



**INAOE**

# **Medición de la constante elástica $k$ en un sistema de pinzas ópticas usando el método de densidad espectral de potencia.**

Por

**Fís. Juan Pablo Padilla Martínez**

Tesis sometida como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRO EN CIENCIAS EN LA  
ESPECIALIDAD DE ÓPTICA**

En el

**Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y  
Electrónica**

Julio 2009

Tonantzintla, Puebla

Supervisada por:

**Dr. Rubén Ramos García  
Dr. Julio Cesar Ramírez San Juan**

©INAOE 2009

El autor otorga al INAOE el permiso de reproducir y distribuir copias en su totalidad o en partes de esta tesis.



Dedicatoria

A *dios*, por la vida otorgada y por las personas que puso en mi camino.  
A mi *madre*, a la memoria de mi *padre* y a mis *hermanos* que me ayudaron a  
comenzar de nuevo muchas veces sin caer en la desesperación, forjando en  
mí ideales grandes y experiencias positivas.

A mis *amigos*, que cultivaron en mí el sentido del humor.

Y en memoria a una persona de la que aprendí que hay que luchar hasta el último  
aliento

*“Rosio Rodríguez Romero”*

## Agradecimientos

Al *Dr. Rubén Ramos García* y al *Dr. Julio Ramírez San Juan* por el apoyo y la amistad que me brindaron y por haberme transmitido no solo sus conocimientos sino también sus experiencias dentro de este ámbito científico.

A las personas y amigos que me ayudaron en la realización del mismo cuando me encontraba desanimado.

Al *Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica* por brindarme lo necesario para cumplir mis metas.

# Índice general

<b>RESUMEN</b>	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>V</b>
<b>OBJETIVO GENERAL</b>	<b>VI</b>
<b>TABLA DE FIGURAS</b>	<b>VII</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. Historia y desarrollo de las pinzas ópticas . . . . .	2
1.2. Aplicaciones de las pinzas ópticas . . . . .	4
1.3. Fuerza de atrapamiento . . . . .	5
<b>2. Conceptos Preliminares</b>	<b>8</b>
2.1. Teoría Electromagnética de la luz y los fotones . . . . .	8
2.2. Las ecuaciones de Maxwell . . . . .	9
2.3. Momento y presión de radiación . . . . .	11

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	II
<b>3. La física de las pinzas ópticas</b>	<b>14</b>
3.1. Teoría de atrapamiento óptico . . . . .	14
3.1.1. Régimen de óptica de rayos . . . . .	15
3.1.2. Régimen de Rayleigh . . . . .	18
3.1.3. Régimen generalizado de Lorenz-Mie . . . . .	19
3.2. Métodos de medición de la constante elástica . . . . .	20
3.2.1. Método de densidad espectral de potencia . . . . .	21
3.2.2. Método de equipartición . . . . .	24
3.2.3. Método de arrastre . . . . .	25
<b>4. Método experimental</b>	<b>27</b>
4.1. Preparación de la muestra . . . . .	27
4.2. Trayectoria del haz de atrapamiento . . . . .	28
4.3. Obtención de video e imágenes . . . . .	30
4.4. Detección del desplazamiento de la partícula . . . . .	31
4.5. Diseño del circuito del detector de cuadrante . . . . .	33
4.6. Programa en LabView . . . . .	36
<b>5. Resultados</b>	<b>38</b>
5.1. Atrapamiento de la partícula . . . . .	38
5.2. Gráficas de posición y densidad espectral de potencia . . . . .	39
5.3. Gráfica de la constante elástica $k$ contra potencia laser . . . . .	45

<i>ÍNDICE GENERAL</i>	III
<b>6. Discusión y conclusiones</b>	<b>47</b>
6.1. Comparación a la literatura . . . . .	47
6.2. Conclusiones . . . . .	50
<b>A. Especificaciones del detector de cuadrante</b>	<b>52</b>
<b>B. Especificaciones de la tarjeta de adquisición de datos SCB-68</b>	<b>54</b>

# RESUMEN

Las pinzas ópticas son una herramienta conveniente para manipular partículas de tamaño micrométrico y medir las fuerzas involucradas en el sistema en piconewtons. Una partícula en un sistema de pinzas ópticas no está completamente inmóvil, existen fluctuaciones térmicas que producen que la partícula realice movimiento Browniano mientras es atrapada.

En este trabajo presentamos un diseño experimental de pinzas ópticas combinado con un fotodiodo de cuadrante, para la medición de los desplazamientos de la partícula en la trampa óptica. Utilizamos el método de densidad espectral de potencia para medir la rigidez o constante elástica  $k$  de una pinza óptica, esta constante se determina ajustando una Lorentziana a las curvas de la densidad espectral de potencia, obtenidas del movimiento Browniano de la partícula. Los resultados obtenidos para la constante elástica están en el intervalo de 2.66 a 3.73 pN/ $\mu\text{m}$  para potencias del láser entre 15 a 41 mW, bajo las condiciones descritas en este trabajo.

Conociendo el valor de la constante elástica  $k$  y el desplazamiento  $x$  de la partícula, podemos conocer la fuerza aplicada por una pinza óptica sobre objetos micrométricos mediante la ley de Hooke. Existe un doble interés por medir la fuerza de atrapamiento; la primera, relaciona la física de la pinza óptica por sí misma, en el sentido de comparación de la fuerza experimental obtenida con el valor esperado teóricamente y la segunda razón es que para muchas aplicaciones se requiere un conocimiento exacto de la fuerza óptica aplicada a la partícula o molécula a estudiar.

# ABSTRACT

Optical tweezers are well suited to manipulate micron-sized particles and measure forces in the PicoNewton range. A bead in an optical tweezers is not completely immobile; there are thermal fluctuations that cause the bead to execute Brownian motion while trapped.

Here we present an optical tweezers setup combined with quadrant photodiode position detection and we use the power spectral density method to measure the force exerted by an optical trap on a dielectric bead in a fluid. This stiffness is often found by fitting a Lorentzian to the power spectral density curves, obtained from the position detection signal of the bead trapped. The obtained results for the stiffness are around of 2.66 and 3.73 pN/ $\mu\text{m}$  for different laser powers (15 a 41 mW).

There is a double interest to measure forces involved in Optical Tweezers. The first one concerns the physics of optical traps themselves in the sense of comparing experimental trapping forces with theoretically expected values. The other reason is more practical in the sense that for many applications an exact knowledge of the optical forces applied at the trapped particle is useful.



# OBJETIVO GENERAL

El objetivo general es el diseño y construcción de un sistema que nos permita medir la constante elástica  $k$ , para conocer la fuerza ejercida por una pinza óptica sobre partículas dieléctricas de tamaño micrométrico a diferentes potencias del láser, mediante el uso del método de densidad espectral de potencia que se describirá más adelante. Para llevar a cabo este objetivo satisfactoriamente, fue necesario llevar a cabo dos tareas básicas.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Implementar en el diseño experimental, el uso de un fotodiodo de cuadrante HAMAMATSU S5990-01, para detección de la posición o desplazamiento de la partícula en la trampa óptica.
2. Crear en LabView un programa para manipular el fotodiodo de cuadrante y poder medir los desplazamientos del movimiento de la partícula atrapada.

# TABLA DE FIGURAS

## CAPÍTULO 2

**Figura 2.1.** Ecuaciones de Maxwell en su forma diferencial e integral.

## CAPÍTULO 3

**Figura 3.1.** Descripción cualitativa del origen de las fuerzas de atrapamiento. Figura a) muestra la fuerza de gradiente lateral. Figuras b) y c), muestra la fuerza neta en sus respectivas direcciones.

**Figura 3.2.** La trampa o pinza óptica actúa como un resorte lineal y entonces la constante elástica  $k$  puede ser calculada midiendo el desplazamiento  $x$  y la fuerza externa  $F$  sobre la partícula.

**Figura 3.3.** Diagrama de una cámara de flujo construida por un cubre y portaobjetos. El filtro de papel puede ser utilizado para crear un flujo en la muestra por capilaridad.

## CAPÍTULO 4

**Figura 4.1.** Preparación de la muestra.

**Figura 4.2.** Trayectoria del laser de atrapamiento.

**Figura 4.3.** Diseño del arreglo experimental.

**Figura 4.4.** Fotografía del arreglo experimental.

**Figura 4.5.** Configuración para la detección de los desplazamientos laterales de una partícula atrapada. La imagen del plano focal se forma en el fotodiodo de cuadrante.

**Figura 4.6.** Detección del desplazamiento en  $x$  y  $y$  de la partícula atrapada,

obtenidas por la distribución de intensidad  $I_j$  sobre los cuatro segmentos del fotodiodo de cuadrante. Donde  $L=4.5$  mm es el tamaño de los lados del fotodiodo.

**Figura 4.7.** Diseño del circuito para el detector de cuadrante.

**Figura 4.8.** Diagrama de conexión entre las salidas del detector de cuadrante y las entradas de la tarjeta de adquisición de datos SCB-68.

**Figura 4.9.** Programa realizado en LabView para utilizar el detector de cuadrante HAMAMATSU S5990-01.

**Figura 4.10.** Vista del panel principal del programa en LabView.

## CAPÍTULO 5

**Figura 5.1.** Imágenes obtenidas por la cámara CCD. Desde la imagen a. hasta la f. se muestra la partícula atrapada y a su vez como es separada de las demás.

**Figura 5.2.** Gráfica de posición Vs tiempo sobre el eje  $y$ , de la partícula atrapada en la pinza óptica (1000 datos en 0.08 segundos).

**Figura 5.3.** Gráfica de posición Vs tiempo sobre el eje  $x$ , de la partícula atrapada (1000 datos en 0.08 segundos).

**Figura 5.4.** Gráfica de la densidad espectral de potencia, obtenida a partir de las graficas de posición Vs tiempo.

**Figura 5.5.** Recorte de datos de la gráfica 5.3.

**Figura 5.6.** Ajuste teórico (línea roja) a los datos experimentales de la “DEP” (línea negra), para diferentes potencias del laser (a.15, b. 20, c. 28, d. 35 y e. 41 mW).

**Figura 5.7.** Notación utilizada y valores característicos de cantidades encontrada para el agua.

**Figura 5.8** Gráfica de la constante elástica contra potencia del laser, en la cual se puede observar un comportamiento lineal en el intervalo de 28 a 41 mW.

## CAPÍTULO 6

**Figura 6.1** Gráfica de densidad espectral de potencia adquirida a 10 KHz y potencia laser de 3.5 mW, mostrando picos a partir de los 1000 Hz (referencia [44])

**Figura 6.2** Constante elástica  $k$  contra potencia laser, para partículas de

poliestireno de  $14.9 \mu\text{m}$  de diámetro (referencia [47]).

**Figura 6.3** Comparación de la gráfica 6.2 obtenida de la literatura y la gráfica 5.8, en el intervalo de 10 a 45 mW.

# Capítulo 1

## Introducción

En 1970, Arthur Ashkin, un científico norteamericano que trabajaba en los laboratorios Bell en Estados Unidos, diseñó un experimento para medir la presión de radiación ejercida por un láser. Para evitar efectos de calentamiento por absorción de la luz, Ashkin utilizó micro-esferas transparentes de látex suspendidas en agua, cuyos diámetros iban desde fracciones de micra hasta unas pocas micras. Para su sorpresa, no sólo encontró que la presión de radiación era capaz de acelerar a las partículas en la dirección de propagación del láser, sino que también observó que las partículas eran atraídas hacia el centro del haz de luz en la dirección transversal, donde se encuentra la parte más intensa. Con base en estos resultados, Ashkin colocó dos haces de luz contra-propagándose a lo largo de un eje horizontal, logrando así que las fuerzas ejercidas por cada uno de los láseres se equilibraran y la partícula quedará atrapada por la luz en un punto intermedio de equilibrio [1]. 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: **el atrapamiento óptico**.

En 1986 se obtuvo otro gran avance en el área, nuevamente debido a Ashkin y a sus colaboradores [2]. Esta vez desarrollaron una trampa óptica muy estable, que permitía atrapar firmemente a una partícula en las tres dimensiones espaciales

utilizando un sólo haz de luz. Para lograr esto, el haz de luz se debe enfocar en un área extremadamente pequeña utilizando un objetivo de microscopio, en este caso la fuerza óptica atrae a las partículas hacia la región focal, donde la intensidad es máxima. Este tipo de trampa se conoce hoy en día como **pinzas ópticas**, y su eficacia se ha comprobado con partículas cuyos tamaños van desde decenas de nanómetros hasta decenas de micras [3].

Actualmente las pinzas ópticas se han convertido en una herramienta fundamental en disciplinas como biofísica, biotecnología, medicina reproductiva y biología celular y molecular [4]. También se usan en investigaciones básicas del área de óptica para determinar las propiedades físicas de diferentes tipos de haces de luz, así como en estudios de física de coloides y sistemas complejos. Asimismo, las nuevas técnicas de manipulación óptica permiten la operación de máquinas en miniatura, que por cierto, también son desarrolladas con tecnología óptica [5].

### 1.1. Historia y desarrollo de las pinzas ópticas

Una de las aplicaciones más sorprendentes en los últimos años es la captura y manipulación de partículas microscópicas por medio de luz. Para entender en que consiste esto, comencemos haciendo un breve recorrido histórico.

Los primeros antecedentes que permitieron reconocer que la luz ejerce presión de radiación sobre los objetos materiales datan del siglo XVII, cuando Johannes Kepler (1571-1630) sugirió que la dirección de la cola de los cometas podía deberse a la presión de los rayos solares, ya que siempre apuntaba en sentido contrario al sol sin importar la dirección de movimiento del cometa (aunque en realidad esto se debe al viento solar). Más de dos siglos después James Clerk Maxwell (1831-1879) desarrolló su teoría electromagnética, con la cual demostró que la luz está constituida por ondas electromagnéticas que efectivamente ejercen presión al propagarse.

Algunas décadas más tarde, se observaron fenómenos que no podían explicarse con la teoría ondulatoria de Maxwell; posteriormente, los trabajos principalmente de Max Planck (1858-1947) y Albert Einstein (1879-1955) llevaron a la conclusión de que, bajo ciertas circunstancias, la luz también se comporta como si estuviera formada por un flujo de partículas llamadas **fotones**. A cada fotón se le asocia una propiedad llamada *momento lineal*, esto se traduce en el hecho de que el flujo de fotones en su conjunto ejerce presión al incidir sobre la materia. La historia cambió radicalmente cuando el laser apareció en escena, la luz laser concentra una gran potencia y se propaga a lo largo de una dirección bien definida (como rayo). En este caso, la presión de radiación sigue siendo insignificante para objetos macroscópicos, pero llega a ser muy importante al actuar sobre objetos suficientemente pequeños [6].

Con base a este tipo de argumentos, la detección de la fuerza de esparcimiento y las fuerzas de gradiente sobre partículas micrométricas fue reportada por primera vez en 1970 por Arthur Ashkin [7], diseñando un experimento para medir la presión de radiación ejercida por un laser continuo. Años después, Ashkin y sus colegas reportaron la primera observación de lo que es ahora referido comúnmente como una trampa óptica: un haz de luz altamente enfocado capaz de sostener partículas microscópicas estables en tres dimensiones [8]. Uno de los autores de este artículo pionero de 1986, Steven Chu, llegó a utilizar pinzas ópticas en su trabajo sobre enfriamiento y atrapamiento de átomos. Esta investigación le valió a Chu el Premio Nobel en Física de 1997 [9]. En una entrevista, Steven Chu describió como Ashkin había visualizado por primera vez el uso de las pinzas ópticas como un método para atrapar átomos [10]. Ashkin fue capaz de atrapar partículas más grandes (de 10 a 10,000 nanómetros de diámetro) pero Chu extendió estas técnicas para el atrapamiento de átomos (0.1 nanómetros de diámetro).

A finales de 1980, Arthur Ashkin y sus colegas aplicaron primero la tecnología a las ciencias biológicas, usándola para atrapar un virus de mosaico del tabaco

individual y la bacteria *Escherichia coli* [11]. A través de la década de los 90's y después, investigadores como Carlos Bustamante, James Spudich, y Steven Block fueron los pioneros en el uso de la trampa óptica para caracterizar los motores biológicos a escala molecular. Estos motores moleculares son los responsables de la locomoción y la acción mecánica dentro de la célula. Las trampas ópticas permitieron a estos biofísicos observar las fuerzas y la dinámica de los motores a un nivel de nano-escala o de molécula-única; la trampa óptica de espectroscopía de fuerza ha permitido desde entonces llegar a un mayor entendimiento de la naturaleza estocástica de estas fuerzas generadoras en la molécula.

Las pinzas ópticas han probado ser útiles también en otras áreas de la biología. Por ejemplo, en 2003 las técnicas de las pinzas ópticas fueron aplicadas en el campo de la clasificación celular (cell sorting); creando una gran intensidad óptica sobre el área de llenado con muestra micro-biológica, la célula puede ser clasificada por sus características ópticas intrínsecas [12]. En el 2004 las pinzas ópticas hicieron el salto desde las grandes, complicadas y costosas máquinas a mucho más simples, pequeñas, poco costosas y recientemente sistemas portables con la introducción de los DLBT (Diode Laser Bar Trapping); sistemas liderados por Applegate et al. en la Colorado School of Mines [13]. Las pinzas ópticas también han sido usadas para probar el citoesqueleto, medir las propiedades visco-elásticas de biopolímeros, y estudiar la motilidad celular, por mencionar solo algunas aplicaciones [14].

## **1.2. Aplicaciones de las pinzas ópticas**

Los biólogos tomaron ventaja rápidamente de las pinzas ópticas como una herramienta para propósitos como la medición del rendimiento de las colas de las bacterias [15], las fuerzas ejercidas por un solo motor proteínico [16] y el alargamiento de moléculas de ADN [17], entre muchas otras. También han sido combinadas con un láser adicional para formar tijeras ópticas o como sensores de escaneo de fuerzas.



Una de las aplicaciones de gran interés es en el control sobre crecimiento de cristales y en interés particular de neuronas, el cual es un objetivo fundamental en la neurociencia, en el desarrollo de la biología, la biofísica y la biomedicina; y es particularmente importante en la formación de circuitos neuronales *in vitro*, así como para la regeneración de los nervios *in vivo*. Se ha demostrado experimentalmente que se pueden usar fuerzas ópticas débiles para guiar la dirección tomada por el extremo que guía el crecimiento de una célula nerviosa. Para esto se coloca el haz del láser en el área específica de la célula nerviosa para controlar su crecimiento [18].

En general, pocas de las aplicaciones no biológicas de las pinzas ópticas han sido exploradas. La fuerza óptica asociada con el esparcimiento, la fuerza de gradiente o la transferencia de momento angular han sido postuladas como medios para el manejo de micro-maquinas y hasta el momento la fuerza de esparcimiento en particular parece prometedora. Otra área en la cual las pinzas ópticas no han sido exploradas es en el ensamblaje de micro-maquinas o micro-estructuras tales como cristales fotónicos.

Las aplicaciones biológicas de las pinzas ópticas se han desplazado a un nuevo nivel. Los biólogos requieren cada vez más información mecánica y biomecánica de cómo trabaja una sola molécula y también necesitan avances en el mismo diseño de las pinzas ópticas [19].

### 1.3. Fuerza de atrapamiento

En muchos casos es de particular importancia conocer la fuerza aplicada a materiales biológicos, para esto, existen varios métodos en uso o bajo investigación, los cuales son capaces para manipular partículas y/o medir fuerzas extremadamente débiles, tales como, atrapamiento ultrasónico [20], microscopía de fuerza atómica [21] y pinzas ópticas [22]. Entre todas estas técnicas, las pinzas ópticas son de in-

terés particular ya que permiten manipular y medir fuerzas sin ningún mecanismo de contacto, evitando daño alguno a la muestra. Esta técnica ha sido utilizada para medir fuerzas muy débiles involucradas en sistemas biológicos, tales como la fuerza aplicada para detener una bacteria en movimiento o para investigar la fuerza involucrada en motores proteínicos.

Existe un doble interés por medir la fuerza aplicada por un sistema de pinzas ópticas. La primera relaciona la física de la pinza óptica por si misma, en el sentido de comparación de la fuerza experimental obtenida con el valor esperado teóricamente. La segunda razón es más practica, en el sentido de que para muchas aplicaciones se requiere un conocimiento exacto de la fuerza óptica aplicada a la partícula o molécula atrapada.

Hay tres métodos para medir la constante elástica  $k$  y así obtener la fuerza aplicada por un sistema de pinzas ópticas, dos de ellos se basan en el estudio del movimiento Browniano de la partícula atrapada (método de equipartición y método de la densidad espectral de potencia). El tercer método (método de fuerza de arrastre), hace uso de la viscosidad de arrastre generado por un movimiento relativo de la partícula atrapada con respecto al líquido que lo rodea. Estos tres métodos son descritos en la sección 3.2.

En este trabajo, presentamos el diseño y construcción de un sistema de pinzas ópticas combinado con un detector de cuadrante, para medir la constante elástica  $k$ . Los resultados para esta constante, son obtenidos utilizando el método de densidad espectral de potencia, ya que ofrece ventajas sobre los otros métodos. Una de las ventajas de este método, es que el detector de cuadrante no requiere de una calibración precisa para la detección de movimiento de la partícula atrapada. La variable de interés es el desplazamiento  $x$  de la partícula fuera del centro de la trampa, como se explicara en el capítulo 3.

En el capítulo 2, se dará algunos conceptos preliminares como lo son las ecua-

ciones de Maxwell, el momento y presión de radiación, que son conceptos necesarios para entender y comprender mejor el principio básico de funcionamiento de las pinzas ópticas.

En el capítulo 3, hablaremos sobre la física de las pinzas ópticas, los regímenes en los cuales se divide el atrapamiento óptico; así como los métodos para medir la constante elástica y de esta manera saber la fuerza ejercida por una pinza óptica a partículas de tamaño micrométrico.

En el capítulo 4, presentamos el diseño y construcción de un sistema de pinzas ópticas, combinado con un fotodiodo de cuadrante, utilizado para atrapar y detectar el desplazamiento de partículas de tamaño micrométrico. Además, se presenta el modelo teórico utilizado para detectar dichos desplazamientos.

En el capítulo 5, se muestran los resultados obtenidos por este diseño, para la medición de la constante elástica de la pinza óptica, sobre partículas micrométricas de vidrio diluidas en agua, utilizando el método de densidad espectral de potencia.

Finalmente, en el capítulo 6 los resultados presentados anteriormente son discutidos y comparados a la literatura, así como las conclusiones de este trabajo.

# Capítulo 2

## Conceptos Preliminares

En esta sección del capítulo se dará algunos conceptos preliminares a la teoría electromagnética y un breve desarrollo de las ecuaciones de Maxwell; además, se revisaran los conceptos de momento y presión de radiación. Estos conceptos son necesarios para comprender el principio básico de funcionamiento de las pinzas ópticas de una manera mucho más detallada.

### 2.1. Teoría Electromagnética de la luz y los fotones

El trabajo de James Clerk Maxwell y los desarrollos posteriores desde finales del siglo XIX pusieron de manifiesto que la luz tiene naturaleza electromagnética. La electrodinámica clásica conduce a la idea de una transferencia continua de energía por medio de ondas electromagnéticas. En cambio, el punto de vista más moderno de la electrodinámica cuántica describe las interacciones electromagnéticas y el transporte de energía en términos de “partículas” elementales sin masa, denominadas **fotones**. El fotón tiene masa cero y, por consiguiente, puede

imaginarse que en un haz de luz hay un número sumamente grande de fotones. La energía transportada por un gran número de fotones es, en promedio, equivalente a la energía transferida por una onda electromagnética clásica [23].

El tratamiento mecánico-cuántico asocia una ecuación de onda con una partícula, sea ésta un fotón, electrón, protón, etc. En el caso de partículas materiales, los aspectos ondulatorios se introducen por medio de la ecuación de campo, conocida como ecuación de Schrodinger. Para la luz, tenemos una representación de la naturaleza ondulatoria en la forma de las ecuaciones de campo electromagnético de Maxwell. Con éstas como punto de partida se puede construir una teoría mecánico-cuántica de fotones y su interacción con las cargas. La doble naturaleza de la luz se pone de manifiesto por el hecho de que se propaga en el espacio como lo hace una onda, demostrando, sin embargo, un comportamiento de partícula durante los procesos de emisión y absorción cuando existe interacción con la materia. La energía radiante electromagnética en estos casos es emitida y absorbida en cuantos o también llamados fotones y no de forma continua como sucede con una onda clásica. No obstante, su movimiento a través de una lente, un agujero o conjunto de rendijas, está supeditado a sus características ondulatorias (tal es el caso de los efectos de interferencia y difracción) [24].

## 2.2. Las ecuaciones de Maxwell

En electromagnetismo, las **ecuaciones de Maxwell** son un conjunto de cuatro ecuaciones (Figura 2.1) que fueron primeramente presentadas como un grupo notable en 1884 por Oliver Heaviside en conjunto con Josiah Willard Gibbs. Estas ecuaciones habían aparecido en una publicación de Maxwell en 1861 titulada *On Physical Lines of Force*. Estas describen la interrelación entre los campos eléctricos, los campos magnéticos, la carga eléctrica y la corriente eléctrica, y Maxwell fue el creador de solo una de estas ecuaciones por sí mismo (vía la modificación de una

**CAPÍTULO 2. CONCEPTOS PRELIMINARES**  
**2.2. LAS ECUACIONES DE MAXWELL**

---

ecuación que ya existía), el las derivó todas independientemente en conjunción con su modelo de vórtice molecular de las líneas de fuerza de Faraday. Maxwell introdujo un término extra a la ley circuital de Ampère la cual es una derivada temporal del campo eléctrico y conocida como la corriente de desplazamiento de Maxwell. Esta modificación es el aspecto más significativo del trabajo de Maxwell en electromagnetismo.

Nombre	Forma diferencial	Forma integral
Ley de Gauss:	$\nabla \cdot \mathbf{D} = \rho$	$\oint_S \mathbf{D} \cdot d\mathbf{A} = \int_V \rho dV$
Ley de Gauss para el campo magnético (ausencia de monopolo magnético):	$\nabla \cdot \mathbf{B} = 0$	$\oint_S \mathbf{B} \cdot d\mathbf{A} = 0$
Ley de Faraday:	$\nabla \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t}$	$\oint_C \mathbf{E} \cdot d\mathbf{l} = -\frac{d}{dt} \int_S \mathbf{B} \cdot d\mathbf{A}$
Ley de Ampère generalizada:	$\nabla \times \mathbf{H} = \mathbf{J} + \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t}$	$\oint_C \mathbf{H} \cdot d\mathbf{l} = \int_S \mathbf{J} \cdot d\mathbf{A} + \frac{d}{dt} \int_S \mathbf{D} \cdot d\mathbf{A}$

Figura 2.1: Ecuaciones de Maxwell en su forma diferencial e integral.

Suponiendo un material lineal, isotrópico, dieléctrico sin corrientes ni cargas libres, estas ecuaciones toman la forma:

$$\nabla \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t} \quad (2.1)$$

$$\nabla \times \mathbf{H} = \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t} \quad (2.2)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{E} = 0 \quad (2.3)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{B} = 0 \quad (2.4)$$

Donde  $\mathbf{D}=\epsilon\mathbf{E}$  y  $\mathbf{B}=\mu\mathbf{H}$ . El parámetro  $\epsilon$  es la permitividad (o constante dieléctrica) y  $\mu$  es la permeabilidad del medio. Una relación del fenómeno de onda de los campos electromagnéticos pueden ser derivada de las ecuaciones de Maxwell. Tomando el rotacional de la Ecuación

(2.1) y haciendo uso de la ecuación (2.2), obtenemos:

$$\nabla X(\nabla X \mathbf{E}) = -\mu \frac{\partial}{\partial t}(\nabla X \mathbf{H}) = -\epsilon\mu \frac{\partial^2 \mathbf{E}}{\partial t^2} \quad (2.5)$$

Usando el vector identidad

$$\nabla X(\nabla X \mathbf{E}) = \nabla(\nabla \cdot \mathbf{E}) - \nabla^2 \mathbf{E} \quad (2.6)$$

Y usando la Ecuación (2.3), la Ecuación (2.5) llega a ser:

$$\nabla^2 \mathbf{E} = \epsilon\mu \frac{\partial^2 \mathbf{E}}{\partial t^2} \quad (2.7)$$

Similarmente, tomando el rotacional de la Ecuación (2.2), puede ser mostrado que:

$$\nabla^2 \mathbf{H} = \epsilon\mu \frac{\partial^2 \mathbf{H}}{\partial t^2} \quad (2.8)$$

Las Ecuaciones (2.7) y (2.8) son llamadas **Ecuaciones de onda**.

## 2.3. Momento y presión de radiación

En 1619, Johannes Kepler sugirió que era la presión de la luz solar lo que desviaba la cola de un cometa de manera que siempre apuntaba lejos del Sol [23]. Fue Maxwell en 1873 quien volvió a sacar este tema estableciendo, en teoría, que las ondas ejercen efectivamente una presión. “En un medio en el que las ondas se propagan”, escribió Maxwell, “hay una presión en la dirección normal a las ondas, numéricamente igual a la energía en una unidad de volumen”. Cuando una onda electromagnética incide en la superficie de un material, interacciona con las cargas que constituyen el material masivo. Independientemente de que la onda sea absorbida parcialmente o reflejada, ejerce una fuerza sobre aquellas cargas y, por consiguiente, sobre la superficie misma.

Es posible calcular la fuerza resultante por la teoría electromagnética, en la que la segunda Ley de Newton (según la cuál la fuerza equivale a la razón de cambio

del momento) sugiere que la onda misma lleva un momento. Realmente, cuando tenemos un flujo de energía, es normal pensar que haya un momento asociado, se trata de los dos aspectos relacionados de tiempo y espacio del movimiento.

Como demostró Maxwell, la **presión de radiación**  $\mathcal{P}$ , equivale a la densidad de energía de la onda electromagnética. Podemos expresar la presión en términos de la magnitud del vector de *Poyting*  $S(t)$  y la velocidad de la luz  $c$ , dada por [25]:

$$\mathcal{P} = \frac{S(t)}{c} \quad (2.9)$$

Observe que la ecuación (2.9) tiene unidades de fuerza dividido por el área. Esta es la presión instantánea que se ejercería en una superficie perfectamente absorbente por un haz incidente normalmente. Puesto que los campos  $\mathbf{E}$  y  $\mathbf{B}$  cambian rápidamente,  $S(t)$  cambia rápidamente también, por lo tanto por razones prácticas nos ocupamos de la presión de radiación media, es decir,

$$\langle \mathcal{P}(t) \rangle = \frac{\langle S(t) \rangle_T}{c} = \frac{I}{c} \quad (2.10)$$

Esta misma presión se ejerce en una fuente que ella misma irradia energía. Si  $p$  es el momento, la fuerza ejercida por el rayo en una superficie absorbente  $A$  es,

$$A\mathcal{P} = \frac{\Delta p}{\Delta t} \quad (2.11)$$

Si  $p_v$  es el *momento por unidad de volumen de la radiación*, entonces una cantidad de momento  $\Delta p = p_v(c \Delta t A)$  es transportada hacia  $A$  durante cada intervalo de tiempo  $\Delta t$ , y,

$$A\mathcal{P} = \frac{p_v(c\Delta t A)}{\Delta t} = A \frac{S(t)}{c} \quad (2.12)$$

Por lo tanto, la densidad de volumen del momento electromagnético es,

$$p_v = \frac{S(t)}{c^2} \quad (2.13)$$



**CAPÍTULO 2. CONCEPTOS PRELIMINARES**  
**2.3. MOMENTO Y PRESIÓN DE RADIACIÓN**

---

Cuando la superficie iluminada es perfectamente reflectora, el rayo que entró con una velocidad  $+c$ , saldrá con una velocidad  $-c$ . Esto equivale a dos veces el cambio de momento que ocurre en la absorción, y por tanto,

$$\langle \mathcal{P}(t) \rangle_T = 2 \frac{\langle S(t) \rangle_T}{c} \quad (2.14)$$

En la imagen del fotón, cada cuanto tiene una energía  $\mathcal{E} = h\nu$ . Por lo tanto, podemos pensar que un fotón lleve un momento,

$$p = \frac{\mathcal{E}}{c} = \frac{h}{\lambda} \quad (2.15)$$

y su momento vectorial sería,

$$\mathbf{p} = \hbar \mathbf{k} \quad (2.16)$$

Donde  $\mathbf{k}$  es el vector de onda y  $\hbar = h/(2\pi)$ . La presión ejercida por la luz fue medida en 1901 por el científico Ruso Pyotr Nikolaievich Lebedev (1866-1912) e independientemente, por los Americanos Ernst Fox Nichols (1869-1924) y Gordon Ferrie Hull (1870-1956), por consiguiente, se ha vuelto importante considerar la presión de radiación para cualquier aplicación como la separación de isótopos, la aceleración o atrapamiento de partículas y hasta la levitación óptica de pequeños objetos.

# Capítulo 3

## La física de las pinzas ópticas

En este capítulo, hablaremos sobre el principio de funcionamiento de las pinzas ópticas. En el capítulo 2, mencionamos que los fotones transportan un momento  $\mathcal{P}$  dado por la ecuación (2.15); este momento puede ser transferido a objetos mediante colisiones y ejercer una fuerza sobre el objeto. Para objetos macroscópicos, la fuerza ejercida por una fuente de luz típica es muy débil para producir un efecto medible.

Sin embargo, para objetos de dimensiones microscópicas ( $<100 \mu\text{m}$ ) puede tener efectos considerables, como fue observado por Ashkin [26] en 1970 para esferas de latex de 0.59 a 2.68 micrómetros. Un haz laser fuertemente enfocado puede ser usado para atrapar objetos microscópicos en tres dimensiones, de esta manera uno habla de **trampas ópticas** o en un sentido mas figurado **pinzas ópticas**.

### 3.1. Teoría de atrapamiento óptico

La descripción teórica sobre el efecto de atrapamiento óptico depende de varios parámetros: el tamaño, la forma y el índice de refracción de la partícula atrapada; la longitud de onda y la potencia del laser de atrapamiento y la apertura numérica del

objetivo de microscopio [27]. Uno habla del **régimen de óptica de rayos**, cuando la dimensión del objeto  $d$  es mucho más grande que la longitud de onda del laser de atrapamiento:  $d \gg \lambda$ . En este caso, los efectos de difracción pueden ser despreciados y las fuerzas de atrapamiento de la luz pueden ser explicadas 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 limites para obtener una estimación cuantitativa para las fuerzas de atrapamiento, esta propuesta es nombrada como **régimen generalizado de Lorenz-Mie**.

Svodoba y Block han descrito el uso de las pinzas ópticas en investigación biofísica, incluyendo un artículo en una revista sobre los calculos teóricos en todos los regímenes [28].

### 3.1.1. Régimen de óptica de rayos

En el régimen de óptica de rayos, las fuerzas de atrapamiento pueden ser explicadas en términos de refracción de los rayos de luz entre medios con diferente índice de refracción (ver referencias [26], [29], [30] y [31]). El principio básico de operación de las pinzas ópticas es la transferencia del momento de la luz que impacta en la partícula. La luz tiene un momento que es proporcional a su energía en la dirección de propagación.

La Figura 3.1 describe cualitativamente el origen de las fuerzas de atrapamiento en este régimen, si los rayos  $p_1$  y  $p_2$  provienen de un haz laser con diferente intensidad, los cambios de momento de estos rayos ( $\Delta p_1$  y  $\Delta p_2$  respectivamente) difieren en magnitud, la conservación del momento dicta que la partícula debe experimentar un cambio de momento igual y opuesto ( $-\Delta p_1$  y  $-\Delta p_2$ ). Por lo tanto aparecerá una fuerza

que actuará sobre la partícula. La suma de fuerzas de todos los rayos incidentes pueden separarse en dos componentes: fuerza de esparcimiento o fuerza de presión de radiación que tiene la dirección de propagación de la luz y fuerzas de gradiente. La fuerza de gradiente es una fuerza restauradora que empuja la partícula al centro (Figura 3.1.a). Esta fuerza restauradora funciona como un resorte óptico. En la práctica, la partícula esta moviéndose constantemente por el efecto Browniano, pero si la partícula abandona el centro de la trampa, la fuerza restauradora la vuelve a empujar hacia él. La fuerza de esparcimiento provoca que la partícula sea empujada fuera del foco (a lo largo de la dirección  $+z$ ), la partícula se encuentra en una trampa estable si la fuerza de esparcimiento a lo largo de la dirección  $+z$  es compensada por la fuerza de gradiente a lo largo de la dirección  $-z$  (Figura 3.1.b-c).

Roosen e Imbert [32] han calculado las fuerzas ópticas sobre una esfera dispersora debido a un rayo de luz de potencia  $P$ , usando los coeficientes de Fresnel de transmisión y reflexión  $T$  y  $R$  (ver, por ejemplo, Hecht [23]). Para la fuerza de esparcimiento ellos encontraron,

$$F_s = \frac{n_1 P}{c} \left\{ 1 + R \cos 2\theta - T^2 \frac{\cos(2\theta - 2\phi) + R \cos 2\theta}{1 + R^2 + 2R \cos 2\phi} \right\} \hat{\mathbf{u}}_{\parallel} \quad (3.1)$$

$$F_s \equiv \frac{n_1 P Q_s}{c} \hat{\mathbf{u}}_{\parallel} \quad (3.2)$$

Donde  $n_1$  es el índice de refracción del medio,  $\theta$  y  $\phi$  los ángulos de incidencia y refracción,  $c$  la velocidad de la luz y  $\hat{\mathbf{u}}_{\parallel}$  un vector unitario al rayo incidente. El termino  $n_1 P/c$  es el momento por segundo del rayo de luz.

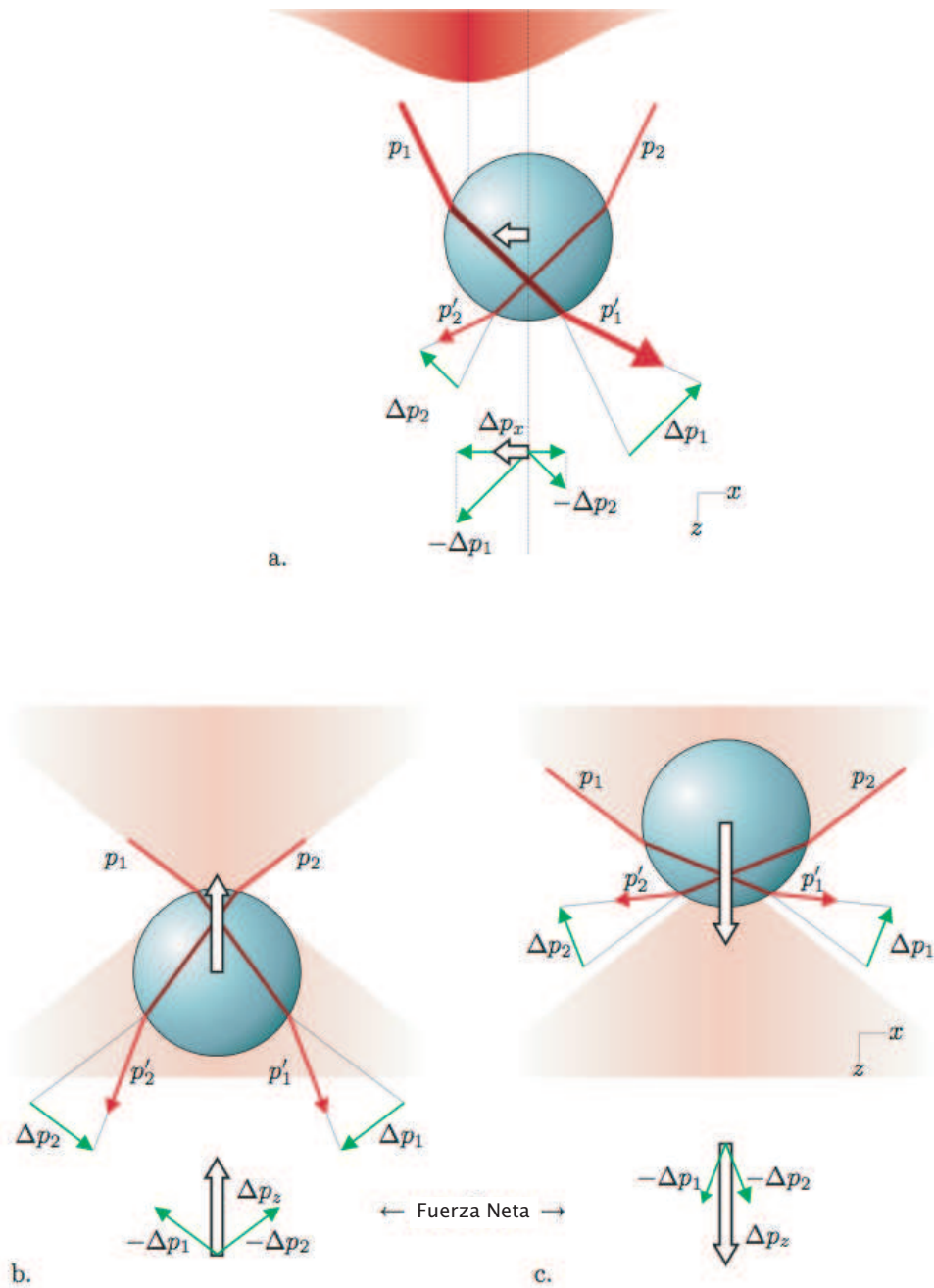


Figura 3.1: Descripción cualitativa del origen de las fuerzas de atrapamiento. Figura a) muestra la fuerza de gradiente lateral. Figuras b) y c), muestra la fuerza neta en sus respectivas direcciones.

**CAPÍTULO 3. LA FÍSICA DE LAS PINZAS ÓPTICAS**  
**3.1. TEORÍA DE ATRAPAMIENTO ÓPTICO**

---

El ángulo  $\phi$  relaciona al ángulo  $\theta$  mediante la ley de refracción de Snell:  $\frac{n_2}{n_1} = \frac{\sin\theta}{\sin\phi}$ , con  $n_2$  el índice de refracción de la partícula. Similarmente, encontraron para la fuerza de gradiente,

$$F_g = \frac{n_1 P}{c} \left\{ R \sin 2\theta - T^2 \frac{\sin(2\theta - 2\phi) + R \sin 2\theta}{1 + R^2 + 2R \cos 2\phi} \right\} \hat{\mathbf{u}}_{\perp} \quad (3.3)$$

$$F_g \equiv \frac{n_1 P Q_g}{c} \hat{\mathbf{u}}_{\perp} \quad (3.4)$$

La suma vectorial de estas dos componentes de fuerza (ecuaciones 3.2 y 3.4) nos dan la magnitud de la fuerza debido a un solo rayo de potencia  $P$ :

$$F_{tot} = \frac{n_1 P}{c} \sqrt{Q_s^2 + Q_g^2} \equiv \frac{n_1 P}{c} Q\left(\theta, \frac{n_2}{n_1}, R, T\right) \quad (3.5)$$

La fuerza total sobre la partícula es encontrada sumando todos los rayos que pasan a través de ella. Cabe mencionar que el esquema anterior de la Figura 3.1, es válido siempre que el índice de refracción de la partícula sea mayor que del medio que lo rodea ( $n_2 > n_1$ ). En caso contrario ( $n_2 < n_1$ ), se puede hacer un análisis semejante y se encontrará que la fuerza neta de gradiente provoca que la partícula sea repelida de las regiones de máxima intensidad [3]. Ashkin ha trabajado en estos cálculos para un haz laser con perfil de intensidad Gaussiano [31].

### 3.1.2. Régimen de Rayleigh

En el régimen de Rayleigh ( $d \ll \lambda$ ), las partículas atrapadas son tratadas como dipolos, como el campo electromagnético es constante sobre la escala de la partícula. La fuerza de esparcimiento esta dada por,

$$F_s = n_1 \frac{\langle \mathbf{S} \rangle \sigma}{c} \quad (3.6)$$

Donde  $\langle \mathbf{S} \rangle$  es el vector de Poyting promediado en el tiempo de la onda electromagnética y  $\sigma = \sigma(d, \lambda, \frac{n_2}{n_1})$  la sección transversal de esparcimiento de una partícula de diámetro  $d$ . La fuerza de gradiente es la *Fuerza de Lorentz* actuando sobre el dipolo inducido por la onda electromagnética.

$$F_g = \frac{\alpha}{2} \nabla \langle E^2 \rangle \quad (3.7)$$

Donde  $E$  es el campo eléctrico y  $\alpha = \alpha(d^3, \frac{n_2}{n_1})$  la *polarizabilidad* de la partícula.

### 3.1.3. Régimen generalizado de Lorenz-Mie

La aproximación de Rayleigh falla para partículas que tienen un radio comparable con la longitud de onda ( $d \approx \lambda$ ). La Teoría Generalizada de Lorenz-Mie GLMT (por sus siglas en inglés, *Generalized Lorenz – Mie Theory*) es una extensión de la teoría de Mie del esparcimiento, la cual permite calcular el campo esparcido y las fuerzas de radiación ejercidas sobre una partícula de tamaño arbitrario, colocada en un haz de perfil de intensidad Gaussiano [33]. En la GLMT, las fuerzas ópticas están escritas en términos de tres secciones transversales para la presión de radiación de acuerdo a la siguiente relación:

$$\mathbf{F}(\mathbf{r}) = \frac{n_2}{c} I_o [\hat{x} C_{pr,x}(\mathbf{r}) + \hat{y} C_{pr,y}(\mathbf{r}) + \hat{z} C_{pr,z}(\mathbf{r})] \quad (3.8)$$

Donde  $I_o = 2P/\pi\omega_o^2$  es la intensidad del haz en la cintura mínima, siendo  $P$  la potencia del laser. Las expresiones detalladas para las secciones transversales  $C_{pr,i}$  estan dadas en las referencias [33] a la [38], mientras que los calculos numéricos son reportados en [39].

## 3.2. Métodos de medición de la constante elástica

Una partícula en una trampa óptica no se encuentra completamente inmóvil, existen fluctuaciones térmicas que producen que la partícula realice movimiento Browniano mientras es atrapada. Lo que provoca que la partícula abandone el centro de la trampa, pero la fuerza de gradiente es una fuerza restauradora que empuja la partícula de nuevo hacia el centro, por lo tanto, la trampa óptica puede ser comparada con un resorte simple que sigue la ley de Hooke (Figura 3.2). En el régimen de pequeños desplazamientos, la interacción de la partícula atrapada es aproximadamente el de un potencial armónico y la fuerza es comúnmente nombrada “*rigidez de la pinza óptica*” o “*constante elástica*”, dicha constante es controlada mediante la potencia del haz laser [40].

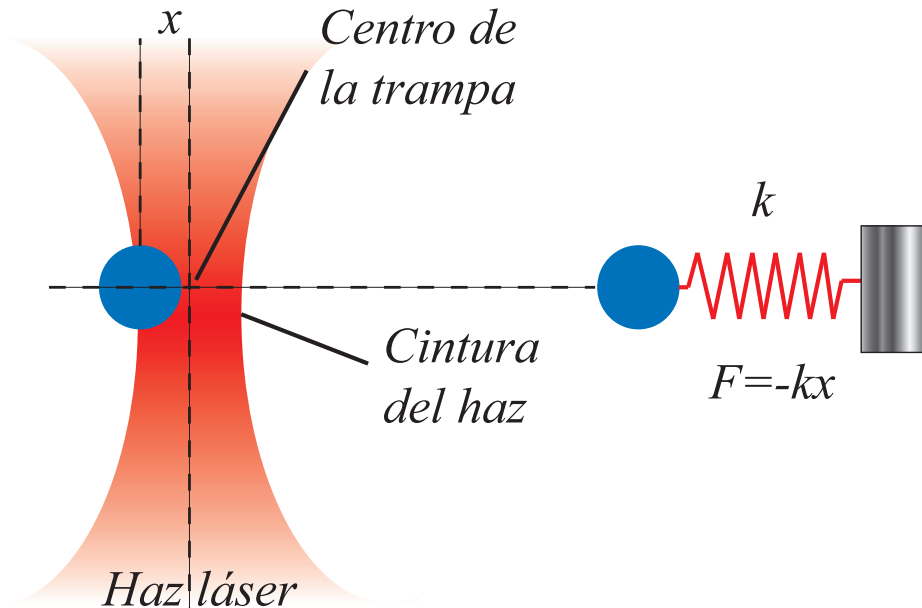


Figura 3.2: La trampa o pinza óptica actúa como un resorte lineal y entonces la constante elástica  $k$  puede ser calculada midiendo el desplazamiento  $x$  y la fuerza externa  $F$  sobre la partícula.



Existen tres maneras de medir la constante elástica o rigidez de la pinza óptica, dos de ellas involucran la observación del movimiento Browniano de la partícula mientras es atrapada y la tercera involucra el uso de la viscosidad de arrastre generado por un movimiento relativo de la partícula con respecto al líquido que lo rodea. En particular, la variable de interés para nosotros es el desplazamiento o posición “ $x$ ” de la partícula con respecto al origen, comúnmente este origen es tomado como el centro de la trampa o pinza óptica [41]. Estos tres métodos son descritos a continuación.

### 3.2.1. Método de densidad espectral de potencia

En una trampa óptica, la interacción entre el láser y la partícula atrapada puede ser descrita por un potencial armónico; en tal caso, la ecuación de movimiento para la partícula atrapada está dada por la teoría de Einstein-Orrnstein-Uhlenbeck ( ver referencia [27]), que puede ser descrita por la ecuación de Langevin (en una sola dimensión) dada por:

$$m\ddot{x}(t) + \gamma_o\dot{x}(t) + kx(t) = (2K_\beta T\gamma_o)^{\frac{1}{2}}\eta(t) \quad (3.9)$$

Donde  $m$  es la masa de la partícula,  $x(t)$  su posición en el tiempo,  $\gamma_o$  es el coeficiente de fricción,  $-kx(t)$  la fuerza armónica de la trampa,  $K_\beta$  la constante de Boltzman y  $(2K_\beta T\gamma_o)^{\frac{1}{2}}\eta(t)$  representa la distribución Gaussiana aleatoria de la fuerza Browniana a una temperatura  $T$  (°K). Para todo  $t$  y  $t'$ ,  $\eta(t)$  satisface:

$$\langle \eta(t) \rangle = 0; \quad \langle \eta(t)\eta(t') \rangle = \delta(t - t') \quad (3.10)$$

De la *Ley de Stokes* para una partícula esférica se cumple [40],

$$\gamma_o = 6\pi\rho\nu R \quad (3.11)$$

Donde  $\rho\nu$  es la viscosidad del fluido,  $\rho$  es la densidad del fluido,  $\nu$  es la viscosidad cinemática y  $R$  el radio de la partícula.

Una partícula de tamaño micrométrico atrapada ópticamente en un medio acuoso es un sistema sobre-amortiguado, por lo que el termino inercial puede ser despreciado de la ecuación 3.9 y dividiendo esta ecuación entre  $\gamma_o$ , obtenemos:

$$\dot{x}(t) + \frac{kx(t)}{\gamma_o} = \frac{(2K_\beta T \gamma_o)^{\frac{1}{2}} \eta(t)}{\gamma_o} \quad (3.12)$$

Definimos la frecuencia de corte (también llamada respuesta de la partícula o frecuencia roll-off) como [41],

$$f_c \equiv \frac{k}{2\pi\gamma_o} \quad (3.13)$$

Sustituyendo esta frecuencia en la ecuación 3.12, se obtiene [42]:

$$\dot{x}(t) + 2\pi f_c x(t) = \left(\frac{2K_\beta T}{\gamma_o}\right)^{\frac{1}{2}} \eta(t) \quad (3.14)$$

Podemos encontrar el espectro de potencia para  $x(t)$ , tomando la transformada de Fourier de la ecuación anterior,

$$\mathcal{F}[\dot{x}(t)] + 2\pi f_c \mathcal{F}[x(t)] = \left(\frac{2K_\beta T}{\gamma_o}\right)^{\frac{1}{2}} \mathcal{F}[\eta(t)] \quad (3.15)$$

$$\Rightarrow (-2\pi i f_k) \tilde{x}_k(t) + 2\pi f_c \tilde{x}(t) = \left(\frac{2K_\beta T}{\gamma_o}\right)^{\frac{1}{2}} \tilde{\eta}_k(t) \quad (3.16)$$

Reordenando terminos,

$$\tilde{x}_k(t) = \left(\frac{2K_\beta T}{\gamma_o}\right)^{\frac{1}{2}} \frac{\tilde{\eta}_k(t)}{2\pi(f_c - if_k)} \quad (3.17)$$

Donde  $\tilde{x}_k(t)$  y  $\tilde{\eta}_k(t)$  son sus respectivas transformadas de Fourier. De la ecuación 3.10, tenemos:

$$\langle \tilde{\eta}_k \rangle = 0; \quad \langle \tilde{\eta}_k^* \tilde{\eta}_l \rangle = T_{msr} \delta_{k,l} \quad (3.18)$$

Donde  $\eta(t)$  es un proceso Gaussiano estocástico,  $(\text{Re } \tilde{\eta}_k)_{k=0,1,\dots}$  e  $(\text{Im } \tilde{\eta}_k)_{k=1,2,\dots}$  son variables aleatorias no correlacionadas con distribución Gaussiana. Consecuentemente,  $(|\tilde{\eta}_k|^2)_{k=1,2,\dots}$  son variables aleatorias positivas no correlacionadas con distribución exponencial. Por lo tanto, los valores experimentales para el espectro de potencia son,

$$P_k^{(exp)} \equiv \frac{|\tilde{x}_k|^2}{T_{msr}} = \frac{K_\beta T}{\gamma_o} \frac{|\tilde{\eta}_k|^2}{2\pi^2 T_{msr} (f_c^2 + f_k^2)} \quad (3.19)$$

Con  $T_{msr}$  el tiempo promedio de medición, para  $k > 0$ , el valor esperado es una Lorentziana [43],

$$P_k \equiv \langle P_k^{(exp)} \rangle = \frac{K_\beta T}{2\pi^2 \gamma_o (f_c^2 + f_k^2)} \quad (3.20)$$

Aquí  $P_k$  es la *densidad espectral de potencia (DEP)* a la frecuencia  $f_k$ , la cual es una Lorentziana y sus unidades son *desplazamiento*<sup>2</sup>/Hz. Ajustando esta Lorentziana a las curvas de la DEP obtenidas experimentalmente, se obtiene la frecuencia de corte  $f_c$ . Por lo tanto, es posible encontrar la constante elástica de la pinza óptica despejando  $k$  de la ecuación 3.13.

$$k = 2\pi\gamma_o f_c \quad (3.21)$$

sustituyendo la ecuación 3.11 en la ecuación 3.21, obtenemos:

$$k = 12\pi^2 \rho \nu R f_c \quad (3.22)$$

La ecuación 3.22 nos da la rigidez de la pinza óptica, midiendo el desplazamiento  $\Delta x$  podemos saber la fuerza ejercida por una pinza óptica sobre la partícula en un potencial armónico, mediante la ecuación:

$$F = -k\Delta x \quad (3.23)$$

Para un coeficiente de fricción constante,  $k$  incrementa linealmente debido a incrementos en la potencia del laser de la pinza óptica [40]. La ventaja de este método sobre los otros dos, es que el sistema de detección no requiere una calibración precisa del movimiento de la partícula, solo depende de la frecuencia de corte obtenida de las curvas de la densidad espectral de potencia; sin embargo, la calibración obtenida por este método es valida solamente para pequeños desplazamientos, para el cual una aproximación lineal a la señal de posición es valida [44].

### 3.2.2. Método de equipartición

Las fluctuaciones térmicas de una partícula atrapada pueden también ser usadas para obtener la constante elástica o rigidez de la pinza óptica a través del **teorema de equipartición** (ver referencias [41], [44] y [45]). Este teorema nos dice que *la energía total en un sistema esta dividida entre sus grados de libertad*, en nuestro caso tenemos dos grados de libertad que son  $x$  y  $y$ , obteniendo así la siguiente ecuación:

$$\frac{1}{2}K_\beta T = \frac{1}{2}k\langle x^2 \rangle \quad (3.24)$$

Por lo tanto,

$$k = \frac{K_{\beta}T}{\langle x^2 \rangle} \quad (3.25)$$

Donde  $K_{\beta}$  es la constante de Boltzman,  $T$  la temperatura absoluta y  $x$  es el desplazamiento de la partícula. Por lo tanto, midiendo el promedio del cuadrado del desplazamiento de la partícula, cuando la temperatura es conocida, la constante elástica de la trampa puede ser determinada. Una ventaja primaria de este método, es que no depende explícitamente del coeficiente de fricción ni del radio de la partícula (aunque, la forma y tamaño de la partícula así como las propiedades del medio que lo rodea influyen en la calibración de la posición). El ancho de banda requerido para el sistema de detección de la posición es el mismo que para el método de densidad espectral de potencia, con un requerimiento adicional de que el detector debe ser calibrado.

A diferencia del método de densidad espectral de potencia, el método de equipartición no proporciona información acerca de la trampa o el sistema de detección. Por esta razón, uno debe tener cuidado cuando se mide la fuerza de la trampa, por que la variación del desplazamiento es una estimación parcial (debido a que el cuadrado de una cantidad es siempre positiva).

### 3.2.3. Método de arrastre

El método de arrastre, mide el desplazamiento de una partícula atrapada fuera del centro de la trampa óptica, este desplazamiento es causado por la fuerza de arrastre externa debida al flujo del fluido y la fuerza restauradora de la trampa. Esta medición puede ser obtenida colocando la muestra en una montura de traslación o en un piezo-eléctrico y controlar la velocidad de movimiento o en su defecto por capilaridad como se muestra en la figura 3.3, generando un flujo de arrastre alrededor de la partícula atrapada. Para una partícula esférica la fuerza de arrastre es  $6\pi\rho\nu RV$ , donde  $V$  es la velocidad del fluido. La constante elástica de la trampa  $k$ , multiplicada

**CAPÍTULO 3. LA FÍSICA DE LAS PINZAS ÓPTICAS**  
**3.2. MÉTODOS DE MEDICIÓN DE LA CONSTANTE ELÁSTICA**

---

por el desplazamiento  $x$  de la partícula, puede ser igualada a esta fuerza como,

$$F_{drag} = kx \quad (3.26)$$

$$6\pi\eta RV = kx \quad (3.27)$$

Por lo tanto, si se conoce el desplazamiento de la partícula  $x$  y la fuerza de arrastre, podemos despejar de la ecuación 3.27 la constante elástica  $k$  producida por la pinza óptica. Las desventajas de este método en comparación a los dos descritos anteriormente, es que se necesita una excelente calibración de la montura de traslación o el piezo-eléctrico, para obtener una buena estimación del coeficiente de arrastre. Además, cabe mencionar que si la partícula se encuentra cerca de la superficie del cubre o portaobjetos, esta experimentara efectos en la frontera que pueden afectar la fuerza de arrastre.

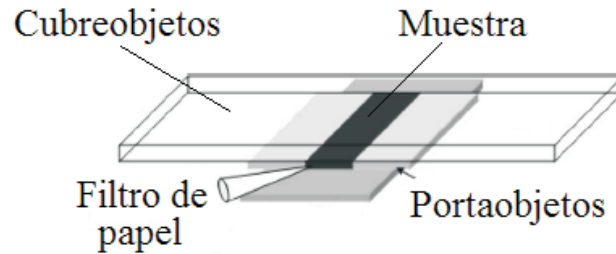


Figura 3.3: Diagrama de una cámara de flujo construida por un cubre y portaobjetos. El filtro de papel puede ser utilizada para crear un flujo en la muestra por capilaridad.

# Capítulo 4

## Método experimental

En este capítulo presentamos el diseño y construcción de un sistema de pinzas ópticas, utilizado para atrapar y detectar el desplazamiento de partículas de tamaño microscópico. El arreglo es combinado con un sistema de detección de posición, el cual consiste de un fotodiodo de cuadrante QPD (Quadrant Photodiode) y una tarjeta de adquisición de datos (SCB-68). Además, se presenta el modelo teórico utilizado para determinar el desplazamiento de la partícula en la trampa óptica, así como la electrónica del sistema de detección y el programa realizado en LabView para manipular el detector de cuadrante.

### 4.1. Preparación de la muestra

Para poder atrapar las partículas es necesario depositarlas en una cámara de atrapamiento. En nuestro caso se utilizó un portaobjetos como base de la cámara, en el cual se adhirió un espaciador ( $\approx 120 \mu\text{m}$  de espesor) con un orificio en el centro de 1 cm de diámetro. Dentro del orificio del espaciador se colocaron partículas de vidrio (CAT# 17134 Polysciences, Inc.)

de  $3 \mu\text{m}$  de diámetro disueltas en agua. Posteriormente se colocó un cubreobjetos sobre el espaciador y el portaobjetos (Figura 4.1). El objetivo de microscopio utilizado en este arreglo fué para inmersión en aceite, por lo que se agregó sobre la superficie del cubreobjetos una gota de aceite para inmersión, con el fin de que el cambio de índice de refracción entre el objetivo y el cubreobjetos fuese el mínimo y minimizar las pérdidas por reflexión de luz.

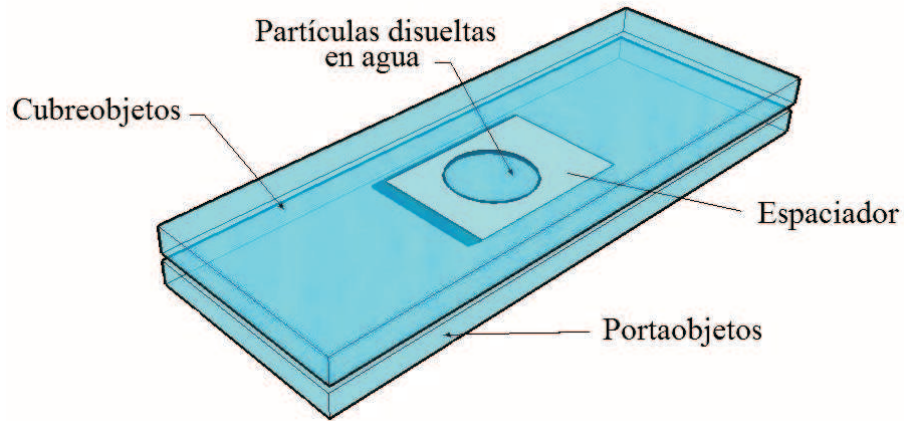


Figura 4.1: Preparación de la muestra.

## 4.2. Trayectoria del haz de atrapamiento

En este arreglo utilizamos un laser de Nd:YAG con longitud de onda  $\lambda=1064$  nm. A esta longitud de onda el agua muestra un mínimo local en el espectro de absorción, lo cual representa una importante ventaja para manipulación no invasiva si se desea trabajar con partículas biológicas.

El haz laser primero es reflejado por dos espejos (M1 y M2), esto con el fin de facilitar la alineación y aumentar la altura entre el haz y la superficie de la mesa de trabajo. Posteriormente es reflejado por un espejo dicroico (SM2-47950 de Edmund) hacia un objetivo de microscopio 100X con abertura numérica 1.25. La luz a la



## CAPÍTULO 4. MÉTODO EXPERIMENTAL

### 4.2. TRAYECTORIA DEL HAZ DE ATRAPAMIENTO

salida del objetivo es fuertemente enfocada hacia la muestra y de acuerdo a la teoría descrita anteriormente, los cambios en la rapidez y/o dirección de propagación de la luz debidos a la reflexión y refracción implican un cambio en el momento lineal de la luz incidente, lo cual a su vez genera fuerzas que actúan sobre la partícula, de tal manera que la partícula es empujada o atraída por la luz hacia los puntos donde existe un equilibrio de fuerzas (figura 3.1).

La luz laser después de atravesar la muestra es colimada por un condensador de 25.4 mm de diámetro y distancia focal  $f=50$  mm (LA1131-B de Thorlabs), la cual es reflejada por otro dicroico (SM2-47950 de Edmund) y enfocada por medio de una lente de 25.4 mm de diámetro y distancia focal  $f_1=100$  mm (LA1509-B de thorlabs), hacia el detector de cuadrante (HAMAMATSU S5990-01) para detección de posición de la partícula (ver figura 4.2).

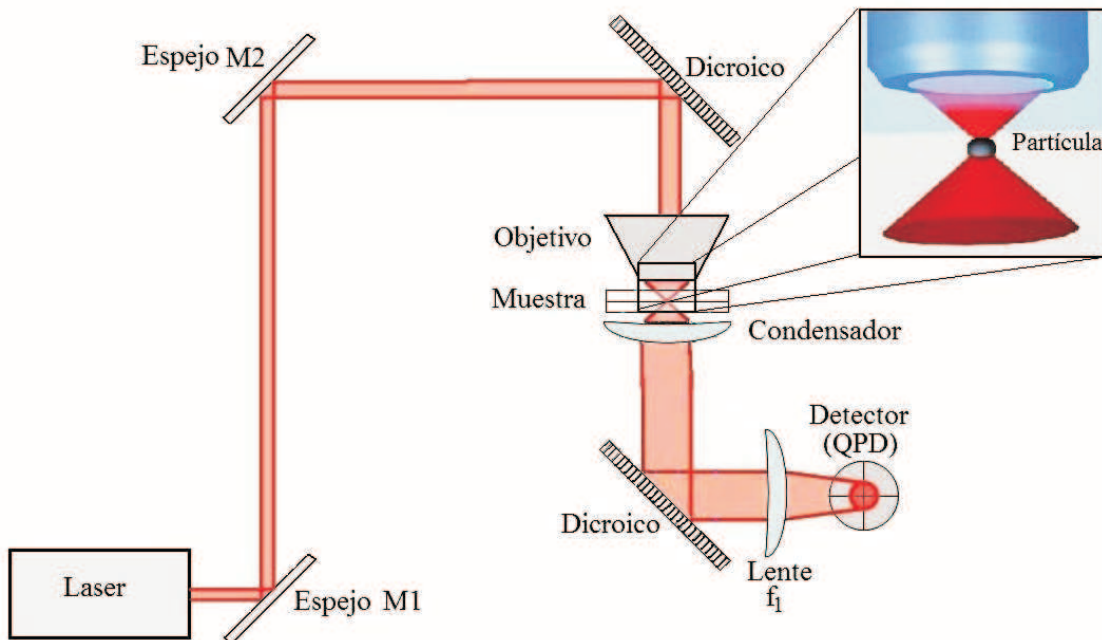


Figura 4.2: Trayectoria del laser de atrapamiento.

### 4.3. Obtención de video e imágenes

Como nosotros no podemos observar directamente las partículas disueltas en agua, es difícil poder atraparlas a primera instancia, por lo tanto, se necesita un sistema para poder visualizar las partículas en la muestra en tiempo real. Por lo cual, utilizamos una lámpara de LED's en la parte inferior del último espejo diecrico. La luz blanca proveniente de la lámpara atraviesa el espejo diecrico pasando a través de la lente condensadora hacia la muestra, posteriormente es colimada por el objetivo de microscopio, pasando por el espejo diecrico superior hasta llegar a la cámara CCD, la señal de video puede ser enviada a la computadora o directamente a un Display. Anterior a la cámara CCD, es colocado un filtro para eliminar cualquier reflexión del haz laser y evitar así saturación en la señal de video. Una vez realizado este último paso nuestro arreglo experimental final es mostrado en la figura 4.3 y en la figura 4.4 se muestra una fotografía del mismo.

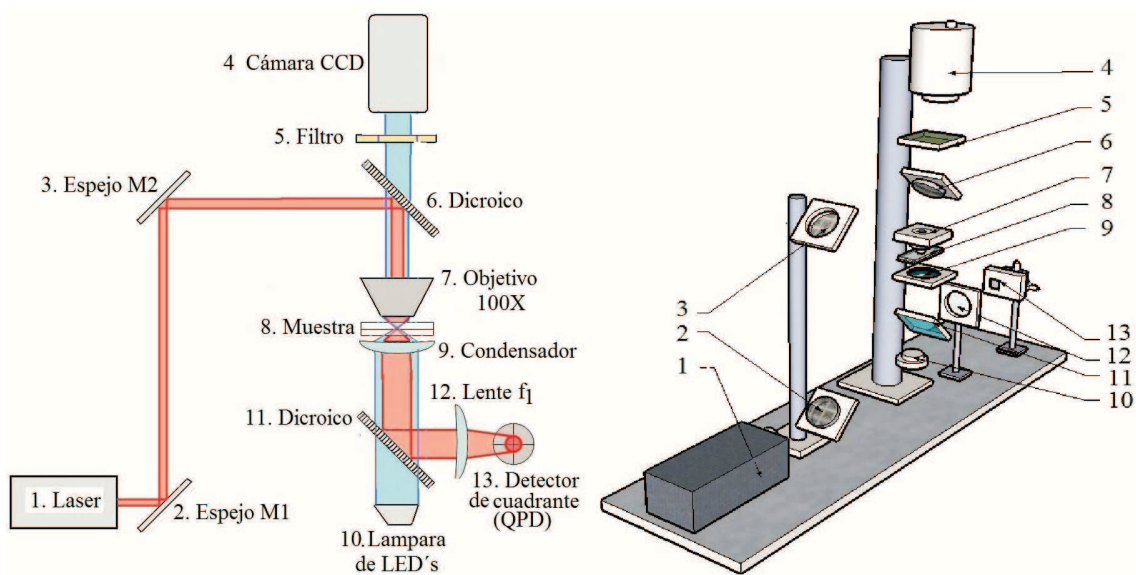


Figura 4.3: Diseño del arreglo experimental.

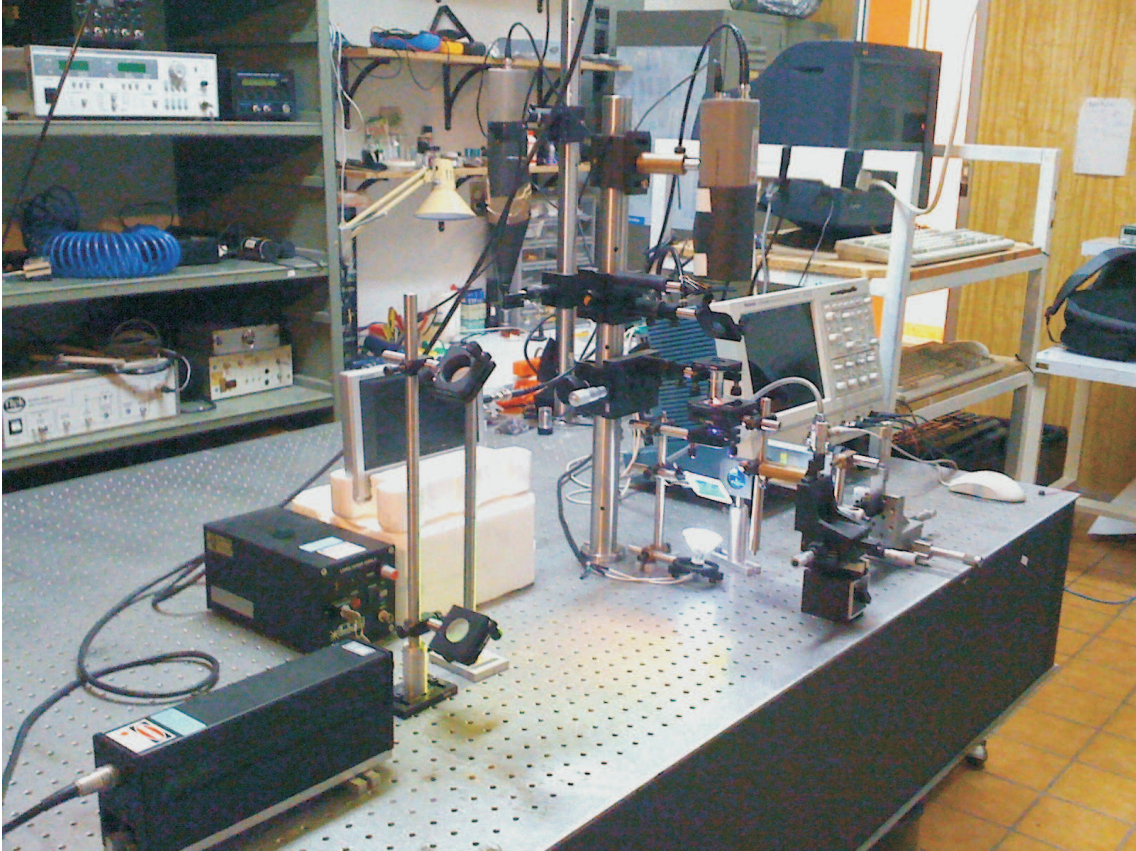


Figura 4.4: Fotografía del arreglo experimental.

## 4.4. Detección del desplazamiento de la partícula

Como se mencionó en la sección 3.1, es un poco difícil predecir teóricamente la fuerza ejercida por el laser de atrapamiento de primeros principios. Las fuerzas externas tienden a empujar o jalar la partícula fuera del centro de la trampa y la partícula atrapada refracta los rayos que pasan a través de ella. Gittes y Schmidt [46], han desarrollado un modelo basado en interferencia de campo lejano de la luz laser inicial con la luz esparcida por la partícula atrapada.

Este modelo describe corrimientos en el perfil de intensidad debidos a desplazamientos laterales de la partícula. La luz esparcida es colimada por una lente condensadora de distancia focal  $f$ . En el plano focal de esta lente, la dis-

**CAPÍTULO 4. MÉTODO EXPERIMENTAL**  
**4.4. DETECCIÓN DEL DESPLAZAMIENTO DE LA PARTÍCULA**

---

tribución de intensidad es solamente afectada por el movimiento de la partícula atrapada con respecto a la trampa. La imagen de este plano se forma en un fotodiodo de cuadrante QPD (Quadrant Photodiode), el cual es un diodo sensible a la luz dividido en cuatro segmentos iguales, utilizado para detectar cambios en la distribución de intensidad (Figura 4.5). Este método de desplazamiento o detección de la fuerza de una partícula atrapada es conocido como *back-focal-plane interferometry*.

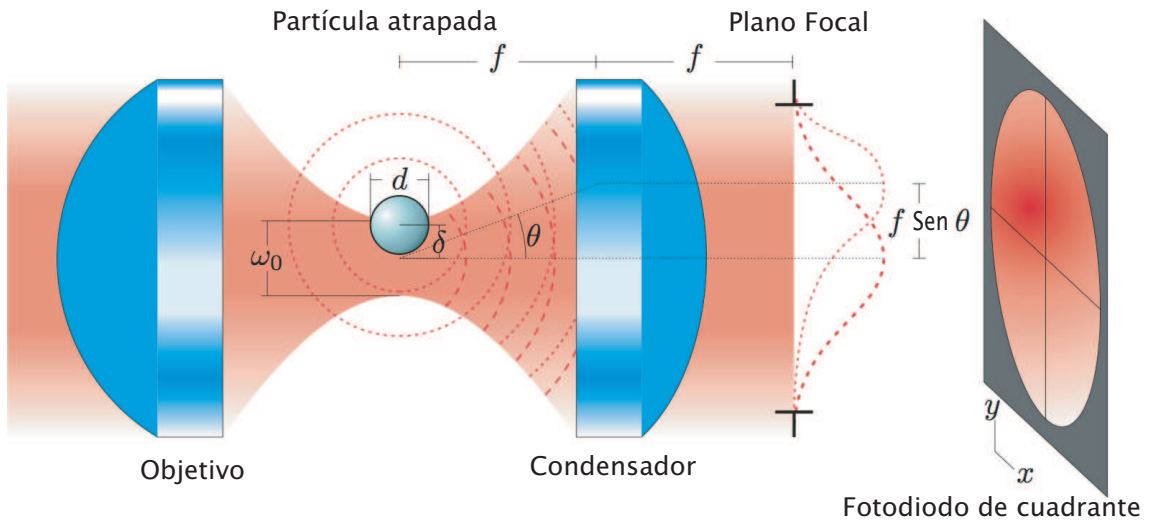
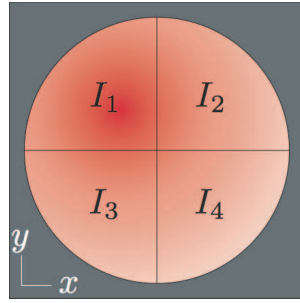


Figura 4.5: Configuración para la detección de los desplazamientos laterales de una partícula atrapada. La imagen del plano focal se forma en la superficie del fotodiodo de cuadrante.

La figura 4.5 muestra la configuración para la detección de los desplazamientos laterales de la partícula a partir del centro de la trampa. La figura 4.6, muestra las ecuaciones del detector dados por el fabricante, para convertir los cambios de intensidad sobre los cuatro segmentos del detector en cambios de desplazamiento de la partícula atrapada, (ver apéndice A).



$$\left. \begin{aligned} I_{y+} &= I_2 + I_4 \\ I_{y-} &= I_1 + I_3 \end{aligned} \right\} \frac{2y}{L} = \frac{I_{y+} - I_{y-}}{I_{y+} + I_{y-}}$$

$$\left. \begin{aligned} I_{x+} &= I_2 + I_3 \\ I_{x-} &= I_1 + I_4 \end{aligned} \right\} \frac{2x}{L} = \frac{I_{x+} - I_{x-}}{I_{x+} + I_{x-}}$$

Figura 4.6: Detección del desplazamiento en  $x$  y  $y$  de la partícula atrapada, obtenidas por la distribución de intensidad  $I_j$  sobre los cuatro segmentos del fotodiodo de cuadrante. Donde  $L=4.5$  mm es el tamaño de los lados del fotodiodo.

## 4.5. Diseño del circuito del detector de cuadrante

El fotodiodo o detector de cuadrante puede ser usado para monitorear la posición del centro de un haz láser. Consiste en un detector que es dividido en cuatro regiones diferentes, aisladas una de otra por un pequeño hueco. Si un haz de luz incide sobre los cuatro elementos detectores simultáneamente, la posición del centro del haz con respecto al centro del detector, puede ser determinado al analizar las señales de los cuatro cuadrantes del detector. Si el haz está perfectamente centrado, la señal de los cuatro cuadrantes será la misma. Conforme el haz se mueva lejos del centro, la señal cambiará. El haz debe incidir sobre los cuatro detectores para obtener información sobre la posición. Estos detectores proveen una medición de posición muy exacta usando un circuito simple que a continuación se muestra.

El detector de cuadrante que se utilizó fue un PSD (Position Sensitive Detector) de 2 dimensiones HAMAMATSU S5990-01 (ver apéndice A), que nos da 4 señales de salida correspondientes a las corrientes de los 4 fotodiodos (Figura 4.7). Se alimentó con un voltaje  $V_{cc}$  de 5 V, pero puede ser alimentado hasta 10 V, la única desventaja es que aumenta el ruido en la señal. Cada una de las salidas del detector fue conectada a un amplificador operacional LM324 para convertir la corriente



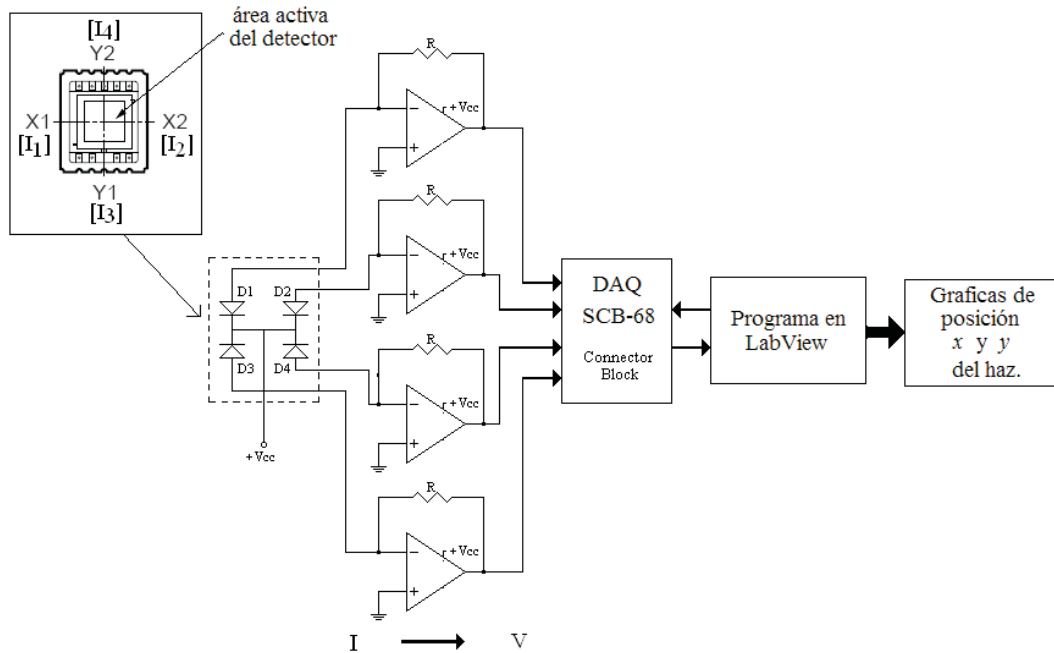


Figura 4.7: Diseño del circuito para el detector de cuadrante.

( $I_i$ ,  $i=1,2,3,4$ ) que sale del detector a voltaje ( $V_i$ ,  $i=1,2,3,4$ ) y poder amplificar la señal. Este operacional LM324 consta de cuatro amplificadores operacionales, para los cuales se utilizó una resistencia ( $R$ ) de  $1\text{ K}\Omega$  y se alimentó con un voltaje ( $V_{cc}$ ) de  $5\text{ V}$ . Para hacer la conversión de corriente a desplazamiento se realizaron en LabView las operaciones indicadas por el fabricante (ver Figura 4.6), las cuales vienen en las especificaciones técnicas del detector (apéndice A).

Una vez terminado el circuito electrónico, el detector de cuadrante es colocado en una caja, la cual tiene una salida serial de 9 pines, las salidas del detector fueron conectadas a la tarjeta de adquisición de datos (DAQ) de National Instruments SCB-68 (ver apéndice B). En la figura 4.8 se muestra el diagrama de conexión entre el circuito del detector y la tarjeta de adquisición de datos SCB-68. Posteriormente en la sección siguiente, se explicará por que se eligieron estas configuraciones de conexión entre las salidas del detector con las entradas de la tarjeta SCB-68.

**CAPÍTULO 4. MÉTODO EXPERIMENTAL**  
**4.5. DISEÑO DEL CIRCUITO DEL DETECTOR DE CUADRANTE**

---

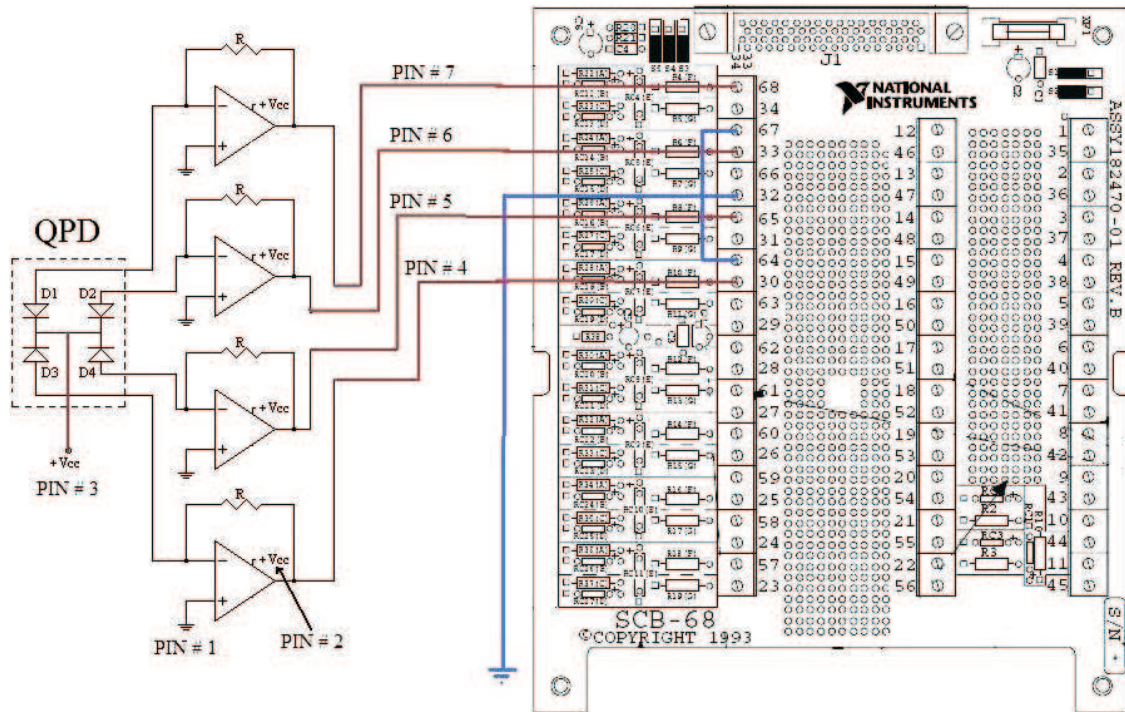


Figura 4.8: Diagrama de conexión entre las salidas del detector de cuadrante y las entradas de la tarjeta de adquisición de datos SCB-68.

## 4.6. Programa en LabView

El programa consiste básicamente en procesar las cuatro señales capturadas por el detector de cuadrante ya convertidas en voltaje. En el programa se realizan las operaciones descritas en las especificaciones del detector (apéndice A), por medio de las funciones *suma*, *resta*, *división* y *multiplicación*, las cuales son algunas funciones que ofrece el programa LabView (Figura 4.9). Las posiciones en  $x$  y  $y$  se muestran de manera gráfica, también se hace el análisis espectral de la FFT (de fase y amplitud) las cuales se muestran en la figura 4.10.

Cabe mencionar que el programa LabView indica como debe ser la conexión entre las señales del detector y los canales de la tarjeta de adquisición de datos SCB-68.

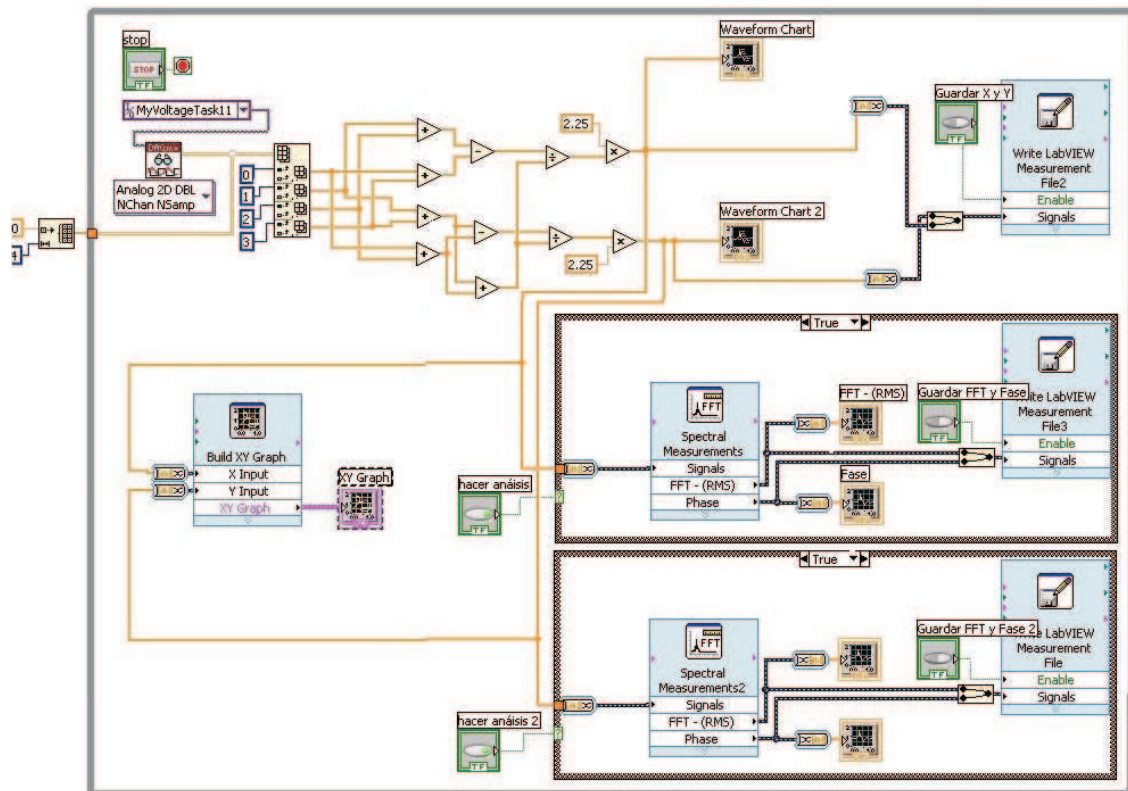


Figura 4.9: Programa realizado en LabView para utilizar el detector de cuadrante HAMAMATSU S5990-01.



# CAPÍTULO 4. MÉTODO EXPERIMENTAL

## 4.6. PROGRAMA EN LABVIEW

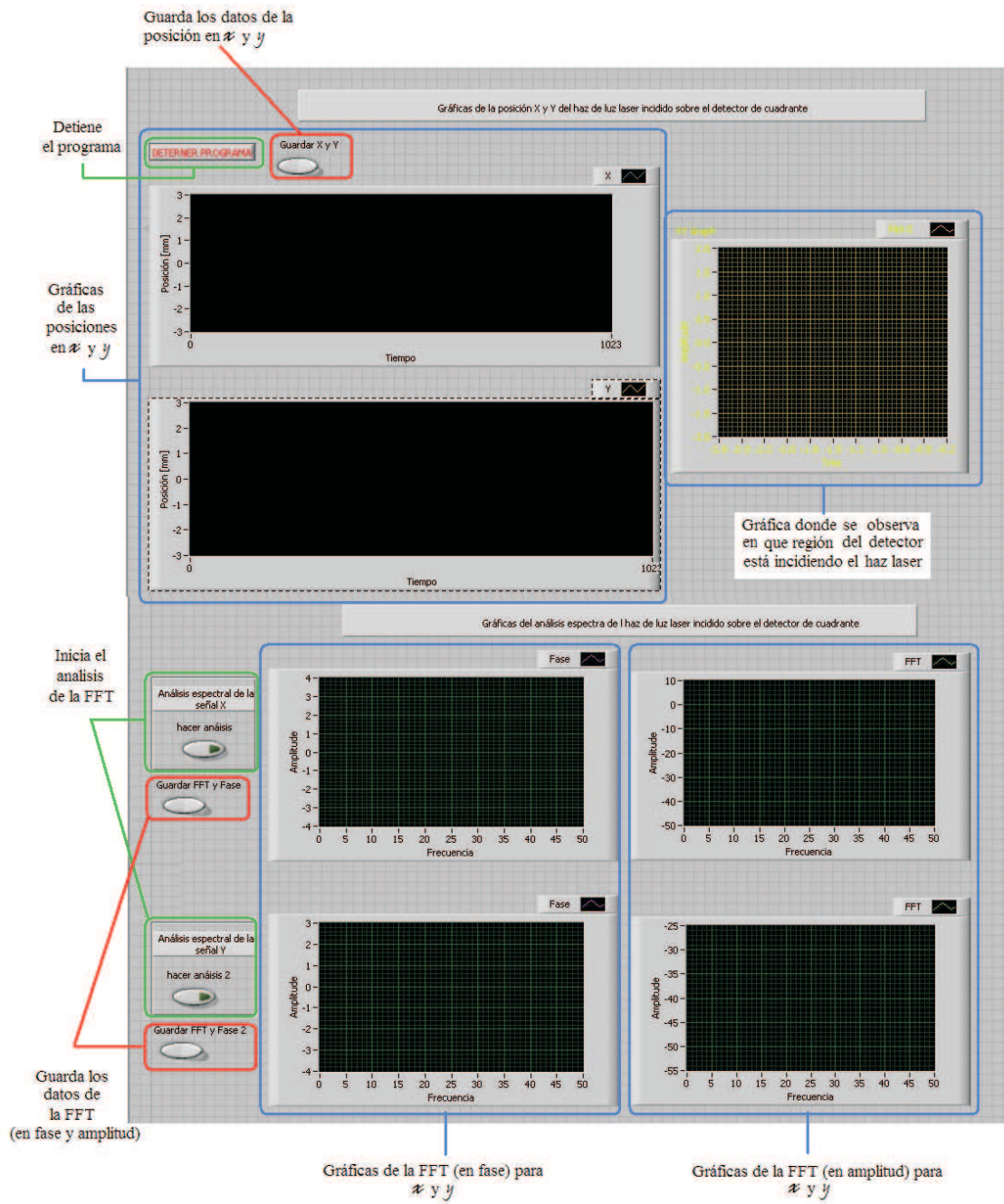


Figura 4.10: Vista del panel principal del programa en LabView.

# Capítulo 5

## Resultados

En este capítulo se muestran los resultados obtenidos del diseño y construcción de un sistema para la medición de la constante elástica  $k$  de una pinza óptica, sobre partículas de tamaño micrométrico diluidas en agua, utilizando el método de densidad espectral de potencia.

### 5.1. Atrapamiento de la partícula

Como se mencionó en el capítulo 4 sección 4.3, por medio de la cámara CCD se visualiza las partículas de vidrio de  $3 \mu\text{m}$  de diámetro disueltas en agua, contenidas en la muestra (Figura 4.1). La imagen es captada por la cámara CCD y enviada a un display o directamente a la computadora para la obtención de video o imágenes.

Primero se tuvo que atrapar una sola partícula y aislarla de las demás (Figura 5.1), esto con el fin de evitar alguna interacción entre ellas que pudiera afectar el movimiento Browniano, ya que la constante elástica se obtiene a partir de las curvas de la densidad espectral de potencia, las cuales son obtenidas de la detección de la posición de la partícula atrapada.

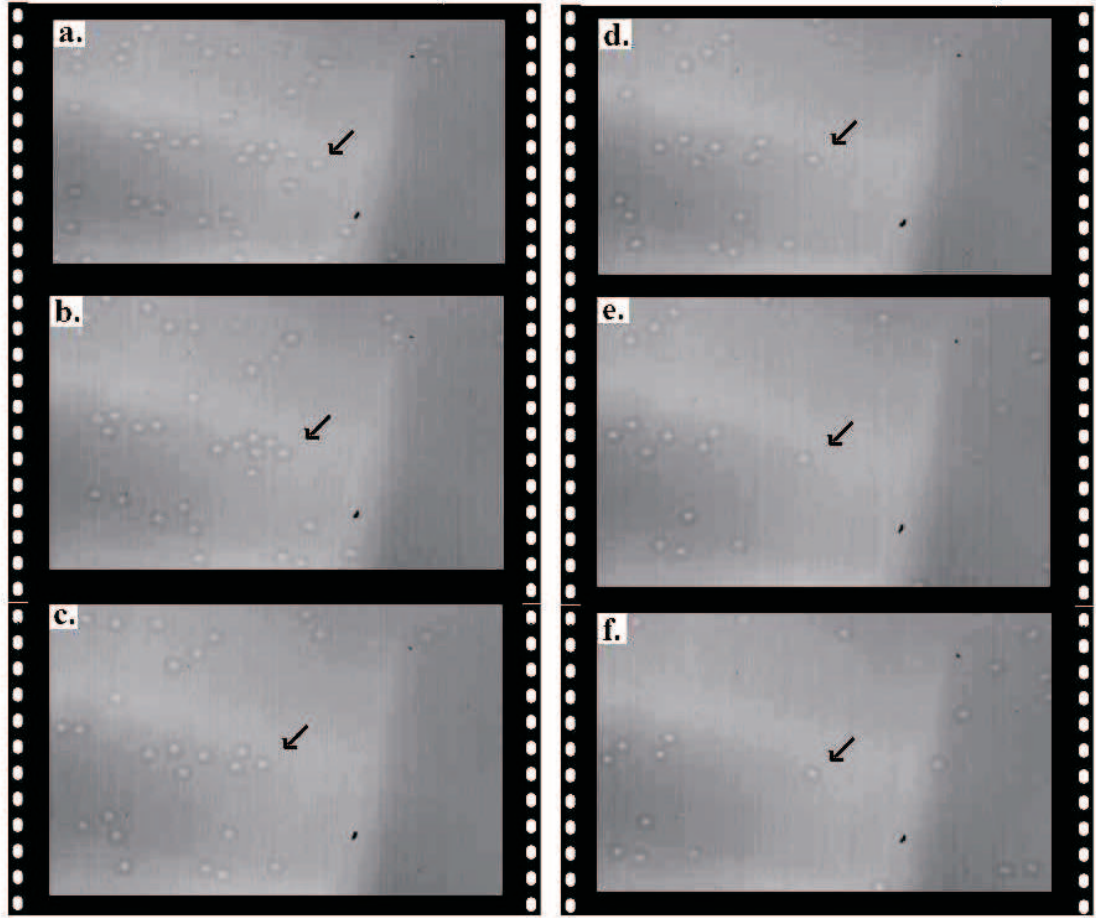


Figura 5.1: Imágenes obtenidas por la cámara CCD. Desde la imagen a. hasta la f. se muestra la partícula atrapada y a su vez como es separada de las demás.

## 5.2. Graficas de posición y densidad espectral de potencia

Una vez atrapada la partícula con una potencia láser de 15 mW, se utilizó el programa realizado en LabView para detectar las señales provenientes del detector de cuadrante y poder registrar el desplazamiento o posiciones de la partícula en la pinza óptica.

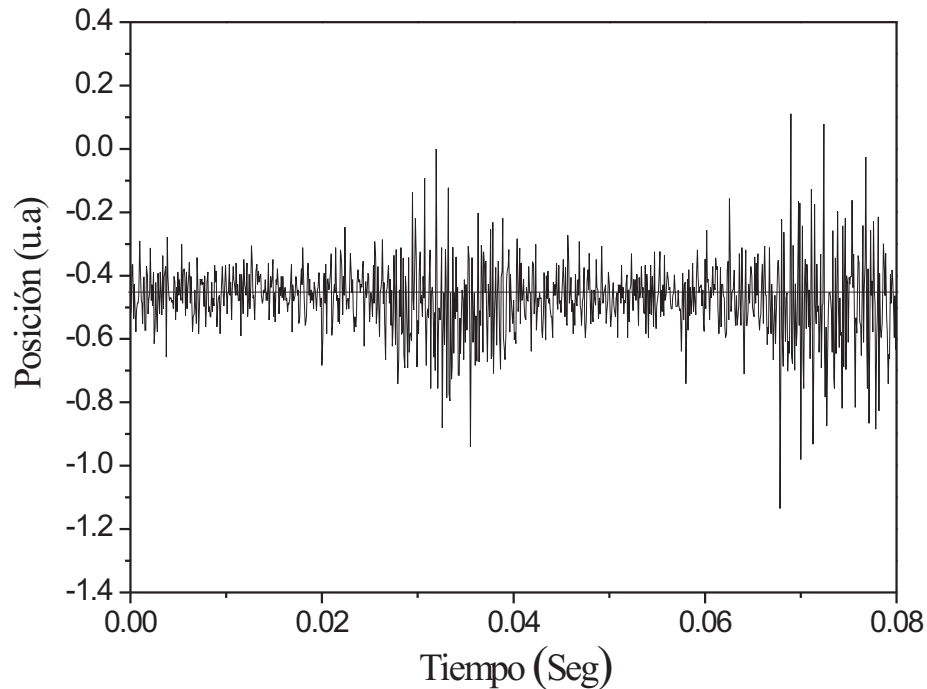


Figura 5.2: Gráfica de posición Vs tiempo sobre el eje  $y$ , de la partícula atrapada en la pinza óptica (1000 datos en 0.08 segundos).

La posición de la partícula se muestra de manera gráfica en el panel principal del programa LabView mostrado en la figura 4.10, en dicho panel se observan los desplazamientos de la partícula sobre el eje  $x$  y sobre el eje  $y$  de manera separada. La partícula atrapada muestra variaciones en la posición sobre el eje  $x$  (figura 5.3) de manera más notable que las variaciones sobre el eje  $y$  (figura 5.2). Lo anterior, puede ser debido a la alineación de nuestro sistema, ya que el spot del haz láser que incide sobre la muestra puede no ser totalmente simétrico, haciendo que la partícula tenga libertad de moverse más en una dirección que en la otra.

Por simplicidad, solo se analizan los desplazamientos de la partícula registrados sobre el eje  $x$  del detector. Estos datos son guardados en una carpeta y se

manipulan en el programa Origin 8.0. El programa LabView guarda 10000 datos en un tiempo promedio de 0.8 segundos, lo cual nos da una frecuencia de muestreo de 12.5 KHz. Hacemos notar que estos datos fueron particionados en grupos de 1000 datos, obteniendo así 10 grupos con tiempos de 0.08 segundos. Los desplazamientos de la partícula mostrados en la gráfica 5.3 se encuentran centrados alrededor de cero, mientras que los desplazamientos en la gráfica 5.2 se encuentran centrados alrededor de -0.4, esto es debido a que el haz láser no incide exactamente en el centro del fotodiodo de cuadrante.

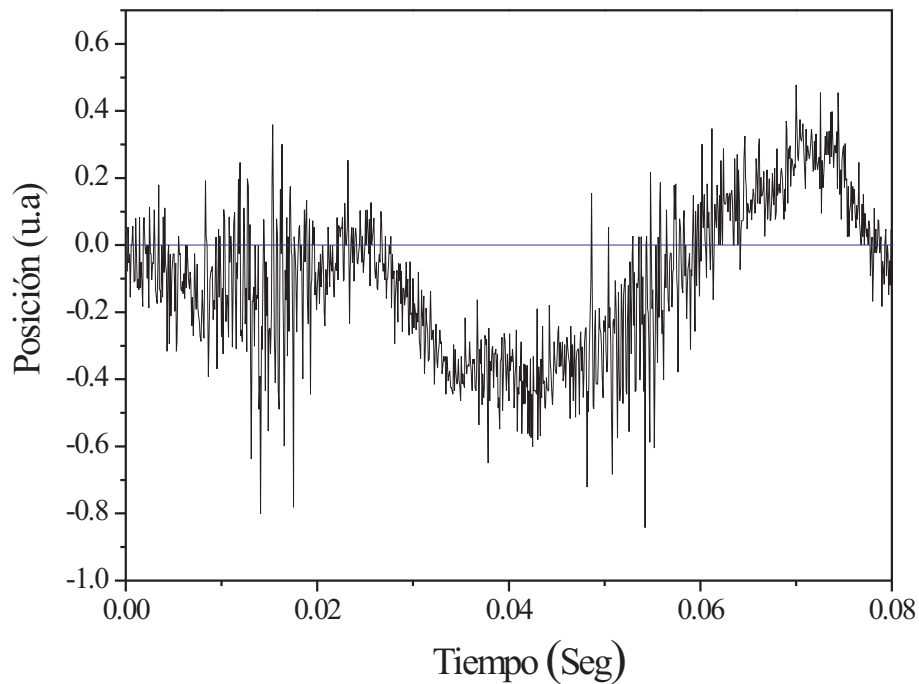


Figura 5.3: Gráfica de posición Vs tiempo sobre el eje  $x$ , de la partícula atrapada (1000 datos en 0.08 segundos).

Una vez obtenida la gráfica de los desplazamientos de la partícula (figura 5.3), se realizó la transformada de Fourier (FFT) en el programa Origin 8.0; posteriormente, obtuvimos el modulo al cuadrado de la FFT, con el fin de obtener la densidad

---

espectral de potencia “DEP” mostrada en la ecuación 3.19. Esto se realizó para los 10 grupos respectivamente y al final se promediaron todos los valores, la gráfica final se muestra en la figura 5.4.

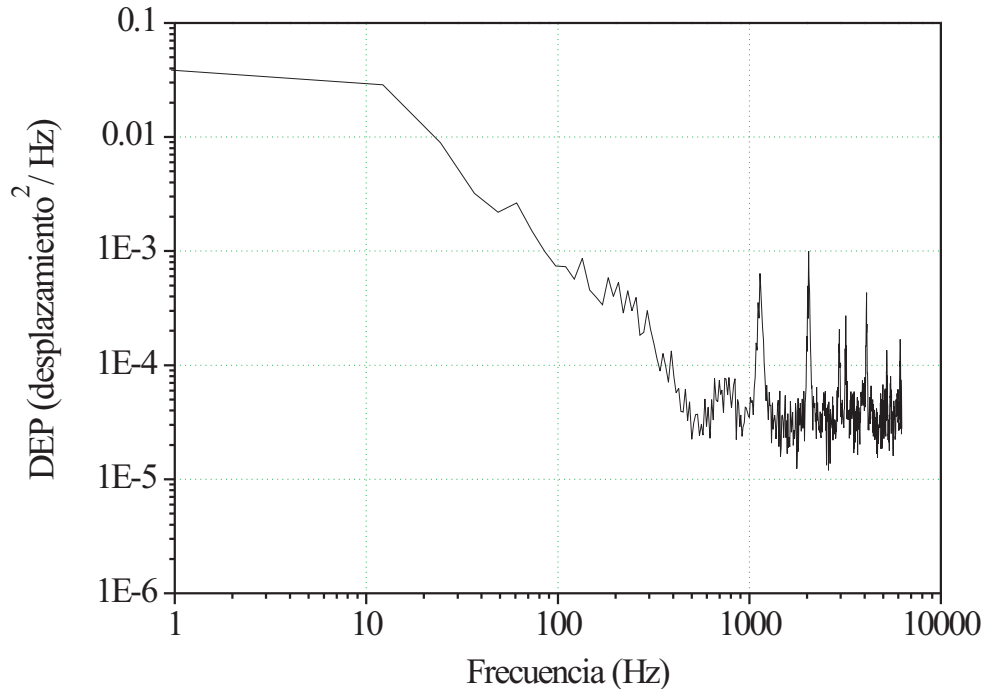


Figura 5.4: Gráfica de la densidad espectral de potencia, obtenida a partir de las graficas de posición Vs tiempo.

La gráfica anterior, muestra picos a partir de los 1000 Hz, lo cual puede ser considerado un ruido en la señal, exactamente no se sabe el origen de este ruido, pero en la tesis de doctorado de Enrico Ferrari [referencia [44]], menciona que puede ser generado posiblemente por una inestabilidad en el laser o por fuentes externas al arreglo experimental, aunque nosotros no hicimos ninguna prueba para comprobarlo. Por consiguiente, tuvimos que quitar los datos en donde aparecen estos picos (Figura 5.5), con el fin de facilitar los ajustes necesarios que se mostraran más adelante.

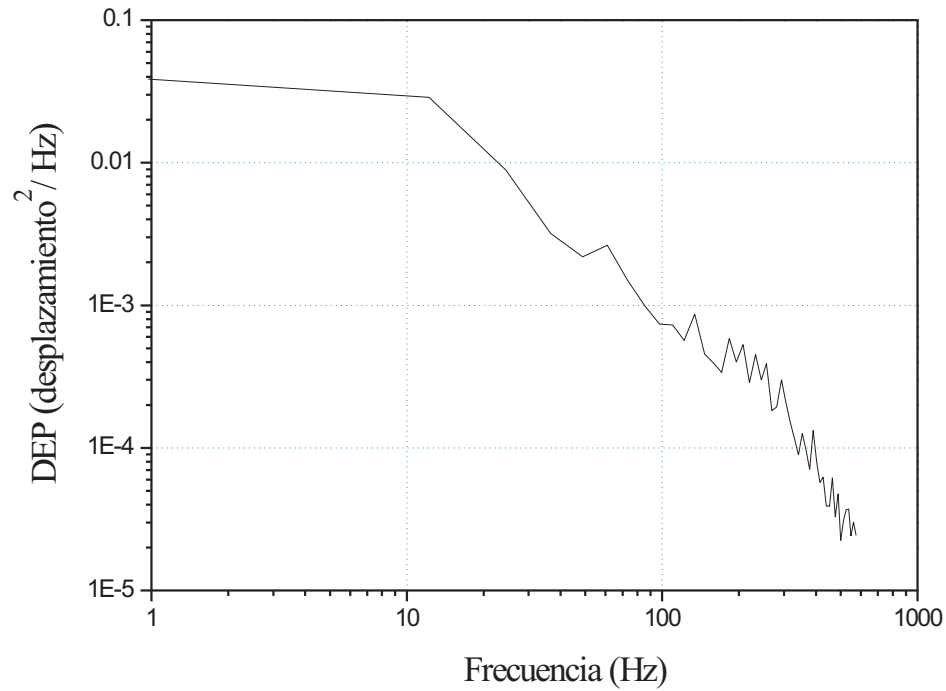


Figura 5.5: Recorte de datos de la gráfica 5.3.

Análogamente, este mismo procedimiento se realizó para diferentes potencias del láser (15, 20, 28, 35 y 41 mW), obteniendo sus respectivas graficas de posición contra tiempo y posteriormente las graficas de densidad espectral de potencia, las cuales se muestran a continuación.

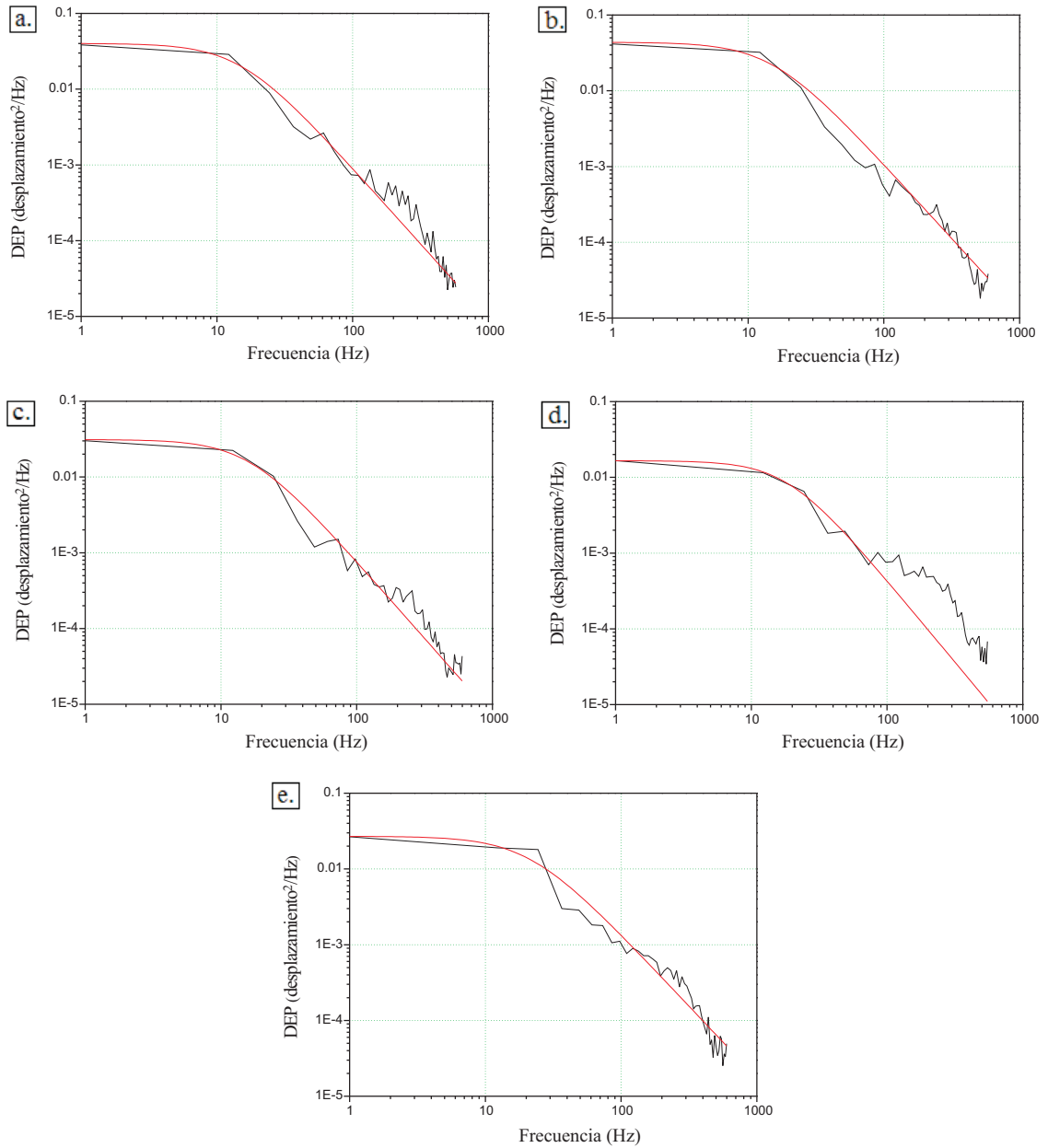


Figura 5.6: Ajuste teórico (línea roja) a los datos experimentales de la “DEP” (línea negra), para diferentes potencias del laser (a.15, b. 20, c. 28, d. 35 y e. 41 mW).



5.3. GRÁFICA DE LA CONSTANTE ELÁSTICA  $k$  CONTRA POTENCIA LASER

Las graficas experimentales mostradas en la figura 5.6, fueron ajustadas a una Lorentziana dada por la ecuación 3.20, la cual fue reducida a una expresión de la forma  $P_k = \frac{A}{f_c^2 + f_k^2}$ , donde  $A$  es una constante ( $A = \frac{K_\beta T}{2\pi^2 \gamma_o}$ , los valores  $T$ ,  $K_\beta$  y  $\gamma_o$  son mostrados en la figura 5.7). La ecuación fue introducida en el programa Origin 8.0, dándonos los valores teóricos de la frecuencia de corte  $f_c$ .

Descripción	Notación	Valor
Frecuencia de muestreo	$f_{\text{sample}}$	12.5 KHz
Densidad del fluido (agua)	$\rho$	1.0 g/cm <sup>3</sup>
Viscosidad cinemática (agua)	$\nu$	1.0 μm <sup>2</sup> / μs
Viscosidad del fluido	$\rho \nu$	1.0 X 10 <sup>-3</sup> Kg / (m seg)
Coefficiente de fricción	$\gamma_o$	28 X 10 <sup>-9</sup> Kg / (m seg)
Constante de Boltzman	$K_\beta$	1.38 X 10 <sup>-23</sup> J/°K
Temperatura	$T$	300 °K
Energía térmica	$K_\beta T$	4.1 pN nm
Radio de la partícula	$R$	1.5 μm

Figura 5.7: Notación utilizada y valores característicos de cantidades encontradas para el agua.

### 5.3. Gráfica de la constante elástica $k$ contra potencia laser

Para potencias laser de 15, 20, 28, 35 y 41 mW, se obtuvieron las siguientes frecuencias de corte  $f_c = 15, 15.12, 16.2, 18.53$  y  $21.1$  Hz respectivamente. Estas frecuencias de corte fueron sustituidas en la ecuación 3.22 (donde los valores  $\rho$  y  $\nu$  están dados en la figura 5.7), obteniendo los siguientes valores  $k = 2.66, 2.68, 2.87, 3.28$  y  $3.73 \frac{pN}{\mu m}$ , para la constante elástica o rigidez de la pinza óptica .

Estos resultados son mostrados de manera gráfica en la figura 5.8, en la cual

se observa que la rigidez de la pinza óptica  $k$ , aumenta de una manera lineal en el intervalo de 28 a 41 mW de potencia laser. En el intervalo de 15 y 28 mW, puede considerarse un umbral, en el cual la partícula no se encuentra en una trampa óptica estable.

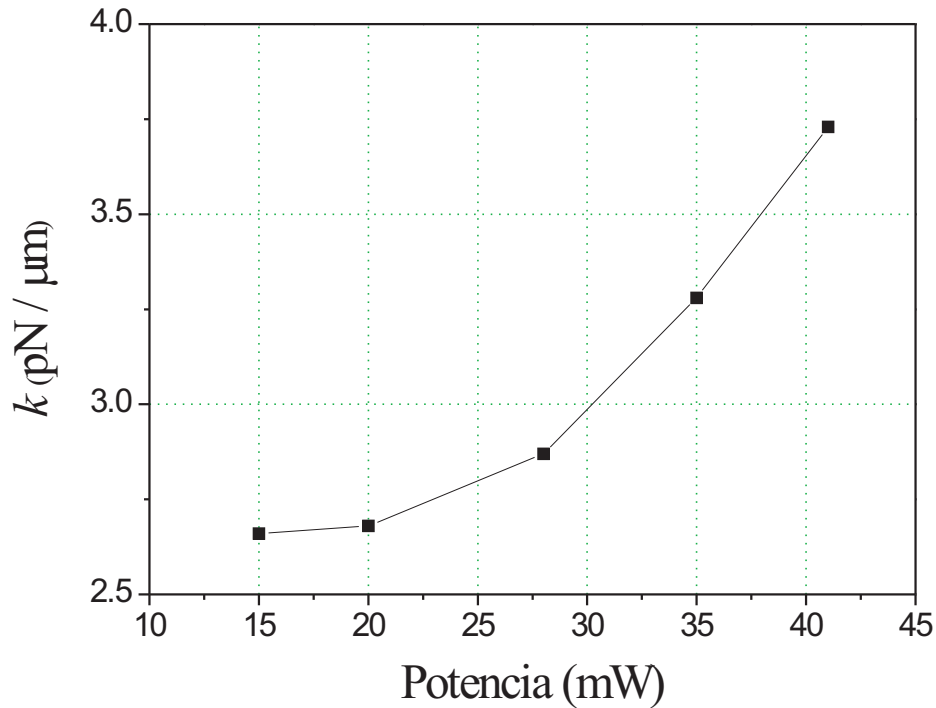


Figura 5.8: Gráfica de la constante elástica contra potencia del laser, en la cual se puede observar un comportamiento lineal en el intervalo de 28 a 41 mW.

Conociendo el valor de la constante elástica  $k$  y el desplazamiento  $x$  de la partícula, podemos conocer la fuerza aplicada por una pinza óptica sobre partículas dieléctricas, bacterias u objetos micrométricos. Este hecho permitirá investigaciones y una amplia gama de aplicaciones en el campo de la biología, biofísica, avances biomecánicos, entre otros más.

# Capítulo 6

## Discusión y conclusiones

En este capítulo, los resultados presentados anteriormente son discutidos y comparados con la literatura.

### 6.1. Comparación a la literatura

Como se mencionó en el último capítulo, la constante elástica o rigidez de la pinza óptica es calculada a partir de las curvas de la densidad espectral de potencia. Los picos mostrados en la figura 5.4, a partir de los 1000 Hz, pueden ser ocasionados por un error de alineación en la trampa óptica o por ruido en el sistema de detección, debido a fuentes externas al sistema. Lo anterior es reportado por Enrico Ferrari en su trabajo de tesis doctoral (ver referencia [44]), donde presenta una gráfica similar (figura 6.1), a la obtenida experimentalmente en este trabajo.

Los valores mostrados en la figura 5.8 para la constante elástica  $k$ , fueron obtenidos con un objetivo de microscopio 100X para partículas de  $3 \mu\text{m}$  de diámetro, variando la potencia del laser. Para potencias de 28, 35 y 41 mW, se obtuvieron valores para  $k$  de 2.87, 3.28 y  $3.73 \frac{\text{pN}}{\mu\text{m}}$  respectivamente. Estos valores pueden ser

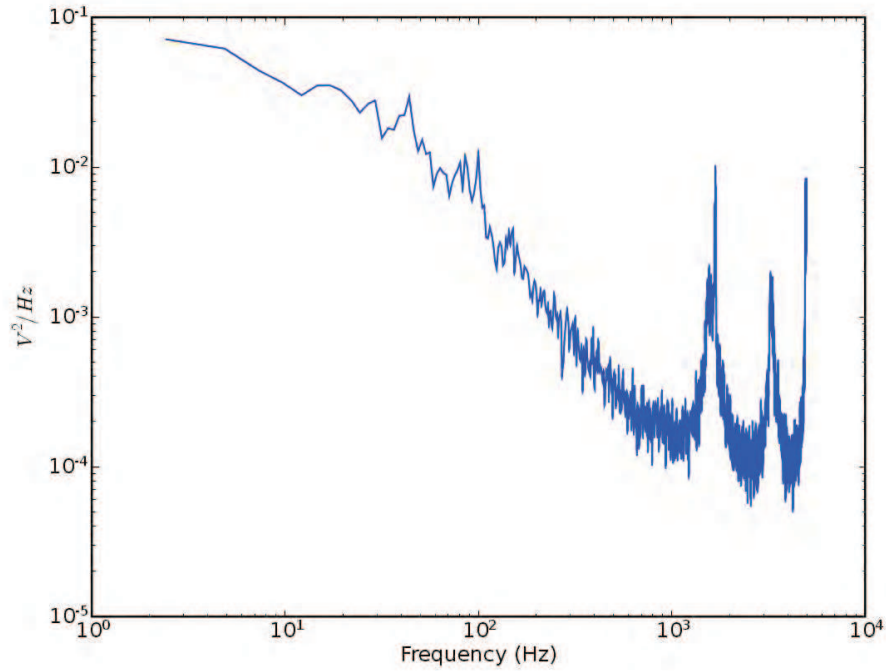


Figura 6.1: Gráfica de densidad espectral de potencia adquirida a 10 KHz y potencia laser de 3.5 mW, mostrando picos a partir de los 1000 Hz (referencia [44]).

comparados con resultados reportados en el artículo de N. Malagnino (ver referencia [47]), donde los valores obtenidos para la constante elástica  $k$  son para partículas de  $14.9 \mu\text{m}$  de diámetro y usando un objetivo 40X (Figura 6.2). En este artículo, muestran valores para la constante elástica en un rango de  $1.5$  a  $5.6 \frac{\text{pN}}{\mu\text{m}}$ , para potencias laser de  $18$  a  $73$  mW. En el rango de potencias de  $18$  a  $43$  mW, los resultados son similares a los obtenidos en este trabajo (Figura 6.3). En base a estos resultados, podemos deducir que los valores obtenidos para la constante elástica se encuentran en el orden de magnitud reportados en este artículo y en algunos otros [40]. Aunque el tamaño de la partícula y el objetivo de microscopio difieren en cada experimento, así como el laser utilizado para el atrapamiento de la partícula y el arreglo experimental.

## CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

### 6.1. COMPARACIÓN A LA LITERATURA

---

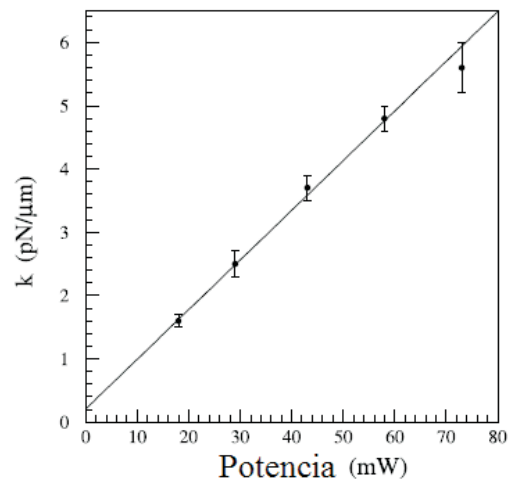


Figura 6.2: Constante elástica  $k$  contra potencia laser, para partículas de poliestireno de  $14.9 \mu\text{m}$  de diámetro (referencia [47]).

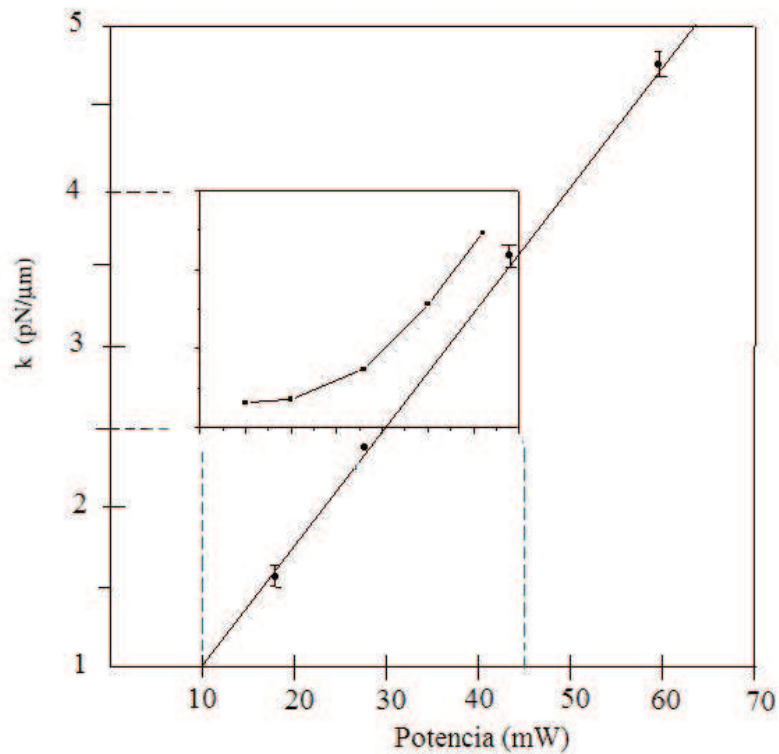


Figura 6.3: Comparación de la gráfica 6.2 obtenida de la literatura y la gráfica 5.8, en el intervalo de 10 a 45 mW.

## 6.2. Conclusiones

Se realizó el diseño y construcción de un sistema de pinzas ópticas, basado en un laser de Nd:YAG de longitud de onda  $\lambda=1064$  nm. En dicho arreglo experimental, se incorporó un sistema para detección de posición o desplazamiento de la partícula en la trampa óptica, el cual consta de un detector de cuadrante (QPD Hamamatsu S5990-01) y una tarjeta de adquisición de datos (DAQ SCB-68). Nuestro sistema fue utilizado para atrapar y manipular partículas de vidrio de tamaño micrométrico (en nuestro caso de  $3 \mu\text{m}$  de diámetro) usando un objetivo de microscopio 100X de inmersión en aceite y abertura numérica 1.25.

La constante elástica de la pinza óptica fue medida usando el método de densidad espectral de potencia (DEP), ya que ofrece muchas ventajas sobre los otros dos métodos descritos en la sección 3.2. Una de las ventajas de este método, es que es independiente de la calibración de posición de la partícula en la trampa óptica y solo depende de la frecuencia de corte  $f_c$ , obtenida del ajuste a una Lorentziana a las curvas de la DEP. Sin embargo, este método es valido solamente para pequeños desplazamientos y el ancho de banda del sistema de detección debe ser adecuado para obtener con exactitud las curvas de densidad espectral de potencia sin distorsión, particularmente en el régimen de altas frecuencias. En nuestro caso, el ancho de banda de 12.5 KHz.

Los picos mostrados en la figura 5.4 para frecuencias por arriba de los 1000 Hz, pueden ser debidos a posibles errores en la alineación del laser o por fuentes cercanas al arreglo experimental (fuentes de voltaje), las cuales pueden generar estos picos adicionales en las curvas de la DEP. Lo anterior es mencionado por Enrico Ferrari en su tesis doctoral [44].

Las resultados para la constante elástica  $k$  o rigidez de la pinza óptica, en el intervalo de 2.66 y  $3.73 \frac{\mu\text{N}}{\mu\text{m}}$  fueron obtenidos por variaciones en la potencia del laser que van de 15 a 41 mW, como se observa en la gráfica 5.8, en la cual se puede

apreciar que la rigidez de la pinza óptica  $k$  aumenta de manera lineal en un rango de 28 a 41 mW de potencia laser. La rigidez  $k$  tiene unidades de [N/m], justo como la constante elástica en un resorte mecánico.

Por ultimo podemos concluir que este diseño experimental de fácil implementación y económico (en comparación a otros diseños los cuales involucran un microscopio comercial), puede servir para calcular la constante elástica en un sistema de pinzas ópticas y así obtener la fuerza aplicada por una pinza óptica a objetos de tamaño micrométrico. Además, este diseño proporcionará a futuro diferentes desarrollos de investigación, entre ellos, conocer la fuerza necesaria para detener una bacteria en movimiento; conocer la fuerza límite para estirar una cadena de ADN; conociendo la constante elástica y la fuerza externa aplicada a la partícula, se puede obtener el coeficiente de fricción del medio, entre otras muchas.

# Apéndice A

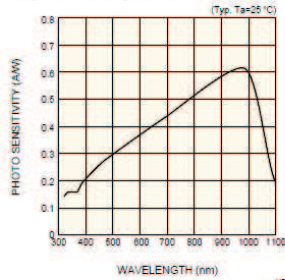
## Especificaciones del detector de cuadrante



# APÉNDICE A. ESPECIFICACIONES DEL DETECTOR DE CUADRANTE

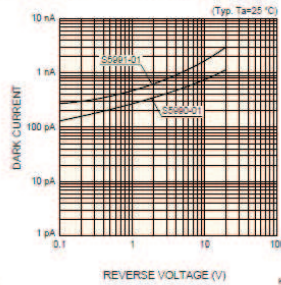
## Two-dimensional PSD S5990-01, S5991-01

### Spectral response



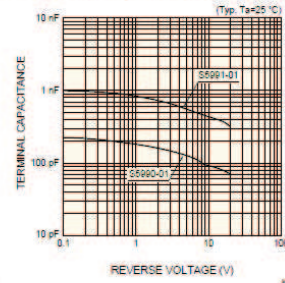
KP0200028EA

### Dark current vs. reverse voltage



KP0200038EA

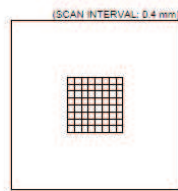
### Terminal capacitance vs. reverse voltage



KP0200073EA

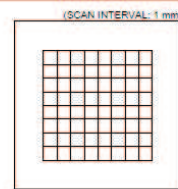
### Example of position detectability (Ta=25 °C, λ=830 nm, Spot light size: φ0.2 mm)

#### S5990-01



KP0200054EA

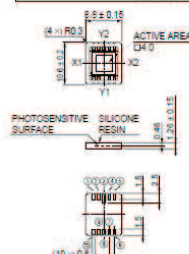
#### S5991-01



KP0200056EA

### Dimensional outlines (unit: mm)

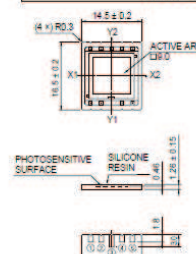
#### S5990-01



- The burr of 0.3 mm maximum on each side should be allowed.
- ① ANODE X1 (1)
  - ② NC
  - ③ NC
  - ④ ANODE Y1 (8)
  - ⑤ ANODE X2 (2)
  - ⑥ NC
  - ⑦ CATHODE
  - ⑧ NC
  - ⑨ ANODE Y2 (4)
- ⑩ pin should be open-circuited

KP02A0544EA

#### S5991-01



- The burr of 0.3 mm maximum on each side should be allowed.
- ① ANODE X1 (1)
  - ② NC
  - ③ NC
  - ④ ANODE Y1 (8)
  - ⑤ ANODE X2 (2)
  - ⑥ NC
  - ⑦ CATHODE
  - ⑧ NC
  - ⑨ ANODE Y2 (4)
- ⑩ pin should be open-circuited

KP02A0545EA

### Conversion formula

$$\frac{(l2 + l3) - (l1 + l4)}{l1 + l2 + l3 + l4} = \frac{2x}{L}$$

$$\frac{(l2 + l4) - (l1 + l3)}{l1 + l2 + l3 + l4} = \frac{2y}{L}$$

x, y: position coordinate of spot light

S5990-01: L=4.5 mm

S5991-01: L=10 mm

### Precautions for use

- The light input window of this product uses soft silicone resin. Avoid touching the window to keep it from grime and damage that can decrease sensitivity. External force applied to the resin surface may deform or cut off the wires, so do not touch the window to prevent such troubles.
- Use rosin flux when soldering, to prevent the terminal lead corrosion. Reflow oven temperature should be at 260 °C maximum for 5 seconds maximum time under the conditions that no moisture absorption occurs. Reflow soldering conditions differ depending on the type of PC board and reflow oven. Carefully check these conditions before use.
- Silicone resin swells when it absorbs organic solvent, so do not use any solvent other than alcohol.
- Avoid unpacking until you actually use this product to prevent the terminals from oxidation and dust deposits or the coated resin from absorbing moisture. When the product is stored for 3 months while not unpacked or 24 hours have elapsed after unpacking, perform baking in nitrogen atmosphere at 150 °C for 3 to 5 hours or at 120 °C for 12 to 15 hours before use.

**HAMAMATSU**  
HAMAMATSU PHOTONICS K.K., Solid State Division

Information furnished by HAMAMATSU is believed to be reliable. However, no responsibility is assumed for possible inaccuracies or omissions. Specifications are subject to change without notice. No patent rights are granted to any of the circuits described herein. ©2001 Hamamatsu Photonics K.K.

## Apéndice B

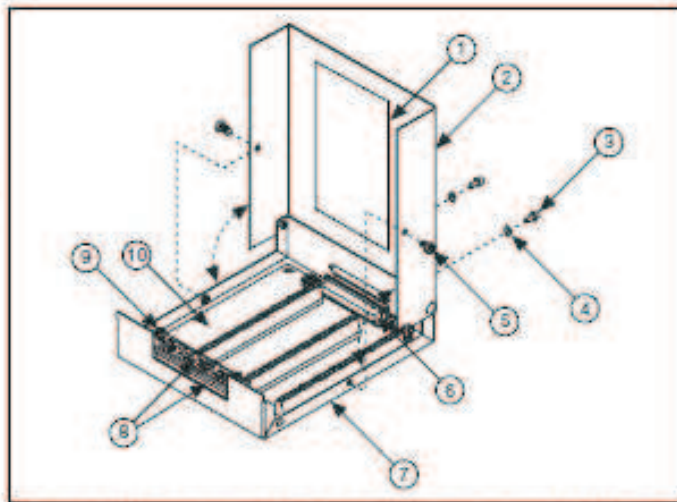
### Especificaciones de la tarjeta de adquisición de datos SCB-68

## APÉNDICE B. ESPECIFICACIONES DE LA TARJETA DE ADQUISICIÓN DE DATOS SCB-68

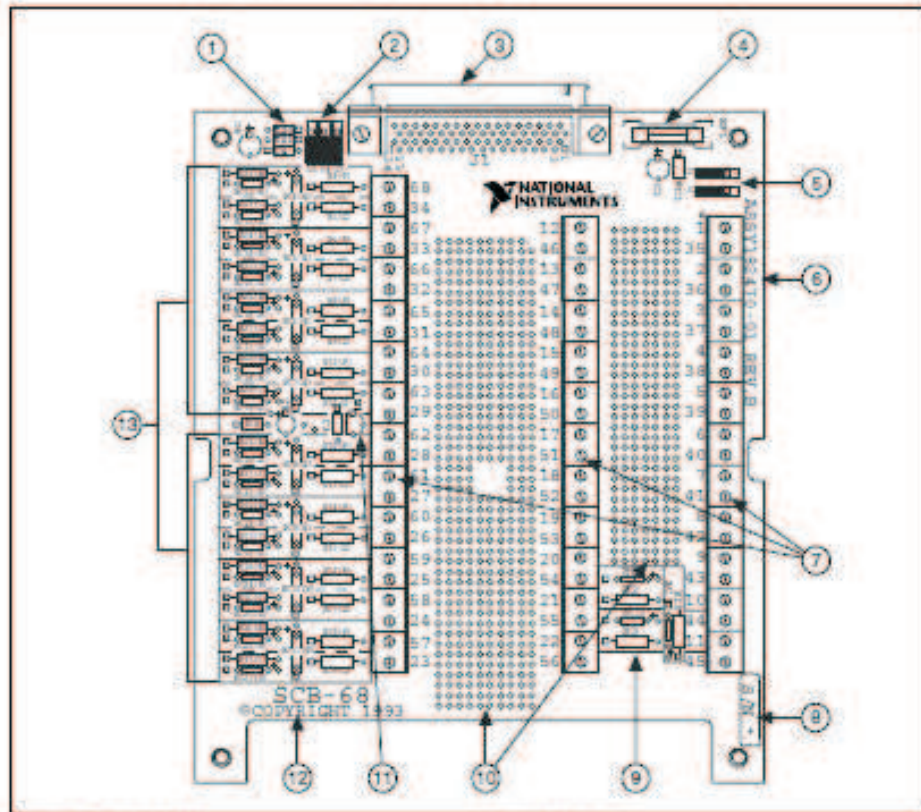


**DAQ**

**SCB-68 68**



- |                         |                        |                          |
|-------------------------|------------------------|--------------------------|
| 1 Quick Reference Label | 4 Lock Washers         | 8 Strain-Relief Bars     |
| 2 Cover                 | 5 Shielding Screws     | 9 Strain-Relief Screws   |
| 3 68-Pin Connector      | 6 68-Pin I/O Connector | 10 Circuit Card Assembly |
| 7 Base                  |                        |                          |



- |                                       |  |
|---------------------------------------|--|
| 1 Pads R20 and R21                    | 8 Serial Number  |
| 2 Switches S3, S4, and S5             | 9 RC Filters and Attenuators for DAC0, DAC1, and TRIG1 |
| 3 68-Pin I/O Connector                | 10 Breadboard Area                                     |
| 4 Fuse (0.8 A)                        | 11 Temperature Sensor                                  |
| 5 Switches S1 and S2                  | 12 Product Name  |
| 6 Assembly Number and Revision Letter | 13 Pads for Ai Conditioning                            |
| 7 Screw Terminals                     |  |

# Bibliografía

- [1] A. Ashkin, “Optical trapping and manipulation of neutral particles using lasers”, *Optics and Photonics News*, Vol. 10, 1999, pp.41-46.
- [2] A. Ashkin et al., *Opt. Lett.* 11, 288 (1986).
- [3] Justin E. Molloy and Miles J. Padgett. “Lights, action: optical tweezers”. *Contemporary physics*, 2002, volume 43, number 4, pages 241-258
- [4] P. Prasad, *Introduction to Biophotonics*. (Wiley Interscience, USA, 2003), pp.482-519.
- [5] H.Rubinsztein-Dunlop, y M. Friese, “Light-Driven Micromachines”, *Optics and Photonics News*, Vol. 13, 2002, pp. 22-26.
- [6] Karen Volke Sepúlveda, Ibis Ricárdez Vargas y Ruben Ramos García, “Pinzas ópticas: las delicadas manos de la luz”, Versión revisada por MBO, Art. 465
- [7] Ashkin, A. “*Phys. Rev. Lett.* 24, 156-159”, (1970)
- [8] Ashkin, J M Dziedzic, J E Bjorkholm y S Chu, *Opt. Lett.* 11, 288-290, 1986
- [9] Hill, Murray (noviembre de 1987). “escribió el libro sobre atrapamiento óptico”. Junio 25, 2005. Entrevista para un diario interno en los Laboratorios Bell.
- [10] “Conversations with History: An Interview with Steven Chu”(2004), Institute of International Studies, UC Berkeley.

- [11] Ashkin, A. et al "Science vol. 235, iss. 4795, pp. 1517" (1987)
- [12] Macdonald MP, Spalding GC, Dholakia K, "Microfluidic sorting in an optical lattice., Nature (2003); 421: 421-424.
- [13] Applegate, Jr. R. W. et al Optics Express vol. 12, iss. 19, pp. 4390 (2004)
- [14] Koss BA, Grier DG, "Optical Peristalsis"
- [15] Block, S.M., Blair, H.C., and Berg, H.C., 1989, Nature, 368, 514
- [16] Finer, J.T., Simmons, R.M., Spudich, J.A., 1996, Nature, 368, 113.
- [17] M.D. Wang, H. Yin, R. Landick, J. Gelles and S.M. "Block Stretching DNA with optical tweezers". Biophys. J. 72(3):1335-1346,1997
- [18] A. Ehrlicher, T. Betz, B. Stuhmann, D. Koch, V. Milner, M. G. Raizen, and J. Käs; PNAS. "Guiding neuronal growth with light", December 10, 2002, Vol. 99, No. 25.
- [19] Ishijima, A., Kojima, H., Funatsu, T., Tokunaga, M., Higuchi, H., Tanaka, H., and Yanagida, T., 1998, Cell, 92, 161.
- [20] W.T. Coakley, D.W. Bardsley, M.A. Grundy, F. Zomari, J.D. Clarke, J. Chem. Technol. Biotechnol. 44 (1989) 43.
- [21] G. Binning, G.F. Quate, Ch. Gerber, Phys. Rev. Lett. 56 (1986) 930.
- [22] A. Ashkin, J.M. Dziedzic, T. Yamane, Nature 330 (1987) 769.
- [23] Hecht Eugene, "Optics", Addison Wesley Longman, 1998.
- [24] Grant R. Fowles, "Introduction to Modern Optics", University of Utah, Copyright 1968 by Holt, Rinehart and Winston Inc.
- [25] Max Born and Emil Wolf. "Principles of Optics". Editorial Cambridge, séptima edición.

- [26] Ashkin, A. 1970. "Acceleration and Trapping of Particles by radiation Pressure". *Physical Review Letters*, 24: 156-159.
- [27] Yi Deng, John Bechhoefer and Nancy R Forde. "Brownian Motion in a Modulated Optical Trap". *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics*
- [28] Svoboda K, Block SM, "Biological Application of Optical Forces", *Annual Reviews of Biophysics and Biomolecular Structure* (1994); 23:247-285
- [29] Bradley A. Brown, Phyllis R. Brown. "Optical tweezers: Theory and current applications". *American Laboratory*, November 2001.
- [30] Ashkin, A., Dziedzic, J.M., Bjorkholm, J.E., and Chu, S. 1986. "Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles". *Optics Letters* 11: 288-290.
- [31] Ashkin, A. 1992. "Forces of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regime". *Biophysical Journal* 61: 569-582.
- [32] Roosen, G. and Imbert, C. 1976. Optical levitation by means of 2 horizontal laser beams—theoretical and experimental study. *Physics Letters* 59A: 6-8.
- [33] G. Gouesbet, B. Maheu, G. Gréhan, *J. Opt. Soc. Am. A* 5 (1998) 1427.
- [34] T. Wohland, A. Rosin, E.H.K. Stelzer, *Optik* 102 (1996) 181.
- [35] B. Maheu, G. Gouesbet, G. Grehan, *J. Opt. (Paris)* 19 (1988) 59.
- [36] G. Gouesbet, G. Grehan, *Atomization Spray* 10 (2000) 277.
- [37] J.P. Barton, D.R. Alexander, *J. Appl. Phys.* 66 (1989) 2900.
- [38] K.F. Ren, G. Grehan, G. Gouesbet, *Appl. Opt.* 35 (1996) 2702.
- [39] K.F. Ren, G. Grehan, G. Gouesbet, *Opt. Commun.* 108 (1994) 343.

- [40] Optical Tweezers Setup for Force Measurements in Counter Propagating Traps Combined with Independent Quadrant Photodiode Position Detection. Pag. 98-113
- [41] ME/CE 96-Spring 2005. "Optical tweezers-Measuring the stiffness  $k$  of the optical trap"
- [42] Kirstine Berg-Sorensen, Henrik Flyvbjerg. "Power Spectrum Analysis for Optical Tweezers". Review of Scientific, Instruments, Vol. 7, Number 3, pag. 595-612.
- [43] D.C. Appleyard, K.Y. Vandermeulen, H. Lee, M.J. Lang, "Optical Trapping for Undergraduates", Received 7 March 2006; accepted 22 September 2006
- [44] Enrico Ferrari, Optical Manipulation and Force Spectroscopy at the Cellular and Molecular Level by Means of Laser Tweezers. Tesis de doctorado, UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TRIESTE
- [45] K. C. Neuman and S. M. Block, "Optical trapping," Review of Scientific Instruments, vol. 75, pp. 2787–2809, Sept. 2004.
- [46] Gittes, F. and Schmidt, C.F. 1998. Interference model for back-focal-plane displacement detection in optical tweezers. Optics Letters 23: 7-9.
- [47] N. Malagnino, G. Pesce, A. Sasso and E. Arimondo. "Measurements of trapping efficiency and stiffness in optical tweezers". Optics Communications.