar esta parte importante de la Pinza Óptica se encuentran en las tablas 1-2 a la 6-2.

Se usó el láser rojo de $\lambda=640 \text{ nm}$ y $P_{\text{out}} \sim 100 \text{ mW}$, puesto que el divisor de haz solo admite haces de luz en la región visible es decir entre 350-750 nm. Además, el láser rojo es buena opción debido a su alta potencia y a que en este rango del espectro electromagnético no daña las funciones celulares y por ende no mata a los microorganismos.

Se posicionó el láser a una distancia aproximada de 20 cm desde la entrada del cubo divisorio debido a falta de espacio disponible en la *breadboard* (Figura 18-2), cabe recalcar que mientras más alejado este el láser mejor será su enfoque y colimación.

Por lo general, al usar varios de los elementos ópticos que conforma la pinza, especialmente en la parte de la expansión del láser, se verificó una gran cantidad de pérdida de potencia, y el objetivo es conservar la mayor cantidad de potencia para capturar las micropartículas. Por lo que en nuestro caso se usó únicamente la parte A, para no generar ninguna complicación. Después se implementó el sistema de enfoque y observación de la pinza óptica de forma invertida como se observa en la Figura 19-2.

Se usó un objetivo de microscopio de alta apertura numérica (100x) para obtener un punto focal más estrecho que permita atrapar partículas en dos dimensiones. La tercera dimensión se limita entre el portaobjetos y el cubreobjetos.

Fue necesario implementar un filtro pasa altos de $\lambda > 650 \text{ nm}$ para eliminar por completo el haz del láser de 640 nm en la imagen que se registra en video. El filtro nos ayuda debido a que el haz del láser en la imagen es perjudicial para el software de análisis y además satura al detector de la cámara con su gran intensidad, por lo que no registrará la trayectoria de la partícula.

Se colocó un lente plano convexo de $f = 100 \text{ mm}$ delante de la cámara CCD y a 5 cm por encima del filtro pasa altos, para hacer coincidir el plano focal del sistema de observación con el plano focal del láser, dándonos como resultado una observación puntual del punto focal del láser y de las micropartículas confinadas en el portaobjetos.

Para la iluminación de la muestra se decidió usar una linterna ENERGIZER que emite luz blanca.

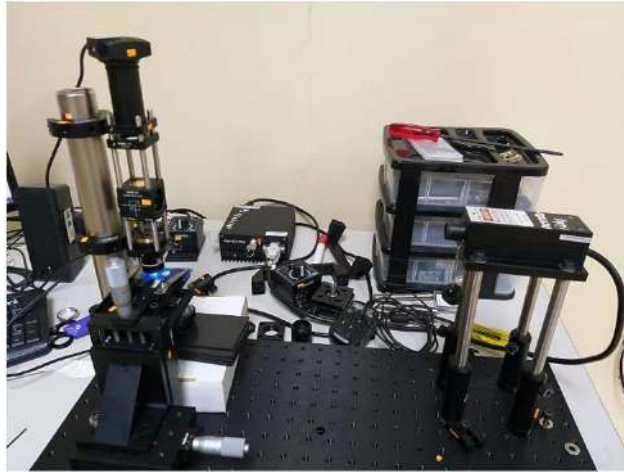


Figura 19-2. Parte A: Enfoque y Observación de la Pinza Óptica.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

2.4 Método de Calibración

Después del montaje y armado de la Pinza Óptica, se procede a calibrar o alinear el láser para que enfoque perfectamente. En este procedimiento se tomó en cuenta los siguientes aspectos:

El láser se ajustó de manera manual (Figura 20-2), tanto su altura como su inclinación logrando que el haz permanezca en el centro de la placa o cubierta de alineación del sistema que se encuentra en el cubo divisorio (Figura 22-2).

A continuación, se retira la cubierta y se verifica que el rayo impacte por el centro de la abertura en el cubo divisor del haz, manteniendo la alineación en la sección de enfoque del sistema de pinza óptica.

Una vez hecho esto se coloca la cubierta en la parte trasera del cubo divisorio.

Por último, se mide la potencia del haz láser en el plano focal del objetivo de microscopio y en la salida del láser para verificar que sea ≥ 1 mW ya que siempre se producen pérdidas de potencia en el camino óptico (Figura 21-2).

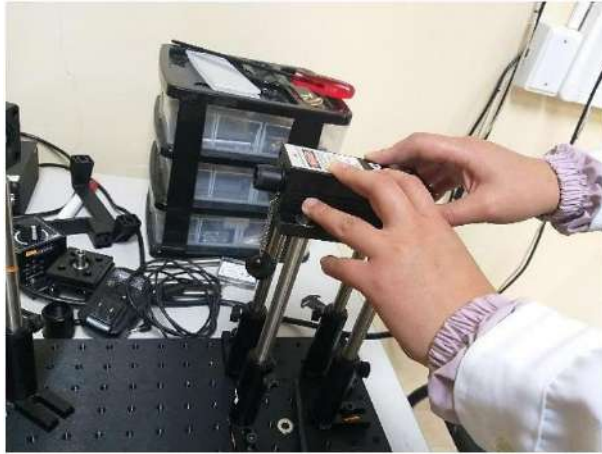


Figura 20-2. Calibración del láser.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021



Figura 21-2. Monitoreo de la potencia de salida del láser.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021



Figura 22-2. Cubierta en forma de rosca SM1CP2 externa.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

2.5 Preparación y Enfoque de la Muestra

A continuación, vamos a describir cómo se realiza la preparación de la muestra y el uso adecuado del kit de experimentación que viene incluido en la pinza óptica de Thorlabs, además como se realizó la preparación de la muestra para la observación de microorganismos y micropartículas.

Primero identificamos los elementos del kit de experimentación los cuales están descritos en la Figura 15-2. Los elementos que se van a usar son el porta y cubreobjetos de vidrio, la pipeta de 50 μ l, el gotero, el aceite de inmersión y la solución de silica diluida.

Después, tomamos la solución de microesferas de silica, la agitamos bien y colocamos una pequeña gota en el portaobjetos con la ayuda de la pipeta, aproximadamente 25 μ l.

A continuación, colocamos un cubreobjetos sobre la muestra en un ángulo de 45° y con cuidado vamos bajándolo para que no se generen burbujas de aire en la muestra. Retiramos el exceso de la solución con un pañuelo. Encima del cubreobjetos colocamos una gota de aceite de inmersión con ayuda del gotero (Figura 23-2).

Por último, tomamos el portaobjetos por los bordes y lo colocamos en la platina sobre el slideholder de la pinza óptica y la aseguramos con las pinzas de agarre.

Este mismo proceso se repite con las muestras de microorganismos biológicos. Cabe recalcar que nosotros no usamos bacterias patógenas para su visualización o captura debido a la toxicidad o riesgo que puede generar, en caso de usar estas últimas, el proceso que se sigue es muy diferente.

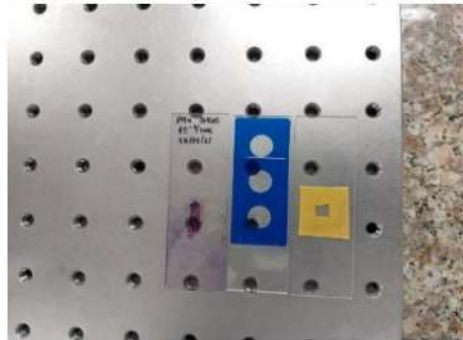


Figura 23-2. Muestra de Silica y microbacterias.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

Continuamos con el enfoque de la muestra:

Utilizando los tornillos micrométricos (X, Y, Z) del slideholder colocamos la muestra debajo del objetivo, lo más pegado posible (Figura 24-2).

Vamos moviendo el tornillo Z para que la platina junto con la muestra se eleve hasta topar con el lente del objetivo, teniendo cuidado de no presionar mucho para evitar romper el cubreobjetos, lo cual dañaría la muestra y el objetivo.

Lentamente vamos moviendo el tornillo Z hasta obtener un mejor enfoque de la muestra.

Con los tornillos X y Y podemos desplazar la muestra en todo el plano ($\uparrow \downarrow \rightarrow \leftarrow$), para visualizar toda la muestra y verificar donde existe mayor movilidad de las micropartículas o microorganismos.

Todo esto debe manipularse con extremo cuidado debido a que este sistema es altamente sensible y se puede descalibrar, especialmente el láser. Un problema que se generó en el cubo divisor fue que el láser se reflejaba en la parte de la división del haz, dirigiéndose una parte hacia la cámara, lo que generaba una interferencia que no tenía nada que ver con el punto láser de la trampa óptica.




Figura 24-2. Enfoque y movimiento de la muestra (X, Y, Z)


Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021


2.6 Uso de la cámara CCD


Para la visualización de la muestra se sigue los siguientes pasos:

Una vez que el láser está alineado o calibrado perfectamente, se procede a abrir el programa del Thorlabs, para visualizar las imágenes tomadas en vivo por la cámara CCD.

Una vez abierto el programa hacemos clic en este ícono  y seleccionamos la cámara habilitada, si no aparece damos clic en actualizar hasta que el sistema la reconozca.

Para visualizar en vivo la muestra hacemos clic en el ícono  y se despliega la pantalla en vivo de la muestra.

Después se despliega la pantalla en vivo, es probable que se vea negro, para solucionar esto vamos al menú (Display Settings) , donde nos colocaremos AutoScale para calibrar la imagen primero únicamente con la cámara, después repetimos el proceso con la luz blanca de la linterna y por último con el láser para tener una mejor visualización (Figura 26-2).

Para mejorar la visualización de la muestra primero hacemos clic en el ícono  y se nos desplegará una ventana donde podremos cambiar algunas opciones de la cámara e imagen. Esto depende del observador y de la habilidad para enfocar, pero de las cosas que se debe

tener en cuenta es que en la imagen el *Gain* debe ser muy alto y para visualizar el *Gain* del color rojo se debe incrementar en mayor medida que el resto.

Otro factor por considerar es que en la opción de cámara el *pixel clock* debe estar a 2/3 de la barra total, los *FPS* deben estar un poco más allá de la mitad de la barra de selección y la exposición lo más cercana al punto máximo. Todo esto dependiendo del estado de la imagen. Los valores pueden alterarse dependiendo de las condiciones y entre cada observación (Figura 25-2).

Después de haber colocado correctamente los datos tanto de la cámara como de la imagen, obtenemos el enfoque correcto de la muestra (Figura 27-2).

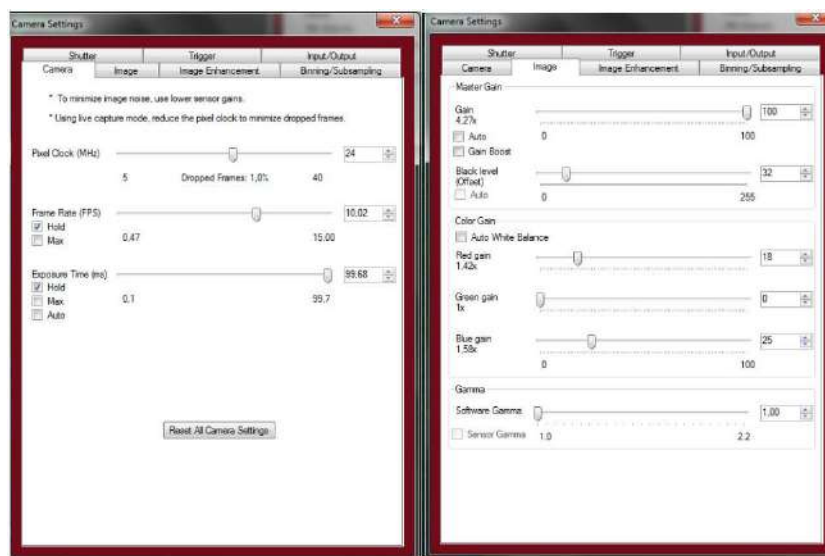


Figura 25-2. Ajustes en el software ThorCam CCD de cámara e imagen.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

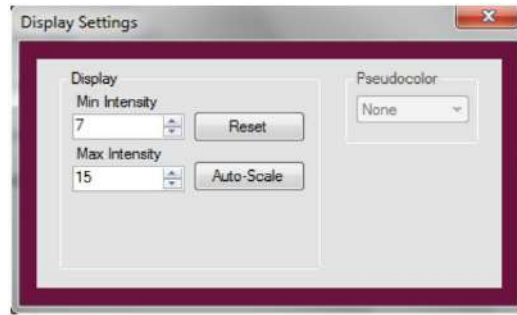


Figura 26-2. Autoscale, calibración de la imagen en presencia de distintos medios (normal, con luz UV y en presencia del láser rojo).

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

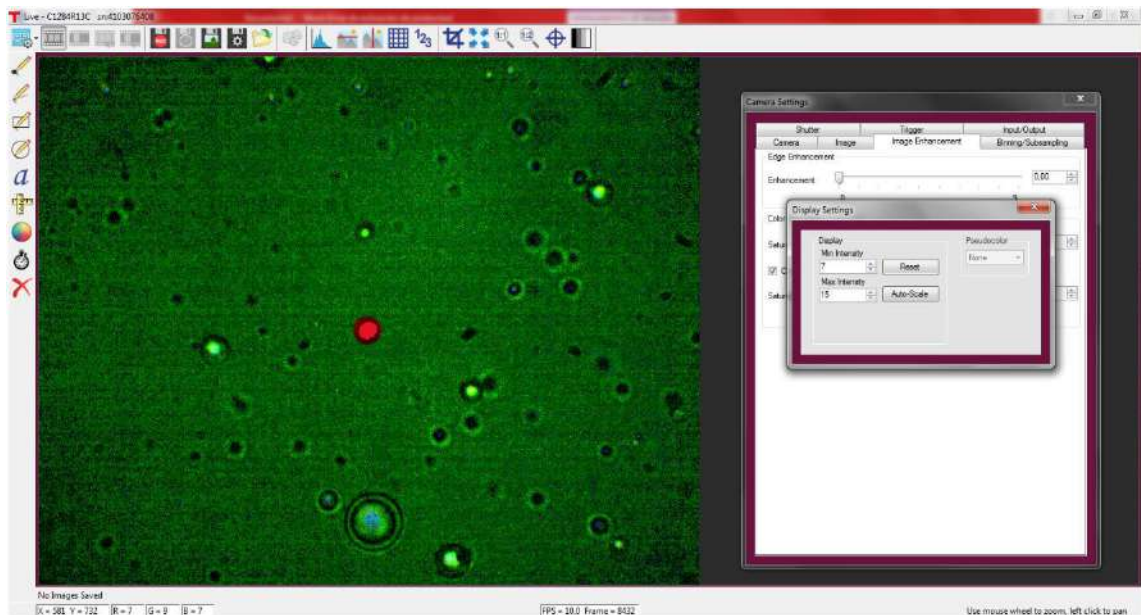


Figura 27-2. Vista general del software de la cámara CCD, con el enfoque correcto de la muestra.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

CAPÍTULO III

3 MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

3.1 Resultados generales de la implementación del sistema de Pinzas Ópticas.

En nuestro proyecto integrador presentamos como primer resultado una visión general de lo que es la técnica de manipulación y captura óptica de micropartículas y microorganismos. También se pudo diseñar y explicar cuál es la metodología adecuada para poder utilizar la pinza, junto con una descripción detallada de cada uno de sus elementos constitutivos y las funciones que realizan.

A continuación, vamos a analizar cada uno de los aspectos importantes, relativos a la técnica de uso de la pinza óptica y como las incorporamos a nuestro equipo en el laboratorio de óptica de la ESPOCH contrastando con la literatura previamente revisada.

3.1.1 *Enfoque y obtención de resultados de la muestra de Silica*

Como se pudo describir en el Capítulo II para obtener resultados es importante un buen ensamblaje de la zona de enfoque y observación. Cada elemento es indispensable debido a que controla una variable en la obtención de imágenes.

Como primera fase para ver la silica decidimos no utilizar el láser y enfocarnos solamente en obtener una buena imagen de la silica. Al inicio no teníamos todos los componentes descritos en la parte del montaje de la pinza óptica (Capítulo II), trabajamos solamente con la luz del laboratorio y sin tener la configuración adecuada en el software de la cámara CCD, este era el estado en el que se encontraba la pinza óptica y partimos de ahí para poder documentar nuestros avances.

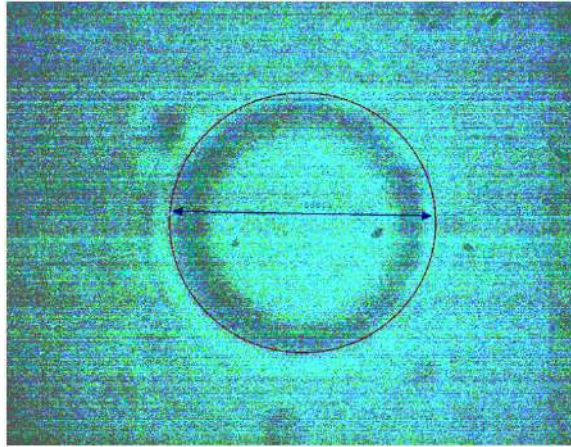


Figura 28-3. Primer enfoque en la Pinza Óptica.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

Como podemos observar en la Figura 27-3 esta fue nuestra primera imagen obtenido por la pinza óptica, esta imagen se caracteriza por estar distorsionada, con poco nivel de color, y con un enfoque poco eficaz debido a que podemos ver ciertas estructuras de nuestra muestra, pero de una manera muy distorsionada. Esto se debió a que no contábamos con la fuente de iluminación para la muestra y la falta de conocimiento del software de captura de nuestra cámara CCD.

Una vez corregidos estos errores realizamos nuevas pruebas de enfoque de imagen y de esta manera logramos obtener las primeras imágenes de micropartículas de silica (Figura 28-3).



Figura 29-3. Primera observación de las micropartículas de Silica.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

En este punto podíamos apreciar de una manera clara las estructuras esféricas de las micropartículas de sílica, además de una congruencia entre lo observado y lo que se describía en la teoría, es decir, viéndose la sílica como estructuras circulares pequeñas en la imagen debido a su tamaño microscópico y gracias a la utilización de una lente de alto aumento (100x).

A pesar de que las imágenes mejoraron aún faltaba una mejor resolución de imagen donde no solo se muestren partículas aisladas sino ver toda la muestra en su conjunto. Además, notamos que, en la observación, de una muestra a otra, y en distintas condiciones del laboratorio las configuraciones de la cámara CCD variaban, específicamente lo que tiene que ver con la exposición de imagen y el contraste, por ello cada imagen en vivo necesita cambiar su configuración en el software.

Una vez que pudimos manejar correctamente las configuraciones de la cámara, la única manera para mejorar el enfoque de la imagen era hacer que la parte del soporte de la muestra permaneciera completamente fijo a la breadboard con eso reduciríamos movimientos innecesarios, ayudando a que la muestra se fije correctamente a la inmersión del lente. Con este cambio nosotros obtuvimos una imagen clara y enfocada de un sistema de micropartículas de sílica y siguiendo todos los pasos descritos anteriormente poder estandarizar la manera de enfocar correctamente una muestra, con esto pudimos avanzar en nuestro trabajo manipulando diferentes muestras de sílica y/o posteriormente manipulando muestras de microbacterias, como describiremos más adelante.

A continuación, en la Figura 29-3 veremos un sistema de micropartículas que nos da como resultado un enfoque correcto de nuestra Pinza Óptica.

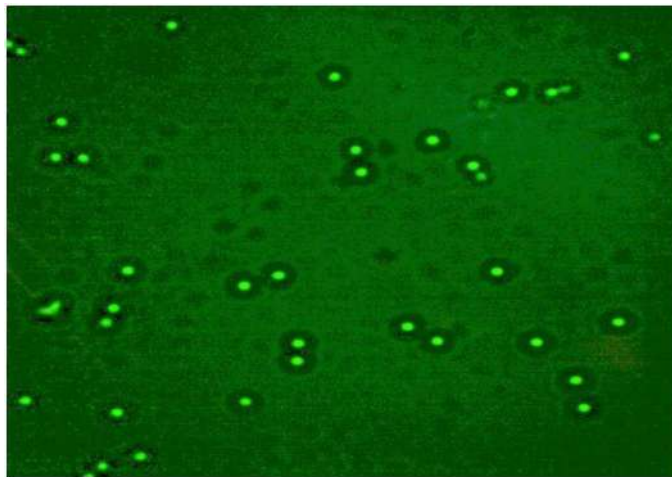


Figura 30-3. Enfoque adecuado de un sistema de micropartículas de sílica.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

3.1.2 *Interacción del láser con el sistema de micropartículas de Silica.*

Una vez implementado todo el sistema de la Pinza Óptica, después de haber trabajado en la zona de enfoque y observación nos dedicamos a trabajar con la parte del láser. Al inicio se usó la zona de expansión y colimación del láser, pero a pesar de que el láser llena la apertura del objetivo del microscopio, la potencia no era la suficiente razón por la cual no atravesaba hacia la muestra.

Con la ayuda del potenciómetro se midió la potencia de salida de 3 diferentes tipos de láser. En este proceso se descartó el láser de color verde 535 nm debido a que no poseíamos los filtros necesarios para disminuir su intensidad y evitar que sature la cámara, esto también nos sucedió con el láser gaseoso de HeNe de 633 nm por lo cual lo descartamos.

La única opción que nos quedaba en el laboratorio era el láser de color rojo de 640 nm el cual cumplía con tener un perfil gaussiano y además este color nos garantizaría no dañar las estructuras celulares de los microorganismos bacterianos que íbamos a utilizar en nuestro estudio.

Al medir la potencia previamente nos dimos cuenta de que la potencia que llegaba directamente a la muestra era baja lo cual generaría que la captura de las micropartículas fuera muy inestable e inclusive no se llegara a realizar.

Al haber poca disponibilidad de otros equipos ópticos y debido a la situación de la pandemia, en la cual se está desarrollando este proyecto nos fue difícil adquirir un nuevo láser o realizar un convenio con otra institución para utilizar sus equipos, por lo que se decidió seguir trabajando con la mejor opción del láser que teníamos en el laboratorio.

Una de las formas de solventar este problema de la potencia del láser era retirar la zona de expansión y colimación, haciendo que el láser impacte directamente con el cubo divisor, con el objetivo de evitar perder la mayor cantidad de potencia en el camino óptico hacia la muestra. Con ello logramos hacer que el láser atravesara la muestra, y que la cámara lo detecte. En la Figura 30-3 podemos ver cómo fue la primera interacción del láser con la muestra de silica.

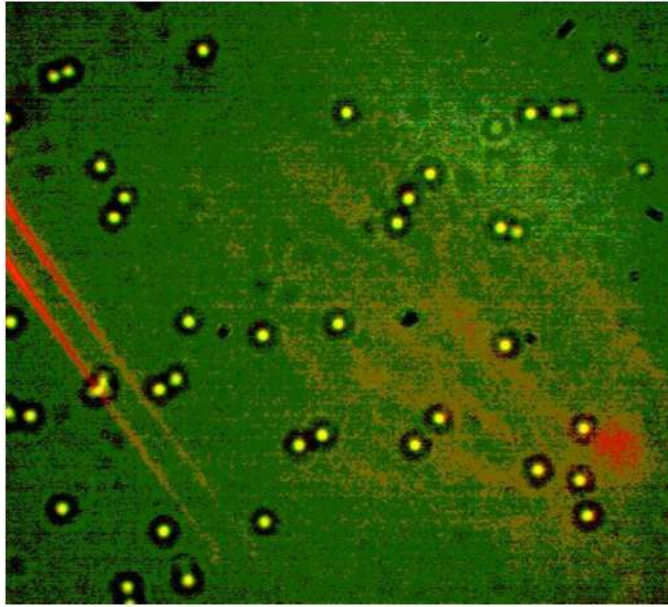


Figura 31-3. Primera interacción del láser con el sistema de micropartículas de silica.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

Como podemos ver en la Figura 30-3 el láser se dispersa al llegar al sistema de micropartículas, esto lo notamos con el brillo en la superficie de las esferas de silica debido a que este se reflejaba en ellas, sin embargo, fue un gran avance poder detectar la presencia del láser en la muestra con el detector de la cámara CCD. Cabe recalcar nuevamente que ahora con la presencia del láser cambiaron las configuraciones de imagen en el software de la cámara comprobando una vez más que cada variable en el sistema de Pinza Óptica repercute en la obtención de la imagen.

Una vez que el láser se encontraba en la muestra era necesario focalizarlo correctamente para que mejore su calidad y pueda realizar el proceso de captura de una micropartícula del sistema.

Para poder obtener un enfoque óptico correcto consideramos primero que el radio de la esfera de silica de nuestra muestra es más grande que la longitud de onda del rayo incidente de atrapamiento por lo cual nos encontramos en el régimen de Rayos Ópticos. En nuestro caso, la medida del diámetro de las esferas de silica es de aproximadamente $2 \mu\text{m}$ y la longitud de onda del láser es de $640 \text{ nm} = 0.64 \mu\text{m}$.

Para ver una mayor incidencia del láser sobre la muestra movimos la platina en el eje Z acercándolo lo más posible hacia el lente objetivo, esto permitió que el láser pudiera atravesar los diferentes medios, interaccione con la muestra y sea detectado por la cámara CCD.

A continuación, en la Figura 31-3 podemos ver al sistema de micropartículas de silica y al láser enfocado.

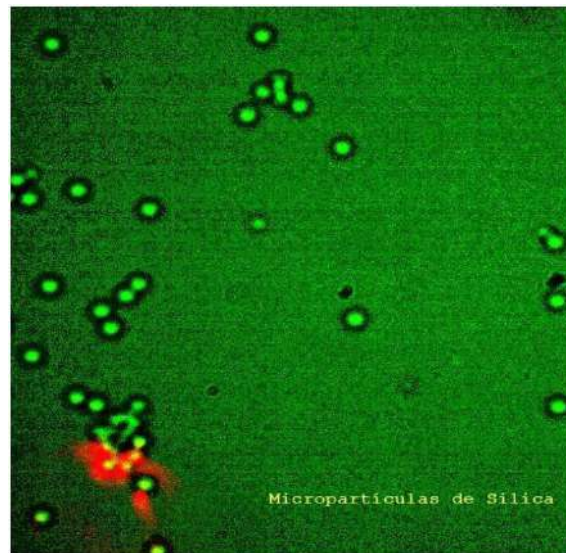


Figura 32-3. Láser enfocado correctamente con el sistema de micropartículas de silica.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

Una vez que conseguimos el enfoque adecuado de la silica y el láser empezamos hacer pruebas de captura de las micropartículas, se preparó varias muestras que interaccionaron con el haz sin embargo notamos que no había indicios de captura o que esta era muy inestable. Debido a esto surge una interrogante, ¿Qué factor es el que evitaba la captura?, revisamos nuevamente el enfoque de la muestra y del láser, movimos diferentes estructuras de la pinza óptica como los lentes, los soportes y los filtros, alteramos también la distancia entre el láser y el cubo divisorio en el breadboard, pero ninguno de estos ajustes mejoró la posibilidad de capturar las micropartículas.

Todo esto nos llevó a un resultado final, el factor que evitaba poder realizar esta técnica era la falta de potencia del láser que teníamos a disposición en el laboratorio. A pesar de no tener una captura estable nosotros logramos ver interacción del láser con las micropartículas, el láser se reflejaba y refractaba en la superficie de la silica, y perturbaba la trayectoria de estas.

En la Figura 32-3 se ve lo descrito anteriormente.

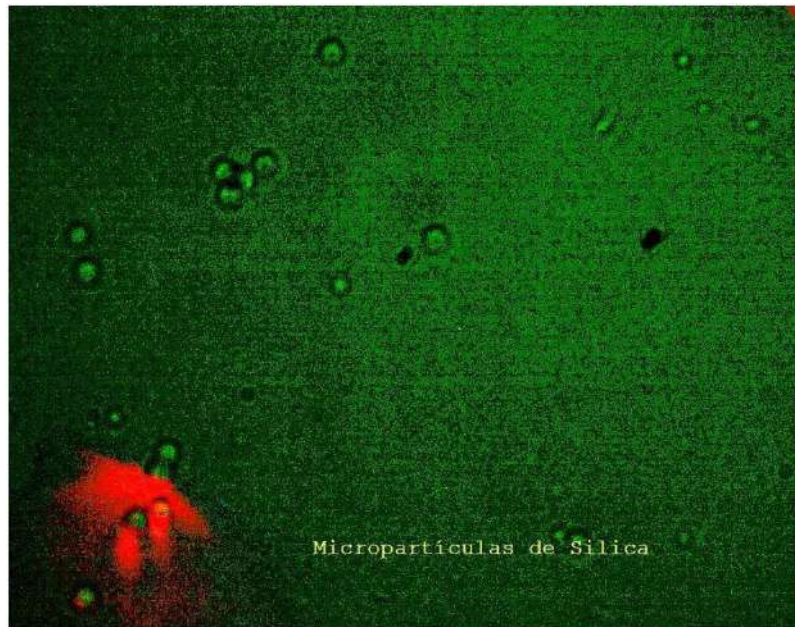


Figura 33-3. Dispersión del láser con el sistema de micropartículas de silica.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

3.1.3 *Obtención de resultados del sistema de Microbacterias*

Con todo lo anterior ya descrito nosotros ahora cambiamos la muestra de silica por un sistema de microbacterias de agua estancada, y además probamos con otro tipo de muestras como la orina, leche y el hongo del mocho.

Al igual que la silica también hicimos interactuar el láser con las microbacterias, el resultado principal que se obtuvo fue una captura débil de las mismas. A pesar de tener un resultado más alentador que con la silica no se pudo lograr que los microorganismos capturados se movieran a lo largo del plano de la muestra. En la Figura 33-3 y 34-3 podemos ver nuestra primera muestra del agua estancada, en ella podemos divisar estructuras bacterianas microscópicas de alrededor de 1.5 a 2 μm (Anexo 5), determinadas por un software de análisis de imágenes. Se pudo constatar que estos sistemas de microorganismos también cumplen con el régimen de Rayos ópticos y al ser la mayor parte de las microbacterias (bacilos, cocos y vibrios) del rango de 1 a 1.5 μm es por lo que se pudo realizar débilmente la captura con el láser.



Figura 34-3. Captura débil del láser con respecto al sistema de microbacterias de aguas estancadas.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

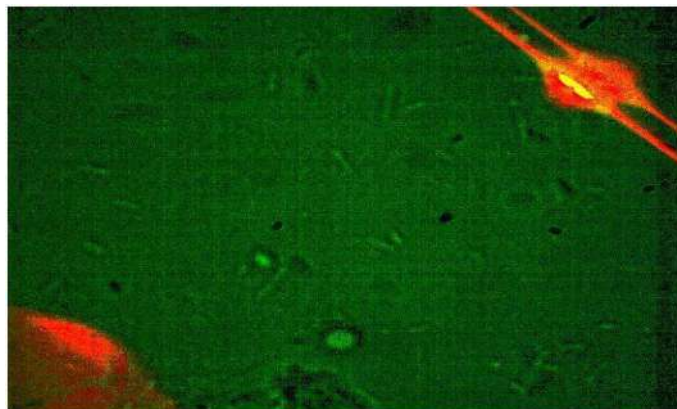


Figura 35-3. Avistamiento de bacilos, cocos y vibrios en muestra de agua estancada del parque del estudiante de la ESPOCH.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

Para ahondar más sobre la interacción de la radiación láser en sistemas de micropartículas bacterianas, decidimos diversificar nuestras muestras tomando como ejemplo la muestra de orina (Figura 35-3), muestra de bacterias de la leche (Figura 36-3) y el hongo moho (Figura 37-3), las colocamos en la pinza óptica para observar el efecto del haz láser sobre estas muestras.

Como resultado siguiendo la misma metodología logramos enfocar correctamente estas estructuras y al recibir la radiación láser estas no evidenciaron muestras de captura. El láser al interactuar con las diferentes muestras generaba dos procesos: refracción y reflexión, esta última la podemos observar en la parte superior derecha de las imágenes generada por el cubo divisor.

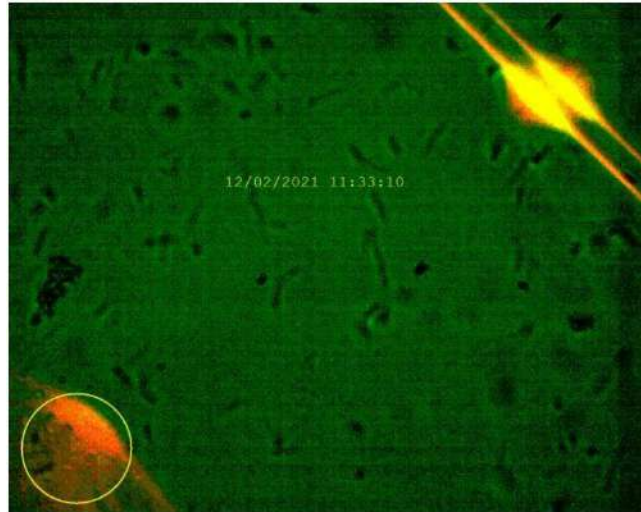


Figura 36-3. Microbacterias de la orina de un paciente con infección a las vías urinarias, que están interaccionando con el láser.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

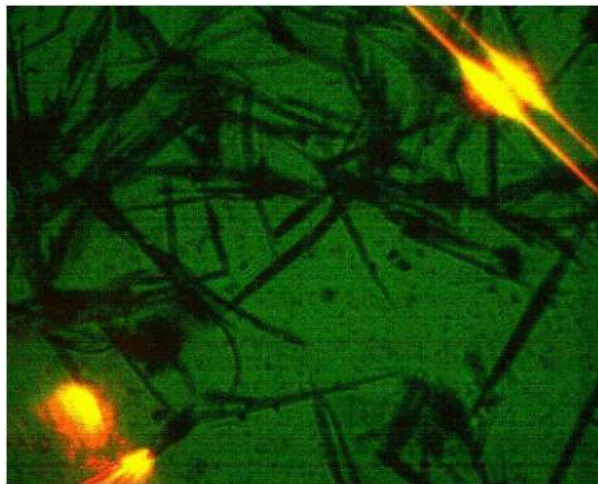


Figura 37-3. Microbacterias de la leche interaccionando con el láser

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

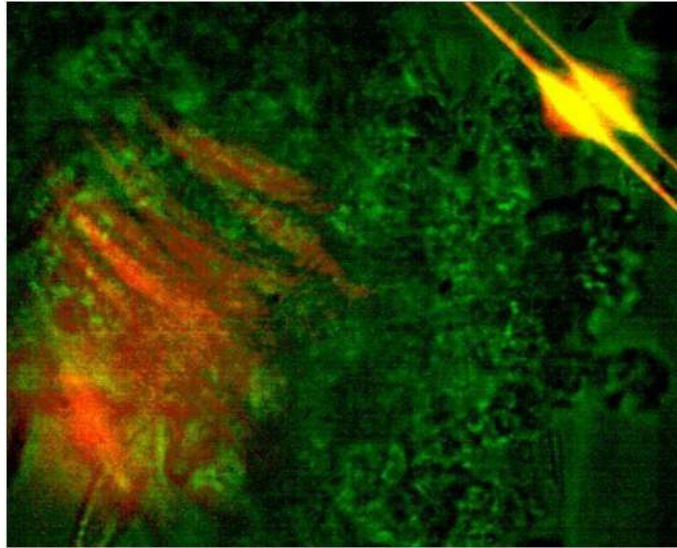


Figura 38-3. Hongo moho visto desde la Pinza Óptica.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

3.1.4 Análisis de los datos de imagen del software de Thorlabs (cámara CCD) – Perfil Gaussiano.

En la Figura 38-3 podemos ver el perfil de línea vertical y horizontal donde se muestran las ganancias de balance de color aplicados en los datos digitales, estos datos se obtienen en el software de Thorlabs de la cámara CCD, nosotros conseguimos medir la intensidad de pixeles específicos en cualquier punto de nuestra imagen.

Como observamos la intensidad vs. pixeles del color rojo son predominantes en el punto donde se encuentra el láser y nos dan como resultado un perfil gaussiano, esto se puede contrastar con los valores obtenidos con el otro software de análisis de imagen IMAGEJ (Anexo 5).

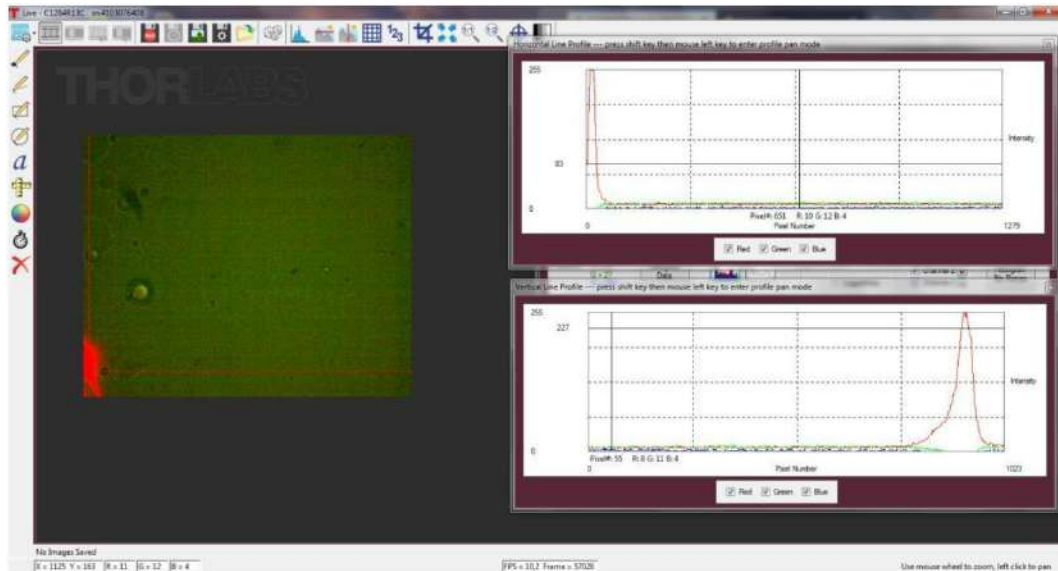


Figura 39-3. Forma gaussiana del láser rojo de 640 nm.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

En la Figura 39-3 nosotros encontramos un histograma de datos continuos procesados del láser rojo de 640 nm por el software de la cámara CCD de Thorlabs, aquí vemos que la cámara tiene un sistema de recepción de luz basado en el modelo de receptores *RGB* (Red, Green, Blue) que consiste en detectar los valores de intensidad de cada una de las longitudes de onda de los colores primarios de la luz blanca.

Debido a la intensidad presentada por el láser rojo que interacciona con las muestras, logramos comprobar su carácter gaussiano tanto en el software de la cámara CCD y de IMAGEJ, cabe tener en cuenta que el sensor de silicio de la cámara es sensible también a los otros colores de la terna *RGB* sin embargo el modelo permite tratar por separado las señales de los colores. La sensación de color general del medio está compuesta por la mezcla de estas tres señales (*RGB*) y esta depende de la configuración de imagen que nosotros le demos a la cámara, por ello podemos observar las fotos con un predominio del color verde en el medio donde está la muestra, cabe destacar que si se quiere el color azul podemos cambiar la configuración para que la cámara detecte con mayor intensidad esta señal, todo depende del criterio observador.

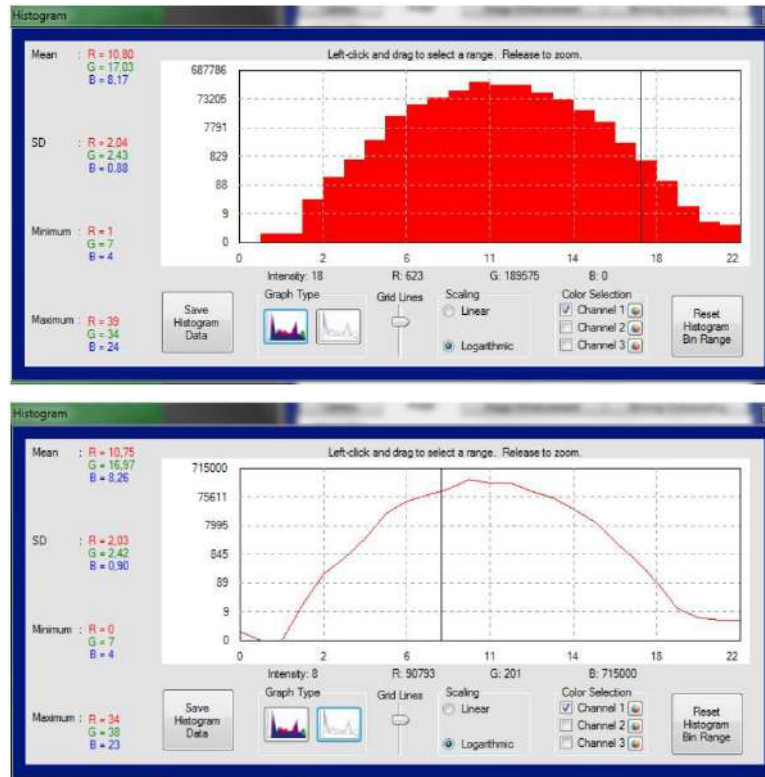


Figura 40-3. Histogramas de la Intensidad del láser rojo a manera de una Campana de Gauss.

Realizado Por: Ulloa Ricardo, Llanos Josué, 2021

CONCLUSIONES

Se estudió el principio y los modelos de atrapamiento óptico de una micropartícula y microbacteria, para lo cual se implementó una metodología adecuada y precisa para el uso de la pinza óptica; se describió el montaje de cada uno de sus elementos, y se dejó un esquema del procedimiento experimental más viable para su uso en el laboratorio de óptica. Posterior a la puesta experimental de la pinza óptica concluimos que el modelo y los principios físicos de la captura óptica son viables para poder aplicarse en el laboratorio de óptica, debido a que el equipo es funcional, pero necesita algunos componentes extra para un funcionamiento más óptimo, que permitirá abordar otras técnicas o modelos ópticos.

Estudiamos y describimos el fundamento físico del haz Gaussiano para lo cual empezamos primero por las ecuaciones de Maxwell, para poder contrastarlo en un medio homogéneo que no tiene cargas libres, encontrando así una solución para la ecuación de onda de tipo ondulatorio y comprobando el comportamiento gaussiano del haz obtenido por el láser del Laboratorio de Óptica. La solución de la ecuación tiene un término de amplitud y un término de fase. Este estudio se lo realizó para un comportamiento de diferentes valores de R con lo cual se identificó diferentes resultados y comportamientos de dicha ecuación.

El láser genera dos fuerzas una de gradiente y otra de dispersión, la fuerza de dispersión señala la dirección de propagación de la luz y es proporcional a la intensidad de la luz, mientras que la fuerza de gradiente se dirige hacia una mayor intensidad de luz (punto focal) y es proporcional al gradiente de intensidad. Por lo tanto, la partícula quedará atrapada cerca del punto focal si la fuerza de gradiente es lo suficientemente grande. Con esto se analizó y determinó cuales fueron las condiciones físicas ideales del equipo y del laboratorio para el correcto funcionamiento de la pinza óptica y después de varios intentos concluimos que el equipo debe estar en una superficie fija y plana libre de perturbaciones, debe estar en un ambiente fresco y sin exposición a luz UV. El láser disponible en el laboratorio posee una baja potencia haciéndolo no apto para una captura de micropartículas o microbacterias, una potencia eficaz para realizar la captura óptica bordea los 15 mW de potencia de salida en adelante.

En nuestra investigación pudimos comprobar y documentar la interacción del láser con las micropartículas de Silica y los sistemas de microbacterias concluyendo que estas son un medio ideal para la experimentación óptica debido a que poseen la forma y el tamaño adecuados ya que sus superficies permiten que el láser se refracte y se refleje, dando como resultado una geometría óptica que puede usarse para analizarse en la Pinza Óptica, además de tener propiedades dieléctricas esenciales que les permiten no conducir corriente eléctrica y de esta manera permitir que el láser pase sin alteraciones, poseen un índice de refracción mayor al medio circundante (n_{sil}

$n_{\text{bac}} = 1,43 > n_{\text{H}_2\text{O}} = 1,33$ y $n_{\text{air}} = 1$), lo que le permitirá a la partícula quedar atrapada cerca del punto focal (mayor intensidad de luz) si la fuerza de gradiente que actúa es lo suficientemente grande.

RECOMENDACIONES

El laboratorio debe estar en condiciones óptimas de trabajo para evitar que se genere problemas como: inconsistencias en las medidas, pérdida o daño del mobiliario, desorden y falta de organización en las mesas de trabajo. Cabe destacar que cada parte de la Pinza óptica es muy importante y si se daña o pierde reponerlo será muy costoso, por lo cual debe ser manejado con sumo cuidado.

Para realizar un proyecto de similares características se recomienda revisar previamente la bibliografía que se dispone, debido a la complejidad que representa el uso del aparato y además se requiere un periodo de adaptación con el equipo para desarrollar experticia y controlar la sensibilidad que tiene la pinza óptica ante diversos estímulos.

La parte más importante de la pinza óptica es el láser por eso debe verificar que este cumpla con las características adecuadas. Para desarrollar otro proyecto sobre captura óptica óptima se recomienda adquirir un láser de una potencia superior a 15 mW, que cumpla con el comportamiento gaussiano. Al implementarlo no hay que olvidar el uso de filtros pasa altos o pasa bajos y si es necesario usar un filtro de densidad óptica neutra para evitar saturar a la cámara CCD.

El cubo divisorio interactúa con la luz de la lámpara y el láser, de acuerdo con su tipo o diseño este permite el paso de la luz de cierto rango de longitud de onda. En el caso de la Pinza Óptica que se encuentra en el laboratorio y de acuerdo con la investigación que se vaya a realizar se recomienda adquirir una lámpara que ilumine la muestra y un láser en el rango del IR y del UV-Vis.

Las aplicaciones de la pinza óptica son variadas dando apertura a muchos estudios de diversos sistemas de micropartículas y microbacterias presentes en distintos ambientes. Se recomienda conocer a profundidad los métodos de obtención de muestras de microbacterias y micropartículas antes de exponerlas a la pinza teniendo en cuenta que su rango de observación es de 1 a 10 μm .

Llevar los implementos de limpieza adecuados para equipos ópticos, esto evitará rayarlos. Si se presenta problemas al trabajar con la pinza óptica en el breadboard como vibraciones o movimientos involuntarios, se recomienda mudar el equipo a la mesa óptica propia de Thorlabs que se encuentra en los mesones del laboratorio de óptica.

GLOSARIO

Amplitud: Referente a la longitud de onda es la altura máxima que puede alcanzar mientras esta oscila en el espacio con una frecuencia constante. Si nosotros lo analizamos en función de una magnitud, la amplitud es el punto máximo donde se mide el desplazamiento o cualquier magnitud que se esté midiendo. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Coloide: Es una mezcla de sustancias que se encuentra en dos fases una de ellas es líquida o también un gas que se combina con una fase sólida que se caracteriza por estar formada de sólidos de tamaños microscópicos o nanométricos. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Cóncavo: Relativo a la concavidad que es una superficie curva que se asemeja a la parte interior de una esfera, los lentes poseen esta característica que es muy importante en la óptica. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Convexo: Relativo a la convexidad que es una superficie curva que se asemeja a la parte exterior de una esfera, es el concepto opuesto a la concavidad y también es utilizado en distintos tipos de lentes. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Dieléctrico: es una propiedad que concierne a los materiales que poseen una baja conductividad eléctrica. Estos materiales se caracterizan por ser aislantes y tienen la capacidad de formar dipolos eléctricos en su interior bajo la acción del campo eléctrico. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Difracción: Es un fenómeno relacionado con las ondas y se da cuando una onda se dispone a atravesar cualquier obstáculo por un orificio pequeño con respecto a su longitud de onda. La luz se distorsiona al pasar por el orificio y ocasiona que se propague en todas las direcciones. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Dipolo eléctrico: Se refiere a un tipo de distribución de cargas el cual está formado por una carga positiva y negativa de un mismo valor, separadas por una distancia. Esta es propia de los materiales dieléctricos. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Dispersión: Este fenómeno describe la interacción de ondas electromagnéticas de distintas frecuencias sobre un medio material. Un claro ejemplo es la dispersión de la luz blanca sobre un prisma de cristal que nos permite ver las distintas ondas monocromáticas desviadas en forma de los colores a manera del arco iris. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Divergencia (Haz): Es una característica que describe cuando un haz de luz incrementa su diámetro desde la apertura del haz óptico a lo largo de la distancia donde se transmite la onda electromagnética. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Fotograma: Es una imagen que se puede sacar de una secuencia de video, estos fotogramas son sus partes constitutivas y cuando estas suceden una a otra con determinada frecuencia genera en el observador la sensación de movimiento. Los fotogramas pueden ser digitales, impresos sobre papel o sobre películas fotográficas. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Fotón: Es el elemento constitutivo de la luz que porta todas las formas de radiación electromagnética, se la conoce en la actualidad como una partícula elemental y es muy importante para las manifestaciones electromagnéticas estudiadas en la física cuántica. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Gradiente: Este término nos describe la variación que tiene cualquier magnitud en función a la distancia, este gradiente puede ser alto o bajo de acuerdo con la variación que tenga la magnitud de un punto a otro. Si entre dos puntos la variación de la magnitud es grande entonces hablamos de gradiente alto, si entre dos puntos la magnitud no varía o lo hace muy poco hablamos de un gradiente bajo. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Isótropo: Descripción de un sistema que posee las mismas propiedades físicas a lo largo de todas las direcciones en el sentido que se mide las magnitudes del sistema. En especial sirve con sistemas que miden magnitudes como conductividad térmica y eléctrica. Estas medidas se dan sin importar la dirección de desplazamiento de la magnitud. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Obturador: Es un dispositivo que nos permite controlar el tiempo en el cual la luz llega hacia un dispositivo con un sensor fotosensible, esto se da mediante un mecanismo que cierre o abra el objetivo para controlar la luz que entra en él. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Píxel: En una imagen digital el píxel es la menor unidad de color homogénea de ahí su nombre que es un acrónimo del idioma inglés que significa elemento de imagen. Toda imagen digital está compuesta por estos píxeles siendo estos puntos de color o a escala de grises en una gama de color monocromático. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

Refracción: Este es un fenómeno que describe el cambio de dirección de los rayos de la luz cuando está atravesando de un medio a otro en el que la luz se propaga con una distinta velocidad. Generalmente se da en un medio transparente con un determinado índice de refracción hacia otro medio que es transparente también, pero con distinto índice de refracción. Un ejemplo de esto podemos verlo en que los rayos solares atraviesan el aire y también atraviesan el agua del mar cuando se transmiten hacia la tierra. (Ulloa, Ricardo y Llanos, Josué, 2021.)

BIBLIOGRAFÍA

ALEGRÍA RAMÍREZ, Diego Andrés. Bibliotecas UdeC Repositorio. *Pinzas ópticas débiles para estudio de propiedades mecánicas en glóbulos rojos*. [En línea] (Trabajo de Titulación). (Tesis de Pregrado) Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. (Chile). Diciembre de 2018. pp. 1-52. [Consulta: 07 de Enero de 2021]. Disponible en: <http://repositorio.udec.cl/jspui/handle/11594/3603>.

ARIAS GONZÁLES DE LA ALEJA, José Ricardo. *Resonancias electromagnéticas en el scattering de luz por superficies y objetos: detección y caracterización de objetos ocultos, campo cercano y fuerzas ópticas*. [En línea] (Trabajo de Titulación). (Doctorado) E-Prints Complutense - Universidad Complutense Madrid, Facultad de Ciencias Físicas. (Madrid - España). 17 de Mayo de 2005. pp. 1-189. [Consulta: 09 de Enero de 2021]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/4585/>.

ANTONIO ALVARO RANHA NEVES, CARLOS LENZ CESAR. “Analytical calculation of optical forces on spherical particles in optical tweezers: tutorial”. OSA Publishing [en línea], 20 de Mayo de 2019, (Brasil) 36(6), pp. 1525 – 1537. [Consulta: 21 de Enero de 2021]. Disponible en: <https://doi.org/10.1364/JOSAB.36.001525>.

ASHKIN, ARTHUR. *The Pressure of Laser Light* [en línea]. Scientific American 226, 01 de Febrero de 1972. [Consulta: 04 de Enero de 2021]. Disponible en: <https://www.scientificamerican.com/article/the-pressure-of-laser-light/>.

AMERICAN INSTITUTE OF AERONAUTICS AND ASTRONAUTICS. *10th AIAA/ASME Joint Thermophysics and Heat Transfer Conference* [en línea]. Chicago, Illinois: Knovel, 01 de Julio de 2010. [Consulta: 07 de Enero de 2021]. Disponible en: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0126XP41/10th-aiaa-asme-joint/rayleigh-approach.978-1-5231-2945-4>.

ÁVALOS, F. MÉNDEZ. “Efectos de radiación láser en sistemas de muchas partículas”. Journal of Basic Sciences [en línea], Diciembre de 2015, (México) 1(3), pp. 40-44. [Consulta: 26 de Diciembre de 2020]. Disponible en: <https://revistas.ujat.mx/index.php/jobs/article/view/1328>

BUTT, HANS-JÜRGEN & KAPPL, MICHAEL. *Surface and Interfacial Forces - Optical Tweezers* [en línea] (2da Edición). Knovel, 08 de Octubre de 2018. [Consulta: 29 de Diciembre de 2020]. Disponible en: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00CY8BP1/surface-interfacial-forces/magnetic-tweezers.978-1-5231-1921-9>.

DURINI, DANIEL. *High Performance Silicon Imaging - Fundamentals and Applications of CMOS and CCD Sensors* [en línea] (2da Edición). Tucson, AZ - United States: Knovel, Elsevier, 09 de Diciembre de 2019. [Consulta: 04 de Enero de 2021]. Disponible en: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0121YC02/high-performance-silicon/basic-photon-detection.978-0-0810-2435-5>.

FERNANDEZ-NIEVES, ALBERTO Y PUERTAS, ANTONIO MANUEL. *Fluids, Colloids and Soft Materials - An Introduction to Soft Matter Physics* [en línea]. Dundee - UK: Knovel, 2016. [Consulta: 05 de Enero de 2021]. Disponible en: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt011HFGW1/fluids-colloids-soft/colloidal-science.978-1-5231-1461-0>.

GARCÍA GARCÍA, Joaquín. Atrapamiento óptico usando el vórtice perfecto [En línea] (Trabajo de Titulación). (Maestría) Benemérita Universidad autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas. (Puebla - México). Junio de 2016. pp. 1-80. [Consulta: 05 de Enero de 2021]. Disponible en: <https://1library.co/document/qo51w60y-atrapamiento-optico-usando-el-vortice-perfecto.html>.

GARCÍA GARCÍA, Joaquín. Generación de vórtices ópticos por medio del modulador espacial de luz de cristal líquido (MEL CL) y su aplicación en pinzas ópticas [En línea] (Trabajo de Titulación). (Tesis de Pregrado) Benemérita Universidad autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Físico-Matemáticas. (Puebla - México). Enero de 2014. pp. 1-69. [Consulta: 06 de Enero de 2021]. Disponible en: <https://1library.co/document/6qm1k0wq-generacion-vortices-opticos-modulador-espacial-liquido-aplicacion-opticas.html>.

GIUSEPPE PESCE, PHILIP H. JONES, ONOFRIO M. MARAGÓ, GIOVANNI VOLPE. "Optical Tweezers: theory and practice". Springer Link [en línea], 07 de Diciembre de 2020, 135(949), pp. 1-38. [Consulta: 29 de Diciembre de 2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.1140/epjp/s13360-020-00843-5>.

GUO HongLian, LI ZhiYuan. "Optical tweezers technique and its applications". SCIENCE CHINA - Physics, Mechanics & Astronomy [en línea], 16 de Noviembre de 2013, (China) 56(12), pp. 2351-2360. [Consulta: 24 de Enero de 2021]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11433-013-5355-3>.

IBIS RICARDEZ V., EBER E. OROZCO G. Y JOSÉ A. HERNÁNDEZ N. "PINZAS ÓPTICAS, UNA HERRAMIENTA EFICAZ PARA MICROMANIPULACIÓN". FARAUTE Ciens. y Tec. [en línea], 14 de Noviembre de 2007, (México) 3(1), pp. 25-30. [Consulta: 05 de Enero de 2021]. ISSN 1698-7418. Disponible en: <http://servicio.bc.uc.edu.ve/facyt/v3n1/3-1-3.pdf>.

- KAREN VOLKE SEPÚLVEDA, IBIS RICARDEZ VARGAS Y RUBÉN RAMOS GARCÍA.** “Pinzas Ópticas: las delicadas manos de la luz”. [En línea], 3 de Diciembre de 2007, (México), pp. 18-25. [Consulta: 27 de Diciembre de 2020]. Disponible en:
https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/58_4/PDF/05-465-18-25.pdf.
- KOGELNIK, HERWIG.** “On the Propagation of Gaussian Beams of Light Through Lenslike Media Including those with a Loss or Gain Variation”. OSA Publishing [en línea], Diciembre de 1965, 4(12), pp. 1562-1569. [Consulta el: 30 de Enero de 2021]. Disponible en:
<https://doi.org/10.1364/AO.4.001562>.
- LE RU, ERIC C. Y ETCHEGOIN, PABLO G.** *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Related Plasmonic Effects* [en línea]. Knovel, Elsevier, 06 de Enero de 2010. [Consulta: 17 de Enero de 2021]. Disponible en:
<https://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpPSERSRP1/principles-surface-enhanced/principles-surface-enhanced>.
- LENNTECH.** *Necesidad desinfección del agua potable* [blog]. [Consulta: 25 de Enero de 2021]. Disponible en: <https://www.lenntech.es/procesos/desinfeccion/necesidad/necesidad-desinfeccion-agua.htm>.
- MARÍA C. APELLA, PAULA Z. ARAUJO.** *Microbiología de agua. Conceptos Básicos* [en línea], 2010. [Consulta: 24 de Enero de 2021]. Disponible en:
https://www.psa.es/es/projects/solarsafewater/documents/libro/02_Capitulo_02.pdf.
- MARTINEZ PADILLA, Juan Pablo.** Medición de la constante elástica k en un sistema de pinzas ópticas usando el método de densidad espectral de potencia. [En línea] (Trabajo de Titulación). (Maestría) INAOE, Puebla – México. Julio de 2009. pp. 1-59. [Consulta: 05 de Enero de 2021.] <http://inaoe.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1009/428>.
- MARTINEZ LANDIN, Ricardo.** Espectroscopía Raman en un arreglo de pinzas ópticas para muestras biológicas. [En línea] (Trabajo de Titulación). (Maestría) INAOE, Puebla – México. 2011. pp. 1-101. [Consulta: 06 de Enero de 2021]. Disponible en:
<http://inaoe.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1009/695>.
- MILONNI, PETER W.** *Introduction to Quantum Optics and Quantum Fluctuations* [en línea]. UK: Knovel, 07 de Diciembre de 2020. [Consulta: 17 de Enero de 2021]. Disponible en:
https://app.knovel.com/web/toc.v/cid:kpIQOQF003/viewerType:toc/root_slug:introduction-quantum/.
- NOLASCO HERNÁNDEZ, JOSÉ ADAN.** “Elementos de confinamiento múltiple en sistemas continuos”. *Journal of Basic Sciences* [en línea], 08 de Junio de 2016, (México) 1(2), pp. 3-5.

[Consulta: 10 de Enero de 2021]. Disponible en:

<https://revistas.ujat.mx/index.php/jobs/article/view/1330/0.2448-4997>.

RITORT, FÉLIX. “Pinzas ópticas y su aplicación a sistemas biológicos”. Revista española de física [en línea], Diciembre de 2018, (España) 32(4), pp. 39-42. [Consulta: 21 de Enero de 2021]. ISSN 0213-862X. Disponible en:

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6756677>

SAMANIEGO ONOFRE, Eugenia Elizabeth. Implementación y prueba de una pinza óptica para captura y manipulación de micropartículas. [En línea] (Trabajo de Titulación). (Tesis de Pregrado) Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ciencias. (Quito - Ecuador). 22 de Julio de 2020. pp. 1-77. [Consulta: 21 de Enero de 2021]. Disponible en:

<http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/20995>.

SÁNCHEZ GONZÁLEZ, Milton Carlos. Desarrollo de una instalación para la manipulación y caracterización de partículas por atrapamiento óptico, "pinzas ópticas". [En línea] (Trabajo de Titulación). (Maestría) Instituto Politécnico Nacional. (Altamira - España). 25 de Febrero de 2010. pp. 1-71. [Consulta: 4 de Enero de 2021]. Disponible en:

<http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/5914>.

THORLABS, INC. 2019. *Portable Optical Tweezers Educational Kit* [blog]. [Consulta: 10 de Enero de 2021]. Disponible en:

https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup_id=6966&pn=EDU-OT2/M.

VARGAS, M. C. Ibis Ricardez. Nuevas técnicas de micromanipulación en pinzas ópticas. [En línea] (Trabajo de Titulación). (Doctorado) INAOE, Puebla – México. Octubre de 2007. pp. 1-115. [Consulta: 26 de Diciembre de 2020]. Disponible en:

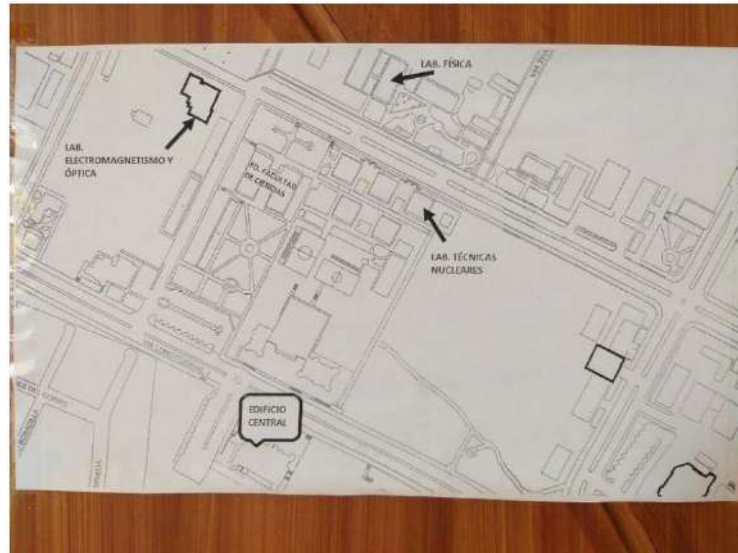
<https://inaoe.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1009/648>.



Firmado electrónicamente por:
**JHONATAN RODRIGO
PARREÑO UQUILLAS**

ANEXOS

ANEXO A. UBICACIÓN Y VISTA GENERAL DEL LABORATORIO

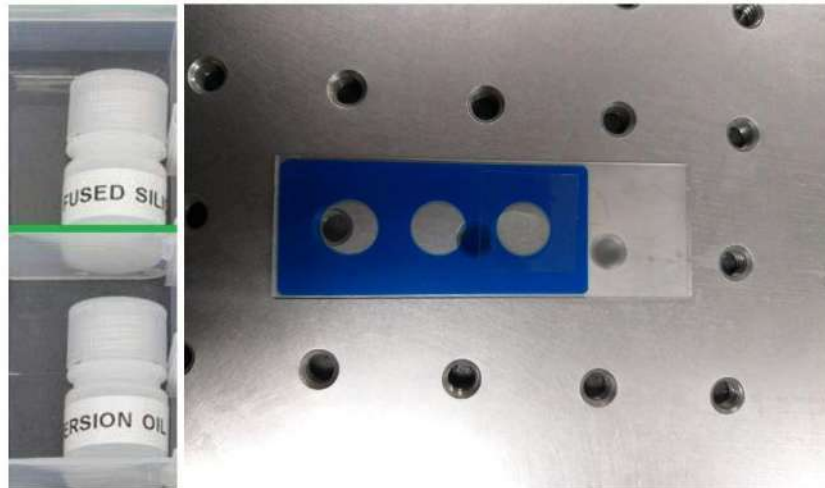


Mapa general de la ubicación del Laboratorio de Óptica



Vista general del laboratorio de Óptica

ANEXO B. VISTA DE LOS RECIPIENTES CONTENEDORES DE LAS MUESTRAS

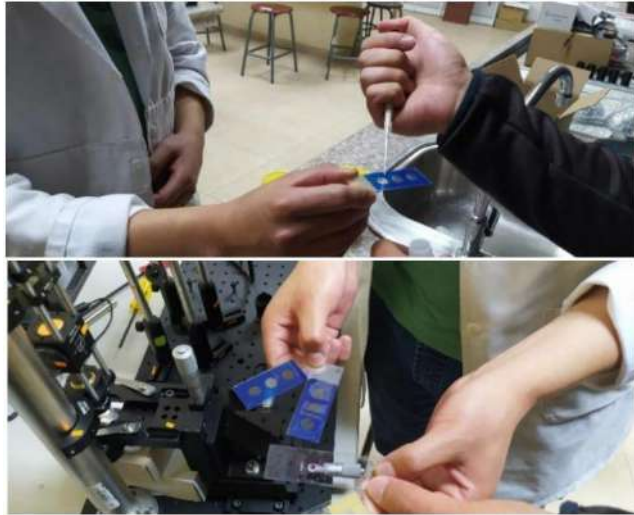


Contenedor de las micropartículas de Silica y su muestra realizada

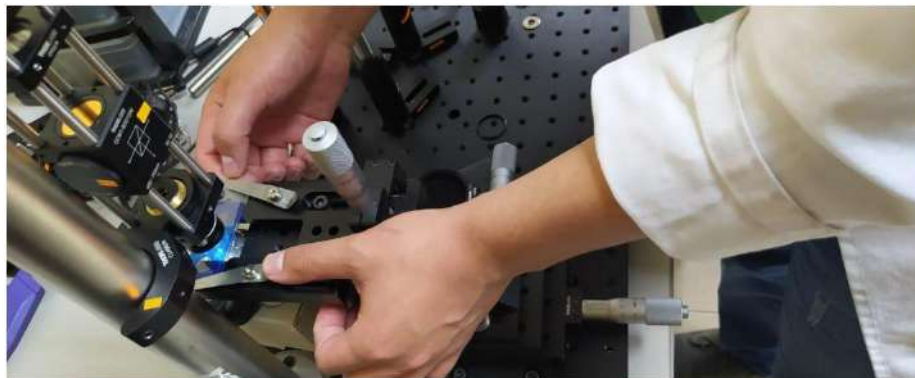


Contenedor de las microbacterias y sus muestras realizadas

ANEXO C. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS EN LA PINZA ÓPTICA



Muestras preparadas de Silica y microbacterias

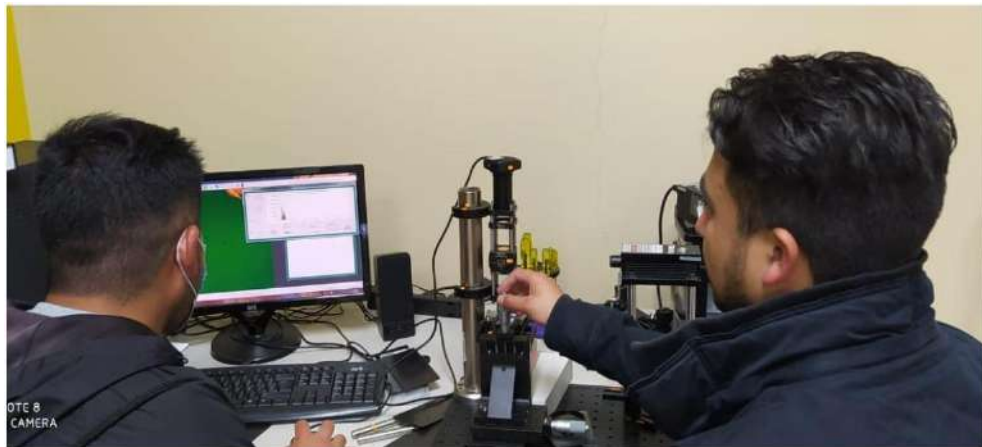


Colocación de las muestras en la platina de la Pinza Óptica

ANEXO D. OBTENCIÓN DE DATOS DE LA CÁMARA CCD.

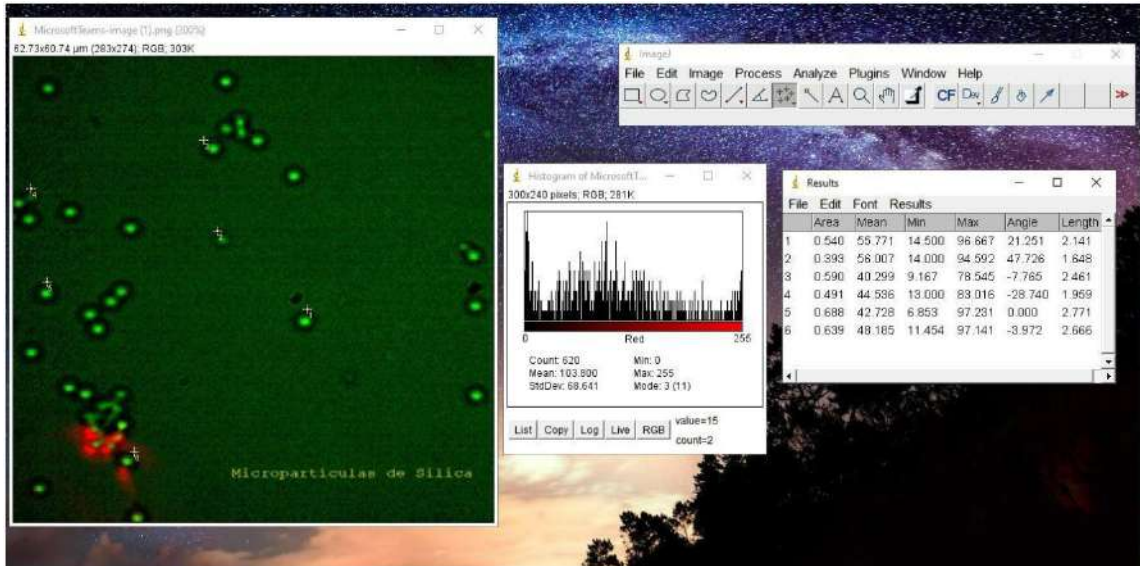


Enfoque de la muestra y ajuste de configuraciones para obtener una buena resolución

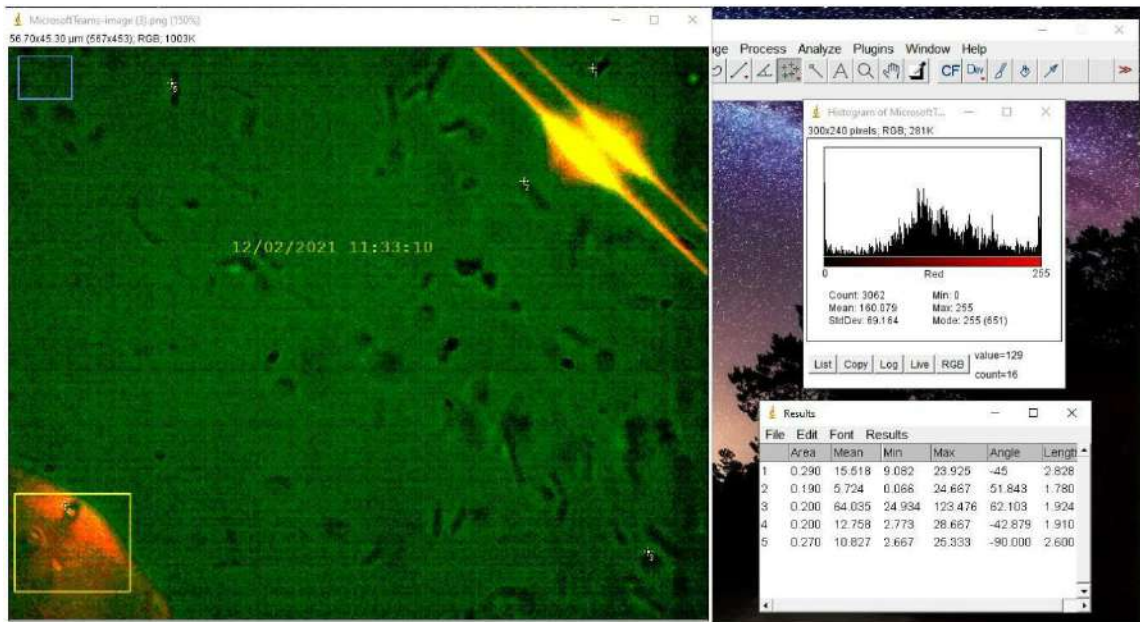


Obtención de datos a través de la cámara CCD

ANEXO E. RESULTADOS OBTENIDOS DEL SOFTWARE IMAGEJ



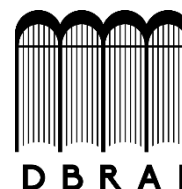
Tamaño promedio de las micropartículas de Silica con su Campana de Gauss.



Tamaño promedio del sistema de microbacterias de aguas estancadas con su respectiva Campana de Gauss.



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE
CHIMBORAZO
DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS
PARA EL APRENDIZAJE Y LA
INVESTIGACIÓN**



**UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS
REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA**

Fecha de entrega: 23/08/2021

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)

Nombres – Apellidos: RICARDO STEEVEN ULLOA CARVAJAL
JOSUÉ NATANAEL LLANOS URQUIZO

INFORMACIÓN INSTITUCIONAL

Facultad: CIENCIAS

Carrera: FÍSICA

Título a optar: FÍSICO

f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. CPA. Jhonatan Rodrigo Parreño Uquillas. MBA.



Firmado electrónicamente por:
**JHONATAN RODRIGO
PARREÑO UQUILLAS**



23-08-2021

1279-DBRA-UTP-2021