



INAOE

INSTITUTO NACIONAL DE ASTROFÍSICA,
ÓPTICA Y ELECTRÓNICA

Nuevas técnicas de micromanipulación en pinzas ópticas

Por

M. C. Ibis Ricardez Vargas

Tesis sometida como requisito parcial para
obtener el GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS en
la especialidad de Óptica en el Instituto Nacional
de Astrofísica, Óptica y Electrónica

Supervisada por:

Dr. Rubén Ramos García, INAOE

Dra. Karen Volke Sepúlveda, UNAM

Santa María Tonantzintla, Puebla, México

Octubre 2007

© INAOE 2007

Derechos reservados

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



Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer enormemente a mis asesores, las finas personas: Dr. Rubén Ramos García (INAOE) y Dra. Karen Volke Sepúlveda (UNAM), por la paciencia, comprensión y confianza que me brindaron, por la acertada dirección de la tesis pero sobre todo por haberme introducido en el fascinante mundo de las pinzas ópticas.

También extendo mi agradecimiento a los revisores de tesis y miembros del jurado, Dr. Gabriel Martínez Niconoff, Dr. Héctor Manuel Moya Cessa, Dr. Mayo Villagrán Muñoz, Dr. Nikolai Korneev Zabello y Dr. Julio César Ramírez San Juan, por sus valiosos comentarios y sugerencias que contribuyeron de manera sustancial a la mejora del presente trabajo.

Al INAOE por su hospitalidad y apoyo en mi formación profesional, y en particular a los talleres de Electrónica y Óptica, así como al laboratorio de instrumentación por facilitarme el material de apoyo que requerí durante mi trabajo de laboratorio. De igual manera agradezco infinitamente a todo el personal de la biblioteca por la amabilidad con que me facilitaron toda la información que en su momento requerí.

Mi especial reconocimiento al CONACYT para la beca de manutención sin la cual no habría sido posible realizar mis estudios de doctorado. De igual modo expreso mi agradecimiento a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) por la beca que me otorgó durante este tiempo.

En el terreno personal, deseo expresar mi gratitud a toda la gran familia que me rodea, por la cual deseo seguir superándome. Y en general, a todos mis compañeros y amigos que con el paso del tiempo me han ayudado en mi formación tanto personal como profesional. Con todos ustedes deseo seguir llevando por siempre el lazo de amistad.

¡Muchas gracias a todos!

**A toda mi familia,
en especial a mi querida madre Albina Vargas**

Resumen

El contenido de esta tesis trata en su totalidad con un tema de frontera en la óptica moderna: las pinzas ópticas. Estas son herramientas de captura y manipulación tridimensional de micro-objetos llevada a cabo únicamente con luz láser focalizada. La extensión de potenciales aplicaciones de esta técnica no-invasiva en diversas disciplinas de la ciencia, principalmente en biología, va en acelerado aumento debido al alto grado de selectividad y control del elemento confinado que a la vez sirve como objeto de estudio.

Iniciamos con una revisión de los antecedentes que paso a paso condujeron al establecimiento de las pinzas ópticas como las conocemos hoy en día, y algunas de las aplicaciones más relevantes son también mencionadas. Posteriormente, los fundamentos teóricos de las pinzas son presentados y discutidos formalmente. En este marco, las fuerzas que explican la captura óptica se describen en cada uno de los tres regímenes teóricos con los que contamos actualmente, relativos a la relación entre la longitud de onda λ del haz de captura y el diámetro D de la partícula (considerada de geometría esférica), estos son: régimen de rayos ópticos para el caso en que $D \gg \lambda$, régimen de Rayleigh para cuando $D \ll \lambda$ y el régimen generalizado de Lorenz-Mie el cual es un caso general que funciona para cualquier relación entre D y λ , en particular para cuando $D \sim \lambda$.

Se presentan resultados experimentales que complementan el esquema teórico para micropartículas dieléctricas transparentes (con tamaños en el régimen de rayos, conocidas simplemente como partículas de Mie) de alto índice de refracción (mayor que el índice del medio de inmersión), así como de esferas huecas (a veces consideradas como de bajo índice si su espesor de cáscara es despreciable). En el segundo caso se observaron dos efectos novedosos: la captura bidimensional en un arreglo convencional de pinzas ópticas con haz Gaussiano –en contradicción a los argumentos acerca de la imposibilidad de captura debido a que las partículas de bajo índice son expulsadas de las regiones de máxima intensidad-, y un efecto de desviación direccional del haz de luz (incidente) por parte de la interfaz látex-aire debido a reflexión total interna. La magnitud de dicho haz, que hemos llamado faro de luz, es tal que es capaz de empujar objetos de su entorno varias decenas de micras por efecto de la presión de radiación. Modelos teóricos de tales observaciones experimentales son presentados y discutidos.

También se aborda un método de confinamiento múltiple de micropartículas (partículas de Mie). Consiste de un arreglo interferométrico de pinzas ópticas que permite la captura bidimensional de partículas en las zonas brillantes del patrón de franjas paralelas cuando el periodo espacial se acopla al tamaño de la partícula. Este dispositivo ha permitido separar partículas de una mezcla múltiple ya sea por tamaño o por índice de refracción. Mediante una modulación temporal asimétrica (diente de sierra) que produce un barrido a velocidad constante del patrón, es posible separar aquellas esferas que permanecen amarradas al patrón, dejando las otras atrás. Ahora bien, mediante un sensible ajuste de la potencia láser se logra la segregación de aquellas partículas que solo difieren en su índice de refracción ya

que la fuerza de captura es proporcional al índice de refracción relativo de la partícula en el medio. Resultados cualitativos muestran buena correspondencia entre el modelo teórico aplicado (en el régimen de rayos ópticos) y los experimentos.

Abstract

The content of this thesis deals totally with a frontier field in modern optics: optical tweezers. These are tools for trapping and three-dimensional manipulation of microparticles carried out only with a focused laser beam. The potential applications of this non-invasive technique in many fields of science, have seen an biology, follow in accelerated increase due to a high degree of selectivity and control of the confined element which is in turn, the object of study.

We begin with a revision of the background that step by step drove to the establishment of the optical tweezers as we know them today, and some of the most outstanding applications are also mentioned. Later on, the theoretical foundations of the optical tweezers are presented and formally discussed. In this framework, the forces that explain the optical trapping are described in each one of the three theoretical regimes developed so far, relative to the relationship between the wavelength λ of the trapping beam and the diameter D of the particle (considered of spherical geometry), these are: ray optics regime for the case when $D \gg \lambda$, Rayleigh regime for $D \ll \lambda$, and the generalized Lorenz–Mie regime when $D \sim \lambda$ which is a general case that operate for any relationship between D and λ , in particular for when $D \sim \lambda$.

Experimental results that complement the theoretical scheme are presented for dielectric microparticles of latex (Mie particles) of high refraction index (higher than that of the surrounding medium), as well as for hollow spheres (sometimes considered as low index particles if their shell thickness is negligible). In the second case we observed two news effects: optical trapping and manipulation of low-index spheres in two dimensions in a conventional optical tweezers setup with a Gaussian beam, which is in contradiction with previous arguments about the impossibility of trapping these spheres because they are in general expelled from the high intensity regions and an effect of directional deviation of the (incident) light beam from the latex-air interface of the particle due to total internal reflection. The power of this intense beam that we have called micro-lighthouse of light, it is such that it is able to push objects of their environment several dozens of microns due to the effect of radiation pressure. Theoretical models of such experimental observations are presented and discussed.

A method of multiple confinement of microparticles (Mie particles) is also presented. It consists of an interferometric optical tweezers setup that allows the two-dimensional capture of particles in the bright zones of interference patterns (parallels fringes) when the spatial period is coupled to the size of the particle. This device removes the particles of a given size or refractive index from a multiple mixture. By means of an asymmetric time modulation (sawtooth function) which performs a kind of constant speed sweeping of the pattern, it is possible to separate those spheres that remain locked-in to the moving pattern leaving the other ones behind. Then, by means of a sensitive adjust of the laser power we can achieve the segregation of those particles that only differ from each other in their

refraction index, since the capture force is proportional to the index of refraction of the particle respect to the surrounding medium. Qualitative theoretical results (in the ray optics regime) show good correspondence with the experiments.

Índice

Agradecimientos	i
Dedicatorias	ii
Resumen	1
Abstract	3
Prefacio	7
1 Introducción	8
2 Teoría de las pinzas ópticas	15
2.1 Modelos de captura óptica	16
2.2.1 Régimen de rayos ópticos	18
2.3.2 Régimen de Rayleigh	25
2.3.3 Régimen generalizado de Lorenz-Mie	30
2.2 Estimación experimental de fuerzas	33
2.3 Conclusiones	35
3 Esferas huecas en pinzas ópticas	37
3.1 Introducción	38
3.2 Sistema estándar de pinzas ópticas	39
3.2.1 Captura de microesferas sólidas con haz Gaussiano	39
3.2.2 Captura de microesferas huecas con haz Gaussiano	44
3.3 Esferas huecas como microespejos móviles en pinzas ópticas	46
3.3.1 Introducción	46
3.3.2 Teoría de esferas huecas como microespejos	48
3.3.2.1 Análisis geométrico	48
3.3.2.2 Campos electromagnéticos esparcidos	51

3.3.2.3	Simulaciones numéricas del campo esparcido	55
3.3.3	Experimentos	59
3.4	Conclusiones	62
4	Separación interferométrica de micropartículas	63
4.1	Introducción	64
4.2	Teoría del separador óptico interferométrico	66
4.2.1	Fuerzas ópticas y potenciales en un patrón de franjas de interferencia ...	66
4.2.2	Simulaciones numéricas	70
4.3	Arreglo interferométrico de pinzas ópticas	75
4.3.1	Descripción del arreglo experimental	75
4.3.2	Separación por tamaño	77
4.3.3	Separación por índice de refracción	79
4.3.4	Caracterización del sistema	81
4.3.5	Algunas aplicaciones con muestras orgánicas	85
4.4	Conclusiones	86
5	Conclusiones generales y perspectivas	88
	Trabajos derivados de la tesis	94
	Summary in English: New micromanipulation techniques in optical tweezers	96
1	Concept of optical tweezers	96
2	New effects of hollow spheres in optical tweezers	98
3	Interferometric optical sieve for particle sorting	99
4	Future work	101
	Lista de figuras	102
	Bibliografía	107

Prefacio

Uno de los elementos más socorridos dentro del campo de la óptica moderna es sin duda alguna el láser. Las aplicaciones de este versátil instrumento óptico son actualmente incontables pues estas se multiplican con gran rapidez no solo en el ámbito de la investigación sino que también abundan en las actividades de la vida cotidiana. Por el lado de la investigación, y específicamente en el área de la biofotónica, que trata de la interacción entre la luz y materia biológica, el láser es el agente fundamental de la interacción.

Por otro lado, hemos visto que en los últimos años el campo de la microscopía ha venido en constante evolución puesto que ya no se limita únicamente a la simple observación de microobjetos, sino que, en conjunto con el láser, ha venido a integrar una herramienta de gran utilidad en el campo de la biofotónica conocida como pinza óptica, la cual permite no solo la observación sino también la captura y manipulación de diversos microobjetos. Los mecanismos de confinamiento están basados en las fuerzas mecánicas ejercidas por la luz sobre la materia, es decir, en la presión de radiación.

El contenido del presente trabajo está dedicado al estudio teórico-experimental de las pinzas ópticas. El material está dispuesto de tal manera que los primeros dos capítulos (introducción y teoría, respectivamente) forman un cuerpo convencional y accesible para los interesados en el tema, ello estriba en que tal exposición intenta ser lo bastante clara. Además de lo anterior, se añaden de forma sencilla algunos procesos experimentales de manipulación individual y colectiva de partículas inorgánicas (microesferas de sílice y látex) y orgánicas (como células sanguíneas) con la finalidad de mostrar la importancia y potencialidad de las pinzas ópticas. Todos los experimentos expuestos fueron realizados en los laboratorios de óptica del INAOE como parte de mi proyecto de tesis doctoral. La exposición de dichos experimentos es tal que pueden ser relativamente fáciles de reproducir si se cuenta con el equipo necesario para implementar la trampa (en el capítulo 3 se describe el sistema estándar).

Aunque las pinzas ópticas ya pueden considerarse como una tecnología madura, es aun bastante joven en el terreno de las aplicaciones, pero cada vez cobra más simpatía en diversas disciplinas del conocimiento puesto que con su uso se están creando muchas posibilidades para una exploración más tangible del mundo microscópico.

Ibis Ricardez Vargas
INAOE, México,
Octubre 2007

Capítulo 1

Introducción

Una pinza óptica es un dispositivo que usa un haz de luz láser enfocado para atrapar y manipular a voluntad micropartículas dieléctricas individuales en un medio. El haz es enviado a través de un objetivo de microscopio de alta apertura numérica que es usado para capturar y observar las partículas bajo estudio. Esta trampa ha sido usada en una amplia variedad de campos interdisciplinarios y su uso se está expandiendo rápidamente. Los progresos recientes permiten nuevas y excitantes aplicaciones. Este trabajo trata puramente con las pinzas ópticas. Se ofrece una visión global de la historia y la teoría así como algunas aportaciones experimentales novedosas.

Es bien conocido que la luz transporta energía. Menos obvio es el hecho de que también transporta momento. Sin embargo, es cierto que cuando la luz ordinaria golpea un objeto, la colisión da origen a una fuerza pequeña sobre el objeto. Este efecto es llamado presión de radiación [1]; en otras palabras, es la fuerza mecánica ejercida por la luz. A modo de ejemplo, unos pocos miliwatts de potencia golpeando un objeto produce piconewtons de fuerza ($1 \text{ pN} = 10^{-12} \text{ N}$). La física detrás de las pinzas ópticas usa precisamente el concepto de fuerza por presión de radiación, el cual ha sido conocido durante mucho tiempo. En 1619, el astrónomo alemán Johannes Kepler (1571-1630), sugirió que era la presión de la luz solar lo que desviaba la cola de un cometa de manera que siempre apuntaba en dirección contraria a la posición del sol¹ (ref. [2] p. 55-56). La teoría corpuscular de la luz introducida

¹ Cuando se demuestra la existencia de presión de radiación en 1901, los astrónomos adoptaron la hipótesis de Kepler para explicar el fenómeno de los cometas y durante medio siglo no dudaron de que era así, pero estaban en un error. La presión de radiación de la luz solar no es lo bastante fuerte. Es el viento solar el que empuja la cola de los cometas en dirección contraria a la del sol. Lo que hace es barrer hacia afuera la nube de polvo y gas que rodea al cometa cuando pasa cerca del sol [I. Asimov, 100 preguntas básicas de la ciencia, 3ra. ed., Alianza Editorial, Madrid, 1979, pp. 28, 84].

por Newton (1642-1727) hizo la idea de la presión de radiación más plausible y estimuló muchos intentos experimentales para medirla. Durante los siglos XVIII y XIX todos los esfuerzos fallaron en revelar alguna fuerza ejercida por la luz debido a su diminuta magnitud. Fue hasta 1873 en que el físico británico James Clerk Maxwell (1831-1879) predijo la magnitud de la presión basada en su nueva teoría de las ondas electromagnéticas. En un medio en que las ondas son propagadas, escribió Maxwell, hay una presión en la dirección normal a las ondas, y numéricamente es igual a la energía contenida en una unidad volumen. La presión predicha era extremadamente pequeña para fuentes de luz ordinarias.

La existencia de presión de radiación, libre de la perturbación de efectos térmicos, fue finalmente demostrada experimentalmente en la primera década del siglo XX por el ruso P. N. Lebedev en una serie de experimentos que mostraban que placas paralelas en el vacío rotaban cuando eran iluminadas por una fuente de luz [3, 4]. Lebedev alcanzó un valor para la presión de radiación que se desviaba en un 20% de las predicciones de Maxwell. Resultados similares fueron obtenidos en posteriores experimentos realizados de manera independiente por los estadounidenses Nichols y Hull en 1903. Sus logros fueron asombrosos si se consideran las fuentes luminosas de las que disponían en aquél entonces (ref. [2] p. 57). Tiempo después, Sheffers y Stark observaron fuerzas de la luz sobre átomos de Sodio en un famoso experimento en los años treinta, para medir la polarizabilidad escalar de átomos de álcali [5]. Con la invención del láser en 1960, se abrieron muchas nuevas posibilidades para observar efectos de la fuerza de la luz. Las características especiales del láser que ha provocado tales perspectivas son el hecho de ser una fuente de muy alta irradiancia, su alto grado de pureza espectral y su coherencia espacial. Estas propiedades hacen posible, entre otras cosas, enfocar un haz láser a un punto con un radio cercano al límite teórico de un medio de la longitud de onda. Esto llevó a la invención de las trampas ópticas láser que usan haces de luz para capturar y manipular diminutas partículas.

Arthur Ashkin (nacido en 1922), un científico estadounidense que trabajaba en los laboratorios Bell², abrió el camino en esta área y produjo una serie de notables trabajos que sentaron los fundamentos para el campo [6]. Su interés en el tema despertó en 1969 al intentar calcular la magnitud de la fuerza por presión de radiación de un haz de luz (de 1 W

² Actualmente retirado.

de potencia) sobre un espejo totalmente reflejante, obteniendo un cambio en el momento total de la luz por segundo o fuerza de 10 nN, que es un valor muy pequeño en términos absolutos. Al imaginar que si dicha potencia era focalizaba a un punto de una micra a la vez ocupado por una partícula reflejante del mismo tamaño, obtenía una aceleración de 10^9cm/s^2 y pensó que tal efecto debería observarse sin mucha dificultad [7]. Para ello usó microesferas transparentes de látex con diámetros de 0.59-2.68 micras en agua evitando así calentamiento por absorción. Con pocos miliwatts de potencia pudo demostrar la habilidad de la luz para guiar partículas a lo largo de un haz láser Gaussiano (de ion de argón) a una longitud de onda de 514.5 nm débilmente enfocado en dirección horizontal. También observó que el haz ejercía una fuerza transversal que atraía la partícula hacia la región de más alta intensidad del haz [8]. Estas observaciones le permitieron diseñar una trampa por medio de dos haces horizontales contra-propagándose, tal que las partículas pudieran quedar confinadas en algún punto de equilibrio entre los focos de los haces. También observó que burbujas, es decir, partículas de bajo índice de refracción (menor que el medio que las rodea) eran repelidas del centro del haz mientras eran simultáneamente aceleradas en la dirección del haz por la fuerza de esparcimiento. Este artículo de Ashkin de 1970, fue el primer reporte sobre captura de micropartículas.

Se identifican dos fuerzas. Aquella que acelera las esferas en la dirección de propagación del haz es debida al esparcimiento de la luz reflejada y es llamada fuerza de esparcimiento. En contraste, la fuerza transversal que arrastra las partículas hacia el centro del eje del haz es debida al gradiente de intensidad del perfil del haz y es llamada fuerza de gradiente. En general, esta última atrae partículas de alto índice de refracción a la zona de más alta intensidad y viceversa para esferas de bajo índice. Ashkin también extendió la idea de la presión de radiación de haces a átomos y moléculas. En este caso, el proceso para la captura serían la absorción (de luz acorde a una transición particular de un átomo) y la reradiación³ isotrópica por emisión espontánea de la radiación resonante que golpea al átomo, lo que resulta en una fuerza de conducción promedio o presión en la dirección de la luz incidente. Estas hipótesis fueron demostradas más tarde [9].

³ Radiación resultante de la absorción previa de radiación primaria.

En 1971 Ashkin y Dziedzic realizaron la trampa de levitación óptica. Un haz láser Gaussiano enfocado débilmente con una lente de 5 cm de distancia focal, dirigido hacia arriba sostenía esferas (15-20 micras de diámetro) contra la gravedad por medio de la fuerza de esparcimiento, en tanto que la fuerza de gradiente transversal mantenía la partícula en el centro del haz [10]. Posteriormente, levitación de esferas huecas de vidrio también fue llevada a cabo [11]. En este caso se usó un modo de haz TEM_{01}^* conocido como ‘dona’ el cual tiene un hueco en su centro, ya que las esferas huecas se comportan como burbujas de aire y son empujadas de la región de más alta intensidad del haz. En ese experimento, se usó una lente de 0.5 cm de distancia focal con la finalidad de incrementar el gradiente de intensidad vertical a lo largo de la dirección de propagación. Esto mejoró la estabilidad vertical de la partícula. Basado en esta observación, el propio Ashkin propuso en 1978 una trampa para átomos con un solo haz fuertemente enfocado, señalando que ambos gradientes de intensidad, el axial y el transversal, podían permitir un confinamiento tridimensional [12].

En 1986 Ashkin y sus colaboradores -entre los que destaca S. Chu, premio Nobel de física en 1997 por sus contribuciones en enfriamiento y captura de átomos con luz láser-, publican un artículo clásico en que se anuncia la implementación de tal trampa, y no precisamente para átomos sino para micropartículas [13]. En este caso, un único haz láser fuertemente enfocado fue usado para capturar establemente en tres dimensiones, partículas en un rango de tamaño de 25 nm a 10 μ m suspendidas en agua, con un láser de argón a 514.5 nm. La trampa fue debido a las fuerzas de gradiente axial y transversal. Cuando el haz fue dirigido hacia abajo para iluminar la muestra, la fuerza de gradiente axial (en sentido inverso a la dirección de propagación) fue lo suficientemente fuerte para vencer al peso relativo de la esfera en el medio (agua) y a la fuerza de esparcimiento. La alta focalización se alcanzó con un objetivo de microscopio de alta apertura numérica (1.24). La única limitante era el eventual daño sufrido por la partícula debido a la alta intensidad en el foco. Este tipo de trampas son comúnmente conocidas como *pinzas ópticas*^{4,5}. Posteriormente también

⁴ El término pinzas ópticas fue originalmente usado para designar a la trampa de gradiente de un solo haz, y ese es el sentido que se le dará en este trabajo, pero vale la pena mencionar que hoy en día es a veces usado como un sinónimo genérico de trampa óptica (ref. [14] p. 109).

⁵ En muchos aspectos, se parece a una versión en escala reducida del rayo tractor de la popular ciencia ficción [15].

probó su eficacia en enfriamiento de átomos [16], como inicialmente se propuso. Vale la pena mencionar que a esta herramienta óptica se le llama pinza óptica por su capacidad de atrapar, no porque tengan forma de tenazas. Y por otro lado, si el solo hecho de capturar resulta un reto, también es importante recalcar que ese no es el único objetivo, sino el de estudiar al objeto atrapado y al propio haz de captura, medir fuerzas y demás parámetros que caractericen el sistema para futuras aplicaciones. Por ejemplo, se han confinado células *in vivo* que mientras están en cautiverio se ha podido observar su reproducción sin sufrir un daño considerable [17].

En la figura 1 se muestra el proceso de evolución de las pinzas ópticas. Las flechas indican la dirección de propagación del haz (o de los haces, en su caso) incidentes sobre la microesfera a ser capturada.

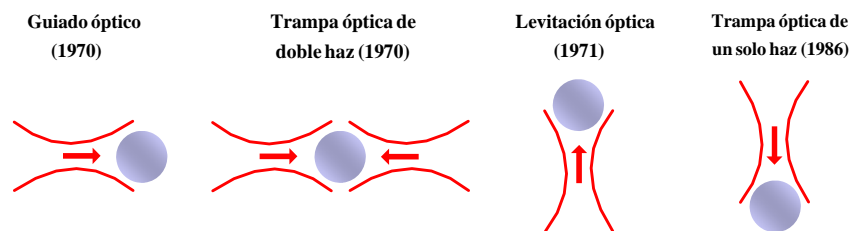


Figura 1.1. Evolución de las pinzas ópticas. Las flechas indican la dirección de incidencia del haz (o de los haces, según sea el caso) de captura en la partícula.

Las aplicaciones de este nuevo esquema de trampa no se hicieron esperar. Ashkin y sus colaboradores mostraron un año después que las pinzas ópticas podían manipular material vivo⁶ así como inanimado, y que mediante una apropiada elección de la longitud de onda, el daño óptico a especímenes biológicos podría minimizarse. Empleando un láser infrarrojo cercano de Nd:Yag de onda continua a una longitud de onda de 1.064 μm , Ashkin capturó

⁶ Se sabe que la primera persona que tiene un trabajo encaminado a micromanipular material biológico enfocando luz sobre dicho material es quizá S. Tschachotin quien escribió el artículo: Die mikroskopische Strahlenstichmethode, eine Zelloperationsmethode, Biol. Centralblatt **32**, 623 (1912). Logró enfocar la luz de una lámpara de bulbo a través de un objetivo de microscopio en un objeto plano alcanzando un diámetro focal de 6 μm . Usando esto así llamado método “Strahlenstich” (palabra que se puede traducir como “microhaz”), observó cambios en el comportamiento biológico de células cultivadas.

virus, bacterias, levaduras y protozoarios [15, 18]. Después de esto, las pinzas ópticas se han convertido quizás en la mejor herramienta no-invasiva de manipulación para interactuar con el mundo microbiológico (ref. [14] p.11) en campos como la biología molecular y celular, en bioquímica y biotecnología. También prueba su eficacia en microcirugía óptica de células vivas. Las fuerzas ópticas a escala microscópica de macromoléculas, organelos e incluso células, son muy significativas. Un pN por ejemplo, podría arrastrar una bacteria, estirar, doblar, o distorsionar macromoléculas como ADN y ARN. Recientes trabajos han cubierto el alcance de la primera generación de experimentos [19, 20, 21].

Actualmente, a dos décadas del nacimiento de las pinzas, el conjunto de herramientas ópticas incluye obviamente a las pinzas, a las tijeras [22] y a las llaves ópticas [23]; cada una de ellas con una función específica. De manera análoga muchas variaciones del arreglo original de pinzas han sido desarrolladas dependiendo de cada propósito. Por otra parte, otros tipos de haces de luz han sido usados para diversas aplicaciones. Como un ejemplo de tales versiones nuevas podemos mencionar las pinzas ópticas interferométricas, las cuales han sido desarrolladas para captura múltiple, además de que ofrece una manipulación adicional mediante la manipulación del patrón de interferencia [24].

Los reportes actuales acerca de las trampas ópticas en general es muy vasta, por lo que resulta casi imposible mencionar todo, así que solamente se han resaltado los avances más importantes de este campo de constante y rápido movimiento. Hay suficiente literatura especializada sobre el tema, algunos ejemplos de referencias recientes son [6, 7, 25, 26].

Después de esta breve introducción sobre los antecedentes que condujeron al desarrollo de las pinzas ópticas, se accede a la descripción de la organización de esta tesis. La física de las pinzas ópticas que se ha descrito anteriormente es presentada de manera formal en el capítulo 2, centrando el análisis en los tres regímenes principales de donde se extraen los fundamentos teóricos. Se inicia con una exposición del régimen de rayos ópticos basado en la óptica geométrica que describe la orientación y forma de las fuerzas de captura para partículas cuyo tamaño exceden por mucho a la longitud de onda del haz de confinamiento. Un tratamiento clásico basado en la teoría electromagnética en donde la partícula es visualizada como un simple dipolo oscilante en un campo eléctrico, es desarrollado posteriormente. Este es el llamado régimen de Rayleigh, válido para microobjetos cuyas dimensiones frente a la longitud de onda del campo es pequeña. Expresiones para las

fuerzas de gradiente y de esparcimiento son derivadas. El capítulo finaliza con una breve mención del régimen generalizado de Lorenz-Mie, el cual se basa en un riguroso tratamiento de la teoría de esparcimiento del que de manera más general se obtienen las ecuaciones para las fuerzas de captura, las cuales son normalmente evaluadas numéricamente puesto que de forma analítica resulta muy laborioso.

El capítulo tercero está por completo dedicado al estudio teórico-experimental de esferas huecas (con tamaños en el régimen de Mie, conocidas simplemente como partículas de Mie). Dos efectos novedosos son analizados: la captura bidimensional de estas en un arreglo estándar de pinzas ópticas con un haz Gaussiano fundamental, debido a la fuerza de esparcimiento; y el efecto de desvío de luz direccional que por reflexión total interna emerge de la interfase vidrio-aire en la esfera, cuando es iluminada fuera de eje. La segunda observación resulta ser un fenómeno atractivo puesto que la magnitud del haz emergente es tal que es capaz de empujar objetos de su entorno, nuevamente por la fuerza de esparcimiento como sucede con el guiado óptico o la levitación. Modelos teóricos de tales fenómenos son derivados.

En el capítulo 4 se habla de la captura colectiva de micropartículas (partículas de Mie). Mediante un arreglo interferométrico de pinzas ópticas para confinamiento múltiple se atrapan y manipulan muestras polidispersas. Cada conjunto de esferas similares responde de manera distinta al patrón de interferencia dinámico, observándose, por primera vez a nuestro conocimiento, la segregación de las muestras, tanto por tamaño como por índice de refracción. Se añade una caracterización del arreglo experimental y posteriormente se presentan pruebas de la eficacia de la técnica en la separación de muestras orgánicas. El análisis teórico del método se realiza con un modelo de rayos ópticos, observándose buena correspondencia con los resultados experimentales.

Finalmente, en el capítulo 5 se concluye con algunos comentarios generales. Al final de cada capítulo se agregan conclusiones con el fin de recapitular los puntos más importantes.

Capítulo 2

Teoría de las pinzas ópticas

Las pinzas ópticas, también conocidas como trampas de gradiente de un solo haz, 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 nm hasta decenas de micras) colocados cerca del foco del haz. La captura es debida al gradiente de intensidad tridimensional en esa región. En el presente capítulo se estudia teóricamente la física de las fuerzas que permiten tal confinamiento.

Se inicia en la sección 2.1 con una breve mención de los modelos teóricos actuales de captura óptica. Básicamente se trata con tres regímenes: el modelo de rayos ópticos, la aproximación de Rayleigh y una breve descripción del modelo generalizado de Lorenz-Mie. La descripción de cada uno de ellos es dada en las subsecciones siguientes. De los dos primeros se deducen expresiones para las fuerzas de gradiente y de esparcimiento involucradas en el proceso de la captura óptica. En la sección 2.2 se incluye una breve mención sobre los métodos principales de estimación y calibración experimental de fuerzas ópticas. Finalmente una recapitulación sucinta de lo más relevante de este capítulo es dada en la sección 2.3.

2.1 Modelos de captura óptica

El confinamiento óptico, que consiste en la captura y manipulación de micropartículas por medio de un haz láser (o haces) es una potente herramienta ampliamente extendida en varias ramas de la ciencia y la tecnología como en biología para manipular células, etc. La técnica de captura más común, la trampa de gradiente de un solo haz, es una trampa tridimensional comúnmente llamada *pinzas ópticas*. A pesar de la aparente simplicidad de la trampa láser, estimaciones exactas de las fuerzas por presión de radiación actuando sobre la partícula localizada en algún tipo de haz (tal como un haz Gaussiano) son difíciles [27]. La dificultad crece debido a que como pueden usarse partículas que van de las fracciones a decenas de micras, es más difícil crear una teoría general simple que explique cómo trabajan. Esto se ha vuelto un tópico de gran interés debido a su relevancia en una variedad de áreas de estudio como en física, química, procesos biológicos, por mencionar algunos [15, 25]. Hay un doble interés por medir fuerzas involucradas en pinzas ópticas. El primero involucra la física de las mismas trampas ópticas en el sentido de comparar experimentalmente las fuerzas de confinamiento con valores esperados teóricamente. La otra razón es más práctica en el sentido de que para muchas aplicaciones un conocimiento exacto de la magnitud de las fuerzas ópticas aplicadas a la partícula atrapada es útil [29]. El análisis de tales fuerzas de radiación deriva de la teoría más general de esparcimiento de la luz. Siguiendo el análisis hecho por van de Hulst [30], el esparcimiento se refiere a la redirección de la luz en un rango de ángulos como resultado de su interacción con un objeto lo cual es un problema en la teoría electromagnética de Maxwell, por lo tanto el tema debe ser tratado como tal [31].

El primer paso en esa dirección llegó con la teoría del esparcimiento para una partícula esférica, isotrópica, homogénea, no magnética, iluminada por una onda plana, descrita en artículos clásicos por Lorenz en 1890, Mie en 1908 y Debye en 1909, la cual es llamada teoría de Lorenz-Mie [32]. Sin intentar establecer los precedentes históricos¹, en este trabajo se aceptará el nombre más común, la teoría de Mie. Esta teoría en su formulación original es incapaz de describir las fuerzas por presión de radiación de haces como un Gaussiano,

¹ Un tratamiento conciso pero completo de la historia del problema de la esfera se da en ref. [33] pp. 54-59.

por ejemplo, que es un punto de particular interés para describir con precisión las fuerzas inducidas por láser. Se han hecho algunos esfuerzos por ampliar la teoría incluyendo otros campos incidentes como el Gaussiano fundamental pero los resultados son bastante complicados. Con lo que se trata comúnmente es con aproximaciones teóricas determinadas por la razón de la longitud de onda λ del campo incidente al diámetro D de la partícula irradiada. El caso cuando $D \gg \lambda$ es llamado régimen de rayos ópticos o régimen de Mie². Al caso opuesto, $D \ll \lambda$, nos referimos como el régimen de campos ópticos o de Rayleigh (ref. [14] p. 150). En estos regímenes, solo necesitamos el uso de conceptos simples tales como la conservación del momento, rayos ópticos y ecuaciones clásicas de la teoría electromagnética para entender las fuerzas básicas y el confinamiento óptico [34]. En la estimación de fuerzas ópticas en el régimen de tamaño intermedio ($D \sim \lambda$), la teoría electromagnética, a través de la teoría generalizada de Lorenz-Mie (TGLM) [35, 32] ha rendido mejores resultados que la óptica geométrica, pero ninguno de ambos modelos ha resultado completamente satisfactorio [36]. A la aplicación de la TGLM en este rango de aproximación es le conoce como régimen generalizado de Lorenz-Mie (RGLM). Partículas en tales regímenes comparadas con la longitud de onda λ se aprecia en la 2.1.

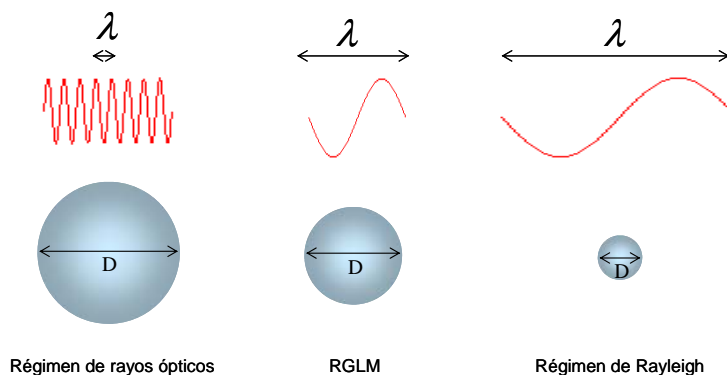


Figura 2. 1. Partícula en cada uno de los tres regímenes. En la aproximación de rayos ópticos la partícula es más grande que la longitud de onda ($D \gg \lambda$) y en el régimen de Rayleigh tenemos el caso opuesto ($D \ll \lambda$). En el régimen generalizado de Lorenz-Mie (RGLM) ambos parámetros, el diámetro y la longitud de onda son semejantes ($D \sim \lambda$).

² Esta terminología de Mie está cayendo en desuso debido a que causa confusión como se vio en la página anterior, por lo que en este trabajo nos referimos a esta aproximación como régimen de rayos ópticos.

Estas son las tres aproximaciones principales en la teoría de las pinzas ópticas [29]. Se dará una descripción de cada uno de los regímenes para indicar la fuente de las fuerzas de captura óptica.

2.1.1 Régimen de rayos ópticos

Para una partícula atrapada en el caso límite en que $D \gg \lambda$ (en la práctica $D > 10\lambda$, aunque en realidad la descripción ha probado ser útil desde el punto de vista cualitativo aun para partículas de menor tamaño [118]), las fuerzas de captura de la luz pueden ser entendidas en términos de la geometría de los rayos ópticos. La óptica geométrica es una herramienta sencilla y muestra buenos acuerdos con resultados medidos [36]. Aquí uno descompone el haz de luz total en rayos individuales, cada uno con apropiada intensidad y dirección que se propagan en líneas rectas en un medio de índice de refracción uniforme. Los rayos cambian su dirección cuando se reflejan o se refractan [37]. En esta aproximación tanto la longitud de onda como los efectos de difracción pueden ser despreciados (ref. [38] cap. III). De acuerdo a este modelo, la operación básica de las pinzas ópticas puede ser explicada por la transferencia de momento lineal asociada con el cambio de trayectoria de los rayos en una interfaz dieléctrica ya sea por reflexión o por transmisión [36].

Para entender como esto es posible, primero es útil considerar las propiedades de la luz. Sabemos que un haz láser es compuesto de radiación electromagnética cuya velocidad puede ser descrita por la ecuación $c = \lambda\nu$, donde c es la velocidad de la luz, λ es la longitud de onda y ν es la frecuencia. También sabemos que en la descripción corpuscular los fotones tienen momento $P = h/\lambda$, donde h es la constante de Planck, el cual puede ser transferido a objetos por colisión, ejerciendo el efecto de presión de radiación sobre el objeto, como antes se ha afirmado. Las fuerzas de gradiente y de esparcimiento surgen de la acción de presión de radiación contra un objeto [39]. Entonces, el principio fundamental en la trampa óptica es el concepto de transferencia de momento y la tercera ley de Newton. La ecuación de la fuerza es $F = \frac{\Delta P}{\Delta t}$, donde ΔP es el cambio en el momento durante el tiempo Δt (ref. [40] p. 487).

La refracción de la luz por una partícula transparente conduce a un cambio de dirección en la propagación del rayo. Así ocurre allí transferencia de momento y una correspondiente fuerza de reacción sobre la partícula. Esta no es notable por nosotros a escala macroscópica porque es muy pequeña (del orden de los pN para un láser de baja potencia) en comparación con la fuerza gravitacional, pero para altas potencias sí podría verse tal efecto.

Las figuras 2.2, 2.3 y 2.4 describen cualitativamente el origen de las fuerzas de captura en este régimen. Empezamos por describir la fuerza de gradiente de restauración transversal (figura 2.2 (a)), la cual puede ser entendida bajo el análisis vectorial de momentos (flechas rojas) como sigue.

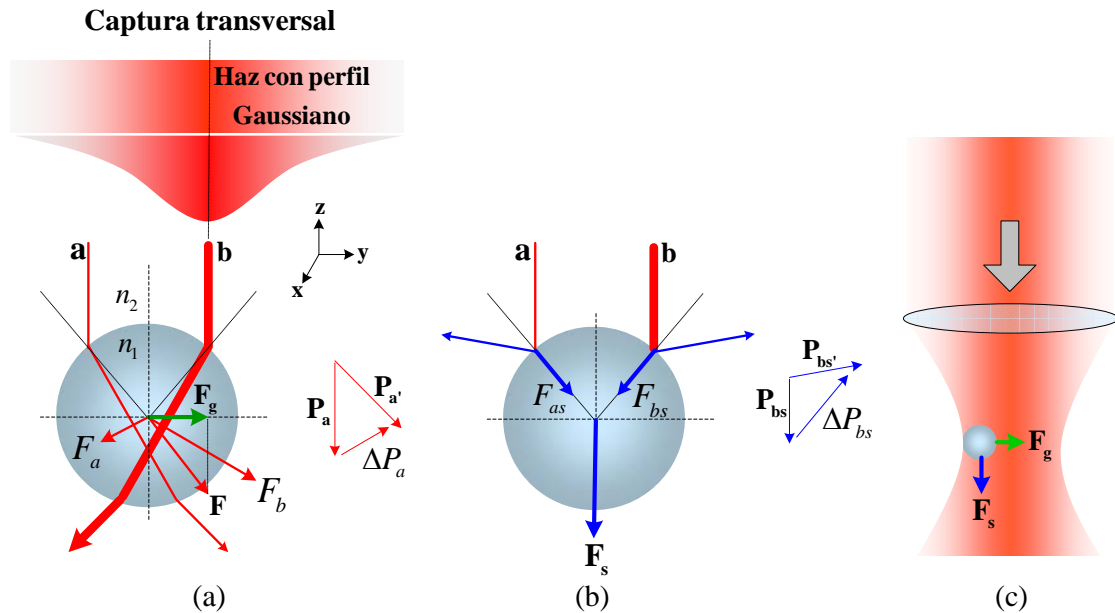


Figura 2.2. (a) Trazo de rayos (flechas rojas) mostrando una descripción cualitativa del origen de la fuerza de gradiente lateral (flecha verde) de un haz láser Gaussiano distribuido no uniformemente. En (b) se observa la fuerza de esparramiento debido a la reflexión (flechas azules) que tiende a empujar la partícula en la dirección de propagación del haz. La figura ha sido adaptada de Ashkin [37, 13]. (c) Representación de la situación experimental de las fuerzas actuantes (por la forma que tiene el haz enfocado, Ashkin le llamó “botella óptica” [1]).

Se considera una esfera típica colocada fuera del eje del haz. Por simplicidad, se estarán considerando partículas transparentes índice de refracción homogéneo y con geometría

esférica. El par de rayos paralelos a y b provenientes de un haz con perfil de intensidad Gaussiano³, inciden simétricamente respecto al centro de la microesfera sólida de alto índice de refracción n_1 (es decir, de un valor mayor que su entorno), inmersa en un medio de índice de refracción menor n_2 . Puesto que los rayos vienen de partes del haz con diferente potencia, el cambio de momento de estos rayos debido a la refracción, $\Delta P_a = P_{a'} - P_a$ y $\Delta P_b = P_{b'} - P_b$ (por simplicidad, en la figura solo se hace el análisis del cambio de momento para el rayo a), difieren en magnitud ($\Delta P_b > \Delta P_a$), lo que causa –de acuerdo a la conservación del momento lineal-, una fuerza resultante de reacción neta F sobre el medio refractante dirigida hacia el eje del haz, como resultado de la suma vectorial de las fuerzas F_a y F_b , donde $F_b > F_a$. La proyección y de esta fuerza, F_g , es la fuerza de gradiente y apunta en la dirección de más alta intensidad (flecha verde).

Ahora bien, para obtener la fuerza de esparcimiento nos concentramos en las flechas azules de la figura 2.2 (b) empezando por el rayo incidente b . El análisis del cambio de momento del haz reflejado $\Delta P_{bs} = P_{bs'} - P_{bs}$ da origen a una la fuerza sobre la esfera en dirección opuesta a ΔP_{bs} , denotada como F_{bs} , y de manera análoga se obtiene F_{as} . Estas dos fuerzas dan como resultado a la fuerza de esparcimiento F_s , la cual apunta en la dirección de propagación $-z$ del haz. En 2.2 (c) se observan las fuerzas ópticas actuantes sobre la esfera en lo que sería la situación experimental donde el haz es enfocado por medio de un objetivo de microscopio. Se ha hecho el análisis de las fuerzas ópticas considerando solo un par de rayos, pero en la práctica se debe hacer la integración de todos los rayos en la sección transversal del haz.

Estas dos fuerzas mencionadas anteriormente no permite la captura en 2D ya que para ello se necesita un gradiente en la dirección de propagación. El estudio de dichas fuerzas hacen posible formar las trampas tridimensionales, para ello, analizamos el caso del confinamiento axial (figura 2.3).

Dos rayos inciden simétricamente respecto al centro del haz. El rayo a sufre un cambio de momento $\Delta P_a = P_{a'} - P_a$ debido a la refracción, lo mismo ocurre con el rayo b ,

³ Los haces Gaussiano serán descritos en el siguiente capítulo.

generando las fuerzas F_a y F_b (de igual magnitud) sobre la esfera cuya resultante F_g es llamada fuerza de gradiente axial⁴ que actúa como fuerza de restauración hacia el foco, como puede ser visto en la figura 2.3 (a) (flechas rojas).

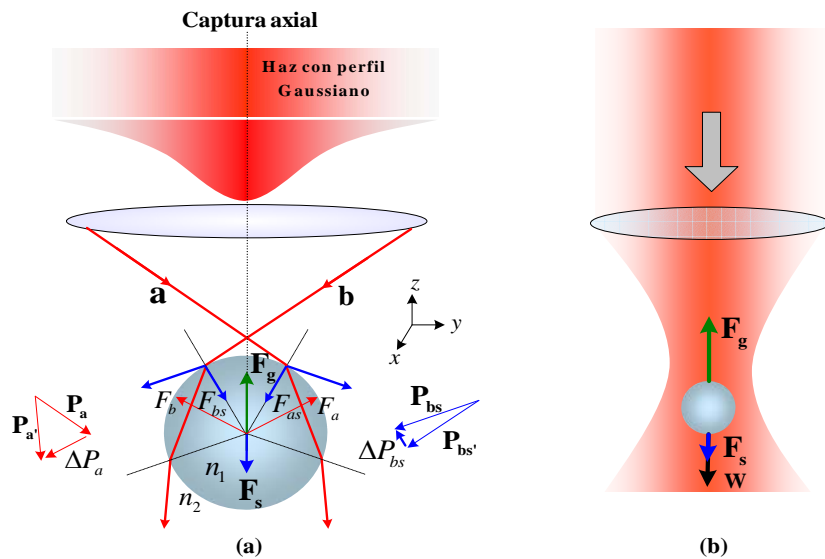


Figura 2.3. (a) Trazo de rayos (flechas rojas) mostrando la fuerza de gradiente axial que atrae la esfera hacia el foco del haz de captura (flecha verde). La fuerza de esparcimiento debida a los rayos reflejados también es analizada (flechas azules). Figura adaptada de Ashkin [37, 13]. (b) Representación de las fuerzas en pinzas ópticas.

De igual manera, un simple análisis de la reflexión indica el cambio de momento $\Delta P_{bs} = P_{bs'} - P_{bs}$ del rayo b , lo que explica la fuerza de esparcimiento F_s como resultado de la suma vectorial de F_{as} y F_{bs} (flechas azules), la cual actúa siempre en dirección de propagación del haz. El objeto queda entonces establemente atrapado si la fuerza de esparcimiento F_s a lo largo de la dirección $-z$ es menor que la fuerza de gradiente, a lo largo de la dirección $+z$, dicho de otra forma, $\frac{F_g}{F_s} > 1$. Más aun, considerando el peso W de la partícula, la magnitud de la fuerza de gradiente debe ser tal que contrarreste el peso más la

⁴ Ashkin se refirió a esta fuerza como “presión de radiación negativa” debido a que apunta en sentido opuesto a la dirección de propagación del haz [13].

fuerza de esparcimiento. La magnitud de F_g depende del grado de focalización de haz de captura. En 2.2 (b) se representan las fuerzas actuantes en la esfera.

Se ha estado haciendo el análisis de fuerzas para el caso de esferas de alto índice de refracción, ahora se analizará el caso opuesto. En la figura 2.4 se muestra una esfera de bajo índice de refracción ($n_1 < n_2$), como podría ser una burbuja de aire en agua o una esfera hueca de espesor despreciable, inmersa en un campo con distribución de intensidad Gaussiana.

Los rayos a y b son nuevamente refractados sufriendo el cambio de momento $\Delta P_a = P_{a'} - P_a$ y $\Delta P_b = P_{b'} - P_b$ (por brevedad, en la figura solo se analiza al rayo b), respectivamente, de tal manera que dan origen a las fuerzas F_a y F_b , localizadas a lo largo de la dirección del cambio de momento de los rayos. Puesto que el rayo b es más fuerte que a , la fuerza F_b es más grande que F_a , en consecuencia se deduce que la fuerza neta transversal F apunta en la dirección de más alta intensidad del haz [41]. La componente y de esta fuerza (F_y) tiene dirección opuesta a la fuerza de gradiente F_g para el caso de esferas sólidas las cuales son atraídas por el haz. La fuerza de esparcimiento (que no se indica en la figura) apunta en dirección $+z$ como en la figura 2.2.

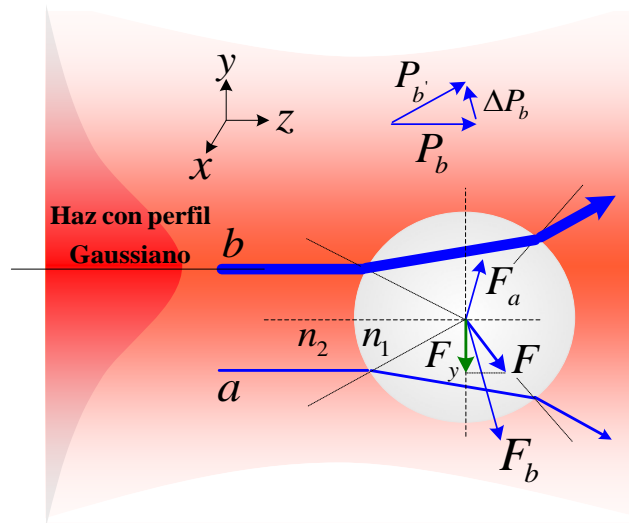


Figura 2.4. Esquema de trazo de rayos indicando que la fuerza resultante debida a la refracción expulsa a la esfera del centro del haz, contrariamente al caso de esferas sólidas.

En una forma más cuantitativa, en los trabajos de Roosen [42] y Ashkin [37] se han calculado las fuerzas ópticas sobre una esfera debido a un rayo de luz de potencia P , usando los coeficientes de Fresnel de reflexión R y transmisión T (ver por ejemplo Hecht [2]), esto debido a que los rayos son reflejados y refractados cada vez que inciden en la superficie de la esfera, como se muestra en la figura 2.5.

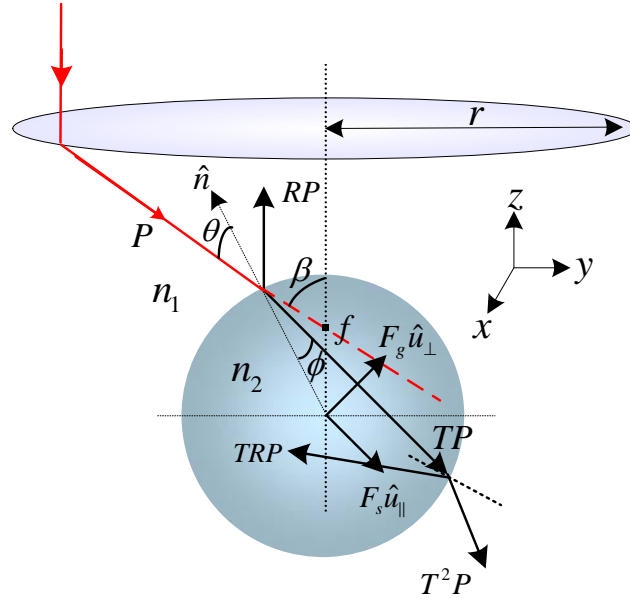


Figura 2. 5. Diagrama de rayos de la trampa de un solo haz. El foco está sobre el eje z , \hat{n} es un vector normal a la superficie, r es el radio de apertura. El único rayo de potencia P da origen a rayos de potencia RP , TP , T^2P , TRP , etc. Se indican las direcciones de las fuerzas de gradiente $F_g \hat{u}_\perp$ y de esparcimiento $F_s \hat{u}_\parallel$ descritas anteriormente.

Cuando el punto focal está sobre el eje z , las fuerzas son simétricas a lo largo del mismo, las componentes y de las dos fuerzas se cancelan y solo la contribución de las dos fuerzas a lo largo del eje z es considerada. Para la fuerza de esparcimiento se encontró [42]

$$\begin{aligned}
 F_s &= \frac{n_1 P}{c} \left\{ 1 + R \cos 2\theta - T^2 \frac{\cos(2\theta - 2\phi) + R \cos 2\theta}{1 + R^2 + 2 \cos 2\phi} \right\} \hat{u}_\parallel \\
 &= \frac{Q_s n_1 P}{c} \hat{u}_\parallel,
 \end{aligned} \tag{2.1}$$

donde Q_s es el término entre corchetes, n_1 es el índice de refracción del medio circundante, θ y ϕ los ángulos de incidencia y refracción, respectivamente; c es la velocidad de la luz, \hat{u}_{\parallel} un vector unitario paralelo al rayo incidente y β es el ángulo medio del cono del haz incidente.

Las fuerzas son dependientes de la polarización puesto que R y T son diferentes para rayos polarizados perpendicular o paralelo al plano de incidencia [37]. La cantidad $n_1 P / c$ es el momento incidente por segundo del rayo de potencia P en el medio de índice n_1 [37]. El ángulo ϕ relativo a θ se obtiene vía la ley de refracción de Snell $n_2 \text{sen} \phi = n_1 \text{sen} \theta$, con n_2 el índice refractivo de la partícula ($n_2 > n_1$). Similarmente, para la fuerza de gradiente se obtiene [42, 37]

$$\begin{aligned} F_g &= \frac{n_1 P}{c} \left\{ R \text{sen} 2\theta - T^2 \frac{\text{sen}(2\theta - 2\phi) + R \text{sen} 2\theta}{1 + R^2 + 2R \cos 2\phi} \right\} \hat{u}_{\perp} \\ &= \frac{Q_g n_1 P}{c} \hat{u}_{\perp}, \end{aligned} \quad (2.2)$$

donde \hat{u}_{\perp} es el vector unitario perpendicular al rayo incidente. La suma vectorial de estas dos componentes de fuerza da para la magnitud de la fuerza debido a un solo rayo de potencia P [37]

$$\begin{aligned} F_{tot} &= \frac{n_1 P}{c} \sqrt{Q_s^2 + Q_g^2} \equiv \frac{n_1 P}{c} Q(\theta, \frac{n_2}{n_1}, R, T), \\ &= Q \frac{n_1 P}{c}, \end{aligned} \quad (2.3)$$

donde las variables que determinan el valor efectivo de Q están explícitamente establecidos en la ecuación (2.3). La fuerza total sobre el objeto es encontrado por la suma sobre todos los rayos pasando a través de él. La fuerza incluye los efectos de todas las reflexiones y refracciones internas de los rayos, de aquí que, es exacta dentro de la aproximación de rayos ópticos [15]. Pero en general las partículas atrapadas están usualmente suspendidas en

fluidos cuyo índice de refracción no dista mucho del índice de la partícula, por lo que las reflexiones de Fresnel resultantes y las correspondientes fuerzas (de retroceso) que estas generan son pequeñas y por lo tanto ignoradas.

La forma más general de la fuerza óptica es dada por la ecuación (2.3). En tal expresión se observa que la fuerza puede aumentar con la potencia, con el índice de refracción relativo entre la partícula y el medio (si aumenta el índice del medio dejando fijo el de la partícula, la fuerza óptica decrece hasta ser cero cuando ambos son iguales) o aumentando el valor de Q . La potencia solo se puede incrementar hasta cierto límite tal que no exceda el umbral de daño por calentamiento (fotodaño) de la óptica o del objeto, sobre todo al trabajar con biomateriales. El índice de refracción es un parámetro propio del material de estudio y digamos que no se puede cambiar. Q es un parámetro adimensional que representa la eficiencia de la trampa. Las condiciones experimentales para que Q aumente es incrementando el índice relativo de la esfera (n_2/n_1) y la magnitud del ángulo de incidencia θ (es decir, con mayor focalización). Puede ser determinado experimentalmente, ya que su determinación teórica es más difícil [15].

2.1.2 Régimen de Rayleigh

Para una partícula atrapada con diámetro mucho más pequeño que la longitud de onda del haz de captura (en la práctica $D < 0.4\lambda$), un modelo clásico de campo electromagnético para las fuerzas proporciona mejores acuerdos con los experimentos [36]. Aquí la perturbación del frente de onda es mínima y la partícula puede ser vista como un dipolo inducido comportándose de acuerdo a las simples leyes de la electrostática [31].

En esta sección, expresiones teóricas para las componentes transversal y longitudinal de las fuerzas de radiación son derivadas como una función de cantidades físicas bajo la aproximación de Rayleigh del esparcimiento de la luz por una esfera dieléctrica bajo iluminación de un haz láser Gaussiano. El estudio se basa en el tratamiento hecho por Harada [43].

Consideremos un haz Gaussiano paraxial polarizado linealmente, con radio de cintura en el punto focal w_0 propagándose en dirección $+z$, iluminando una partícula esférica de

radio a con constante dieléctrica ϵ_1 y permeabilidad magnética μ_1 , en un medio con una constante dieléctrica ϵ_2 y una permeabilidad magnética μ_2 . La dirección de polarización del campo eléctrico es paralela al eje x . El centro de coordenadas cartesianas es localizado en el centro de la cintura del haz. El centro de la partícula está localizado en la posición $\mathbf{r}(x, y, z)$, donde z es la dirección axial de propagación del haz. La geometría a ser considerada es mostrada en la figura 2.6.

Ya que la partícula es suficientemente pequeña comparada con la longitud de onda, el campo eléctrico instantáneo que experimenta debido al haz electromagnético es uniforme dentro de la esfera y paralelo al campo externo, y las fórmulas electrostáticas pueden ser aplicadas. La partícula en el campo eléctrico instantáneo $\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)$, actúa como un dipolo puntual simple localizado en su centro, cuyo momento dipolar es dado por ([44], ref. [45] p. 175-176, 205-207)

$$\begin{aligned} \mathbf{p}(\mathbf{r}, t) &= 4\pi\epsilon_2 a^3 \left(\frac{\epsilon_1 - \epsilon_2}{\epsilon_1 + 2\epsilon_2} \right) \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) \\ &= 4\pi n_2^2 \epsilon_0 a^3 \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right) \mathbf{E}(\mathbf{r}, t), \end{aligned} \quad (2.4)$$

donde $m = n_1 / n_2$, es el índice de refracción relativo de la partícula y ϵ_0 es la permitividad eléctrica del espacio libre.

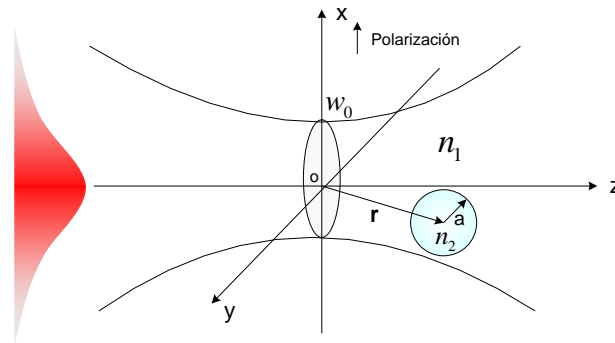


Figura 2.6. Partícula en haz láser divergente para analizar las fuerzas en una partícula en el régimen de Rayleigh.

Las fuerzas de la presión de radiación sobre una partícula en el régimen de Rayleigh son un resultado de dos componentes separadas actuando sobre el dipolo:

1) Una de estas fuerzas componentes es la así llamada fuerza de esparcimiento. Como el campo eléctrico oscila armónicamente en el tiempo, el dipolo puntual inducido sigue sincrónicamente el campo eléctrico, y entonces la partícula actúa como un dipolo eléctrico oscilante que radia ondas secundarias o esparcidas en todas direcciones. Este evento de esparcimiento cambia ambos, la magnitud y dirección del flujo de energía de la onda electromagnética. La correspondiente transferencia de momento también ocurre y la fuerza de esparcimiento asociada con estos cambios es ejercida sobre la partícula. Esta fuerza de esparcimiento es dada por [22]

$$\mathbf{F}_s(\mathbf{r}) = \frac{c_{pr} \mathbf{I}(\mathbf{r}, t)}{c/n_2} = \frac{c_{pr} \langle \mathbf{S}(\mathbf{r}, t) \rangle_T}{c/n_2} = \hat{z} \left(\frac{n_2}{c} \right) c_{pr} I(\mathbf{r}), \quad (2.5)$$

donde c_{pr} es la sección transversal para la presión de radiación de la partícula, $\mathbf{I}(\mathbf{r}, t)$ es la distribución de intensidad o irradiancia del haz incidente en el punto $\mathbf{r}(x, y, z)$, definida como una versión promedio en el tiempo del vector de Poynting (este vector corresponde a un flujo instantáneo de energía cruzando un área unitaria por unidad de tiempo en la dirección de propagación del haz), el cual está relacionado a las componentes del campo eléctrico y magnético, es decir, la podemos expresar de la siguiente forma $\mathbf{I}(\mathbf{r}) \equiv \langle \mathbf{S}(\mathbf{r}, t) \rangle_T = \frac{1}{2} \text{Re}[\mathbf{E}(\mathbf{r}) \times \mathbf{H}^*(\mathbf{r})] = \hat{z} \frac{n_2 \epsilon_0 c}{2} |\mathbf{E}(\mathbf{r})|^2 = \hat{z} I(\mathbf{r})$, donde \hat{z} es el vector unitario en la dirección de propagación del haz e

$$I(\mathbf{r}) = \left(\frac{2P}{\pi w_0^2} \right) \frac{1}{1 + 2(\tilde{z})^2} \exp \left[-\frac{2(\tilde{x}^2 + \tilde{y}^2)}{1 + 2(\tilde{z})^2} \right], \quad (2.6)$$

donde P es la potencia del haz dada por $P = \mu w_0^2 n_2 \epsilon_0 c E_0^2 / 4$, y \tilde{x} , \tilde{y} y \tilde{z} representan las coordenadas espaciales normalizadas definidas por $(\tilde{x}, \tilde{y}, \tilde{z}) = (x/w_0, y/w_0, z/kw_0^2)$. En el

caso de partículas dieléctricas, donde la partícula esparce la luz isotrópicamente, c_{pr} es igual a la sección transversal de esparcimiento c_s y es dada por (ref. [33] p.37)

$$c_{pr} = c_s = \frac{8}{3} \pi (ka)^4 a^2 \left(\frac{m^2-1}{m^2+2} \right)^2. \quad (2.7)$$

Esta expresión tiene dimensiones de área e indica la sección a través de la cual la energía total es esparcida por la partícula en todas direcciones. Sustituyendo la ecuación (2.7) en (2.5), la fuerza de esparcimiento está dada en términos de la distribución de intensidad del haz

$$\begin{aligned} \mathbf{F}_s(\mathbf{r}) &= \hat{z} \frac{n_2}{c} \frac{8}{3} \pi (ka)^4 a^2 \left(\frac{m^2-1}{m^2+2} \right)^2 I(\mathbf{r}) \\ &= \hat{z} \frac{n_2}{c} \frac{128\pi^5 a^6}{3\lambda^4} \left(\frac{m^2-1}{m^2+2} \right)^2 I(\mathbf{r}). \end{aligned} \quad (2.8)$$

Nótese que esta expresión es esencialmente equivalente a la ecuación (1) de la ref. [13] obtenida por Ashkin la cual es proporcional a P y a a^6 , y está dirigida perpendicular al frente de onda de la luz incidente, por eso los objetos son empujados en la dirección de propagación del haz.

2) La otra componente es la fuerza de gradiente debido a la fuerza de Lorentz actuando sobre el dipolo inducido (de la partícula polarizada) por el campo electromagnético [44]. Pero usando el momento dipolar eléctrico de la ecuación (2.4) como una analogía electrostática de la onda electromagnética, una fuerza de gradiente instantánea es definida por [45]

$$\mathbf{F}_g(\mathbf{r}, t) = [\mathbf{p}(\mathbf{r}, t) \cdot \nabla] \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = 4\pi n_2^2 \epsilon_0 a^3 \left(\frac{m^2-1}{m^2+2} \right) \frac{1}{2} \nabla \mathbf{E}^2(\mathbf{r}, t), \quad (2.9)$$

en donde se usó la identidad vectorial

$$(\mathbf{E} \cdot \nabla) \mathbf{E} = \frac{1}{2} \nabla E^2 - \mathbf{E} \times (\nabla \times \mathbf{E}), \quad (2.10)$$

con $\mathbf{E} \times (\nabla \times \mathbf{E}) = -\frac{1}{c} \frac{\partial}{\partial t} (\mathbf{E} \times \mathbf{B}) = 0$ debido a que es la derivada temporal de una cantidad que esta relacionada a través de una constante multiplicativa al vector de Poynting, que como sabemos, describe la potencia por unidad de área pasando a través de una superficie. Asumiendo que la potencia del láser es mantenida constante (para el caso de un láser de onda continua como típicamente ocurre en pinzas ópticas), la derivada temporal de ese término es cero. La fuerza gradiente que la partícula experimenta en un estado estacionario es la versión promedio en el tiempo de la fuerza de Lorentz, es decir, de la ecuación (2.9), y está dada por

$$F_g(\mathbf{r}) = \langle \mathbf{F}_g(\mathbf{r}, t) \rangle_T = 4\pi n_2^2 \varepsilon_0 a^3 \left(\frac{m^2-1}{m^2+2} \right) \frac{1}{2} \nabla \langle E^2(\mathbf{r}, t) \rangle_T, \quad (2.11)$$

$$= \pi n_2^2 \varepsilon_0 a^3 \left(\frac{m^2-1}{m^2+2} \right) \nabla |E(\mathbf{r})|^2, \quad (2.12)$$

$$= \frac{2\pi n_2 a^3}{c} \left(\frac{m^2-1}{m^2+2} \right) \nabla I(\mathbf{r}), \quad (2.13)$$

donde se usaron las relaciones $\langle E^2(\mathbf{r}, t) \rangle_T = \frac{1}{2} |E(\mathbf{r})|^2 = \frac{1}{n_2 \varepsilon_0 c} I(\mathbf{r})$ y $\frac{1}{2} |E(\mathbf{r})|^2 = \frac{1}{n_2 \varepsilon_0 c} I(\mathbf{r})$ dada anteriormente. La expresión para la $I(\mathbf{r})$ está dada por la ecuación (2.6). De la ecuación (2.13) es muy claro que para partículas de alto índice ($m > 1$) la dirección de la fuerza de gradiente esta a lo largo del gradiente de intensidad del haz (hacia el eje del haz en caso de un haz de haz con perfil Gaussiano y hacia el foco si el haz esta enfocado, de ahí el nombre). En cambio, para partículas de bajo índice ($m < 1$) esta fuerza está dirigida en dirección contraria a la zona de alta intensidad lo que expulsa a la partícula. La utilidad de (2.8) y (2.13) para evaluar las fuerzas de radiación depende de nuestra habilidad para describir la intensidad del haz incidente, puesto que ambas fuerzas dependen de esto. Una aproximación para el haz incidente que genera buenos resultados cuando se compara con

métodos más rigurosos usa la descripción de haz paraxial [43], que es una aproximación de orden cero para el haz Gaussiano dada por la ecuación (2.6). La descripción de haz paraxial supone un modo TEM_{00} en el foco y no toma en cuenta el carácter vectorial del haz [15]. Mientras esta suposición es válida para un haz débilmente enfocado (guiado láser y levitación), no es válida para un haz fuertemente enfocado (pinza óptica).

Aunque la aproximación Rayleigh es válida solo para partículas más pequeñas que la longitud de onda de la luz, tales como átomos, proteínas y virus, mucha información se puede extraer de sus soluciones analíticas simples. El comportamiento de las fuerzas de gradiente y de esparcimiento y sus dependencias de los parámetros del sistema puede fácilmente ser visto de (2.8) y (2.13). Por ejemplo, la fuerza de gradiente depende del cubo del radio de la partícula, y ambas fuerzas, dependen linealmente de la potencia.

2.1.3 Régimen generalizado de Lorenz-Mie

La descripción de fuerzas de confinamiento ópticas para partículas que están entre los regímenes de Rayleigh y Mie ($D \sim \lambda$) no es trivial [39], esto es, si tenemos partículas del orden de λ , ninguno de ambos regímenes es válido. La mayoría de los objetos que son útiles o interesantes para atrapar en la práctica, tienden a caer en este rango intermedio de tamaños ($0.1-10\lambda$). En este caso, teorías electromagnéticas más completas son requeridas para apoyar una descripción exacta [25].

La generalización de la teoría de Mie (descrita en la subsección 2.1) ha sido considerada por muchos investigadores quienes han presentado aproximaciones teóricas y algunos resultados numéricos [31], pero el trabajo más extensivo fue presentado por K. F. Ren, et al, en 1994, y es llamada la teoría generalizada de Lorenz-Mie (TGLM) [28]. Esta teoría es una extensión de la teoría de esparcimiento de Mie, que permite calcular campos esparcidos y fuerzas de radiación ejercidas sobre una partícula de tamaño arbitrario colocada en un haz Gaussiano o en un perfil de haz más general [32]. En este marco se analizará aquí el caso en que $D \sim \lambda$, aproximación que se conoce como régimen generalizado de Lorenz-Mie (RGLM), como ya se mencionó anteriormente.

En este modelo, las fuerzas de la presión de radiación actuando sobre una partícula que es localizada en la posición \mathbf{r} en el sistema coordenado de la figura 2.6, son evaluadas en

término de tres secciones transversales para la presión de radiación de acuerdo a la siguiente relación [29]

$$\mathbf{F}(\mathbf{r}) = \frac{n_2}{c} I_0 [\hat{x} C_{pr,x}(\mathbf{r}) + \hat{y} C_{pr,y}(\mathbf{r}) + \hat{z} C_{pr,z}(\mathbf{r})], \quad (2.14)$$

donde, $I_0 = 2P/\pi w_0^2$ es la intensidad en el centro del haz, siendo P la potencia del láser. $C_{pr,x}$ y $C_{pr,y}$ son las componentes transversales mientras que $C_{pr,z}$ es la sección transversal longitudinal asociada con la dirección principal de propagación z del haz. Expresiones detalladas de $C_{pr,i}$ son dadas en [28, 32] mientras extensivos resultados numéricos son reportados en [28] para partículas en el régimen de rayos ópticos $D \gg \lambda$. Reproduciendo las ecuaciones para los $C_{pr,i}$ con la misma notación que en la referencia [32], tenemos

$$\begin{aligned} C_{pr,x} = & \frac{\lambda^2}{2\pi} \sum_{p=1}^{\infty} \sum_{n=p}^{\infty} \sum_{m=p-1 \neq 0}^{\infty} \frac{(n+p)!}{(n-p)!} [\text{Re}(S_{mn}^{p-1} + S_{nm}^{-p} - 2U_{mn}^{p-1} - 2U_{nm}^{-p}) \left(\frac{1}{m^2} \delta_{m,n+1} - \frac{1}{n^2} \delta_{n,m+1} \right) \\ & + \frac{2n+1}{n^2(n+1)^2} \delta_{nm} \text{Re}(T_{mn}^{p-1} - T_{nm}^{-p} - 2V_{mn}^{p-1} + 2V_{nm}^{-p})], \end{aligned} \quad (2.15)$$

$$\begin{aligned} C_{pr,y} = & \frac{\lambda^2}{2\pi} \sum_{p=1}^{\infty} \sum_{n=p}^{\infty} \sum_{m=p-1 \neq 0}^{\infty} \frac{(n+p)!}{(n-p)!} [\text{Im}(S_{mn}^{p-1} + S_{nm}^{-p} - 2U_{mn}^{p-1} - 2U_{nm}^{-p}) \left(\frac{1}{m^2} \delta_{m,n+1} - \frac{1}{n^2} \delta_{n,m+1} \right) \\ & + \frac{2n+1}{n^2(n+1)^2} \delta_{nm} \text{Im}(T_{mn}^{p-1} - T_{nm}^{-p} - 2V_{mn}^{p-1} + 2V_{nm}^{-p})], \end{aligned} \quad (2.16)$$

$$\begin{aligned} C_{pr,z} = & \frac{\lambda^2}{2} \sum_{n=1}^{\infty} \sum_{p=-n}^{+n} \left\{ \frac{1}{(n+1)^2} \frac{(n+1+|p|)!}{(n-|p|)!} \text{Re}[(a_n + a_{n+1}^* - 2a_n a_{n+1}^*) g_{n,TM}^p g_{n+1,TM}^{p*} \right. \\ & + (b_n + b_{n+1}^* - 2b_n b_{n+1}^*) g_{n,TE}^p g_{n+1,TE}^{p*}] + p \frac{2n+1}{n^2(n+1)^2} \frac{(n+|p|)!}{(n-|p|)!} \times \\ & \left. \text{Re}[i(2a_n b_n^* - a_n - b_n^*) g_{n,TM}^p g_{n+1,TE}^{p*}] \right\}, \end{aligned} \quad (2.17)$$

donde a_n y b_n son los usuales coeficientes de esparcimiento de la teoría de Mie, λ es la longitud de onda de la luz y los g_n^m son los dos coeficientes de los haces con forma introducidos por la TGLM que describen el haz incidente (n va de 1 a ∞ y m de $-n$ a $+n$) [28] y

$$U_{nm}^p = a_n a_m^* g_{n, TM}^p g_{m, TM}^{p+1*} + b_n b_m^* g_{n, TE}^p g_{m, TE}^{p+1*}, \quad (2.18)$$

$$V_{nm}^p = i b_n a_m^* g_{n, TE}^p g_{m, TM}^{p+1*} - i a_n b_m^* g_{n, TM}^p g_{m, TE}^{p+1*}, \quad (2.19)$$

$$S_{nm}^p = (a_n + a_m^*) g_{n, TM}^p g_{m, TM}^{p+1*} + (b_n + b_m^*) g_{n, TE}^p g_{m, TE}^{p+1*}, \quad (2.20)$$

$$T_{nm}^p = -i(a_n + b_m^*) g_{n, TM}^p g_{m, TE}^{p+1*} + i(b_n + a_m^*) g_{n, TE}^p g_{m, TM}^{p+1*}. \quad (2.21)$$

Estas son las ecuaciones a resolver numéricamente para estimar las fuerzas usando las técnicas computacionales adecuadas (que reduzcan los tiempos de cálculo). La ecuación (2.14) (la cual es similar a la ecuación (2.5)), permite calcular las correspondientes fuerzas de radiación con sus valores absolutos bajo una cierta potencia láser y un cierto tamaño de mancha del haz, lo cual es preferible para evaluar las fuerzas en un sentido realista y para compararlas directamente con resultados derivados de las ecuaciones (2.8) y (2.13).

En contraste a los rayos ópticos, la TGLM puede predecir la presencia de resonancia, es decir, la creación de multipolos eléctricos y magnéticos en la partícula. Efectos de resonancia causan fluctuaciones en las fuerzas de captura como una función de la longitud de onda y del tamaño de la partícula [31]; su detección requiere procesos en pasos muy pequeños en el parámetro (adimensional) de tamaño de la partícula $\alpha = 2\pi a/\lambda$, siendo a su diámetro.

La TGLM muestra gran promesa para la predicción de fuerzas de radiación en todos los regímenes de tamaños, puesto que es la más general y completa de las tres aproximaciones mencionadas. Resultados de esta teoría han sido previamente comparados con experimentos de levitación óptica y se encontró un buen acuerdo [46, 47]. Para aceptar la TGLM como un modelo para fuerzas de radiación, sus predicciones deben ser consistentes con resultados experimentales para una variedad de tamaños de partículas y geometrías experimentales. Los resultados actuales así lo indican [43].

2.2 Estimación experimental de fuerzas

El comportamiento dinámico de una partícula dentro de la trampa óptica es análogo a una masa atada a un resorte. Por lo tanto, en la primera aproximación, la partícula puede ser modelada como una masa en un potencial armónico [48], lo que significa que si una fuerza F es aplicada a la esfera alejándola de la trampa, ésta experimentará una fuerza de restauración debido a la ley de Hooke

$$F = -kx, \quad (2.22)$$

donde x es el desplazamiento respecto de la posición de equilibrio y k es la rigidez de la trampa, misma que es controlada por la potencia del haz. De esta ecuación, si podemos determinar la rigidez midiendo la posición de la esfera, se determina la fuerza en la trampa [49]. Antes de hacer medidas de fuerzas (ópticas y adicionales⁵) que actúan sobre el objeto, primero se debe calibrar el potencial óptico determinando la constante k . Una vez calibrada, la trampa óptica se vuelve un sensitivo micro-transductor de fuerzas, la cual ha sido usada para ejercer y medir fuerzas en un amplio rango de aplicaciones [48]. Varios métodos de calibración han sido desarrollados [25], pero aquí solo se mencionarán los dos principales: calibración de la fuerza de viscosidad de arrastre y calibración del movimiento browniano. En ambas técnicas k puede ser determinada.

En el primer caso, la muestra (líquida) en la cual la esfera atrapada por el haz (en un potencial armónico) esta suspendida es arrastrada a una velocidad constante, y la fuerza de arrastre sobre la esfera (para este cálculo se usa el mínimo valor de la velocidad para el cual la esfera se pierde de la trampa) es determinada usando la ley de Stokes

$$F_v = 6\pi\eta r v = \gamma v, \quad (2.23)$$

donde η es la viscosidad del fluido, r es el radio de la esfera, v es la velocidad de movimiento de la muestra con respecto a la posición de la trampa y $\gamma = 6\pi\eta r$ es llamado

⁵ Las fuerzas externas tienden a empujar o jalar el objeto fuera del centro de la trampa.

coeficiente de arrastre de Stokes de la partícula en la solución. Puesto que todos los parámetros son conocidos, la fuerza es determinada. Ahora bien, mediante la luz de captura que es esparcida por el objeto, podemos estimar el desplazamiento x . Gittes y Schmidt [50] han desarrollado un modelo que describe el cambio de intensidad debido al desplazamiento lateral (fuera de eje) de la partícula con respecto a la trampa. La luz iluminante y esparcida es colimada por medio de una lente condensadora. El plano focal posterior de esta lente es proyectado en un fotodiodo cuadrante (un diodo sensor de luz que es dividido en cuatro segmentos iguales), que es usado para detectar dichos cambios en la distribución de intensidad en términos de las señales de los cuadrantes y proporcionar la posición de una señal para la localización de la esfera. Los resultados para F y x pueden ser usados en la ecuación (2.22) para determinar la constante elástica k .

El otro método de calibración hace uso del movimiento browniano de la partícula atrapada, que como se sabe es debido al continuo y aleatorio bombardeo de las moléculas del solvente, lo que da origen a una difusión. Entonces, una partícula en la pinza óptica sentirá ambas, las fuerzas aleatorias debido a fluctuaciones térmicas (o difusionales) y la fuerza óptica de restauración, confinando su movimiento dentro del foco del haz. La ecuación de movimiento de la partícula atrapada en este caso es dada por la ecuación de Langevin (para una dimensión x o y) [119]

$$\gamma \frac{dx}{dt} + kx = F(t), \quad (2.24)$$

donde $F(t)$ es la fuerza estocástica (aleatoria) experimentada por la partícula debido a las fluctuaciones térmicas de las moléculas en la solución (por lo cual tiene promedio cero en el tiempo). Nótese en la ecuación (2.24) que las fuerzas inerciales han sido despreciadas, lo cual es válido puesto que el sistema es fuertemente amortiguado, esto es, el número de Reynolds es muy bajo (10^{-4}) para las micropartículas. Para resolver (2.24) se procede de la siguiente manera. Registrando la posición de la partícula con respecto al tiempo conseguimos la variable $x(t)$. Entonces encontramos el espectro de potencia para $x(t)$

tomando la transformada de Fourier de (2.24) y luego el módulo cuadrado de ambos lados para obtener [30]

$$|X(f)|^2 = \frac{k_B T}{\gamma \pi^2 (f_c^2 + f^2)}, \quad (2.25)$$

con

$$|F(f)|^2 = 4\gamma k_B T, \quad (2.26)$$

donde $X(f)$ es la transformada de Fourier de x , $F(f)$ la transformada de Fourier de $F(t)$ (vemos en (2.26) que su espectro de potencia es constante), T es la temperatura, k_B es la constante de Boltzmann, f es la frecuencia de muestreo (medida en ciclos por segundo o Hertz) y $f_c = k/2\pi\gamma$ es introducida como una frecuencia característica de la trampa.

La ecuación (2.26) es el espectro de potencia Lorentziano del movimiento browniano de la esfera en la trampa y proporciona las fluctuaciones térmicas dependientes de la frecuencia f , dicho de otra manera, es la posición de la esfera con respecto al tiempo. La posición de las fluctuaciones son aproximadamente constantes en bajas frecuencias hasta que f_c es alcanzada, en donde los puntos de la pendiente del espectro de potencia cambian significativamente, es decir, para $f \gg f_c$, el espectro cae como $1/f^2$. Por esta razón f_c es conocida como frecuencia de corte. Cuando esta frecuencia es observada, de la ecuación (2.26) se obtiene el valor de k , lo cual nos permite determinar la fuerza sobre una esfera en la trampa directamente de la ecuación (2.22).

2.3 Conclusiones

Este capítulo tuvo la finalidad de presentar a groso modo las ideas básicas que explican las fuerzas inmiscuidas en la captura de micropartículas en pinzas ópticas. Se inició mencionado los diferentes modelos teóricos desde la primera aportación de Mie al problema de la interacción entre la luz y micropartículas, es decir, del esparcimiento, hasta

las herramientas modernas, con la finalidad de ubicar el vasto tema en un marco más general.

El estudio se concentró en los tres regímenes hasta ahora disponibles para estimar las fuerzas. Primero se analizó la aproximación de rayos ópticos la cual se basada en la óptica geométrica. En este contexto, trazo de rayos con momento lineal interactuando con la partícula sólida, indican la dirección de las fuerzas de captura. Este régimen es tal vez el más recurrente debido a la facilidad de su aplicación y porque además aporta resultados con buena correspondencia cualitativa con los experimentos. En segundo lugar se obtuvieron expresiones para las fuerzas en el régimen de Rayleigh debido a un haz Gaussiano fundamental interactuando con una partícula. El análisis es más general puesto que está basado en la teoría electromagnética, pero por las aproximaciones consideradas solo funciona adecuadamente para partículas pequeñas comparadas con la longitud de onda de la luz. Dos componentes de la fuerza fueron obtenidas, la fuerza de gradiente y la de esparcimiento en términos de parámetros medibles. Finalmente, el régimen generalizado de Lorenz-Mie fue planteado brevemente. Este modelo es el más general que existe. Es capaz de atacar situaciones arbitrarias de interacción luz-partícula, pero a costa de un análisis mucho más laborioso para un tratamiento analítico. La magnitud de las fuerzas en este régimen se obtienen computacionalmente, y es cada vez más popular.

La teoría presentada en este capítulo profundiza más técnicamente lo expuesto en el capítulo uno sobre las formas de captura. Constituye además un complemento de apoyo a los resultados experimentales de los capítulos posteriores. El capítulo siguiente está enteramente dedicado al tratamiento experimental de ambos tipos de esferas (de alto y de bajo índice de refracción), principalmente de esferas huecas (consideradas de bajo índice si su espesor de cáscara es despreciable), lo que complementará la teoría.

Capítulo 3

Esferas huecas en pinzas ópticas

En el capítulo anterior se habló acerca de los principios que conducen al confinamiento y manipulación de partículas de alto y bajo índice de refracción. Este capítulo se concentra en el mecanismo experimental de manipulación de las esferas huecas¹, empezando en la sección 3.1 con una breve introducción acerca de los antecedentes de las primeras formas de manipulación y la importancia de este tipo de esferas.

En la sección 3.2 se presenta el arreglo convencional de pinzas ópticas para captura de partículas de alto índice de refracción. También se demuestra, por primera vez a nuestro conocimiento, que esferas huecas de vidrio, las cuales son usualmente repelidas de las regiones de alta intensidad [11, 51, 52, 53, 54], pueden ser atrapadas y manipuladas en dos dimensiones con un haz Gaussiano nominal usando el mismo sistema óptico, como se mostrará en la subsección 3.2.2. La captura toma lugar cuando la partícula es localizada sobre la cintura del haz y centrada con respecto al eje de propagación.

Un efecto adicional observado durante la incidencia del haz en la superficie de las esferas huecas es descrito en la sección 3.3. Consiste en la reflexión de un haz casi ortogonal al haz incidente cuando las partículas son iluminadas fuera de eje. Tal fenómeno ha sido observado en microesferas con diferentes diámetros externos, en un rango de 5-20 μm . Este efecto permite proponer el uso de micropartículas huecas con un espesor de vidrio finito como microespejos operando por reflexión total interna (RTI). El uso del sistema típico de pinzas permite el posicionamiento preciso de los microespejos en situaciones

¹ Aunque normalmente se tratan como sinónimos, debemos poner cuidado en distinguir entre partículas huecas y de bajo índice. Aquí se usará el término esferas huecas, pero debido a que el cascarón es grueso, ya no se comportan como de bajo índice.

específicas dentro de la muestra. Los espejos pueden constituir una nueva micro-herramienta en el contexto de los sistemas llamados *lab-on-a-chip* (laboratorio en un chip).

Finalmente, se concluye en la sección 3.4 con una mención de los resultados más destacados del presente capítulo.

3.1 Introducción

En el capítulo previo se discutió principalmente acerca de los principios de la captura y manipulación de esferas de alto índice con haz Gaussiano. También se mencionó que las esferas de bajo índice, es decir, aquellas cuyo índice de refracción es más bajo que el de su entorno, no pueden ser atrapadas con ese tipo de haz a causa de que la fuerza ejercida por el haz apunta en la dirección de mínima intensidad (figura 2.4), en contraste al caso de las de alto índice; pero el efecto que sí sufren es la fuerza de esparcimiento, debido a los rayos reflejados, como se ha subrayado anteriormente.

La primera observación de tal comportamiento por parte de las esferas de bajo índice fue predicha por Ashkin en su primer reporte sobre el tema de manipulación en 1970 [8]. Notó que si se invierten las magnitudes relativas de los índices del medio (alcanzando una esfera de bajo índice en un medio de mayor índice), la esfera se comportaría como una lente divergente, y debería ocurrir que la esfera fuera empujada hacia fuera del haz ya que el sentido de la fuerza también se invierte. Él confirmó su predicción usando burbujas de 8 μm generadas por agitación de un medio de alta viscosidad. Debido a tal repulsión a la alta intensidad, se requerían entonces haces de luz más elaborados para su confinamiento. Así que más tarde, el propio Ashkin reportó en 1974 la levitación óptica estable de esferas huecas dieléctricas transparentes usando un haz láser Laguerre-Gaussian con modo TEM_{01} también llamado modo “dona” o más recientemente, vórtice [11]. Este modo tiene una intensidad mínima en su eje, así cualquier desplazamiento radial de la partícula, resulta en una fuerza de restauración (hacia el centro del haz). En un vórtice fuertemente enfocado, la fuerza gradiente en la dirección axial repele las partículas de bajo índice a los exteriores de la región de más intensidad en el plano focal, pero la fuerza debido a los rayos reflejados empuja la partícula hacia delante. Este hecho fue usado por Gahagan y sus colaboradores

para obtener el confinamiento tridimensional de esferas huecas encima del plano focal donde las fuerzas de gradiente y de esparcimiento son balanceadas, usando nuevamente vórtices ópticos [51, 55]. Confinamiento simultáneo de partículas de bajo y alto índice en la dirección axial ha sido demostrado en tal sistema [56].

Un arreglo interferométrico estándar de pinzas ópticas (de haces Gaussianos) también fue usado obviando la necesidad de vórtices [52]. En ese trabajo fue indicado que la captura ocurre (en las franjas oscuras) cuando el diámetro de la partícula es más grande que el espaciado entre las franjas del patrón de interferencia. Haces Bessel de alto orden también han demostrado su habilidad para someterlas eficientemente [53]. Aquí la partícula fue atrapada en una región anular oscura del haz.

Como ya se ha apuntado, un típico ejemplo de partículas de bajo índice son las burbujas de aire en un fluido como agua o aceite, que son usualmente aproximadas en estudios de confinamiento óptico a esferas de bajo índice, con tal de que la cáscara sea delgada comparada con el radio de la partícula. Aunque este tipo de partículas ha recibido relativamente poca atención en el campo de las pinzas ópticas [53], son de interés en muchas áreas de la ciencia y la ingeniería en que las propiedades y efectos de burbujas son investigadas, por ejemplo, en comidas, bebidas, medicamentos y en la industria del petróleo donde estas partículas pueden ser burbujas de aire en agua o burbujas de agua en aceite. Las propiedades y dinámica de estas burbujas pueden explorarse si se les puede sostener en una trampa o manipularlas en tres dimensiones (ref. [57] p. 73).

3.2 Sistema estándar de pinzas ópticas

En la presente sección se aborda la técnica experimental de confinamiento de partículas de Mie de alto índice de refracción y de esferas huecas.

3.2.1 Captura de microesferas sólidas con haz Gaussiano

La figura 3.1 describe el arreglo típico que permite el confinamiento y manipulación de microesferas dieléctricas isotrópicas transparentes de alto índice.

El haz proveniente de un láser continuo de Argón a una longitud de onda de 514 nm es expandido con el sistema de lentes L1 y L2. Esto se hace con el fin de que el haz llene completamente la apertura de entrada del objetivo de microscopio y aumentar así la eficiencia de la trampa puesto que de esta manera se alcanza un buen confinamiento axial ($+z$).

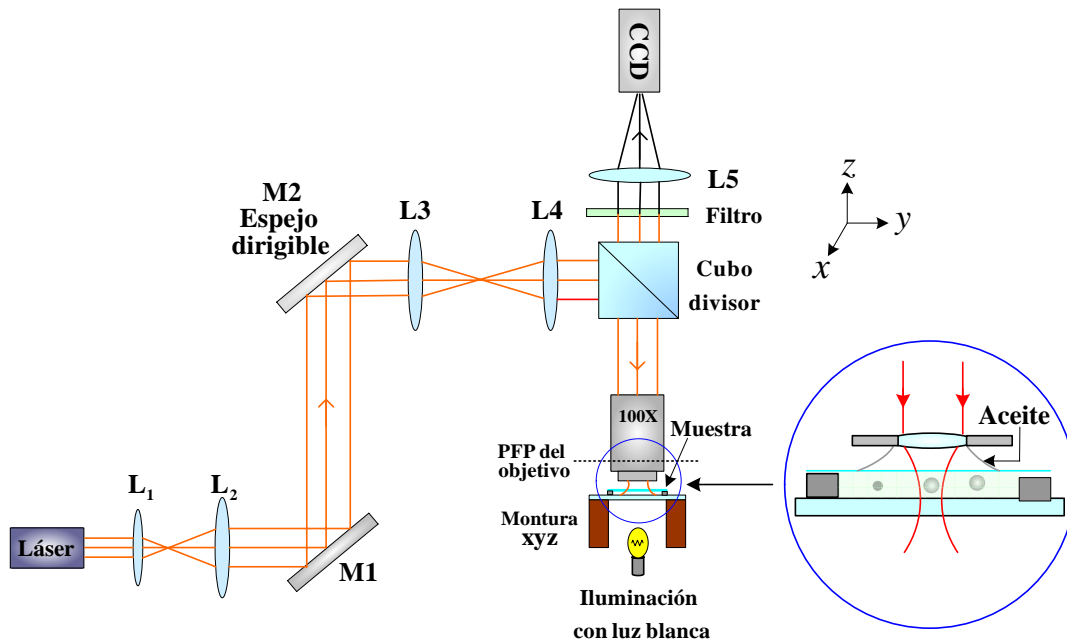


Figura. 3.1 Diagrama esquemático de un arreglo estándar de pinzas ópticas mostrando sus elementos básicos.

El espejo M1 es usado para asegurar que se cubra la apertura de entrada del objetivo y una vez que la captura es observada, el espejo M2 es usado para manipular la partícula atrapada [58]. El haz atraviesa por las dos lentes adicionales que permiten formar planos conjugados entre el espejo movable M2 y la apertura de entrada del objetivo de microscopio. La apertura de entrada del objetivo es entonces conjugado con cualquier punto del espejo M2, de tal manera que un objeto colocado en un punto producirá una imagen en el otro punto. Posteriormente el haz es desviado hacia el objetivo de microscopio de 100X (de inmersión en aceite) mediante el cubo divisor, aunque para esta función es más comúnmente usado un espejo dicróico el cual puede reflejar la longitud de onda a la que fue diseñado (en este caso 514 nm) pero transmite el resto del espectro visible para permitir que suficiente luz alcance la cámara CCD para propósitos de observación. De

esta manera se logra tener un haz fuertemente enfocado verticalmente sobre la muestra que se encuentra entre un portaobjetos y un cubreobjetos separados por un espaciador opaco de 120 μm de espesor, la cual reposa en una montura con libertad en xyz . El punto de estrechamiento del haz enfocado es conocido como cintura del haz y consta de un gradiente de campo eléctrico muy fuerte.

La muestra consiste de microesferas sólidas de sílice o de látex (Polysciences Inc.) con $n_1 = 1.59$ (látex) de índice de refracción libremente suspendidas en agua ($n_2 = 1.33$). La observación de la captura se realiza mediante una cámara CCD cuando la muestra es iluminada con un sistema de iluminación para microscopio óptico. El filtro sobre el cubo divisor sirve para absorber la luz láser reflejada por el cubo ya que satura la CCD. La lente L5 permite enfocar la imagen de la escena a la CCD. Mediante desplazamientos verticales de la montura, la celda es llevada al foco de la trampa, ya que el objetivo permanece estático. De este modo la partícula es succionada por el haz levantándola del fondo de la muestra (donde reposan por gravedad) quedando establemente atrapada tridimensionalmente por medios puramente ópticos como lo predice la teoría. Si el haz es interrumpido, la esfera vaga fuera de la trampa por movimiento browniano o cae por gravedad, dependiendo de su tamaño (esferas desde 5 μm de diámetro aproximadamente, caen).

En la figura 3.2 vemos una secuencia de imágenes mostrando la captura y manipulación en 3D de una microesfera inorgánica de látex con 5 μm de diámetro. Como ya se dijo, moviendo el foco del haz mediante la rotación del espejo movable M2 es por lo tanto posible transportar la partícula, pero en la práctica este proceso no es muy conveniente hacerlo puesto que se desalinea el sistema, por ello es preferible mantener el haz fijo pero con la ventaja de mover la muestra.

En las imágenes 3.2 (a)-(b) se aprecia como la partícula es capturada. El haz proyectado sobre la muestra (círculo luminoso), cuyo diámetro es del orden del tamaño de la esfera es dirigido hacia la partícula, el cual la succiona y desplaza a otro sitio como se observa en (c). El confinamiento en 3D se muestra de (d)-(f). Inicialmente vemos la partícula atrapada, posteriormente la muestra es desplazada verticalmente hacia abajo, en consecuencia las otras esferas de la escena se desenfocan respecto a la que sigue capturada (indicada con la flecha), lo cual indica que la partícula atrapada se está desplazando en la dirección vertical.

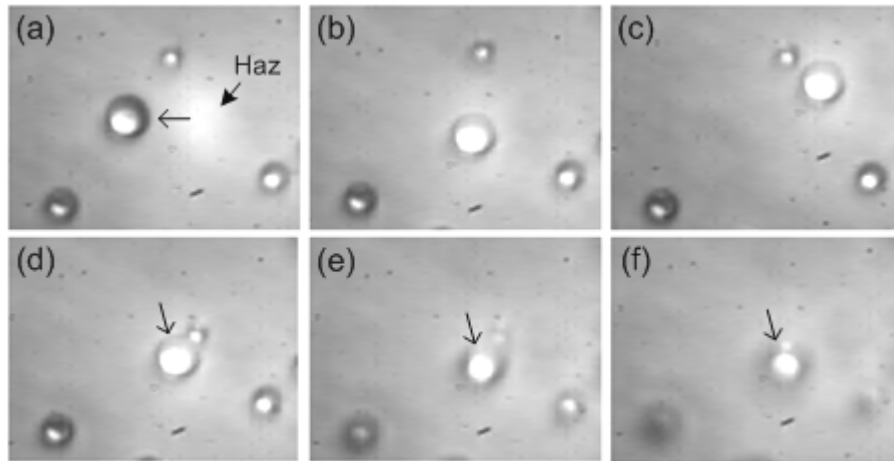


Figura 3.2. Captura y manipulación en tres dimensiones de una esfera de sílice de 5 micras suspendida en agua. (a) Se observa la imagen transversal del haz proyectada en el plano de la muestra, (b) el haz se ha dirigido hacia una partícula atrapándola y en (c) se puede ver como ésta se ha desplazado lateralmente a otro sitio respecto a sus vecinas. En las imágenes (d)-(f) la partícula señalada con la flecha es la que está atrapada y el resto de las microsferas se desenfocan, lo cual indica que la partícula atrapada se está desplazando en la dirección vertical.

La potencia usada para el confinamiento fue de 10 mW sobre la muestra. Es natural que para una mayor eficiencia de la trampa se requiera aumentar la potencia.

Si las esferas están en aire, se adhieren fuertemente a la superficie de la placa de vidrio a causa de la fuerza de van der Waals que es varios órdenes de magnitud más grande que la fuerza gravitacional de las esferas [59]. Cuando están inmersas en agua, también hay adherencia pero en menor magnitud.

Algunos parámetros que caracterizan el sistema

Ahora consideremos algunos parámetros adicionales que caracterizan el sistema de pinzas ópticas. Como se venido mencionando, el haz láser enfocado es un modo TEM_{00} con perfil de intensidad Gaussiana y es uno de los más comunes en trampas ópticas. Su irradiancia decrece exponencialmente hacia los lados del haz, como se aprecia en las figuras 2.2 y 2.3 del capítulo anterior. El alto enfocamiento se logra usando un objetivo de microscopio de alta apertura numérica, definida por $NA = n \sin \theta$, donde n es el índice de refracción del medio de inmersión (en nuestro caso aceite con valor de 1.52) y θ es el semidiámetro

angular del objetivo visto desde el objeto, dicho de otro modo, es el ángulo que forma un rayo marginal con el eje de propagación. Para nuestro objetivo de 100X con $NA = 1.25$, se obtiene un ángulo $\theta = 35^\circ$; y por la ley de Snell $n \text{sen}\theta = n_m \text{sen}\alpha$ se deduce que el ángulo de convergencia sobre la muestra es de $\alpha \approx 70^\circ$, donde n_m es el índice del medio de las esferas (agua $n_m = 1.33$). Ahora bien, el tamaño del radio del haz en el foco de la trampa es dado por la expresión² $w_0 = \lambda_0 / \pi \alpha n_m \approx 0.27 \mu\text{m}$, donde λ_0 es la longitud de onda en el vacío (514 nm). Puesto que este valor nos indica que la trampa es más pequeña que la esfera (pero no se debe olvidar que la captura se da abajo del foco del haz que sabemos tiene un alto grado de divergencia), resulta difícil obtener datos detallados de las características de la trampa. El tamaño del diámetro focal del haz puede aumentarse usando objetivos de menor apertura numérica, aunque se reduce la posibilidad de capturar debido a la disminución del gradiente de intensidad. Conociendo el valor de la magnitud del tamaño focal podemos estimar la densidad de energía para una potencia de 10 mW (que fue la necesaria para capturar la partícula), mediante la simple expresión $I = P / \pi w_0^2 \approx 350 \text{ MW/cm}^2$.

Usando la ecuación para relación entre la fuerza de captura y la potencia del láser (ecuación (3) del capítulo 2), $F = Q(n_m P / c)$, podemos hacer un estimado de la fuerza. En la referencia [37] página 577 aparece una tabla de valores de Q para un haz Gaussiano enfocado en términos del índice efectivo o relativo $n_r = n_s / n_m \approx 1.2$, como es nuestro caso. Tomando $Q \approx 0.25$ que es el valor aproximado en este caso, se obtiene $F \approx 10 \text{ pN}$.

No está demás mencionar que las fuerzas de captura lateral dependen del estado de polarización del haz de luz. Para iguales niveles de potencia láser, las fuerzas laterales paralelas a la polarización son aproximadamente 10% más grandes que las fuerzas laterales perpendiculares a él. Sin embargo, la polarización tiene efectos despreciables en las fuerzas de captura axial [60].

² Cabe señalar que esta ecuación se aplica en la teoría paraxial pero aquí se tiene un caso altamente no paraxial, pero se ha aplicado para tener una idea del orden de magnitud, por lo tanto se esperan diferencias con el cálculo real.

3.2.2 Captura de microesferas huecas con haz Gaussiano

Aquí extrapolamos la utilidad del sistema descrito en la subsección anterior para el caso de microesferas huecas, donde el espesor de tales microesferas juega un papel importante.

En este experimento, el sistema experimental se operó nuevamente a una longitud de onda de 514 nm. La celda consistió de esferas huecas de vidrio (sílice) suspendidas en agua destilada, con diámetros externos en un rango de 2-20 μm (Polysciences Inc.) y diferentes diámetros internos desconocidos. En la figura 3.3 mostramos la captura y manipulación bidimensional de una esfera hueca de aproximadamente 20 μm de diámetro externo.

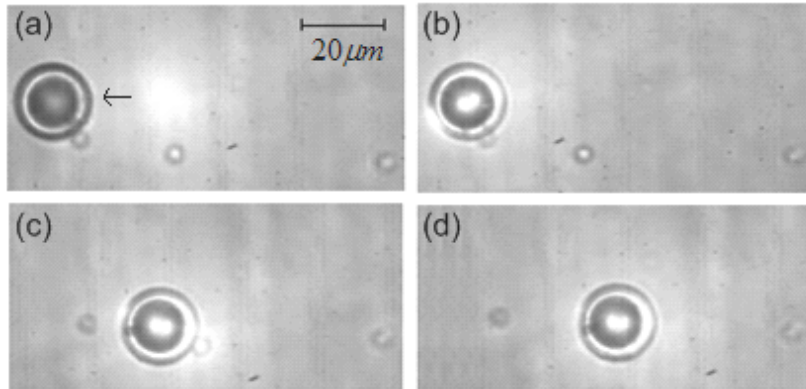


Figura 3.3. Secuencia de imágenes mostrando el confinamiento óptico en 2D de una microesfera hueca. (a) El haz de luz moviéndose hacia la esfera hueca. (b)-(d) La partícula es atrapada en 2D y desplazada de su posición original.

Se encontró que cuando las partículas están en el fondo de la muestra pueden ser confinadas ópticamente cuando el haz de iluminación es centrado respecto a la esfera y la cintura del haz está por debajo de dicho objeto. La captura es bidimensional, en el sentido de que son empujadas contra el fondo de la muestra por el haz de luz fuertemente convergente, lo que es verificado por el desplazamiento horizontal de la microesfera respecto a su medio como se aprecia en la secuencia de imágenes de la figura. La potencia sobre la muestra estuvo en el rango de 10 a 15 mW. El espesor de cáscara de la esfera hueca puede ser apreciado cualitativamente de esta figura. En 3.3 (a) el centro de la partícula se ve oscuro debido a que la luz incoherente que ilumina la esfera desde abajo se refracta más al atravesar la parte hueca y por lo tanto menos luz llega a la CCD.

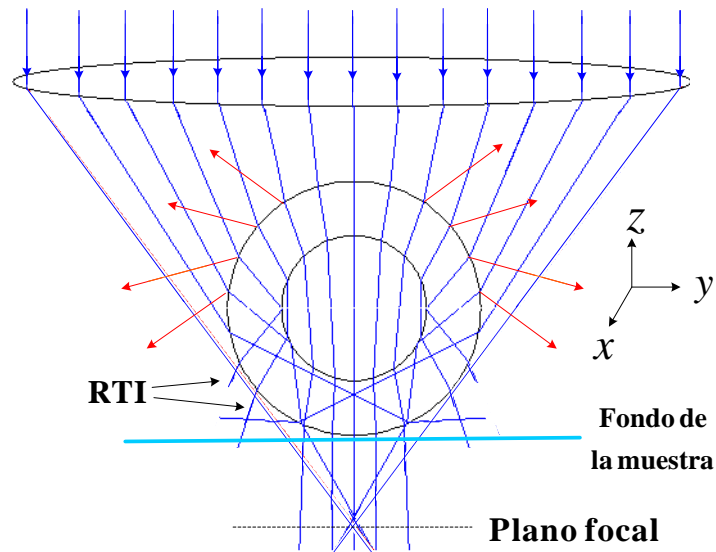


Figura 3.4. Trazo de rayos mostrando la manera en que la partícula hueca es capturada por encima del plano focal y es debido a la fuerza de esparcimiento que la empuja contra el fondo de la muestra. En principio podría estar en cualquier punto sobre el foco. Se muestran algunas reflexiones en la primera interfaz (flechas rojas), y algunos rayos que alcanzan RTI en la segunda interfaz. El trazo de rayos se hizo con el programa ZEMAX.

Esta es la primera vez que se reporta la captura bidimensional de esferas huecas con haz Gaussiano. La captura tridimensional también ya ha sido demostrada pero con haces más complicados como los vórtices [56].

La situación de las esferas huecas podría compararse con el caso de partículas metálicas reflectivas, puesto que ha sido demostrado que ambas exhiben propiedades similares de interacción con la luz [61]. Por lo tanto, el confinamiento óptico es atribuido aquí a la fuerza de esparcimiento, la cual tiene una componente radial hacia adentro además de la componente a lo largo del eje de propagación cuando la esfera está localizada sobre el plano focal [62, 63]. Vale la pena mencionar que la captura de burbujas de aire en un fluido con haz Gaussiano ha sido reportado previamente, pero en ese caso se logró por medio de una trampa híbrida involucrando un adecuado equilibrio de las fuerzas ópticas y la hidrodinámica inducida por convección del medio líquido [64], que claramente no es nuestro caso.

El espesor mínimo de cáscara para una partícula que reposa en el fondo de la muestra puede ser fácilmente estimado aplicando el principio de Arquímedes. Este es dado por $t_{\min} = R_2[1 - (\rho_m/\rho_s)^{1/3}]$, donde ρ_m (1.0 g/cm³) y ρ_s (2.5 g/cm³) son las densidades del medio (agua) y de la esfera (vidrio) respectivamente. Por ejemplo, la esfera de 20 μm de diámetro en el fondo de la muestra tendría un espesor de por lo menos $t = 3.13 \mu\text{m}$. En la subsección 3.3.2.1 se presenta el cálculo detallado de este parámetro.

3.3 Esferas huecas como microespejos móviles en pinzas ópticas

En esta sección se presenta un novedoso efecto interesante que se ha observado en las esferas huecas cuando son iluminadas de forma descentrada en el arreglo típico de pinzas de la sección anterior. Esto viene siendo una extensión de nuestras observaciones y a la vez la parte más importante del presente capítulo. Consiste de un haz direccional de luz intenso que por RTI emerge de la interfase vidrio-aire de la esfera. Debido a esta acentuada reflectividad hemos propuesto el uso de microesferas huecas como microespejos planos. Pero antes de profundizar en el desarrollo de esto, se da una introducción acerca de los microespejos y su importancia con la finalidad de ubicar nuestro caso en un panorama más acorde.

3.3.1 Introducción

Una continua tendencia hacia la miniaturización ha surgido en las últimas décadas en diferentes áreas, tales como óptica y electrónica. En óptica, esta tendencia está estrechamente conectada con el desarrollo de pinzas ópticas y técnicas de micromanipulación láser. Adicionalmente a las pinzas ópticas, un completo conjunto de microherramientas ha sido implementado en años recientes como por ejemplo, llaves y rotadores ópticas [23, 65, 66], tijeras [22, 67], estiradores [68], separadores [69, 70], entre otras, las cuales han encontrado un espectro muy amplio de aplicaciones. La incorporación de microespejos en este conjunto de herramientas ópticas, que son elementos esenciales en muchos sistemas ópticos, puede abrir nuevas posibilidades y facilitar algunas tareas a nivel

microscópico. Por ejemplo, la habilidad de redireccionar la luz dentro de una muestra celular podría ayudar fácilmente a remover residuos en microcirugía, o podría usarse para la operación independiente de elementos de micromaquinaria con diferentes orientaciones en el espacio [71, 72]. De hecho, arreglos fijos bidimensionales de microespejos con cubierta de metal ya han sido fabricados usando diferentes técnicas (fotolitografía, por ejemplo), en estos casos, con propósitos orientados hacia el desarrollo de Sistemas Micro-Opto-Electro-Mecánicos (MOEMS) y microresonadores. Un ejemplo sobresaliente es el microespejo digital, dispositivo diseñado por Texas Instruments [73], consistiendo en una serie de micro-espejos planos dirigidos individualmente. Otros ejemplos son arreglos de microespejos esféricos y de forma piramidal fijos en una plantilla [74, 75].

Como ya se dijo, aquí se propone el uso de microesferas huecas de vidrio con espesor de cáscara finito como microespejos planos dieléctricos individuales y móviles. El principio de operación es basado en la RTI que surge cuando las esferas son iluminadas ligeramente fuera de centro por un haz Gaussiano enfocado. A tal efecto le hemos llamado “faro de luz”. El haz incidente puede ser desviado en un amplio rango de direcciones por el solo control del punto de incidencia sobre la superficie de la esfera y el haz reflejado es altamente direccional y suficientemente intenso para ser usado para empujar otras partículas u objetos alrededor de la microesfera o para remover partículas adheridas a la esfera. Hemos alcanzado una doble reflexión por dos esferas huecas colocadas cerca una de la otra.

Recientemente, la generación de un haz de luz perpendicular a la dirección del haz incidente fue observado con un delgado microdisco de cera birrefringente atrapado en pinzas ópticas operando con luz polarizada circularmente, de tal manera que el disco rota debido a la transferencia de momento angular de spin produciendo la creación de un efecto de faro de luz [76]. En ese caso, el eje del disco fue orientado de manera perpendicular a la dirección de propagación del haz de captura. Sin tener en cuenta el interés de estos resultados en términos de la investigación de confinamiento óptico de partículas no esféricas y la transferencia de momento angular de spin, sus aplicaciones parecen por ahora de algún modo limitadas, debido al especializado proceso y las propiedades materiales requeridas para fabricar el microdisco. Nuestro caso, como ya dijimos, es debido a RTI, así que es claramente diferente y mucho más simple en términos de aplicaciones que el efecto de faro de luz discutido en la referencia [76].

3.3.2 Teoría de esferas huecas como microespejos

En esta sección se presenta un extenso análisis teórico para determinar el mecanismo en que el faro de luz es generado. Resultados experimentales adicionales complementan los resultados teóricos.

3.3.2.1 Análisis geométrico

Empezamos con un análisis geométrico de rayos ópticos para el caso de un solo rayo de luz cayendo sobre una esfera hueca con espesor de cáscara finito, como se muestra en la figura 3.5, la cual permitirá identificar algunos de los parámetros principales y condiciones límites. Sean R_1 el diámetro interno de la esfera hueca y R_2 su diámetro externo, tal que el espesor de cascarón esté dado por $t = R_2 - R_1$. Los índices de refracción del medio circundante (región I), el cascarón de vidrio (región II) y el medio interno de la esfera (región III) son n_1, n_2 y n_3 , respectivamente, con $n_2 > n_1 > n_3$. En nuestro caso, las microesferas de vidrio ($n_2 = 1.5$) son suspendidas en agua ($n_1 = 1.33$), y asumimos que la esfera hueca está llena de aire ($n_3 = 1.0$).

Los rayos de luz golpean la esfera en el punto A, formando un ángulo de incidencia α_0 respecto a la normal a la superficie de la esfera, y el correspondiente ángulo refractado es denotado por α_1 . Con tal de que los rayos de luz alcancen la interfaz vidrio-aire, denotamos el punto de incidencia como B y el ángulo de incidencia como α_2 . En ese caso, a la posición del punto B le asociamos el ángulo $\theta = \pi/2 - [\alpha_0 - \alpha_1 + \alpha_2]$ para ser identificado, como puede verse en la figura 3.5.

De la ley de Snell, ocurrirá RTI en la interfase vidrio-aire para ángulos $\alpha_2 \geq \alpha_{2c} = \text{sen}^{-1}(n_3/n_2) = 41.8^\circ$. Por otro lado, del triángulo OAB tenemos que

$$\text{sen}\alpha_2 = \frac{R_2}{R_1} \text{sen}\alpha_1, \quad (3.1)$$

así que podemos escribir la condición para RTI como

$$\text{sen}\alpha_1 \geq \frac{n_3 R_1}{n_2 R_2}. \quad (3.2)$$

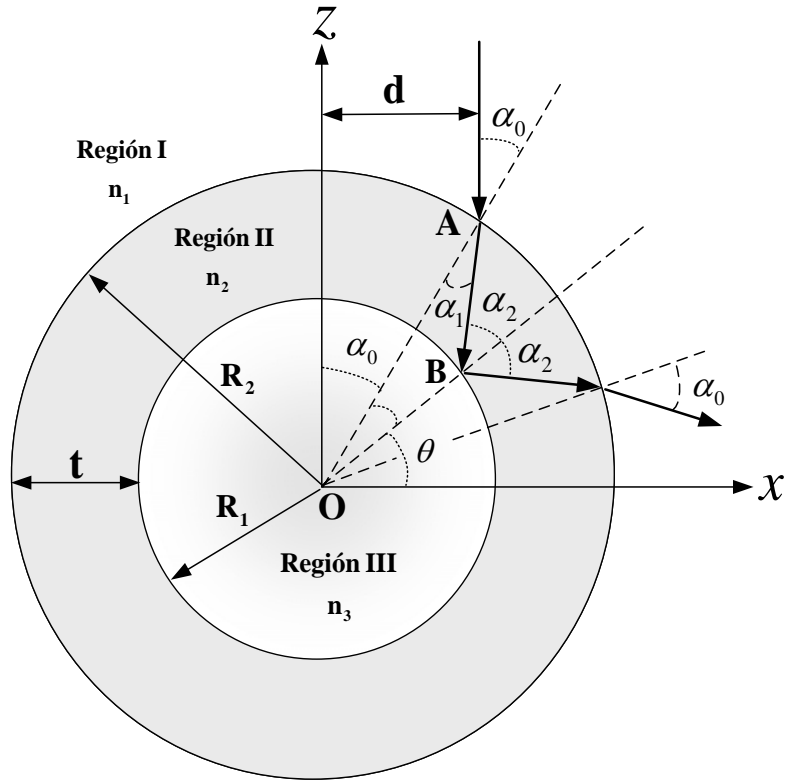


Figura 3.5. Parámetros geométricos involucrados en la descripción de una esfera hueca iluminada por un solo rayo de luz.

Finalmente, por aplicación de la ley de Snell en la interfaz vidrio-agua para el rayo incidente y usando la ecuación (3.2), podemos encontrar una condición para el ángulo mínimo α_0 que conduce a RTI en la interfase vidrio-aire

$$(\text{sen}\alpha_0)_{\min} = \frac{n_3 R_1}{n_1 R_2}. \quad (3.3)$$

Esto también puede ser expresado en términos del desplazamiento mínimo del rayo de luz incidente respecto al centro de la esfera ($d = R_2 \text{sen} \alpha_0$) para obtener RTI para ese rayo, que es $d_{\min} = (n_3/n_1)R_1$.

Un análisis igualmente simple muestra que una segunda RTI en la interfase vidrio-agua no es posible, dando origen a un fuerte rayo desviado emergente de la esfera. El ángulo de desviación total del rayo respecto a su dirección de incidencia se encuentra que es $\delta = 2(\alpha_0 - \alpha_1 + \alpha_2)$. Como un ejemplo, para una partícula de 20 μm de diámetro con un diámetro interno de 14 μm , la desviación de un rayo de luz perpendicular a la dirección del rayo incidente ($\delta = 90^\circ$) requiere que $\alpha_0 = 31.8^\circ$ ($d = 5.3 \mu\text{m}$) y entonces $\alpha_2 \approx 41^\circ$.

Como es claro del análisis previo, la razón entre los diámetros externo e interno de la esfera, R_2/R_1 , es un parámetro importante para determinar las posibles direcciones de deflexión del faro de luz. Aunque no podemos determinar el diámetro interno exacto de las esferas huecas, una estimación gruesa de este valor puede ser hecho de observaciones experimentales, y aplicando el principio de Arquímedes. Muchas de las partículas usadas en nuestro experimento reposan en el fondo del contenedor mientras otras flotan dentro en el agua (esto es cierto incluso en esferas del mismo tamaño), indicando que el diámetro interno varía en un amplio rango. La fuerza total actuando sobre una esfera hueca inmersa en un fluido de densidad ρ_m es (en nuestro caso el medio es agua, $\rho_m = 1 \text{ g/cm}^3$)

$$F = (\rho_m - \rho_s)gV, \quad (3.4)$$

donde ρ_s es la densidad media de la partícula, g es la aceleración de la gravedad y V es el volumen total de la esfera. ρ_s es definida como la masa total de la esfera (masa interna más la del vidrio) entre V . Si suponemos que la esfera está llena de aire, entonces su masa es despreciable, y por lo tanto, la densidad media puede ser escrita como $\rho_s = \rho_g(V_g/V)$, donde ρ_g es la densidad del vidrio (2.5 g/cm^3) y V_g es el volumen ocupado por la cáscara.

Para hundir la partícula, debemos entonces tener $\rho_m < \rho_s$, así que el espesor mínimo de la cáscara en este caso resulta ser

$$t_{\min} = R_2[1 - (\rho_m / \rho_g)^{1/3}]. \quad (3.5)$$

Para una esfera de 20 μm de diámetro, encontramos un espesor de $t = 3.13 \mu\text{m}$, lo cual significa que esferas de 20 μm con un espesor de cáscara menor que este flotarán.

Nótese que la condición para que un rayo de luz incidente alcance la interfase vidrio-aire es

$$\text{sen}\alpha_0 < \frac{n_2 R_1}{n_1 R_2}, \quad (3.6)$$

lo cual implica que para que una reflexión fuerte tome lugar es necesario que

$$\frac{n_3 R_1}{n_1} \leq d < \frac{n_2 R_1}{n_1}, \quad (3.7)$$

donde se usó la ecuación (3.3). Rayos que no satisfagan tal condición se refractan y/o reflejan parcialmente.

3.3.2.2 Campos electromagnéticos esparcidos

Es importante señalar que el análisis hecho en la subsección anterior para un solo rayo de luz no es suficiente para describir y entender la situación física de un haz de luz incidente fuertemente enfocado. La descripción es más complicada y requiere un análisis más detallado. Sin embargo, los parámetros y condiciones límites identificados anteriormente son útiles como punto de inicio ya que además serán de utilidad para poner valores razonables para las simulaciones numéricas de la siguiente subsección para comparar los resultados teóricos con los experimentos. Para este propósito, basamos el método de cálculo en el formalismo de la ecuación integral descrito por Maradudin et al. [77] y

Mendoza-Suárez y Méndez [78] para calcular explícitamente y modelar el campo electromagnético incidente y esparcido en la vecindad de la partícula hueca con espesor de cáscara finito.

Debido a la simetría rotacional de la esfera, podemos simplificar el sistema físico a uno bidimensional, como en [77] y [78]. Tal simplificación reduce considerablemente el costo computacional y la complejidad detrás del formalismo matemático. En la práctica, modelando el sistema en una geometría bidimensional es mucho más simple y es útil estudiarlo cualitativamente. Este modelo es válido incluso si el tamaño de la esfera es más pequeño que la longitud de onda de la luz.

Para los cálculos numéricos consideramos que el sistema es iluminado con un campo de polarización s (campo eléctrico perpendicular al plano de incidencia xz), el cual consiste en una onda plana incidente enfocada de amplitud U_{inc} , cuyo perfil en el plano focal (iluminando la esfera) es dado por

$$U_{inc}(x, 0) = \text{sinc}\left(\frac{2ax}{\lambda}\right), \quad (3.8)$$

donde a es la apertura numérica del sistema, λ es la longitud de onda de la luz en el medio y la función $\text{sinc}(x) = \sin(\pi x)/(\pi x)$ se utiliza para tomar en cuenta los efectos de difracción por la apertura del objetivo. El cálculo del campo complejo en las diferentes regiones se logra mediante la ayuda del segundo teorema integral de Green [79, 80], que en pocas palabras establece que el comportamiento de un campo escalar dentro de un volumen V encerrado en una superficie S puede calcularse por la integral sobre la superficie en lugar de una integral de volumen. Esta función escalar en este caso será el campo escalar en cada una de las regiones del sistema. Proponemos tres ecuaciones que describirán el campo en cada una de las tres diferentes regiones de índice de refracción (ver figura 3.6), las cuales pueden ser expresados como

$$U^l(\mathbf{r}) = U_{inc}(\mathbf{r}) + \frac{1}{4\pi} \int_{s_1} \{U^1(\mathbf{R})(\hat{\mathbf{n}}_1(\mathbf{R}) \cdot \nabla G_l(\mathbf{r}|\mathbf{R})) - G_l(\mathbf{r}|\mathbf{R})V^1(\mathbf{R})\} ds_1, \quad (3.9)$$

$$U''(\mathbf{r}) = -\frac{1}{4\pi} \int_{S_1} \left\{ U^1(\mathbf{R}) (\hat{\mathbf{n}}_1(\mathbf{R}) \cdot \nabla G_{II}(\mathbf{r}|\mathbf{R})) - G_{II}(\mathbf{r}|\mathbf{R}) V^1(\mathbf{R}) \right\} ds_1 \quad (3.10)$$

$$+ \frac{1}{4\pi} \int_{S_2} \left\{ U^2(\mathbf{R}) (\hat{\mathbf{n}}_2(\mathbf{R}) \cdot \nabla G_{II}(\mathbf{r}|\mathbf{R})) - G_{II}(\mathbf{r}|\mathbf{R}) V^2(\mathbf{R}) \right\} ds_2,$$

$$U'''(\mathbf{r}) = -\frac{1}{4\pi} \int_{S_2} \left\{ U^2(\mathbf{R}) (\hat{\mathbf{n}}_2(\mathbf{R}) \cdot \nabla G_{III}(\mathbf{r}|\mathbf{R})) - G_{III}(\mathbf{r}|\mathbf{R}) V^2(\mathbf{R}) \right\} ds_2, \quad (3.11)$$

donde las superficies S_1 y S_2 son las interfaces entre las regiones I y II y entre II y III, respectivamente.

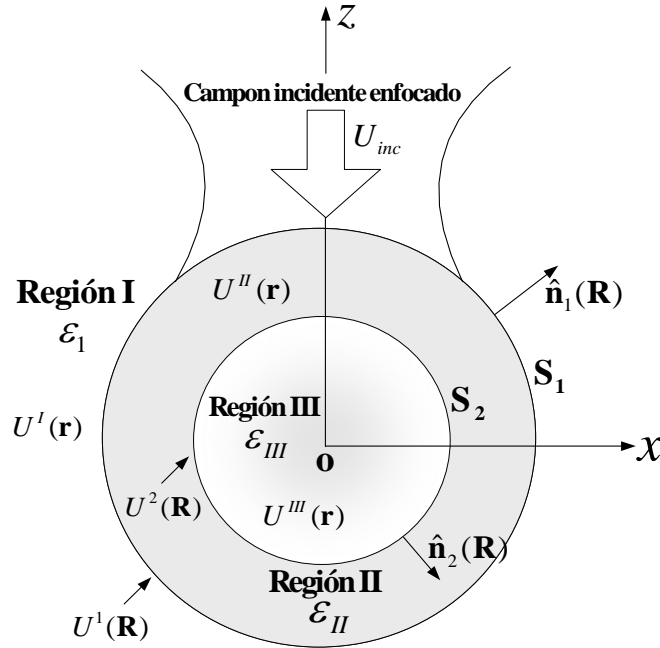


Figura 3.6. Diagrama esquemático mostrando el sistema de esparcimiento con todos sus elementos. Consiste de una esfera hueca de un medio caracterizado por una constante dieléctrica ϵ_{II} (región II), inmersa en medio con constante dieléctrica ϵ_1 (región I). El hueco interior de la esfera (región III) cuenta con ϵ_{III} .

El vector de posición a un punto de observación es denotado por \mathbf{r} y \mathbf{R} representa la coordenada de un punto en la superficie. $U_{inc}(\mathbf{r})$ Representa el campo incidente en la

esfera en la región I y $U^m(\mathbf{r})$ ($m = I, II, III$) es el campo en cualquier punto de la región correspondiente. El vector unitario $\hat{\mathbf{n}}_1(\mathbf{R})$ es normal a la superficie S_1 , dirigido de la región II a la región I, y $\hat{\mathbf{n}}_2(\mathbf{R})$ es normal a la superficie S_2 , de la región III a la región II. Las funciones incógnitas son el campo $U^n(\mathbf{R})$ y la derivada normal del campo en la superficie correspondiente, $V^n(\mathbf{R}) = \hat{\mathbf{n}}_n(\mathbf{R}) \cdot \nabla U^n(\mathbf{R})$ ($n = 1, 2$).

La función de Green $G_m(\mathbf{r} | \mathbf{R})$ ($m = I, II, III$) depende normalmente de la geometría del sistema. En este caso consideramos una función Hankel de primera especie de orden cero, así que las funciones de Green para las tres regiones son representadas en términos de funciones de Hankel, es decir,

$$G_m(\mathbf{r} | \mathbf{R}) = i\pi H_0^{(1)}(n_m k_0 |\mathbf{r} - \mathbf{R}|), \quad (3.12)$$

con $k_0 = 2\pi/\lambda_0$, donde λ_0 es la longitud de onda de la luz en el vacío y $n_m(\omega)$ es el índice de refracción complejo en las diferentes regiones ($m = I, II, III$), el cual está relacionado a la función dieléctrica a través de la expresión $n_m = \sqrt{\mathcal{E}_m(\omega)}$. Tenemos entonces un sistema de ecuaciones integrales de seis incógnitas a resolver (el campo y la derivada en cada una de las regiones), pero que podemos reducir. Las funciones desconocidas $U^n(\mathbf{R})$ y $V^n(\mathbf{R})$ pueden encontrarse de un sistema de ecuaciones integrales acopladas obtenidas mediante la aproximación de superficies en el sistema de ecuaciones. Recordemos que el campo justo en la frontera S_1 de la región I tiene que ser igual al campo en la frontera S_1 en la región II, es decir; nos acercamos a la superficie S_1 por las regiones I y II e igualamos las expresiones. Hacemos lo mismo en la frontera de la superficie S_2 y de esta manera obtenemos un sistema de ecuaciones integrales acopladas que son discretizadas y convertidas en ecuaciones matriciales para resolverlas numéricamente de una manera similar al análisis dado en las referencias [77, 78]. Resolviendo el sistema de matrices encontramos el campo y la derivada normal del campo en la superficie. El conocimiento de estas funciones permite

el cálculo del campo en las regiones I, II y III de las ecuaciones (3.9-3.11). Esto es en forma compacta el proceso que se sigue para el cálculo del campo en cualquier región del sistema.

3.3.2.3 Simulaciones numéricas del campo esparcido

Las figuras 3.7 y 3.9 muestran resultados de las simulaciones numéricas para una onda plana enfocada por un objetivo de microscopio de apertura numérica $NA = a = 1.2$, incidente sobre una esfera hueca de vidrio transparente.

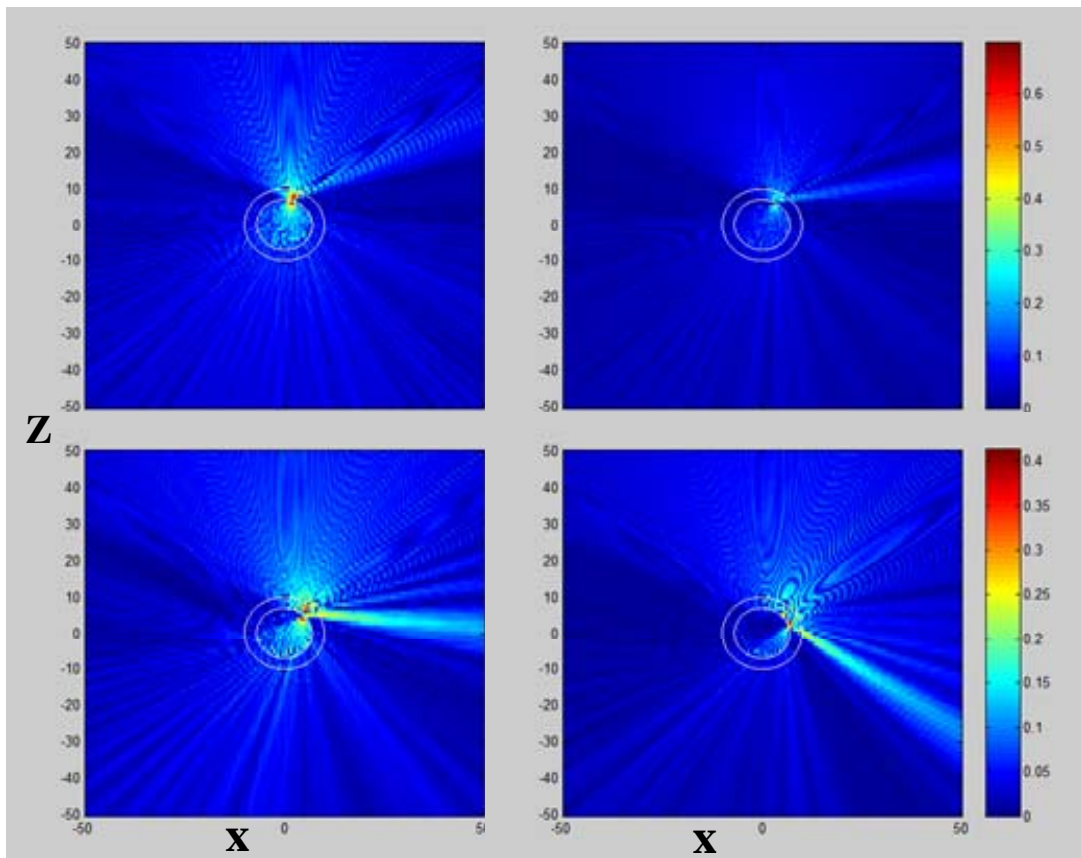


Figura 3.7. Resultados para simulaciones numéricas del rayo de luz generado por reflexión en la interfase vidrio-aire de una esfera hueca en agua. (a)-(d) Módulo cuadrado del campo eléctrico como una función de la posición de incidencia del haz de luz para un espesor de cáscara fijo $t = 3 \mu\text{m}$ y radio externo de $R_2 = 10 \mu\text{m}$.

Se encontró que cuando el haz incidente es enfocado exactamente en la interfase vidrio-aire se produce al haz más fuerte (de más alta reflectividad), mientras que enfocando el haz en alguna otra posición produce un haz más débil. En la secuencia de (a)-(d) de la figura 3.7 se muestra el campo eléctrico incidente y esparcido como una función de la posición de incidencia, definida por el ángulo θ , para una esfera hueca de vidrio con radio interno y externo de $R_1 = 7 \mu\text{m}$ y $R_2 = 10 \mu\text{m}$, respectivamente (estos valores son acordes con los experimentos presentados en la siguiente subsección). En (a) el punto de incidencia es localizado a $\theta = 75^\circ$, y en (b) a $\theta = 60^\circ$; estos casos están bajo la condición mínima (ecuación (3.3)) discutida previamente para obtener RTI.

Podemos ver que en (a), la mayoría de la luz alcanzando la interfaz vidrio-aire es transmitida y esparcida hacia adelante. En el caso (b), la cantidad de luz reflejada en la segunda interfase incrementa considerablemente, pero no es todavía suficiente para observar un haz deflectado bien definido. En los últimos dos casos, (c) $\theta = 45^\circ$ y (d) $\theta = 15^\circ$, hay una fuerte deflexión del haz incidente produciendo lo que hemos llamado un efecto de “faro de luz”. Nótese que, aunque en (c) no hay RTI para toda la luz entrante, la reflectividad en la interfaz es lo suficientemente grande para producir un haz emergente fuerte. También podemos ver en estas figuras que el faro de luz puede levantarse en diferentes direcciones respecto a la vertical dependiendo del punto de incidencia, definiendo una amplia gama de ángulos polares. Es también evidente por simetría, que el rango entero del ángulo azimutal en el plano horizontal $[0, 2\pi]$, puede ser barrido por el faro de luz.

Las simulaciones numéricas muestran que la reflectividad de los microespejos planos para el haz emergente a 90° respecto al haz incidente es aproximadamente de 20%, pero la reflectividad puede ser tan alto como 35% para incidencia rasante (θ pequeños).

En la figura 3.8 se muestra una curva de reflectividad como función del ángulo de incidencia del haz.

Para un dado ángulo de incidencia, la reflectividad de los microespejos es casi independiente del diámetro interno de la esfera hueca, es decir, el faro siempre aparece aunque en algunos casos su intensidad disminuye. Esto ocurrirá siempre que el tamaño del diámetro focal del haz sea más pequeño que el diámetro interno de la esfera hueca, como es mostrado en las figuras 3.7 y 3.9.

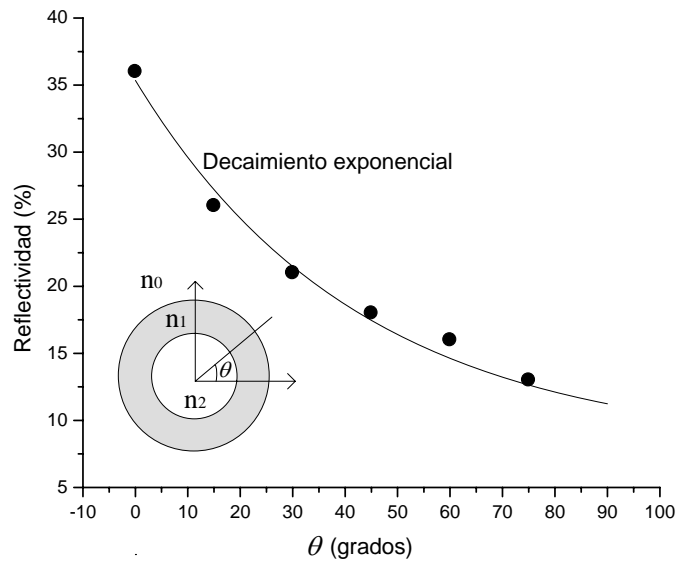


Figura 3.8. Reflectividad como función del ángulo de incidencia para una esfera hueca (aire en su interior, $n = 1$) de vidrio ($n = 1.5$) inmersa en agua ($n = 1.33$), que está siendo iluminada por luz enfocada de $\lambda = 514$ nm y con una $NA = 1.2$. Se observa un máximo para incidencia rasante, pero cae exponencialmente al aumentar el ángulo.

La serie de imágenes (a)-(d) de la figura 3.9 muestra el campo eléctrico esparcido como una función del espesor de cáscara para un radio externo y una posición de incidencia fijos dados por $R_2 = 10 \mu\text{m}$ y $\theta = 45^\circ$, respectivamente. En (a) $t = 0$, corresponde a una burbuja de aire, en (b) $t = 1 \mu\text{m}$ y en (c) $t = 5 \mu\text{m}$. También podemos ver el caso 3.7(c) para $t = 3 \mu\text{m}$ y las mismas condiciones de radio externo y ángulo de incidencia. En todos estos casos el faro de luz es bastante definido. El ángulo de deflexión cambia solo ligeramente con el espesor de cáscara, siendo muy cercano a 90° para casos (c) en ambas figuras y un poco más grande para un espesor de cáscara más pequeño.

En contraste, podemos ver que en la figura 3.9 (d), donde $t = 7 \mu\text{m}$, el haz reflejado ha sido muy débil y ancho para ser notado, a pesar de la reflexión de la luz en la segunda interfaz. Para valores más altos de t la reflexión es incluso más débil, hasta obviamente desaparecer en el caso límite de una esfera sólida en que $t = R_2$. De aquí podemos concluir que hay un rango para el espesor de cáscara óptimo para obtener un bien definido efecto de

faro de luz. También podemos notar en las figuras 3.7 y 3.9 que cuando el efecto de faro de luz es generado, el haz reflejado es altamente direccional. Esto está en acuerdo con las observaciones experimentales, discutidas en la próxima sección.

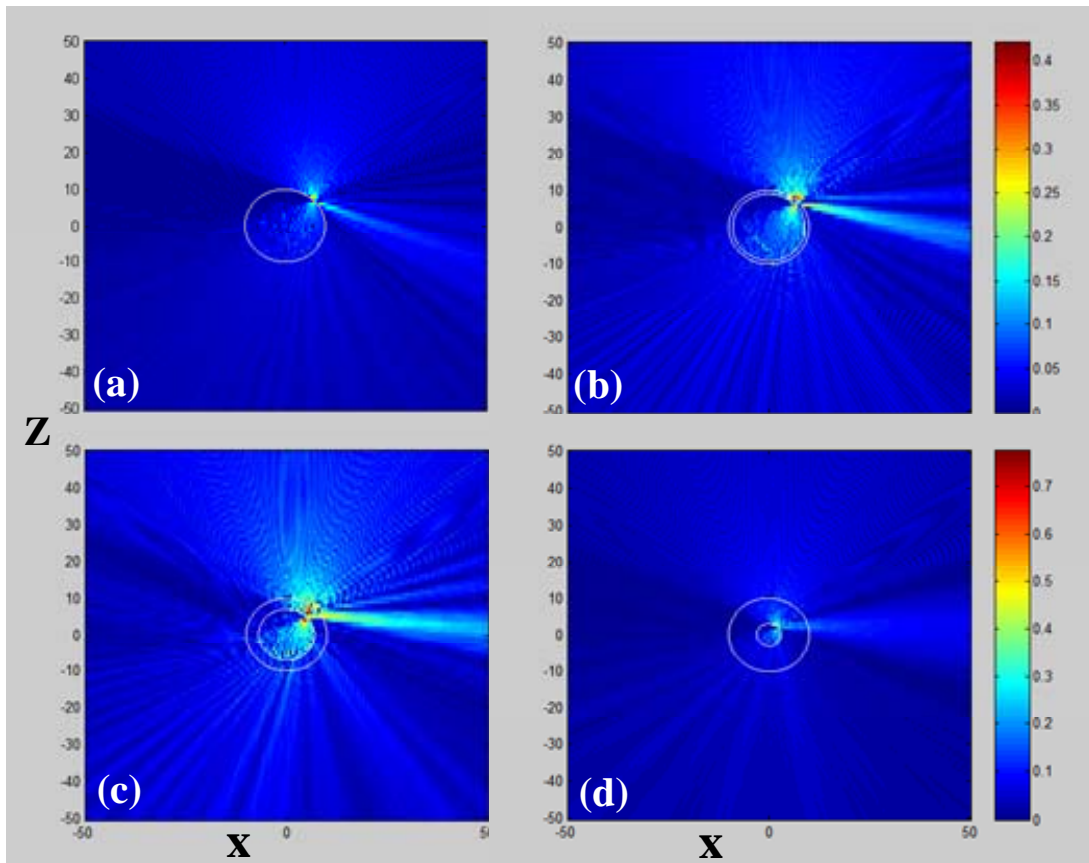


Figura 3.9. Resultados para simulaciones numéricas del rayo de luz generado por reflexión en la interfase vidrio-aire de una esfera hueca en agua. (a)-(d) Módulo cuadrado del campo eléctrico como una función del espesor de cáscara para una posición de incidencia fija, definida por $\theta = 45^\circ$ y radio externo de $R_2 = 10 \mu\text{m}$.

Nótese que solo en los casos (c) y (d) de la figura 3.9 se consideraron valores de cáscara dentro del límite establecido por la ecuación (3.5), el cual es $t = 3.13 \mu\text{m}$. No obstante, las simulaciones fueron realizadas en un amplio rango de combinaciones de diámetros externo e internos observándose el mismo efecto. Esto nos lleva a concluir que el efecto de faro de luz también debe ser generado en esferas flotantes, sin embargo, en los experimentos se

observó que estas esferas se escapan al iluminarlas aun para incidencia fuera de centro, ya que como se mencionó en el capítulo anterior (figura 2.4), las esferas realmente huecas huyen del haz Gaussiano.

3.3.3 Experimentos

En los experimentos se usó nuevamente el arreglo estándar de pinzas ópticas de la subsección 3.2.1, operando, como ya se dijo, con un haz Gaussiano nominal viniendo de un láser (que emite en varias líneas) de ion de argón emitiendo a 514 nm y con una potencia de salida por encima de los de 30 mW, aunque otras longitudes de onda fueron también usadas (457, 476, 488 y 496 nm). Experimentalmente estamos regresando al caso de la subsección 3.2.2. La muestra consistió nuevamente de las esferas huecas de vidrio suspendidas en agua.

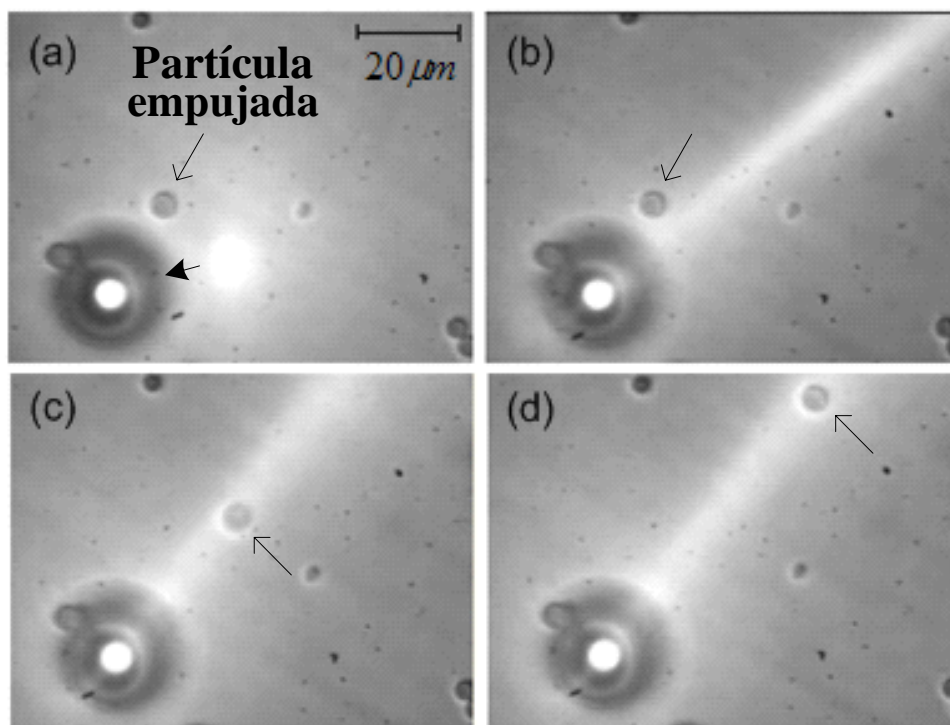


Figura 3.10. Generación de un faro de luz reflejado por una esfera hueca iluminada fuera de eje. (a) Haz de luz moviéndose hacia la esfera. (b) Generación del efecto de faro de luz. (c)-(d) El haz reflejado es dirigido contra una partícula vecina que es empujada (indicada con la flecha) debido a la presión de radiación a lo largo de una distancia de varias decenas de micras.

El efecto de faro de luz aparece cuando la esfera hueca es iluminada fuera de centro, lo cual está en completo acuerdo con el análisis teórico. Esto se ha observado en microesferas con diferente diámetro externo e interno sobre todo en aquellas que reposan en el fondo de la muestra, pero también en otras que deambulan dentro del agua, aunque en menor magnitud. Tal efecto ha sido observado con luz de las diferentes longitudes de onda del láser de ion de argón. También observamos que hay una posición óptima del foco del haz a lo largo del eje de propagación para observar el más fino y más fuerte haz reflejado. Basado en nuestro modelamiento teórico, asumimos que la posición óptima corresponde al caso cuando el haz incidente es enfocado en la interfaz vidrio-aire de la esfera hueca. Fue también verificado que para un cierto desplazamiento de la posición de incidencia del haz respecto al centro de la esfera, el faro de luz emergente es aproximadamente perpendicular al haz incidente, y por supuesto, el rango completo del ángulo azimutal también puede cubrirse controlando la posición de incidencia.

El haz normal generado es bastante intenso y se ha usado para empujar otras partículas u objetos de alrededor de la esfera a lo largo de varias decenas de micras debido a la presión de radiación (fuerza de esparcimiento), como puede observarse en la sucesión de cuadros (a)-(d) de la figura 3.10. También fue posible acelerar objetos de formas irregulares y más grandes que el mostrado en esta figura.

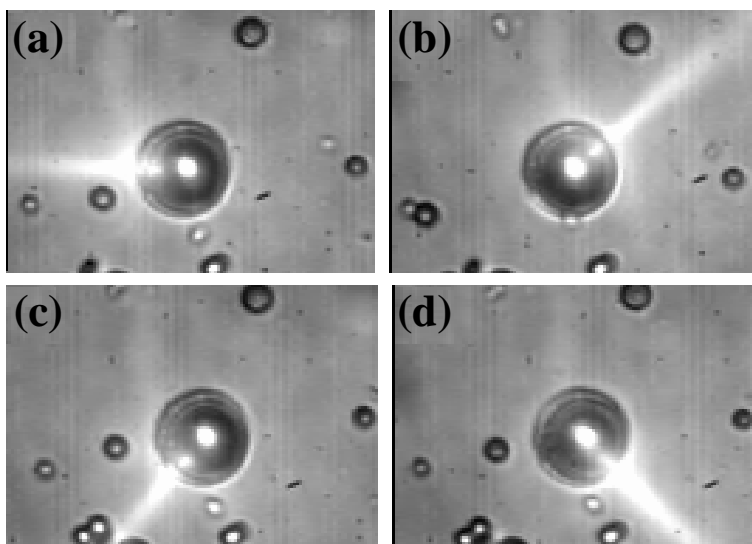


Figura 3.11. Deflexión de un haz incidente en la superficie interna de una esfera hueca de $15\ \mu\text{m}$ a diferentes ángulos azimutales.

En la figura 3.11 se muestra por medio de una secuencia de imágenes, que el faro puede ser generado en diferentes direcciones, cubriendo el rango completo del ángulo azimutal, como se afirmó en la teoría.

Finalmente, también fue posible obtener dos reflexiones consecutivas de un haz incidente por medio de dos esferas huecas localizadas cerca una de la otra. El haz reflejado en la primera esfera (de aproximadamente $20\ \mu\text{m}$) sufre una segunda reflexión al iluminar a la otra (el segundo microespejo, de aproximadamente $15\ \mu\text{m}$). Esta segunda reflexión también resulta ser lo suficientemente intensa para empujar partículas localizadas en la vecindad de las esferas. Esto es ilustrado en la serie de cuadros de la figura 3.12, donde se puede apreciar el desplazamiento de una partícula de unas $5\ \mu\text{m}$ (señalada con la flecha) debido al empuje de la segunda reflexión. En (e) se muestra una representación de ambas reflexiones y el empuje de la partícula.

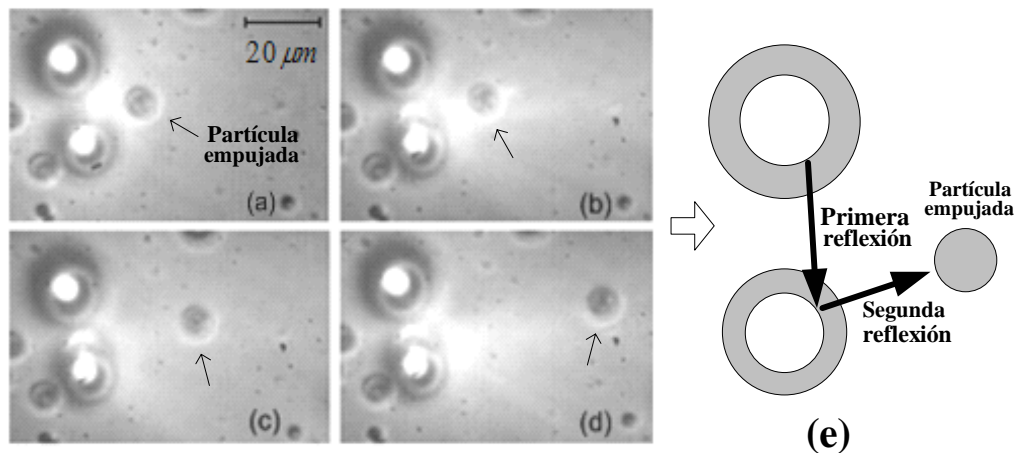


Figura 3.12. Secuencia de cuadros mostrando dos reflexiones consecutivas obtenidas con un par de esferas huecas cercanas y el movimiento de una partícula vecina debido a la presión de radiación ejercida por la segunda reflexión. Los tamaños de las esferas que generaron la primera y segunda reflexión fueron de $20\ \mu\text{m}$ y $15\ \mu\text{m}$, respectivamente. En (e) vemos una representación de ambas reflexiones.

Vale la pena mencionar que en los experimentos para generar el faro de luz, se usó una pequeña cantidad de Rodamina G6 diluida en la muestra (líquida) ya que este es un colorante muy eficiente (eficiencia cuántica alta) que provoca fluorescencia en la longitud de onda del láser usada, lo que permitió apreciar de manera más definida el haz reflejado. Este

experimento puede ser generalizado para obtener reflexiones de un arreglo de microespejos y microresonadores.

3.4 Conclusiones

En el presente capítulo se han presentado dos nuevos efectos. Por un lado, se mostró por primera vez a nuestro conocimiento, que una esfera hueca de vidrio puede ser ópticamente atrapada en dos dimensiones con un solo haz Gaussiano, con tal de que el haz sea centrado con respecto a la esfera y su plano focal esté localizado debajo de la esfera. El mecanismo de confinamiento en este caso fue identificado con la fuerza de esparcimiento dirigida hacia el centro y hacia abajo para la región convergente del haz.

Por otro lado, se presentó un análisis teórico y resultados experimentales para la desviación del haz de luz incidente en diferentes direcciones debido a una fuerte reflexión interna en la interfase interna de la partícula hueca. El haz de luz iluminante puede ser desviado en un amplio intervalo de valores del ángulo polar, respecto al eje vertical y el rango entero de ángulos azimutales en el plano horizontal, por el solo control del punto de incidencia sobre la superficie de la esfera. El haz reflejado demostró ser lo suficientemente fuerte para empujar otras partículas alrededor de la esfera hueca a lo largo de distancias de varias decenas de micras. Estos resultados nos permiten introducir el uso de esferas huecas de vidrio como una variedad muy simple de microespejos movibles individualmente, que constituyen una nueva componente del, así llamado, equipo de herramientas ópticas. Estos son capaces de redirigir localmente la luz en casi cualquier dirección dentro de la muestra. Como ejemplos de potenciales aplicaciones podemos mencionar la remoción de residuos en microcirugía y la operación independiente de elementos de micromaquinaria óptica con diferentes orientaciones en el espacio. También se ha mostrado que la fabricación de microresonadores puede ser consecuencia práctica de estos resultados.

Capítulo 4

Separación interferométrica de micropartículas

Uno de los temas de mayor interés dentro del campo de las pinzas ópticas, debido a sus potenciales aplicaciones es la separación colectiva de partículas con iguales características de una muestra heterogénea. En este capítulo se aborda este tema empezando en la sección 4.1 con una breve introducción y se mencionan algunas de las aplicaciones. Originalmente, las técnicas que se habían propuesto para separar combinaban patrones periódicos extendidos de luz con corrientes de microfluidos. Como parte de este trabajo se desarrolló una técnica que prescinde del flujo, y es por lo tanto, enteramente óptica. El método es basado en la respuesta específica de diferentes micropartículas a un patrón de interferencia de franjas vibrantes con una modulación temporal asimétrica. La selectividad por tamaño surge de la periodicidad espacial de las franjas mientras que la selección basada en el índice de refracción es controlada adicionalmente por la potencia del haz. Los fundamentos teóricos de las fuerzas y potenciales ópticos de la técnica son discutidos en la sección 4.2. Datos experimentales que muestran la organización de muestras coloidales en base a su tamaño y a su índice de refracción, así como la caracterización del sistema, son mostrados en la sección 4.3. En la sección 4.4 se concluye con una recapitulación de los resultados más importantes.

4.1 Introducción

En años recientes, ha habido un gran esfuerzo por desarrollar de técnicas eficientes orientadas a separar, ordenar y manipular ensambles de micropartículas, tales como coloides, células vivas y macromoléculas, por ejemplo, lo que a la fecha tiene importantes aplicaciones en investigación multidisciplinaria. Hay métodos de separación bien establecidos como la centrifugación que usa técnicas mecánicas [81], técnicas eléctricas como citometría de flujo [82] y dielectroforesis [83]. También hay métodos híbridos aplicando técnicas ópticas y dielectroforéticas [84, 85], una de estas son las recientes pinzas optoelectrónicas en la cual una imagen de luz de baja potencia proyectada sobre una capa fotoconductor puede inducir campos eléctricos no uniformes sobre una gran área, y permite la manipulación y separación de partículas sin alambres ni electrodos y en la ausencia de flujo [86]. La separación óptica, que consiste básicamente en la separación de mezclas coloidales usando luz, es una nueva tecnología que está estrechamente relacionada con las pinzas ópticas puesto que se construye con los mismos principios físicos. En el dominio óptico, la primera observación de separación por tamaño de partículas coloidales usando solamente fuerzas de la presión de radiación se debe a Ashkin en su primer artículo sobre confinamiento óptico de 1970 [8]. En ese caso, la separación se basa en los diferentes niveles de potencia requeridos para el guiado óptico de partículas con diferentes tamaños (partículas de $2.7 \mu\text{m}$ de diámetro requieren menos potencia para ser guiadas que otras más pequeñas). Sin embargo, un renovado y creciente interés en este tema ha surgido en los últimos años debido al gran número de aplicaciones prácticas para este método no-invasivo, y a las tremendas posibilidades ofrecidas por las técnicas modernas de captura óptica. Por ejemplo, las nuevas posibilidades de generación de patrones extendidos y reconfigurables de luz, ofrecen perspectivas de alto rendimiento para esta técnica óptica.

Una primera generación de métodos de separación óptica, conocida actualmente por el término general de cromatografía óptica, involucra el uso de un líquido fluyendo a través de un tubo capilar en dirección opuesta a un haz de luz estático débilmente enfocado [87, 88, 89, 90]. La selección se da durante el proceso de interacción (entre el haz de luz y el flujo hidrodinámico) de donde resulta que las partículas en el medio alcanzan posiciones de equilibrio donde la fuerza de la presión de radiación es balanceada con la fuerza

hidrodinámica de Stokes dependiendo de su tamaño y/o índice de refracción. No obstante, la eficiencia de la cromatografía óptica no es muy alta y la colección de las muestras fraccionadas requiere al menos una abertura o puerto para extraer partículas de las mismas características con un haz de luz extra. Recientes avances han sido implementados en esta dirección haciendo el método más efectivo, pero usan una sofisticada red de microcanales [91].

Otra alternativa para separación óptica es el uso de paisajes (estacionarios) periódicos extendidos de luz o redes ópticas, nuevamente en interacción con microfluidos. Por ejemplo, el uso de patrones periódicos de luz en dos y tres dimensiones es la base para la operación de sistemas microfluidicos de separación desarrollados recientemente [69, 92, 93, 94], los cuales pueden alcanzar eficiencias cercanas al 100% [69]. No obstante, la separación efectiva de mezclas cada vez más complejas puede resultar un problema complicado en la práctica, puesto que puede requerir sistemas tándem considerablemente elaborados [95]. Otros han barrido el campo de luz a través de muestras estacionarias alcanzando también buenos resultados de separación [96-100]. Algunos de los métodos ópticos mencionados anteriormente que han sido implementados para separar por índice de refracción usando microfluidos [69, 90], tienen la desventaja de que la selección por tamaño ha sido limitada a partículas individuales [101].

Métodos ópticos de separación no-fluidicos también han sido sugeridos como una alternativa conveniente para distribuir la luz pero sin la necesidad de contar con un flujo microfluidico, y así simplificar la técnica. Por ejemplo, el uso de un patrón de franjas de interferencia fue propuesto para diferenciar entre partículas de bajo y alto índice de refracción [102]. Un movimiento continuo del patrón de franjas fue también propuesto para separar partículas por tamaño, sobre la base de que sólo partículas lo bastante grandes podrían seguir el movimiento del patrón si la velocidad es bastante rápida, dejando atrás a las más pequeñas [103], pero esto no es necesariamente cierto, y hasta donde se sabe, la efectividad de estas técnicas no ha sido demostrada. En esta tesis se propone un sistema adicional de este tipo (no-fluidico), donde el parámetro de control apropiado para lograr la separación por tamaño de partículas se identifica como el periodo espacial de las franjas, mientras que la separación por índice de refracción fue alcanzada controlando la potencia del campo de luz incidente.

En este capítulo se presenta el estudio teórico-experimental detallado del sistema propuesto, el cual consiste de un patrón de interferencia de franjas vibrantes con una modulación temporal asimétrica (diente de sierra) que remueve las partículas de un determinado tamaño, o bien, del mismo tamaño y diferente índice de refracción de una mezcla polidispersa, alcanzando alto rendimiento y eficiencia que se compara con los mejores actualmente disponibles, además es capaz de separar fácilmente muestras con más de tres componentes. Una importante ventaja de este método comparado con dispositivos previos es la posibilidad de coleccionar partículas de diferentes características en diferentes depósitos ya sea rotando la dirección de las franjas respecto a la muestra o el soporte de la muestra, o bien, invirtiendo la pendiente de la modulación de fase, superando de esta manera las dificultades asociadas a la organización de mezclas cada vez más complejas y a la colección de las muestras separadas.

4.2 Teoría del separador óptico interferométrico

4.2.1 Fuerzas ópticas y potenciales en un patrón de franjas de interferencia

El estudio teórico de la técnica de separación óptica se basa en el régimen de rayos ópticos ($D \gg \lambda$), puesto que resulta apropiado para describir el comportamiento cualitativo de las fuerzas ópticas y potenciales para las diferentes partículas (en forma y tamaño) usadas en el experimento. Se usa un modelo de trazo de rayos análogo a los descritos en detalle en las referencias [61], [105] y [ref. [14] p. 159], con la distribución de intensidad adaptada a este caso particular. Este modelo considera un haz monocromático incidente sobre una partícula esférica transparente (absorción despreciable). El haz es modelado como un conjunto de rayos que sufren refracción cambiando su momento. Se intenta determinar el cambio total en el momento lineal de la luz para conocer la dirección de las fuerzas ópticas ejercidas sobre la partícula, ya que como sabemos, por conservación del momento, esta es opuesta a la dirección del cambio en el momento de la esfera. De esta manera se deducen las expresiones que permiten calcular las fuerzas.

La ecuación básica para obtener la fuerza transversal ejercida por un haz de luz en una esfera de radio R_0 (arrastrándola hacia el centro del haz donde logra el equilibrio estable),

localizada en el punto (x_0, y_0) de un plano transversal dado ($z_0 = \text{constante}$), puede ser expresada como

$$F(x_0, y_0) = \frac{n_m R_0^2}{2c} \int_0^{\pi/2} \int_0^{2\pi} \left[T^2 \left(\frac{\text{sen } 2(\theta_t - \theta) - R \text{sen } 2\theta}{1 + R^2 + 2R \cos 2\theta_t} \right) + R \text{sen } 2\theta \right] \times I(x, y) \text{sen } 2\theta \cos \varphi d\varphi d\theta. \quad (4.1)$$

El integrando puede imaginarse como el cambio en el momento lineal de la partícula debido al flujo de la luz esparcida cruzando su superficie, o alternativamente, debido al cambio total en el momento lineal del flujo incidente de fotones.

La integración se lleva a cabo sobre el hemisferio (superior) iluminado de la partícula. θ y φ son los ángulos polar y azimutal, respectivamente, en coordenadas esféricas. En este caso, θ coincide con el ángulo de incidencia en cada punto de la superficie de la esfera y el ángulo transmitido es denotado por θ_t . R y T son los coeficientes de reflexión y transmisión. Para evaluar estos coeficientes, se puede considerar que el campo incidente está compuesto en igual proporción de rayos en las dos direcciones transversales de polarización relativas al plano de incidencia para cada punto iluminado de la esfera, así es posible tomar el promedio de R y T sobre las dos polarizaciones (s : campo eléctrico perpendicular al plano de incidencia y p : campo eléctrico paralelo al plano de incidencia) [61, 105, 106, 42]. El índice de refracción del medio circundante es denotado por n_m (en este caso es agua, $n_m = 1.33$). Las coordenadas de cada punto en la superficie de la esfera, (R_o, φ, θ) , y la posición del centro de la partícula con respecto al eje del haz, (x_0, y_0) , están relacionados por medio de

$$x = x_0 + R_0 \cos \varphi \sin \theta, \quad (4.2)$$

$$y = y_0 + R_0 \sin \varphi \sin \theta. \quad (4.3)$$

Para los cálculos teóricos se tomará $y_0 = 0$. La figura 4.1 es una representación del sistema bajo análisis mostrando los parámetros principales. La esfera se localiza en un sistema (móvil) de coordenadas (x', y', z') , pero se encuentra trasladada del centro del sistema de coordenadas cartesianas del haz de luz (fijo), por lo que las componentes de cualquier punto arbitrario iluminado (x, y, z) están dadas por las ecuaciones anteriores. Una mejor manera de visualizar este punto es mostrando su proyección sobre el plano xy .

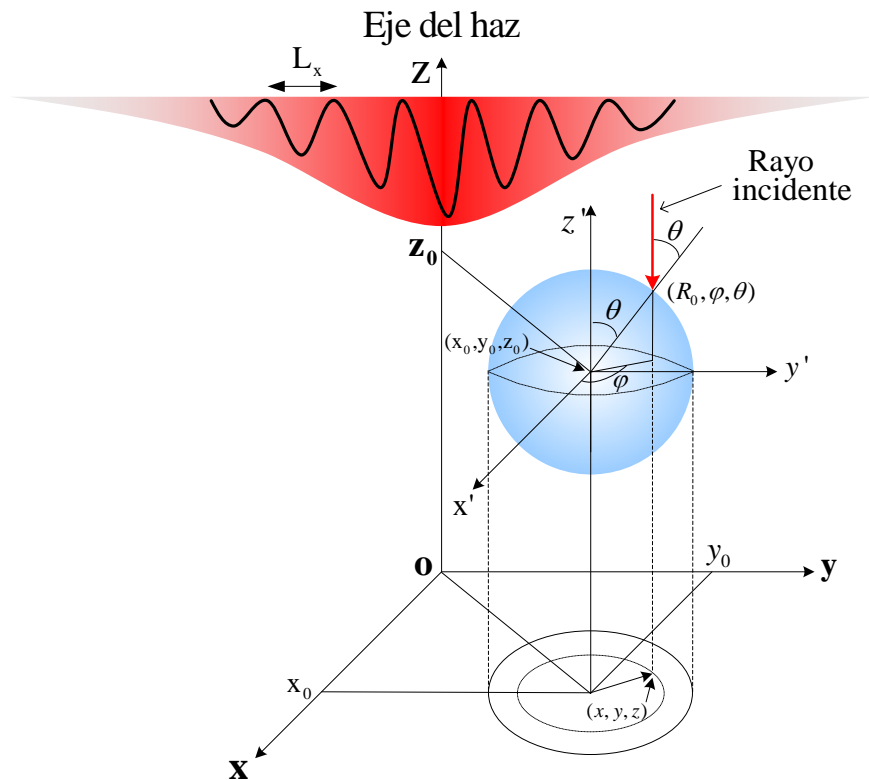


Figura 4.1. Representación geométrica de la esfera desplazada del origen del sistema cartesiano, que está siendo iluminada por un patrón de interferencia de periodo L_x modulado por un perfil Gaussiano.

Se asume como campo incidente (verticalmente) un patrón de franjas de interferencia a lo largo de la dirección x con periodo espacial L_x y modulado por un perfil Gaussiano de anchura $w = 120 \mu\text{m}$ (que es del orden del valor experimental). Por lo tanto, la distribución de intensidad puede ser escrita como

$$I(r;t) = \frac{4P_0}{\pi w^2} \cos^2 \left(\frac{\pi x}{L_x} + \frac{\phi(t)}{2} \right) \exp \left(\frac{-2r^2}{w^2} \right), \quad (4.4)$$

donde P_0 es la potencia incidente, r la distancia radial dada por $r^2 = x^2 + y^2$, y $\phi(t) = \phi_0 \Omega t$; $t \in [0, 1/\Omega]$, es una función de modulación temporal que satisface la condición de periodicidad $\phi(t + n/\Omega) = \phi(t)$, ($n = 0, 1, 2, \dots$). ϕ_0 y Ω son el máximo cambio de fase o amplitud de la oscilación y la frecuencia de vibración, respectivamente. Esta función de modulación de fase produce un desplazamiento como de barrido de las franjas cuya dirección puede invertirse invirtiendo el signo del cambio de fase. Puesto que la fuerza depende de la distribución de intensidad puede entonces ser variada cambiando la potencia del haz, el periodo espacial y el cambio de fase para un haz Gaussiano dado.

Por otro lado, el potencial óptico asociado al campo de luz dado expresado por $U(x, y)$ es de gran utilidad para identificar las posiciones de equilibrio de las partículas. Este puede obtenerse por integración de la fuerza óptica. Para el potencial transversal a lo largo de la dirección de x se tiene

$$U(x, y = 0) = - \int_0^x F(x_0, y_0 = 0) dx_0. \quad (4.5)$$

En la siguiente sección se estudian teóricamente las fuerzas y potenciales para partículas con diferentes tamaños e índices de refracción, distribuidas en la red periódica de luz definida en la ecuación (4.1).

4.2.2 Simulaciones numéricas

Selección de partículas de tamaños diferentes

En lo que sigue, por simplicidad, la dependencia temporal del patrón de interferencia es despreciada y se considera solamente el régimen de estado estacionario. Como se mostrará más adelante, esta consideración basta para describir cualitativamente bien los resultados experimentales, pero para obtener resultados cuantitativos, la dinámica temporal debe ser tomada en cuenta.

Para dilucidar el mecanismo de selección por tamaño y por índice de refracción, la figura 4.2 ilustra algunos resultados teóricos para la fuerza y el potencial como una función de la posición x_0 de la partícula dentro del patrón de franjas (en agua, $n = 1.33$), comparando el comportamiento de dos esferas de látex ($n = 1.59$) con radios $R_1 = 1 \mu\text{m}$ (curvas rojas punteadas) y $R_2 = 2.5 \mu\text{m}$ (curvas azules continuas). Las filas corresponden a periodos espaciales de (A) $L_x = 1.5R_2$, (B) $L_x = 1.35R_2$ y (C) $L_x = 1.25R_2$, mientras que las columnas corresponden a (a) fuerzas ópticas, (b) potenciales ópticos y (c) distribuciones de intensidad mostrando las correspondientes posiciones de equilibrio estable de las partículas.

Las posiciones de equilibrio estable donde las partículas pueden atraparse están asociadas a los puntos donde la fuerza es cero y las curvas tienen pendiente negativa, puesto que cualquier desplazamiento de la esfera daría lugar a una fuerza restauradora en la dirección opuesta. Estos puntos también corresponden al potencial mínimo de los pozos generados por franjas individuales. Por motivo de claridad, se muestran sólo regiones pequeñas del patrón, $-0.08 w < x < 0.08 w$, y el perfil de intensidad también es graficado en (a) con una curva gris como una referencia. Los puntos en que la fuerza es cero pero la curva muestra pendiente positiva corresponden a los mínimos de potencial donde las esferas no pueden atraparse puesto que no alcanzan equilibrio estable. En el caso de la fila (A), se ve que ambas partículas serían atrapadas en la máxima intensidad o antinodos de patrón de interferencia, pero la magnitud de la fuerza es mayor para la esfera más grande, que también implica un pozo de potencial más profundo (relacionado a una rigidez k de captura más grande en cada pozo). Por consiguiente, si el patrón se mueve las esferas más grandes podrán seguirlo, mientras que las más pequeñas responderán menos a él. Por otro

lado, en la fila (B) la fuerza óptica y el potencial son prácticamente iguales para ambas partículas, implicando que no puede haber separación en este régimen. Finalmente, en la fila (C) se ve que ahora la fuerza se hace más grande para la esfera más pequeña, mientras que las posiciones de equilibrio para la esfera más grande han sido cambiadas hacia la mínima intensidad o nodos. En este caso, solo las partículas más pequeñas estarán amarradas al movimiento del patrón, dejando a las esferas más grandes atrás.

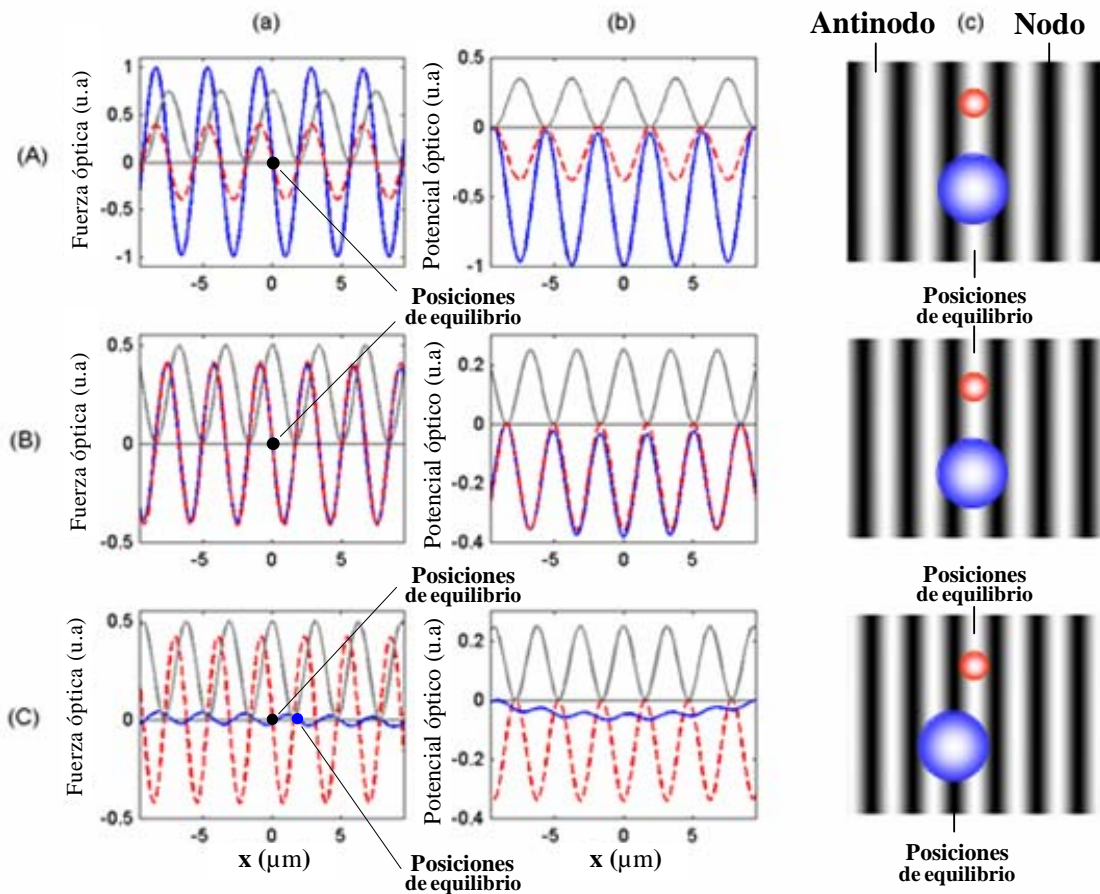


Figura 4.2. Comparación de la fuerza óptica y potencial contra la distancia transversal x (micras) para partículas de dos radios diferentes: $R_1 = 1 \mu\text{m}$ (curvas rojas punteadas) y $R_2 = 2.5 \mu\text{m}$ (curvas sólidas azules), capturadas en una red óptica de periodo L_x (las curvas grises representan la distribución de intensidad). Filas: (A) $L_x = 1.5R_2$, (B) $L_x = 1.35R_2$ y (C) $L_x = 1.25R_2$. Columnas: (a) fuerza óptica, (b) potencial óptico y (c) distribuciones de intensidad mostrando las partículas en sus respectivas posiciones de equilibrio. Todas las curvas están normalizadas respecto al máximo valor (absoluto) obtenido para la fuerza y para el potencial.

Este comportamiento está en acuerdo con un trabajo reportado anteriormente para nanopartículas atrapadas en ondas estacionarias a lo largo de la dirección de propagación [107], donde fue declarado que una partícula se mueve de tal manera que cubre el número máximo de antinodos en la onda estacionaria. En la figura se indican las posiciones de equilibrio así como los nodos y antinodos.

Otro dato que resulta útil para complementar los cálculos previos consiste en mostrar la magnitud de la fuerza óptica máxima como una función de L_x para diferentes tamaños de partículas. La figura 4.3 muestra este comportamiento para esferas de radios: $R_1 = 1 \mu\text{m}$ (curva de trazos), $R_2 = 2.5 \mu\text{m}$ (curva sólida) y $R_3 = 3 \mu\text{m}$ (curva de puntos y trazos). Esto claramente ilustra que hay un periodo óptimo para cada tamaño de partícula que maximiza la fuerza, que es la base del mecanismo de selección por tamaño que se estudia en este capítulo.

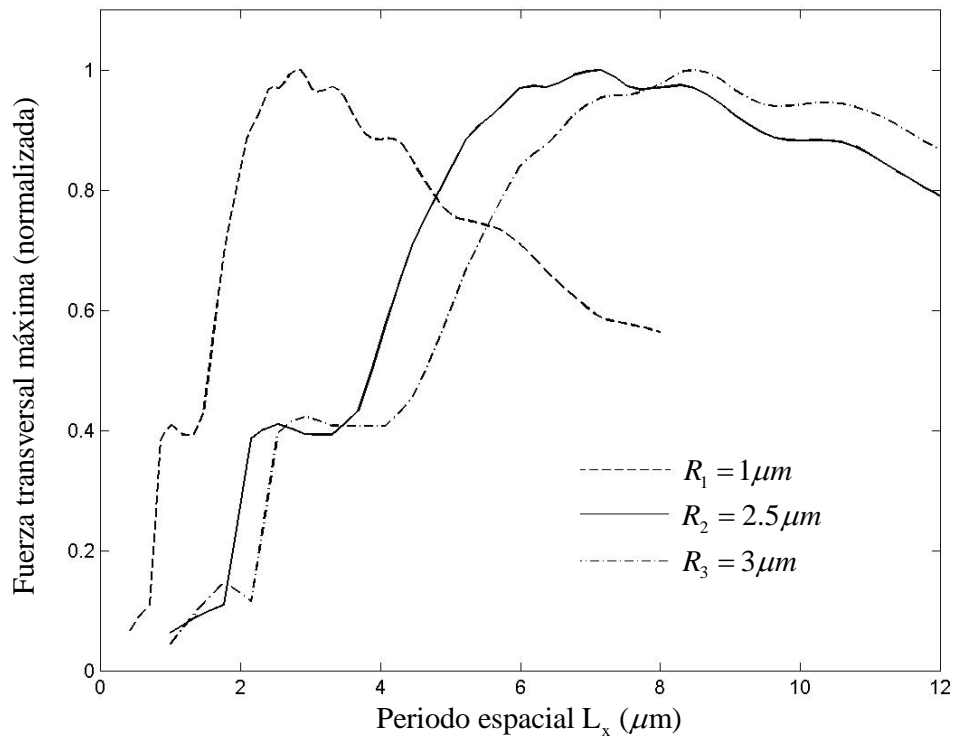


Figura 4.3. Fuerza óptica máxima (normalizada) como una función del periodo espacial de las franjas L_x para partículas con radio $R_1 = 1.0 \mu\text{m}$ (curva de trazos), $R_2 = 2.5 \mu\text{m}$ (curva sólida) y $R_3 = 3.0 \mu\text{m}$ (curva de puntos y trazos).

Resulta también interesante analizar la influencia de la extensión del perfil de modulación Gaussiana en el comportamiento de las partículas en el patrón de franjas. La figura 4.4 muestra la fuerza óptica (curvas sólidas azules) y el potencial óptico (curvas rojas punteadas) para una partícula de radio $R = 2.5 \mu\text{m}$ cuando (a) $w = 150 \mu\text{m}$ y (b) $w = 50 \mu\text{m}$. En ambos casos $L_x = 1.5R$ y el perfil de intensidad es graficado con una curva gris como una referencia.

Como se vio en la figura 4.2, cada franja actúa como un pozo de potencial individual, sin embargo, cuando el perfil de modulación Gaussiana se hace más pequeño, el potencial se inclina atrayendo la partícula hacia el centro. Hay un pozo de potencial asociado al perfil Gaussiano en adición a los pozos de potencial individuales debido a las franjas. Esto también se refleja en la conducta de la fuerza, haciendo la captura menos eficiente en las franjas exteriores. En términos del método de separación propuesto en este capítulo, esto ilustra la importancia de tener un patrón de franjas suficientemente extendido.

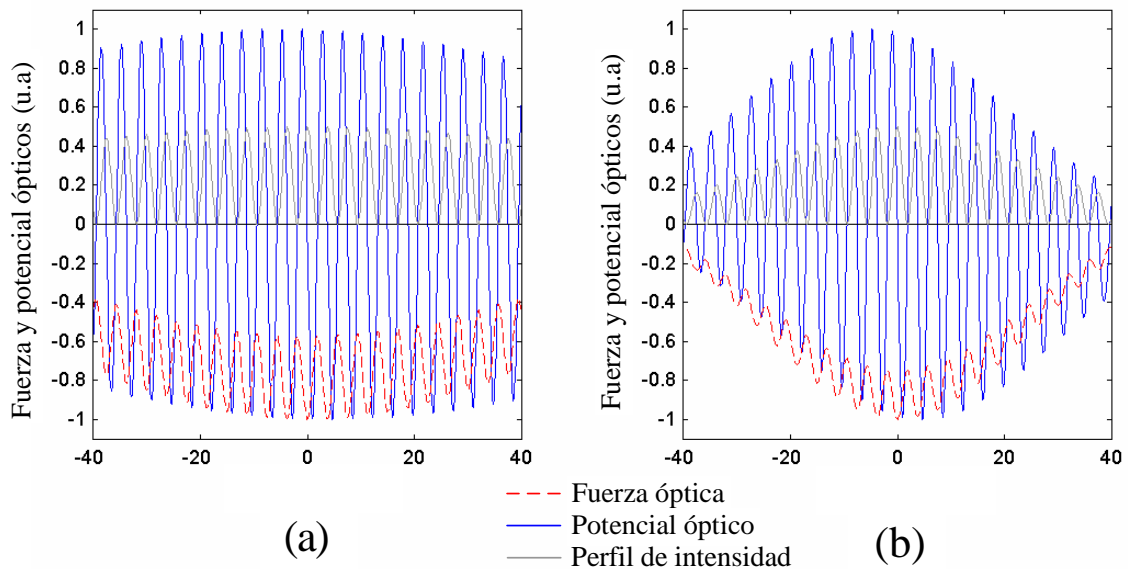


Figura 4.4. Influencia de la magnitud del perfil de modulación Gaussiana. Fuerza óptica (curvas sólidas azules) y potencial óptico (curvas rojas punteadas) para una partícula de radio $R = 2.5 \mu\text{m}$ cuando (a) $w = 150 \mu\text{m}$ y (b) $w = 50 \mu\text{m}$. En ambos casos el periodo espacial de las franjas es $L_x = 1.5R$ y el perfil de intensidad es graficado con una curva gris como una referencia.

Selección de partículas de igual tamaño pero con distinto índice de refracción

Para partículas del mismo tamaño pero con diferentes índices de refracción, las curvas para la fuerza óptica son muy similares en forma pero escaladas, puesto que la magnitud de la fuerza depende del índice de refracción relativo de la partícula respecto al medio (agua, $n = 1.33$) vía la ley de Snell para el ángulo de refracción y los coeficientes de reflexión y transmisión en la ecuación (4.1), siendo más pequeña para partículas con índice de refracción relativo más bajo [61].

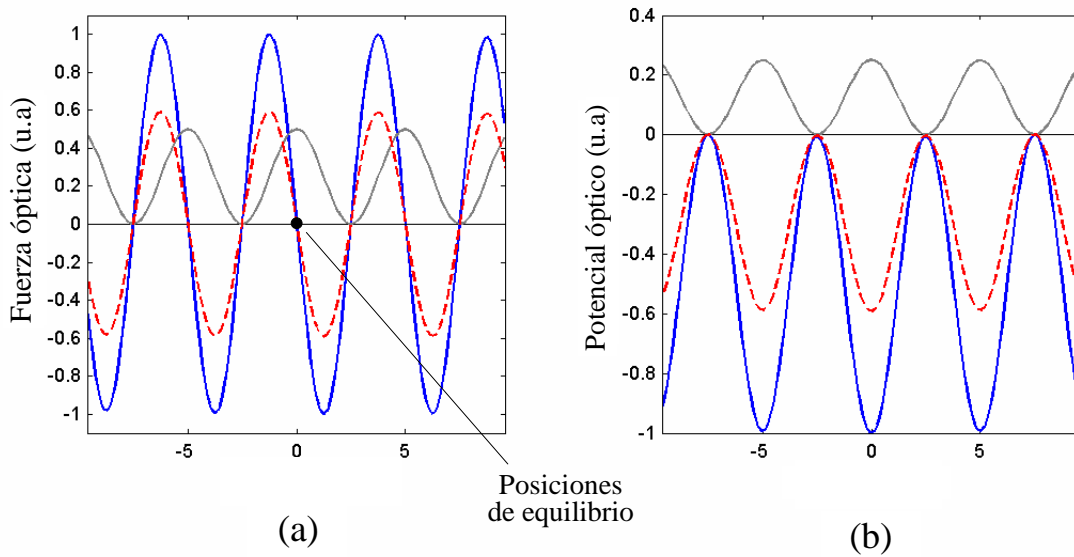


Figura 4.5. Comparación de (a) la fuerza óptica y (b) el potencial óptico para partículas con el mismo radio $R = 2.5 \mu\text{m}$ y diferentes índices de refracción $n_1 = 1.59$ (curvas sólidas azules) y $n_1 = 1.45$ (curvas rojas punteadas). En ambos casos el periodo espacial de las franjas es $L_x = 2R$ y las curvas grises representan el perfil de intensidad para referencia.

Esto puede apreciarse en la figura 4.5, donde se muestra (a) la fuerza óptica y (b) el potencial óptico para partículas de látex ($n_1 = 1.59$, curva azul sólida) y sílice ($n_2 = 1.45$, curva roja punteada), con el mismo radio $R = 2.5 \mu\text{m}$, en ambos casos $L_x = 2R$. También se indican las posiciones de equilibrio de las partículas atrapadas, de manera análoga al caso de la figura 4.2.

En la práctica, la separación de partículas de igual tamaño pero de diferentes materiales puede lograrse incrementando gradualmente la potencia hasta alcanzar el mínimo nivel de potencia requerida para mover solamente las partículas con índice de refracción más alto. Este método sin embargo, se hace menos eficiente cuando el tamaño de las partículas aumenta puesto que la potencia umbral es más baja para las partículas más grandes, dando origen a una muy lenta tasa de separación.

4.3 Arreglo interferométrico de pinzas ópticas

En esta sección se describe el arreglo interferométrico de captura múltiple y se presenta una serie de experimentos de separación de partículas que complementan los resultados teóricos discutidos en la sección previa.

4.3.1 Descripción del arreglo experimental

El arreglo experimental es mostrado en la figura 4.6. Consiste básicamente de un interferómetro Mach-Zehnder (no compensado) acoplado a un sistema típico de pinzas como el arreglo mostrado en la figura 3.1 del capítulo anterior.

En este experimento se usó un láser continuo de longitud de onda sintonizable con potencia máxima de salida de alrededor de 1 W, pero sobre la muestra se alcanzó un máximo de 200 mW. La longitud de onda del haz seleccionado fue de 488 nm (color azul), el cual es introducido en el interferómetro, permitiendo el control independiente del camino óptico de cada brazo. Los haces (de igual intensidad) se recombinan e interfieren en la apertura de entrada del objetivo de microscopio de 40X (NA = 0.65) por medio de un cubo divisor de haz polarizador DHP. El patrón de interferencia es focalizado en el plano de la muestra que reposa en una montura xyz . La celda de la muestra polidispersa donde se hallan las partículas de Mie (en todos los casos experimentales subsecuentes las partículas estarán suspendidas libremente en agua destilada, $n_m = 1.33$), consiste nuevamente de un portaobjeto y un cubreobjeto separados por un espaciador de plástico de 120 micras. La placa retardadora de $\lambda/2$ es usada para maximizar la potencia disponible sobre la muestra mediante la rotación de la polarización (de vertical a horizontal) ya que posteriormente la

polarización resultante es reflejada por el DHP casi en su totalidad sobre la muestra. También podría usarse para controlar la potencia si la salida del láser no puede regularse. El periodo de las franjas puede variarse fácilmente entre 0.7 y $27 \mu\text{m}$ cambiando las separación angular de los haces por medio del desplazamiento del cubo divisor DH2 (no polarizador) a lo largo de la dirección x . El espejo M esta montado en una bocina controlada eléctricamente por un generador de funciones arbitrarias. La vibración del altavoz da origen a un cambio periódico de la diferencia de camino óptico entre los haces que interfieren, produciendo una oscilación de las franjas. El máximo cambio de fase ϕ_0 es controlado a través de la amplitud del voltaje de impulso aplicado.

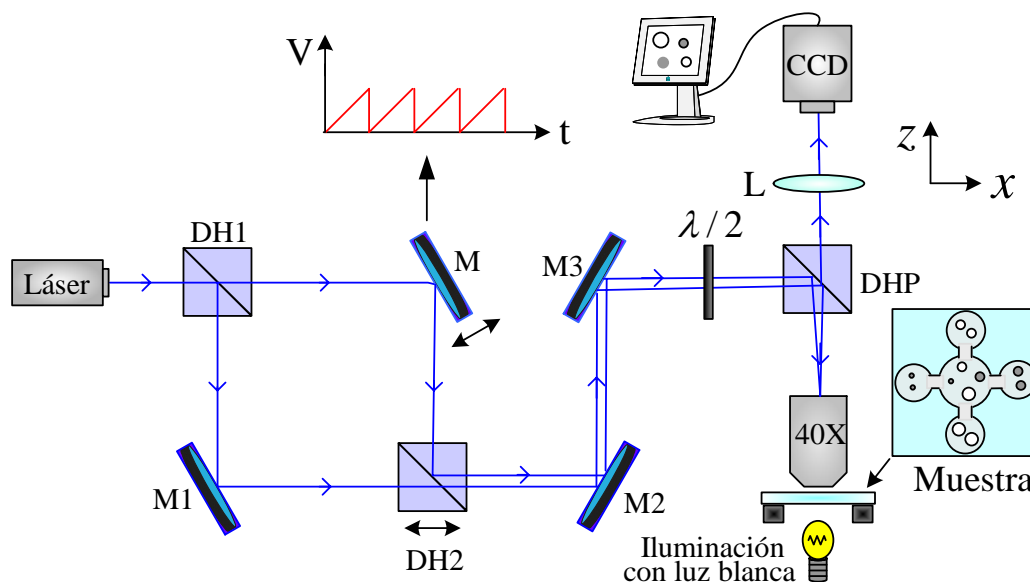


Figura 4.6. Arreglo interferométrico de pinzas ópticas. El espejo M montado en un altavoz es controlado con una modulación temporal asimétrica (diente de sierra) para generar un patrón de interferencia vibrante. El periodo de las franjas es cambiado por el desplazamiento del cubo divisor de haz DH2. La vista superior de la muestra polidispersa indica que con un contenedor adecuado sería posible separar las partículas en diferentes micro-compartimentos.

La clave para la separación óptica es el uso de una función de modulación asimétrica, como la función diente de sierra representada en la ecuación (4.4), que resulta en un

movimiento de barrido constante de las franjas hacia adelante arrastrando las partículas, puesto que estas permanecerán siempre situadas en posiciones de equilibrio estable, como se mencionó en la teoría. La inversión del signo de la pendiente de la función diente de sierra invierte la corriente de transporte de las partículas.

Finalmente, el objetivo de microscopio es utilizado para capturar y ver las partículas de la muestra. La lente L (de 5 cm de distancia focal) conduce la imagen de la muestra a la cámara CCD (Thorlabs, modelo DCU223M) para su monitoreo en tiempo real en pantalla de computadora para el registro en video de los experimentos. El diámetro de la zona de interferencia sobre la muestra es aproximadamente de 60 μm , ligeramente mayor al campo de visión de la CCD ($\sim 50 \times 50 \mu\text{m}$).

4.3.2 Separación por tamaño

De acuerdo a los resultados teóricos, ajustando el periodo adecuado de las franjas para un tamaño dado de partícula, la segregación de mezclas coloidales debe ser posible. Las capacidades de separación de partículas por tamaño con esta técnica son demostradas en la figura 4.7, donde una secuencia de imágenes muestra la separación de diferentes mezclas. En (a) se observa la distribución espacial inicial¹ de una mezcla de dos tipos de partículas de látex (Polysciences Inc.) de 1 y 5 μm de diámetro. Cuando el periodo de las franjas alcanza un valor de aproximadamente $L_x \sim 2 \mu\text{m}$ (fijos: $P = 140 \text{ mW}$, $\Omega = 1.2 \text{ Hz}$ y $\phi_0 \approx 2\pi$) y se aplica la modulación, las partículas de 1 μm son capturadas con mayor fuerza en las zonas brillantes y son entonces removidas (hacia la izquierda) como se ve de (b)-(c). La serie de figuras (d)-(f) ilustra el caso en que solo las microesferas de 2 μm de diámetro son arrastradas hacia la derecha por el patrón de franjas dejando a las de 1 μm , pero en este caso el periodo adecuado tuvo un valor aproximado de $L_x \sim 4 \mu\text{m}$ (fijos: $P = 120 \text{ mW}$, $\Omega = 0.5 \text{ Hz}$ y $\phi_0 \approx 2\pi$). En la última fila, la secuencia de figuras muestra la separación de una muestra polidispersa un tanto más compleja. Consta de tres tipos de partículas: microesferas de sílice de 1 μm de diámetro (Polysciences Inc.), y partículas de 2 y 5 μm de látex. En (g) se muestra

¹ En este y en todos los casos experimentales, las partículas están reposando por gravedad en el fondo de la muestra.

la distribución espacial inicial de las partículas de la mezcla. El cuadro (h) ilustra el proceso de separación para las partículas de 5 μm , las cuales son movidas a la derecha poniendo $L_x \sim 10 \mu\text{m}$ (fijos: $P = 130 \text{ mW}$, $\Omega = 0.8 \text{ Hz}$ y $\phi_0 \approx 2\pi$). En (i) las partículas de 2 μm desplazadas en la dirección opuesta invirtiendo el signo de la pendiente de la función diente de sierra y cambiando el periodo de las franjas de interferencia a $L_x \sim 4 \mu\text{m}$ (fijos: $P = 130 \text{ mW}$, $\Omega = 0.8 \text{ Hz}$ y $\phi_0 \approx 2\pi$). En la subsección 4.3.4 se dará una caracterización más cuantitativa del arreglo experimental.

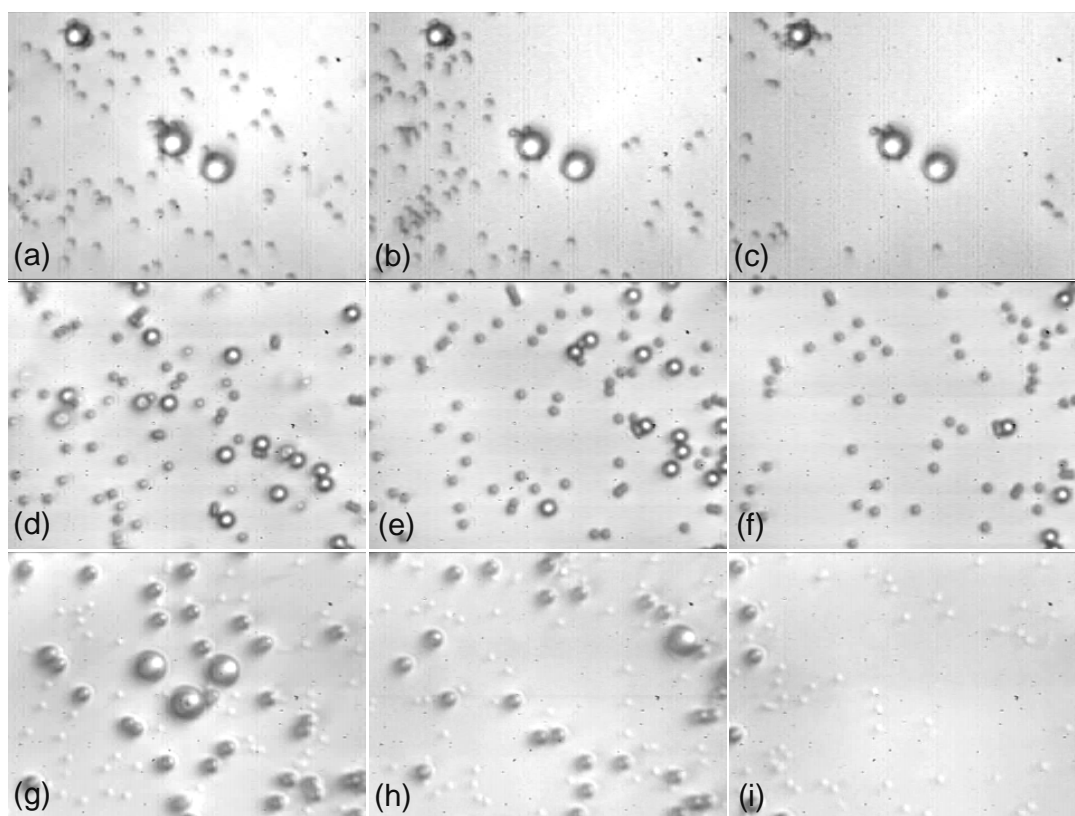


Figura 4.7. Segregación de diferentes muestras coloidales por tamaño. En (a) se observa la mezcla original que consiste de partículas de dos diferentes tamaños: 1 y 5 μm de diámetro. (b)-(c) muestra el desplazamiento de las partículas de 1 μm hacia la izquierda. (d)-(f) muestra la separación de partículas de 2 μm hacia la derecha dejando fijas a las de 1 μm . (g)-(i) muestra la separación de tres tipos de partículas: esferas de sílice de 1 μm de diámetro y partículas de látex de 2 y 5 μm . En (g) todas las partículas están juntas a la vez; (h) las partículas de 5 μm son removidas hacia la derecha; (i) las partículas de 2 μm son desplazadas en la dirección opuesta.

4.3.3 Separación por índice de refracción

Como se muestra en la figura 4.5, la separación de partículas del mismo tamaño pero con diferentes índices de refracción también se puede realizar por medio de un cuidadoso control de la potencia láser ya que a mayor índice mayor fuerza de captura y viceversa, siendo dicha fuerza proporcional a la potencia. En la figura 4.8 se muestran las capacidades del tamiz óptico para partículas con dichas características.

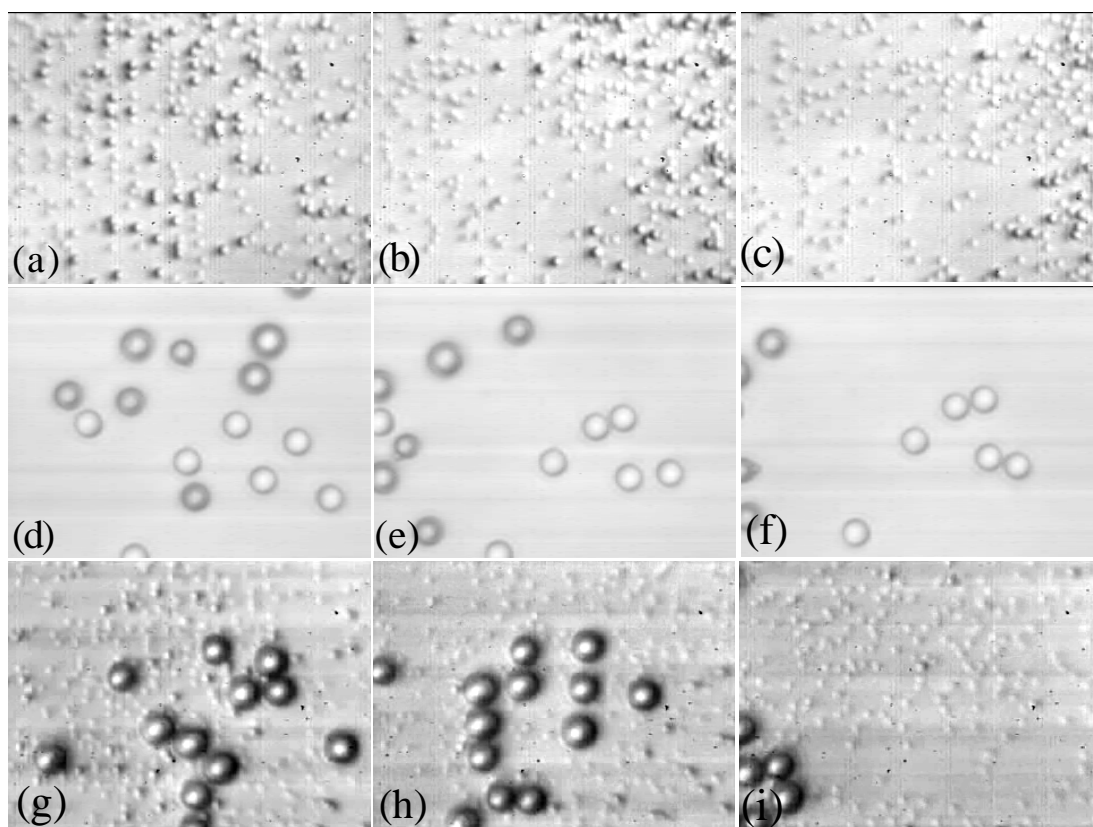


Figura 4.8. Separación de diferentes mezclas por índice de refracción. (a)-(c) muestra la segregación de una mezcla consistente de micropartículas de látex (se miran más oscuras) y sílice de $1\ \mu\text{m}$. (a) es una vista de la distribución inicial y (b)-(c) ilustra el desplazamiento de esferas de látex hacia la derecha. Los cuadros (d)-(f) muestran un caso análogo de separación para esferas de $5\ \mu\text{m}$, pero a diferencia de que en este las esferas de látex (más oscuras) son llevadas hacia la izquierda. (g)-(i) es un caso que muestra separación por tamaño y por índice en una mezcla triple: partículas de sílice y látex (se miran ligeramente más oscuras que las de sílice) de $1\ \mu\text{m}$, y partículas de látex de $5\ \mu\text{m}$. En (g) se ve el estado inicial, en (h) se han trasladado las de látex de $1\ \mu\text{m}$ hacia la derecha y en (i) se han removido las de $5\ \mu\text{m}$ hacia la izquierda.

De (a)-(c) se muestra la separación en una mezcla de partículas de 1 μm de diámetro de sílice y látex (éstas últimas se ven más oscuras debido a que su índice de refracción es mayor). En (a) se observa la mezcla original y (b)-(c) muestra el desplazamiento de las micropartículas de látex hacia la derecha. Como se mencionó en el caso anterior, para partículas de 1 micra de diámetro se utiliza un periodo óptimo aproximado de $L_x \sim 2 \mu\text{m}$ (fijos: $P = 140 \text{ mW}$, $\Omega = 0.5 \text{ Hz}$ y $\phi_0 \approx 2\pi$) para ejecutar el proceso.

La serie de imágenes (d)-(f) muestra otro ejemplo de separación de partículas de sílice y látex (se ven más oscuras que las de sílice) de igual tamaño (5 μm). Las esferitas de látex, que son capturadas con mayor fuerza ya que dicha fuerza es mayor conforme aumenta el índice de refracción relativo entre la partícula y el medio, son transportadas hacia la izquierda ($L_x \sim 10 \mu\text{m}$, $P = 110 \text{ mW}$, $\Omega = 1 \text{ Hz}$ y $\phi_0 \approx 2\pi$). Si el umbral de potencia para iniciar el movimiento de las partículas de látex se incrementa por solo un 10% (que es aproximadamente el porcentaje de diferencia entre sus índices de refracción), sucede que ambos conjuntos de partículas serán amarrados al patrón dinámico y la separación no ocurre. El método se hace menos eficiente para partículas de mayor tamaño, ya que la potencia umbral requerida es menor, y por lo mismo, la diferencia del 10% respecto a ese valor es muy pequeña, además de que por tratarse de potencias tan bajas el movimiento de las partículas es muy lento.

Finalmente, en la última fila se muestra un caso general de separación abarcando ambos casos, es decir, por tamaño y por índice de refracción. La secuencia de imágenes muestra la separación de tres tipos de partículas: esferas de sílice y látex de 1 μm de diámetro y partículas de látex de 5 μm . (g) muestra la mezcla original. En primer lugar las partículas de látex de 1 μm son removidas del campo de visión hacia la derecha como se aprecia en (h), bajo los mismos argumentos y parámetros dados en la serie de figuras (a)-(c). Posteriormente, las partículas de 5 μm son desplazadas en dirección opuesta invirtiendo el sentido de la modulación del patrón de franjas, quedando en observación solo las esferitas de sílice 1 μm .

En principio, más de tres tipos de partículas pueden separarse de la mezcla inicial enviándolas hacia diferentes direcciones girando la orientación de las franjas o el soporte de la muestra. Combinado con un diseño adecuado de la celda, como la ilustrada en la figura

4.6 del arreglo, se podría ordenar, almacenar y eventualmente coleccionar partículas en diferentes contenedores colocados a diferentes ángulos. Como puede percatarse en las figuras, las eficiencias de separación son muy cercanas al 100%, no obstante, algunas partículas no son arrastradas debido a que se adhieren al vidrio de la muestra por las fuerzas de Van der Waals o porque tienen una geometría irregular lo que hace que respondan de manera diferente a la luz incidente. Un factor limitante en la eficiencia es el arrastre de algunas esferas pequeñas por las más grandes cuando están siendo barridas, sin embargo, este es un problema latente en todas las técnicas disponibles actualmente, pero es posible minimizarlo refinando la selección de los parámetros de control restantes, en este caso, la frecuencia y amplitud de vibración.

4.3.4 Caracterización del sistema

Como se ha visto en los experimentos, hay varios parámetros de control que pueden variarse para mejorar el rendimiento del sistema y describir mejor el movimiento de las partículas: periodo espacial de las franjas de interferencia, frecuencia del patrón oscilante, máximo cambio de fase (voltaje) y potencia del haz de captura. Tal desempeño del arreglo puede ser evaluado por medio de las figuras 4.9-11.

Las gráficas experimentales de la figura 4.9 muestran la variación de la velocidad de transporte promedio para partículas de látex de 2 y 5 μm de diámetro como función de (a) el periodo espacial de las franjas (fijando: $P = 130 \text{ mW}$, $\Omega = 1 \text{ Hz}$ y $\phi_0 \sim 2\pi$) y (b) la frecuencia de vibración (fijando: $P = 130 \text{ mW}$, $\phi_0 \sim 2\pi$, periodo optimizado para cada tamaño de partícula: $L_x \sim 4 \mu\text{m}$ para las de 2 μm y $L_x \sim 10 \mu\text{m}$ para las de 5 μm). La máxima velocidad ($v_{\text{max}} \approx 2.5 \mu\text{m/s}$) se alcanza cuando el período espacial está sobre $L_x \approx 2D$ para ambos tipos de partículas (D es el diámetro de las partículas). La comparación entre las figuras 4.3 y 4.9 (a) da un acuerdo cualitativamente bueno; sin embargo, hay una discrepancia entre el periodo espacial predicho por los resultados teóricos y los medidos en el experimento. Mientras la teoría predice $L_x \cong 3R$, el experimento muestra que $L_x \cong 4R$. Tal vez esto puede explicarse si se recuerda que la teoría es válida en el régimen de estado estacionario mientras el experimento representa un régimen dinámico. Un mejor modelo

debe considerar el movimiento de partículas en un líquido viscoso sujeto a una fuerza externa.

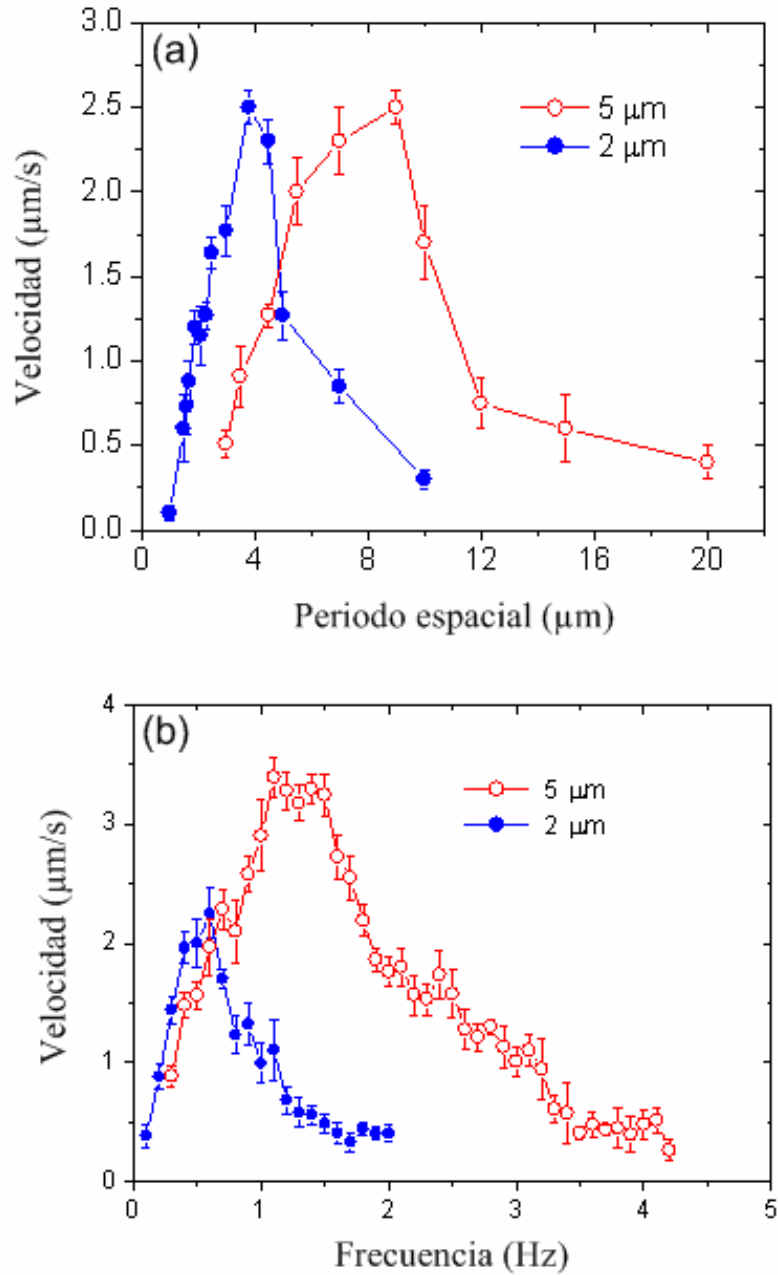


Figura 4.9. (a) Curvas experimentales para la velocidad de las partículas como función del periodo espacial de las franjas para esferas de látex de 2 y 5 μm de diámetro (potencia fija $P = 130 \text{ mW}$, frecuencia $\Omega = 1 \text{ Hz}$ y desplazamiento de fase $\phi_0 \sim 2\pi$). (b) Velocidad como función de la frecuencia de vibración del espejo M para las mismas partículas (con periodo óptimo para cada partícula $L_x \sim 4 \mu\text{m}$ y $L_x \sim 10 \mu\text{m}$, respectivamente y potencia fija $P = 130 \text{ mW}$).

Por otro lado, la figura 4.9 (b) muestra un valor óptimo para la frecuencia de ≈ 0.5 y ≈ 1.2 Hz para partículas de 2 y $5 \mu\text{m}$, respectivamente. En una situación en que se tengan frecuencias de vibración pequeñas, se esperará que la velocidad de las partículas arrastradas aumente con la frecuencia. Sin embargo, si el patrón de franjas se mueve demasiado rápido, las partículas ya no serán capaces de seguirla por la viscosidad del líquido y la inercia de las partículas, dando como resultado en una fuerza óptica promedio en el tiempo en lugar de un movimiento del patrón de luz, como es visto en trampas múltiples de barrido de haz [108, 109]. Según los resultados experimentales, la transición entre las dos situaciones mencionadas anteriormente no es abrupta, pero la velocidad de una partícula decrece gradualmente después de alcanzar un valor óptimo para la frecuencia de vibración. La máxima velocidad v_{max} que se obtuvo puede ser aumentada incrementando la potencia láser ya que mayor potencia mayor fuerza de captura lo que permitiría arrastrar más eficientemente las esferas amarradas al patrón. Para la potencia máxima alcanzada sobre la muestra $P \sim 200$ mW, se obtuvo $v_{\text{max}} \approx 6.5 \mu\text{m/s}$.

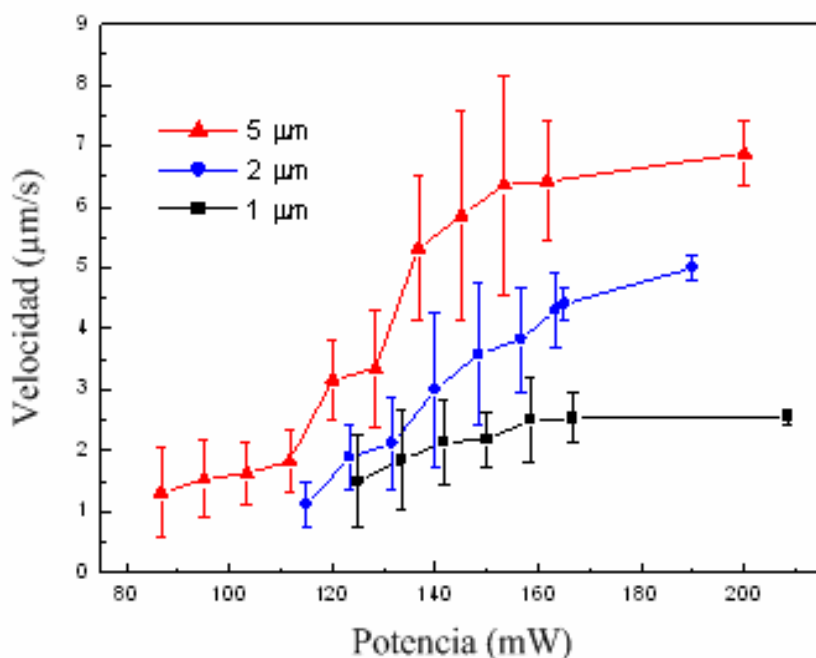


Figura 4.10. Gráfica de velocidad como función de la potencia para diferentes diámetros de partículas. En todos se los casos se observa que la velocidad incrementa con la potencia, pero también parece haber un valor de saturación para el cual la fuerza de captura es alta pero la velocidad se ve acotada debido a la dependencia de esta con los otros parámetros.

Como dato adicional, en la figura 4.10 se muestra una gráfica de velocidad como función de la potencia para diferentes tamaños de partículas de látex (periodo, frecuencia y fase óptimos para cada caso según la figura 4.9). Como era de esperarse, se observa que la velocidad aumenta con lo potencia en todos los casos, sin embargo, parece haber un valor de saturación en cada caso, en el cual es suponerse que la fuerza de captura es muy alta pero la velocidad se ve acotada debido a las dependencia de esta con los otros parámetros (los cuales están fijos).

Finalmente, se midió la velocidad de las partículas capturadas como función de la amplitud de modulación de fase producida por la vibración de la bocina (figura 4.11). La velocidad óptima de las partículas se alcanzó cuando la amplitud de modulación de fase es $\phi_0 \approx 2\pi$ rad. Esta condición garantiza un movimiento constante de las partículas, puesto que tienden siempre a permanecer situadas en una posición de equilibrio estable. Se encontró que la máxima velocidad como función de la modulación de fase es independiente del tamaño de la partícula y siempre tiene un valor aproximado de $\phi_{\max} \approx 2\pi$ rad.

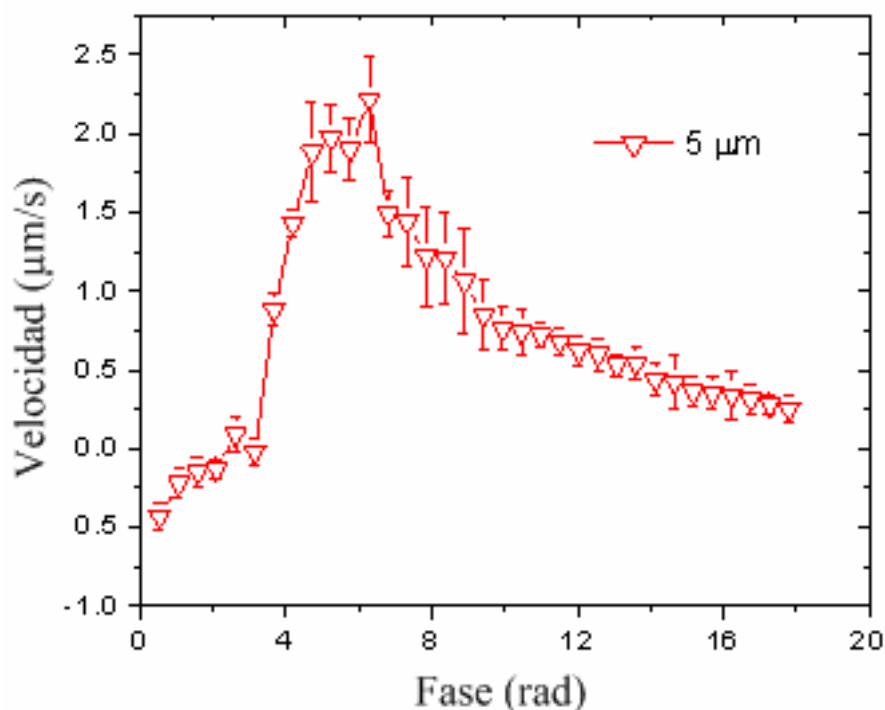


Figura 4.11. Velocidad promedio de partículas atrapadas como función de la amplitud de la modulación de fase para partículas de 5 µm de diámetro. El valor óptimo es obtenido cuando $\phi_0 \approx 2\pi$ rad.

4.3.5 Algunas aplicaciones con muestras orgánicas

Potenciales aplicaciones de esta técnica de separación a biología y medicina parecen prometedoras ya que puede discriminar células vivientes sin artefactos como etiquetas, rótulos o tintes [120, 121] que ayudan a visualizar el desplazamiento de las partículas. Se espera que estas nuevas posibilidades tengan un impacto positivo en diagnósticos clínicos. Por ejemplo, el tamiz óptico puede ser una opción barata para el recuento sanguíneo (número de células por unidad de volumen). Las células blancas representan una fracción de solo $\approx 0.1\%$ del total de las componentes sanguíneas y por lo tanto resulta difícil de separar en las muestras de escala de microlitro [122].

En la figura 4.12 se muestran dos casos de selección de muestras orgánicas. (a)-(c) muestra la separación por medio del separador óptico de leucocitos (neutrófilos, el par de objetos más grandes) y eritrocitos (objetos restantes de menor tamaño). En este caso el periodo espacial fue puesto a $L_x \approx 22 \mu\text{m}$ (fijos: $P \approx 200 \text{ mW}$, $\Omega = 0.8 \text{ Hz}$ y $\phi_0 \approx 2\pi$) que es del orden del tamaño estimado de los leucocitos (tres veces más grandes que los eritrocitos).

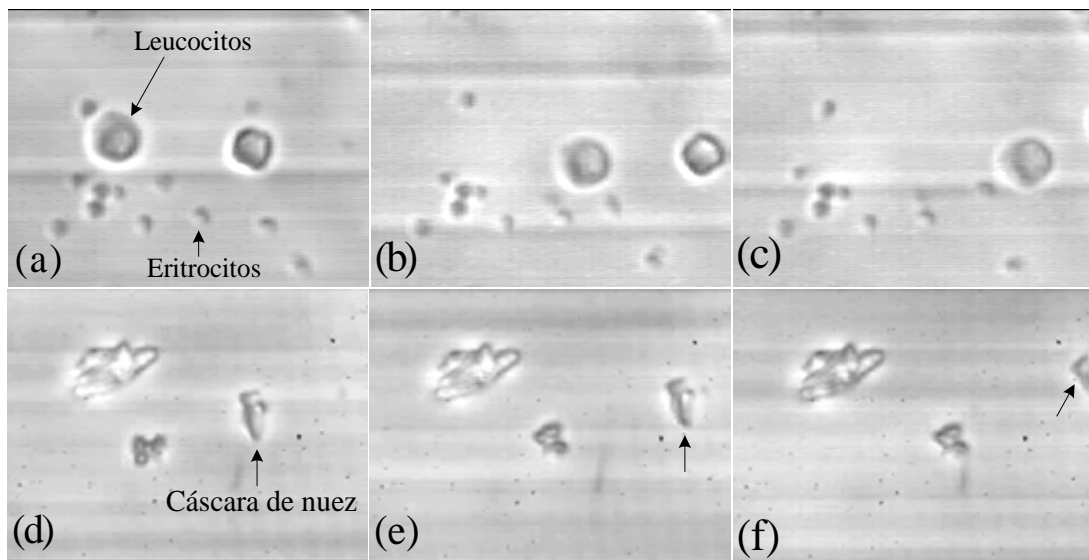


Figura 4.12. Separación de muestra orgánicas. (a)-(c) muestra la división de células blancas y rojas de sangre. (a) muestra la mezcla original con dos glóbulos blancos (objetos más grandes); (b)-(c) el neutrófilo es desplazado a la derecha de la imagen. (d)-(f) ilustra la separación de cáscaras de nuez de diferentes formas y tamaños. (d) muestra la toma inicial; (e)-(f) indica el arrastre a la derecha de los dos fragmentos más pequeños de la muestra.

Aunque la separación es demostrada con luz láser azul debe ser más eficaz en la región infrarroja cercana ya que no es invasiva en muestras biológicas, es decir, la radiación infrarroja prácticamente no es absorbida por la materia biológica (las células son transparentes a esta luz) y por lo tanto no le causa daño óptico considerable por calentamiento, sin embargo, si puede alterar el funcionamiento de los especímenes que se pretende investigar [15, 17].

En la secuencia de imágenes (d)-(f) se presenta un caso adicional de separación. La muestra consiste de cáscaras de nuez de formas irregulares, como se ve en (a). Es evidente que debido a las asimetrías y opacidad, la respuesta a la luz (láser azul) es débil, sin embargo, también se observó el movimiento de los objetos más pequeños hacia la derecha. El periodo se ajustó a $L_x \approx 8 \mu\text{m}$ (fijos: $P \approx 130 \text{ mW}$, $\Omega = 1 \text{ Hz}$ y $\phi_0 \approx 2\pi$) que es del orden del tamaño promedio de tales fragmentos.

4.4 Conclusiones

Se ha presentado una nueva técnica de separación óptica de partículas (orgánicas e inorgánicas) en mezclas polidispersas que pueden contener más de tres tipos de partículas, que además no involucra el uso de complejos sistemas microfluidicos (medio estático) como la mayoría de las técnicas actualmente disponibles. Consiste básicamente en separar partículas (ya sea por tamaño o por índice de refracción) de una mezcla mediante un patrón de interferencia vibratorio. Las partículas pueden ser confinadas (solo bidimensionalmente ya que no hay captura en la dirección y , es decir, a lo largo de las franjas) y sostenidas en las regiones brillantes del conjunto de franjas y subsecuentemente segregadas a una posición designada por barrido de las franjas a través del campo de visión. El movimiento de las franjas corresponde a vibración periódica pero asimétrica (diente de sierra).

El capítulo se inició con una breve introducción acerca de tema de separación de partículas. Posteriormente se estudió la física de la técnica expuesta usando un modelo de trazo de rayos basado en el régimen de rayos ópticos. Se obtuvieron gráficas de las fuerzas y potenciales para las diferentes partículas distribuidas en un patrón de franjas paralelas, lo que permitió ubicar los puntos de equilibrio donde las partículas son capturadas. Una serie

de imágenes experimentales indicando la separación por tamaño y por índice, permiten complementar la teoría. Adicionalmente, la técnica prueba su eficacia con células y fragmentos de cáscara de nuez. Finalmente se ofrecen curvas de optimización de los principales parámetros.

Una cuidadosa calibración del dispositivo propuesto que determine los parámetros de control óptimos (periodo de las franjas, frecuencia de vibración, amplitud de modulación de fase y potencia incidente) para diferentes tamaños y formas de otros tipos de materiales, permitiría el análisis de mezclas complejas desconocidas, en analogía con los procesos usuales de dielectroforesis o cromatografía óptica. Este método podría extenderse para permitir realizar separación usando redes ópticas bidimensionales con periodos independientes en la direcciones x y y , de tal manera que los objetos alargados de diferentes longitudes puedan seleccionarse con precisión. Además, es importante señalar que funciona a niveles de concentración altos y bajos. La técnica puede implementarse sin mucho esfuerzo en un laboratorio que cuente con el equipo necesario para un arreglo estándar de microscópica óptica.

Aunque las pinzas ópticas pueden ser consideradas como una tecnología madura, la separación óptica, por otro lado, es un desarrollo relativamente nuevo y hay todavía mucho potencial para la mejora. Como se mencionó al inicio, un gran número de técnicas para separar células y demás están ya disponibles, pero todas, al igual que la aquí expuesta, tienen sus ventajas y desventajas.

Capítulo 5

Conclusiones generales y perspectivas

En esta tesis se presenta una perspectiva general de las técnicas de captura y manipulación óptica de micropartículas dieléctricas no absorbentes. Adicionalmente, se presentan y discuten dos nuevos mecanismos de micromanipulación óptica; uno que plantea la incorporación de esferas huecas como microespejos, y otro que permite separar muestras polidispersas de partículas mediante el uso de un patrón dinámico de franjas de interferencia.

Se inició con una revisión de los antecedentes relativos al fenómeno de la presión de radiación que más tarde condujeron al desarrollo de las pinzas ópticas, resaltando principalmente los trabajos de Ashkin. Como ya se mencionó a lo largo de este trabajo, esta es una técnica altamente eficaz de micromanipulación que utiliza la fuerza de radiación de un haz láser fuertemente focalizado para alterar el estado mecánico de objetos microscópicos, los cuales responden a gradientes de intensidad del campo eléctrico de la luz. La técnica se caracteriza principalmente por alcanzar la captura con un haz con perfil de intensidad Gaussiano restringido al foco de un objetivo de microscopio de alta apertura numérica. En el capítulo 2 se analizaron los principios físicos que las rigen, lo que permitió reforzar las observaciones experimentales. El régimen de rayos ópticos que explica la captura con base en los fundamentos de la óptica geométrica fue inicialmente explicado, antecedido por una reseña de los modelos actuales que en conjunto forman un marco que constituye una herramienta útil (pero no completa ya que ningún modelo da resultados cuantitativos perfectos en cualquier caso de captura óptica) para explicar procesos de confinamiento. Posteriormente se obtuvieron expresiones para las fuerzas sobre una partícula inmersa en un campo electromagnético con distribución de intensidad Gaussiana

bajo un tratamiento ondulatorio (régimen de Rayleigh). Finalmente se proporcionó una breve descripción del modelo más general de confinamiento, llamado teoría generalizada de Lorenz-Mie, que consiste en calcular las fuerzas mediante un riguroso análisis de la teoría de esparsamiento para la interacción entre micropartículas y campos, ambos con características arbitrarias. De este desarrollo se transparentan parámetros de los que depende la captura, como el tamaño y forma del objeto, potencia y estructura del haz, índice de refracción relativo entre la partícula y el medio, etc.

Por otro lado, aunque el análisis teórico de fuerzas fue enfocado principalmente al caso de microesferas isotrópicas sólidas con índice de refracción relativo >1 , sin dejar de mencionar el caso contrario, el capítulo 3 está dedicado al estudio teórico-experimental de partículas huecas a veces catalogadas como de bajo índice de refracción al considerar que poseen un espesor de cáscara despreciable. Se destacan en este tratamiento dos efectos no observados antes. En primer lugar, la captura bidimensional en un arreglo genérico de pinzas ópticas con un típico haz Gaussiano. La captura se atribuye a una fuerza de esparsamiento o presión de radiación dirigida hacia abajo y radialmente hacia adentro que mantiene confinada la esfera contra el fondo de la muestra, siempre y cuando el foco esté por debajo de ellas. Este aporte podría sumarse a la simplificación de los mecanismos de captura de las esferas huecas. No se descarta, sin embargo, que en este proceso de confinamiento el espesor de la cáscara también juegue un papel importante, ya que experimentalmente se lograron atrapar las esferas huecas que reposaban en el fondo de la celda.

El otro efecto analizado consiste en la desviación direccional del haz por la superficie de la esfera hueca cuando el foco de la trampa se proyecta fuera del eje que pasa por el centro de la esfera, alcanzando la interfaz vidrio-aire (considerando que la esfera contiene aire en su interior). Dicho efecto se debe a la reflexión total interna en tal interfaz. Por tal razón hemos propuesto a las esferas huecas como auténticos microespejos en pinzas ópticas [110], en donde la longitud del haz reflejado por el microespejo es de varios órdenes de magnitud respecto al tamaño de la esfera. Su intensidad es tal que puede empujar objetos arbitrarios de su entorno con relativa facilidad (venciendo la fuerza debido a la viscosidad del medio en que se encuentran suspendidos tales objetos) debido al efecto de la presión de radiación entendida mediante la fuerza de esparsamiento. Tal observación podríamos compararla con

el guiado óptico, descrito en la introducción. También se encontró que el haz incidente puede ser desviado en un amplio intervalo de valores del ángulo polar respecto al eje vertical y puede barrer el rango entero de ángulos azimutales en el plano horizontal, por el solo control del punto de incidencia sobre la superficie de la esfera. Este efecto fue observado en microesferas huecas con diámetros externos en el rango de 5 a 20 μm , pero con diámetros internos desconocidos, y con la luz de las varias longitudes de onda de un láser sintonizable de ion de argón. Se observó además que para un amplio rango de espesores se aprecia el faro pero su intensidad cambia dependiendo del espesor. Incluso se alcanzó una doble reflexión por dos esferas huecas colocadas una cerca de la otra, permitiendo apreciar de manera contundente el efecto de la presión de radiación. Los experimentos tuvieron buen acuerdo con la teoría. El análisis teórico presentado fue realizado para una onda plana enfocada.

En resumen, se han introducido a las esferas huecas como una variedad de microespejos ópticos simples y económicos capaces de dirigir localmente la luz casi en cualquier dirección dentro de una muestra plana, los cuales podrían constituir un nuevo elemento del llamado kit de herramientas ópticas. La posibilidad de manipular estas partículas con un simple haz Gaussiano resulta ser una ventaja importante en el contexto de la aplicación que se plantea. Como ejemplos de posibles aplicaciones de tales resultados podemos mencionar la remoción de residuos en microcirugías ópticas y la operación independiente de elementos de micromaquinaria óptica con diferentes orientaciones en el espacio. También es posible que estos microespejos pudieran ser usados en la fabricación de microresonadores.

Por otra parte, después del análisis de los procesos de captura para una única partícula, en el capítulo 4 desviamos la atención a un arreglo interferométrico de captura bidimensional transversal colectiva para esferas sólidas (de alto índice de refracción) de sílice y látex. Mediante un objetivo de microscopio de mediana apertura numérica (40X con $NA = 0.65$) se logró focalizar un patrón de interferencia de franjas paralelas permitiendo atrapar múltiples partículas. De acuerdo a los resultados teóricos y experimentales, dependiendo de su tamaño, hay partículas que se atrapan ya sea en las regiones (brillantes) de máxima intensidad por efecto de la fuerza de gradiente transversal, o bien, en las regiones (oscuras) de mínima intensidad o nodos. Más aún, la magnitud de la fuerza óptica depende de la relación de tamaño entre la partícula y la periodicidad del patrón de franjas, y

no es monotónica creciente con el tamaño de la partícula, como sucede en el caso simple de un haz Gaussiano. Si las partículas son muy grandes respecto al periodo de las franjas, tenderán a centrarse en los mínimos de intensidad ya que, en suma, recibirán mayor cantidad de luz en esa posición. Sin embargo, la fuerza óptica neta disminuye para una partícula cuya posición de equilibrio es en las franjas oscuras, y es mayor para partículas más pequeñas que logran atraparse en los máximos de intensidad. Entonces, mediante el control del período de las franjas se llevó a cabo la captura por tamaño en una muestra polidispersa, y la subsecuente separación del resto a través de una modulación temporal de las franjas que permitía el desplazamiento de las esferas confinadas en dichas franjas. En este caso, las posiciones de equilibrio estable donde las partículas pueden atraparse están asociadas a los puntos donde la fuerza es cero y las curvas tienen pendiente negativa, puesto que cualquier desplazamiento de la esfera da lugar a una fuerza restauradora en la dirección opuesta. Estos puntos también corresponden al potencial mínimo de los pozos generados por franjas individuales. El análisis teórico de fuerzas y potenciales se obtiene de un modelo de rayos ópticos [104]. Las observaciones teóricas y experimentales muestran que hay un periodo óptimo para cada tamaño de partícula que maximiza la fuerza, que es la base del mecanismo de selección por tamaño. Se observó además un acuerdo cualitativamente bueno entre la magnitud relativa de la fuerza para las partículas en función del periodo de las franjas; sin embargo, hay una discrepancia entre los resultados teóricos y los medidos en el experimento. Mientras la teoría predice un período de aproximadamente tres medios del diámetro de la partícula, el experimento muestra un período óptimo del doble del diámetro de la partícula. Esto puede explicarse en el hecho de que la teoría se desarrolló en un régimen de estado estacionario mientras el experimento representa un régimen dinámico. Un mejor modelo debe considerar el movimiento de partículas en un líquido viscoso sujeto a una fuerza externa.

La segregación también se logró para partículas del mismo tamaño pero con diferentes índices de refracción. En este caso, esferas de látex (de mayor índice) fueron separadas de las de sílice (de menor índice) mediante un cuidadoso control de la potencia láser. Las curvas teóricas para la fuerza óptica son muy similares en forma pero escaladas, puesto que la magnitud de la fuerza depende del índice de refracción relativo de la partícula respecto al

medio (agua, $n = 1.33$), siendo más pequeña para partículas con índice de refracción relativo más bajo [61].

Se observaron eficiencias de separación muy cercanas al 100%, no obstante, algunas partículas no son arrastradas debido a que se adhieren al vidrio de la muestra por las fuerzas de Van der Waals o porque tienen una geometría irregular lo que hace que respondan de manera diferente al patrón de luz. En principio, más de tres tipos de partículas pueden separarse de la mezcla inicial enviándolas hacia diferentes direcciones girando la orientación de las franjas o bien rotando la muestra. Este método puramente óptico resulta de suma importancia puesto que a diferencia de los métodos anteriores en que se valen de una corriente de microfluidos para iniciar el movimiento de las esferas, aquí mantenemos la muestra estática.

También se ofrecen curvas de optimización de los principales parámetros involucrados en la técnica separación. Finalmente, se incluyen algunas pruebas de la eficacia de la técnica de separación con células humanas y fragmentos de cáscara de nuez.

Trabajo futuro

Aunque la descripción de los resultados presentados intenta ser completa, hay sin embargo algunas consideraciones de interés que podrían ser investigadas. A modo de recapitulación, podemos mencionar algunos temas de posibles estudios como temas de trabajo futuro.

a) Un análisis más detallado de la posición de las esferas huecas con respecto al plano focal durante la captura con el haz Gaussiano como se mostró en el capítulo 3. Asimismo, es importante realizar un modelo teórico que tome en cuenta el espesor finito del cascarón de las esferas, ya que se observó que juega un papel importante.

b) Un análisis más general de fuerzas basado en la teoría generalizada de Lorenz-Mie para el caso de la separación óptica. Esto permitiría comparar con los cálculos presentados y reforzar el análisis aquí presentado.

c) Estimación experimental de las fuerzas bidimensionales de captura en los diversos casos de la separación y compararlos con los resultados teóricos.

d) Calibrar en detalle la técnica interferométrica para poder separar eficientemente esferas con diámetros más cercanos que los casos tratados aquí, y lo mismo para el caso de índices de refracción más aproximados. Teóricamente si es posible realizar la separación mientras exista alguna diferencia en alguno de ambos parámetros pero experimentalmente podría ser complicado llevarlo a cabo puesto que en esa situación todas las partículas tienden a moverse.

(e) El análisis numérico presentado para describir la separación fue hecho para un régimen de estado estacionario, pero si se considera la dependencia temporal del patrón de interferencia se obtendrían resultados más cercanos a las observaciones experimentales. Para esto sería necesario plantear una ecuación de movimiento más general que incluya las fuerzas hidrodinámicas, tal que su solución numérica describa de manera más real la dinámica de las partículas en la técnica de separación interferométrica.

Trabajos derivados de la tesis

Publicaciones

- [1] **I. Ricárdez-Vargas**, M. D. Iturbe-Castillo, R. Ramos-García, K. Volke-Sepúlveda, and V. Ruíz-Cortés, Hollow spheres as individual movable micromirrors in optical tweezers, *Opt. Express* **13**, 968-976 (2005).
- [2] **I. Ricárdez-Vargas**, P. Rodríguez-Montero, R. Ramos-García, K. Volke-Sepúlveda, Modulated optical sieve for sorting of polydisperse microparticles, *Appl. Phys. Lett.* **88**, 121116 (2006).
- [3] K. Volke Sepúlveda, **I. Ricárdez Vargas**, R. Ramos García, Pinzas ópticas: las delicadas manos de la luz, *Ciencia (revista de la AMC)* **58** (4), 18-25 (2007).

Artículos en extenso en memorias de congresos

- (1) **I. Ricárdez-Vargas**, M. D. Iturbe Castillo, R. Ramos-García, K., Volke-Sepúlveda, V. Ruiz-Cortés, Normal light streak effect in optically trapped hollow microspheres, *Proceedings of SPIE v. 5514, Optical Trapping and Micromanipulation*, 109-116 (2004), Denver Colorado.
- (2) **I. Ricárdez Vargas**, K. Volke Sepúlveda, R. Ramos García, Cazando micropartículas: Pinzas ópticas, Quinto encuentro de investigación INAOE, 21-23 (2004).
- (3) **I. Ricárdez-Vargas**, K. Volke Sepúlveda, P. Rodríguez-Montero, R. Ramos García, Interferometric optical sieve for micro-particle segregation, *Frontiers in Optics 2005*, FTuAA4, Tucson Arizona.
- (4) **I. Ricárdez Vargas**, K. Volke Sepúlveda, R. Ramos García, Separación interferométrica de micropartículas en pinzas ópticas, sexto encuentro de investigación INAOE, 57-58 (2005).

- (5) K. Volke-Sepúlveda, R. Ramos-García, **I. Ricárdez-Vargas**, Characterization of an interferometric optical sieve for particle sorting, Proceedings of SPIE v. 6326, Optical Trapping and Optical Micromanipulation III, 632616-1 (2006), San Diego California.
- (6) **I. Ricárdez Vargas**, K. Volke Sepúlveda, R. Ramos García, Manipulación de micropartículas usando pinzas ópticas, séptimo encuentro de investigación INAOE, 85-88 (2006).

Distinciones

- (1) Reconocimiento por obtener el **Primer lugar** en la sesión mural 3MA Óptica V del XLVI Congreso Nacional de Física por el trabajo: “Manipulación de partículas microscópicas: Pinzas Ópticas”, **I. Ricardez Vargas**, R. Ramos García, M. D. Iturbe Castillo, K. Volke Sepúlveda, Octubre 2003, Mérida Yucatán.
- (2) **EDITORS'CHOICE: Highlights of the recent literatura: I. Ricárdez-Vargas**, P. Rodríguez-Montero, R. Ramos-García, K. Volke-Sepúlveda, Modulated optical sieve for sorting of polydisperse microparticles, Appl. Phys. Lett. **88**, 121116 (2006), **Science** **312** (5771), 163 (14 April 2006).

Summary in English

New micromanipulation techniques in optical tweezers

This work deals with a frontier topic in modern optics: optical tweezers. Due to the great relevance of this field in basic sciences as much as in applications; it is the purpose in this thesis to present a complete panorama of the involved physical principles that are complemented with experimental results. New aspects that had not been observed before are also analyzed, offering in this way several contributions to the current knowledge of the field. Next a summary of the thesis is presented following a similar structure to that of the thesis.

1 Concept of optical tweezers

It has been 21 years since Ashkin *et al.* [13] published their seminal paper “Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles”. The technique is now referred to as ‘optical tweezers’ or ‘optical trapping’. In essence, optical tweezers rely upon the extremely high gradient in the electric field produced near the beam waist of a tightly focused laser beam, which creates a force sufficiently strong to trap and manipulate micron-sized dielectric particles in three dimensions. The physics behind the optical tweezers uses the concept of force due to radiation pressure, as we shall see next.

Optical tweezers can be used with atoms, molecules and particles ranging in size from nanometers to tens of microns. For this reason, it is difficult to developed a simple and general theory explaining how optical tweezers work. Different theories are used to explain the phenomenon at a different length scale relative to the wavelength of the light.

For particles much larger than the wavelength of the laser (rays optics regime), conservation of momentum and geometric optics are used to explain optical tweezers. For particles much smaller than the wavelength of the laser (Rayleigh regime), a simplified theory based on electromagnetism can be employed. Finally, a rigorous electromagnetic approach called generalized Lorenz–Mie theory [28, 32, 35] allows to treat particles having an arbitrary size with respect to the used wavelength. The basic principles of these models are presented in a formal way in chapter 2.

In this thesis, we only used rays optics regime to explain the origins of the confinement forces since it is of easier application and its results are in a good qualitative agreement with the experimental observations. In this framework, diffraction effects are neglected. The forces on the particle can be decomposed into a “*gradient force*” in the direction of highest light intensity, and a “*scattering force*” directed along the propagation direction. Optical tweezers, however, owe their trapping ability to the gradient force, as we describe next. When a light ray, traveling in a medium with refractive index n_m , impinges on a dielectric sphere with refractive index n_p , the light ray is refracted according to Snell’s law. The light ray is again refracted when it leaves the particle. The momentum of the light ray is changed because of refraction by the particle. This change in momentum is transferred to the particle due to momentum conservation. A light beam is described as a collection of light rays, each one weighted according to the local intensity. The contributions of all rays are integrated to calculate the total optical force on a particle. When a particle has a refractive index higher than that of the surrounding medium ($n_p/n_m > 1$) and is located in an intensity gradient, the gradient force on the particle is in the direction of the highest intensity. The particle can be confined (trapped) in all directions within a three-dimensional intensity gradient (figure 2.3). In general, this force repels particles from the regions of the highest intensity when its refraction index is lower than that of the surrounding medium (figure 2.4). The scattering force on the object is caused by backscattering of photons due to the reflection. It acts in the direction of the light beam, tending to push the particle away from the focus (figure 2.2).

Since their invention, light force, in the form of single beam gradient force traps, has been used to trap and manipulate dielectric spheres [13], viruses, bacteria, living cells [18,

17], organelles [111-113], colloidal gold particles [114], and even DNA molecules [115]. Such traps, or optical tweezers, have allowed measurements of elasticity [115], force, torsion, position, surface structure, and the interaction between particles. Over the last few years, the technique has become mature, and optical tweezers are an important tool in fields like biology, physical chemistry, biophysics and physics [116-117].

Nowadays, after two decades of the birth of optical tweezers, a complete set of optical micro-tools has been implemented, for instance, optical spanners and rotators [23, 65, 66], scissors [22, 67], stretchers [68], sorters [69, 70], among others, which have found a very wide spectrum of applications. In similar way, many variations of the original setup of optical tweezers have been developed depending on each purpose. On the other hand, other kinds of light beams have been used for diverse applications. As an example of such new versions we can mention the interferometric optical tweezers, which have been developed for multiple capture besides that they offer an additional manipulation degree by means of dynamical control of the interference patterns [24]. There are countless novel applications of optical tweezers in a wide variety of interdisciplinary fields and their use grows quickly. The recent progresses allow new and exciting applications.

2 New effects of hollow spheres in optical tweezers

It has been mentioned already that until now, the low-index spheres (i.e. refractive index lower than that of the surrounding medium) had not been trapped with a Gaussian beam, because they are repelled from high intensity regions (figure 2.4). Instead, vortex beams like Laguerre-Gaussian [11, 51, 55] and high order Bessel beams [53], and interference patterns of fringes [52], have demonstrated its ability to trap them efficiently. A typical example of low-index particles are the air bubbles in a fluid, which are usually compared in optical trapping studies with hollow glass spheres, provided the glass shell is thin compared with the particle's radius. In this thesis it is shown for the first time to our knowledge, that two-dimensional optical manipulation of low index particles is possible with a nominal Gaussian beam. The trapping takes place when the particle is located above the beam waist and centered with respect to the propagation axis (figures 3.3-3.4). We shall discuss the physical mechanism that allows optical trapping in this case, which is mainly related with scattering

forces and can be compared with the two-dimensional trapping of metallic reflective particles [62] and highly absorptive particles [63].

More interestingly, when the hollow microspheres are illuminated slightly off center by the focused Gaussian beam, we observed another new effect. Namely, the incoming beam can be deflected approximately 90° respect to its initial direction. This normal streak effect has been observed in hollow micro-spheres whose external diameters range from 5 to 20 μm , but unknown internal diameters, and with light of several wavelengths: 457, 476, 488, 496, and 514 nm, from an Argon ion laser. The generated normal beam is highly directional and intense enough to be used to push other particles or objects around the microsphere or to remove particles stuck to the sphere [figure 3.10]. Moreover, we found that the illuminating beam can be deflected into a wide range of directions by only controlling the point of incidence on the sphere's surface [figure 3.11]. This effect is due to total internal reflection (TIR), so it is clearly different and much simpler in terms of applications than the lighthouse effect discussed in reference [76]. This new effect allowed us to introduce the use of hollow glass micro-spheres with finite shell thickness as individual and movable dielectric micro-mirrors. The operation principle, as it was already said, is based on TIR that arises when the spheres are illuminated slightly off center by a focused Gaussian beam. We even achieved a double reflection by two hollow spheres placed close to each other [figure 3.12].

A geometrical optics analysis of a light ray impinging on a hollow sphere with finite shell thickness is presented. The main parameters are introduced there and the specific conditions to generate the normal streak effect are discussed. A numerical modeling for the incident and scattered electromagnetic field in the vicinity of a hollow particle with finite shell thickness is also presented. Although the simulation is carried out for a two-dimensional situation, the rotation symmetry of the sphere allow us to extend our results to the three-dimensional case. The theoretical analysis good agreement with the experimental results, which are presented in chapter 3.

3 Interferometric optical sieve for particle sorting

Recently, one of the topics of more interest in the field of the optical tweezers is the

collective separation of particles due to their potential applications, mainly in biology. It consists on the capture and optical separation of particles with the same characteristics from multiple mixture. This topic is treated in chapter 4 starting beginning with a brief introduction that includes some of the applications.

A technique of multiple confinement is the interferometric one [24], in which the particles are trapped in two-dimensions within bright zones of an interference pattern (parallels fringes) [24]. Here we took advantage of this fact for developing an all-optical interference technique that permits sorting of a polydisperse sample of microparticles in the absence of any microfluidic flow (figure 4.6). A detailed investigation of this latter system is presented, which consists of an interference pattern of fringes vibrating with a saw-tooth time modulation that can sort colloidal samples based on their size and their refractive index. The size selectivity arises from the spatial fringe periodicity whereas selection based on refractive index is controlled by the beam power. Experimental and theoretical data supporting the method are also shown. This device can reach high throughput and efficiency that compares with the best currently available, in addition to be able to easily sort mixtures with more than two components. An important advantage of this method compared with previous devices is the possibility of collecting particles of different characteristics in different chambers by rotating either the direction of the fringes relative to the sample or the sample holder, overcoming in this way the difficulties associated to the organization of increasingly complex mixtures and collection of the sorted sample.

A careful calibration of the proposed device by identifying the frequency response for different type of materials, and the appropriate period of the fringes for different object sizes or shapes, would allow the analysis of unknown complex mixtures, in analogy with the usual processes of dielectrophoresis or chromatography, for example.

This method could be extended to allow shape sorting by using two-dimensional optical lattices with independent periods in the x and y directions, in such way that elongated objects of different lengths could be accurately selected. In addition, it is important to point out that it works at high and low concentration levels.

4 Future work

Although the content of the present work attempted to be complete, there are however some considerations of interest that could be investigated. Some points of possible studies for future work are the following:

(a) A detailed analysis of the position of the hollow spheres with respect to the focal plane during the capture with the Gaussian beam, as it was shown in chapter 3. Likewise, it is important to carry out a theoretical model that takes into account the finite thickness of the shell of the spheres, since it was observed that it plays an important role.

(b) A more general analysis of forces based on the generalized Lorenz-Mie regime for the case of the optical sorting separation. This would allow a comparison with the presented calculations and to reinforce the analysis here presented.

(c) An estimate of the two-dimensional trapping forces in the different cases of the experimental sorting of particles and a comparison with numerical results.

(d) A detailed calibration of the interferometric technique to be able to separate spheres efficiently with diameters closer to each other than the cases treated here, and the same thing for the case of more approximate refraction indexes. Theoretically, it might be possible to carry out the separation while some difference exists in one or both parameters, but experimentally, this could be complicated to carry out since in that situation all the particles tend to move.

(e) The numeric analysis presented to describe the sorting was made for a steady-state regime, but if the temporal dynamics of the interference pattern is considered, we could obtain better results to the experimental observations. For this, it would be necessary to outline a more general motion equation including the hydrodynamic forces, such that its numerical solution could describe the dynamics of the particles in a more realistic way in the optic separation technique

Lista de figuras

1.1 Evolución de las pinzas ópticas. Las flechas indican la dirección de incidencia del haz (o de los haces, según sea el caso) de captura en la partícula	12
2.1 Partícula en cada uno de los tres regímenes. En la aproximación de rayos ópticos la partícula es más grande que la longitud de onda ($D \gg \lambda$) y en el régimen de Rayleigh tenemos el caso opuesto ($D \ll \lambda$). En el régimen generalizado de Lorenz-Mie (RGLM) ambos parámetros, el diámetro y la longitud de onda son semejantes ($D \sim \lambda$)	17
2.2 (a) Trazo de rayos (flechas rojas) mostrando una descripción cualitativa del origen de la fuerza de gradiente lateral (flecha verde) de un haz láser Gaussiano distribuido no uniformemente. En (b) se observa la fuerza de esparcimiento debido a la reflexión (flechas azules) que tiende a empujar la partícula en la dirección de propagación del haz. La figura ha sido adaptada de Ashkin [37, 13]. (c) Representación de la situación experimental de las fuerzas actuantes (por la forma que tiene el haz enfocado, Ashkin le llamó “botella óptica” [1])	19
2.3 (a) Trazo de rayos (flechas rojas) mostrando la fuerza de gradiente axial que atrae la esfera hacia el foco del haz de captura (flecha verde). La fuerza de esparcimiento debida a los rayos reflejados también es analizada (flechas azules). Figura adaptada de Ashkin [37, 13]. (b) Representación de las fuerzas en pinzas ópticas	21
2.4 Esquema de trazo de rayos indicando que la fuerza resultante debida a la refracción expulsa a la esfera del centro del haz, contrariamente al caso de esferas sólidas	22
2.5 Diagrama de rayos de la trampa de un solo haz. El foco está sobre el eje z , \hat{n} es un vector normal a la superficie, r es el radio de apertura. El único rayo de potencia P da origen a rayos de potencia RP , TP , T^2P , TRP , etc. Se indican las direcciones de las fuerzas de gradiente $F_g \hat{u}_\perp$ y de esparcimiento $F_s \hat{u}_\parallel$ descritas anteriormente	23

2.6 Partícula en haz láser divergente para analizar las fuerzas en una partícula en el régimen de Rayleigh	26
3.1 Diagrama esquemático de un arreglo estándar de pinzas ópticas mostrando sus elementos básicos	40
3.2 Captura y manipulación en tres dimensiones de una esfera de sílice de 5 micras suspendida en agua. (a) Se observa la imagen transversal del haz proyectada en el plano de la muestra, (b) el haz se ha dirigido hacia una partícula atrapándola y en (c) se puede ver como ésta se ha desplazado lateralmente a otro sitio respecto a sus vecinas. En las imágenes (d)-(f) la partícula señalada con la flecha es la que está atrapada y el resto de las microesferas se desenfocan, lo cual indica que la partícula atrapada se está desplazando en la dirección vertical	42
3.3 Secuencia de imágenes mostrando el confinamiento óptico en 2D de una microesfera hueca. (a) El haz de luz moviéndose hacia la esfera hueca. (b)-(d) La partícula es atrapada en 2D y desplazada de su posición original	44
3.4 Trazo de rayos mostrando la manera en que la partícula hueca es capturada por encima del plano focal y es debido a la fuerza de esparcimiento que la empuja contra el fondo de la muestra. En principio podría estar en cualquier punto sobre el foco. Se muestran algunas reflexiones en la primera interfaz (flechas rojas), y algunos rayos que alcanzan RTI en la segunda interfaz. El trazo de rayos se hizo con el programa ZEMAX	45
3.5 Parámetros geométricos involucrados en la descripción de una esfera hueca iluminada por un solo rayo de luz	49
3.6 Diagrama esquemático mostrando el sistema de esparcimiento con todos sus elementos. Consiste de una esfera hueca de un medio caracterizado por una constante dieléctrica ϵ_{II} (región II), inmersa en medio con constante dieléctrica ϵ_I (región I). El hueco interior de la esfera (región III) cuenta con ϵ_{III}	53
3.7 Resultados para simulaciones numéricas del rayo de luz generado por reflexión en la interfase vidrio-aire de una esfera hueca en agua. (a)-(d) Módulo cuadrado del campo eléctrico como una función de la posición de incidencia del haz de luz para un espesor de cáscara fijo $t = 3 \mu\text{m}$ y radio externo de $R_2 = 10 \mu\text{m}$	55

3.8	Reflectividad como función del ángulo de incidencia para una esfera hueca (aire en su interior, $n = 1$) de vidrio ($n = 1.5$) inmersa en agua ($n = 1.33$), que está siendo iluminada por luz enfocada de $\lambda = 514$ nm y con una $NA = 1.2$. Se observa un máximo para incidencia rasante, pero cae exponencialmente al aumentar el ángulo	57
3.9	Resultados para simulaciones numéricas del rayo de luz generado por reflexión en la interfase vidrio-aire de una esfera hueca en agua. (a)-(d) Módulo cuadrado del campo eléctrico como una función del espesor de cáscara para una posición de incidencia fija, definida por $\theta = 45^\circ$ y radio externo de $R_2 = 10$ μm	58
3.10	Generación de un faro de luz reflejado por una esfera hueca iluminada fuera de eje. (a) Haz de luz moviéndose hacia la esfera. (b) Generación del efecto de faro de luz. (c)-(d) El haz reflejado es dirigido contra una partícula vecina que es empujada (indicada con la flecha) debido a la presión de radiación a lo largo de una distancia de varias decenas de micras	59
3.11	Deflexión de un haz incidente en la superficie interna de una esfera hueca de 15 μm a diferentes ángulos azimutales	60
3.12	Secuencia de cuadros mostrando dos reflexiones consecutivas obtenidas con un par de esferas huecas cercanas y el movimiento de una partícula vecina debido a la presión de radiación ejercida por la segunda reflexión. Los tamaños de las esferas que generaron la primera y segunda reflexión fueron de 20 y 15 μm , respectivamente. En (e) vemos una representación de ambas reflexiones	61
4.1	Representación geométrica de la esfera desplazada del origen del sistema cartesiano, que esta siendo iluminada por un patrón de interferencia de periodo L_x modulado por un perfil Gaussiano	68
4.2	Comparación de la fuerza óptica y potencial contra la distancia transversal x (micras) para partículas de dos radios diferentes: $R_1 = 1$ μm (curvas rojas punteadas) y $R_2 = 2.5$ μm (curvas sólidas azules), capturadas en una red óptica de periodo L_x (las curvas grises representan la distribución de intensidad). Filas: (A) $L_x = 1.5R_2$, (B) $L_x = 1.35R_2$ y (C) $L_x = 1.25R_2$. Columnas: (a) fuerza óptica, (b) potencial óptico y (c) distribuciones de intensidad mostrando las partículas en sus respectivas posiciones de equilibrio. Todas las curvas están	

normalizadas respecto al máximo valor (absoluto) obtenido para la fuerza y para el potencial	71
4.3 Fuerza óptica máxima (normalizada) como una función del periodo espacial de las franjas L_x para partículas con radio $R_1 = 1.0 \mu\text{m}$ (curva de trazos), $R_2 = 2.5 \mu\text{m}$ (curva sólida) y $R_3 = 3.0 \mu\text{m}$ (curva de puntos y trazos)	72
4.4 Influencia de la magnitud del perfil de modulación Gaussiana. Fuerza óptica (curvas sólidas azules) y potencial óptico (curvas rojas punteadas) para una partícula de radio $R = 2.5 \mu\text{m}$ cuando (a) $w=150 \mu\text{m}$ y (b) $w=50\mu\text{m}$. En ambos casos el periodo espacial de las franjas es $L_x = 1.5R$ y el perfil de intensidad es graficado con una curva gris como una referencia	73
4.5 Comparación de (a) la fuerza óptica y (b) el potencial óptico para partículas con el mismo radio $R = 2.5 \mu\text{m}$ y diferentes índices de refracción $n_1 = 1.59$ (curvas sólidas azules) y $n_1 = 1.45$ (curvas rojas punteadas). En ambos casos el periodo espacial de las franjas es $L_x = 2R$ y las curvas grises representan el perfil de intensidad para referencia	74
4.6 Arreglo interferométrico de pinzas ópticas. El espejo M montado en un altavoz es controlado con una modulación temporal asimétrica (diente de sierra) para generar un patrón de interferencia vibrante. El periodo de las franjas es cambiado por el desplazamiento del cubo divisor de haz DH2. La vista superior de la muestra polidispersa indica que con un contenedor adecuado sería posible separar las partículas en diferentes micro-compartimentos	76
4.7 Segregación de diferentes muestras coloidales por tamaño. En (a) se observa la mezcla original que consiste de partículas de dos diferentes tamaños: 1 y 5 μm de diámetro. (b)-(c) muestra el desplazamiento de las partículas de 1 μm hacia la izquierda. (d)-(f) muestra la separación de partículas de 2 μm hacia la derecha dejando fijas a las de 1 μm . (g)-(i) muestra la separación de tres tipos de partículas: esferas de sílice de 1 μm de diámetro y partículas de látex de 2 y 5 μm . En (g) todas las partículas están juntas a la vez; (h) las partículas de 5 μm son removidas hacia la derecha; (i) las partículas de 2 μm son desplazadas en la dirección opuesta	78
4.8 Separación de diferentes mezclas por índice de refracción. (a)-(c) muestra la segregación de una mezcla consistente de micropartículas de látex (se miran más oscuras) y sílice de 1	

μm . (a) es una vista de la distribución inicial y (b)-(c) ilustra el desplazamiento de esferas de látex hacia la derecha. Los cuadros (d)-(f) muestran un caso análogo de separación para esferas de $5 \mu\text{m}$, pero a diferencia de que en este las esferas de látex (más oscuras) son llevadas hacia la izquierda. (g)-(i) es un caso que muestra separación por tamaño y por índice en una mezcla triple: partículas de sílice y látex (se miran ligeramente más oscuras que las de sílice) de $1 \mu\text{m}$, y partículas de látex de $5 \mu\text{m}$. En (g) se ve el estado inicial, en (h) se han trasladado las de látex de $1 \mu\text{m}$ hacia la derecha y en (i) se han removido las de $5 \mu\text{m}$ hacia la izquierda 79

4.9 (a) Curvas experimentales para la velocidad de las partículas como función del periodo espacial de las franjas para esferas de látex de 2 y $5 \mu\text{m}$ de diámetro (potencia fija $P = 130 \text{ mW}$, frecuencia $\Omega = 1 \text{ Hz}$ y desplazamiento de fase $\phi_0 \sim 2\pi$). (b) Velocidad como función de la frecuencia de vibración del espejo M para las mismas partículas (con periodo óptimo para cada partícula $L_x \sim 4 \mu\text{m}$ y $L_x \sim 10 \mu\text{m}$, respectivamente y potencia fija $P = 130 \text{ mW}$) 82

4.10 Gráfica de velocidad como función de la potencia para diferentes diámetros de partículas. En todos se los casos se observa que la velocidad incrementa con la potencia, pero también parece haber un valor de saturación para el cual la fuerza de captura es alta pero la velocidad se ve acotada debido a la dependencia de esta con los otros parámetros 83

4.11 Velocidad promedio de partículas atrapadas como función de la amplitud de la modulación de fase para partículas de $5 \mu\text{m}$ de diámetro. El valor óptimo es obtenido cuando $\phi_0 \approx 2\pi \text{ rad}$ 84

4.12 Separación de muestra orgánicas. (a)-(c) muestra la división de células blancas y rojas de sangre. (a) muestra la mezcla original con dos glóbulos blancos (objetos más grandes); (b)-(c) el neutrófilo es desplazado a la derecha de la imagen. (d)-(f) ilustra la separación de cáscaras de nuez de diferentes formas y tamaños. (d) muestra la toma inicial; (e)-(f) indica el arrastre a la derecha de los dos fragmentos más pequeños de la muestra 85

Bibliografía

- [1] A. Ashkin, The pressure of laser light, *Sci. Am.* **226**, 63-71 (1972).
- [2] Hecht, Eugene, *Óptica*, 3a Edición, (Addison-Wesley Latinoamericana, Madrid, 2000).
- [3] V. Lembessis, P. N. Lebedev and light radiation pressure, *Europhysics News* **31** (7) (2001).
- [4] P. N. Lebedev, Experimental examination of light pressure, *Ann. der Physik* **6**, 433 (1901).
- [5] H. Sheffers, and Stark, *J. Phys. Z* **35**, 625 (1935).
- [6] D. McGloin, Optical tweezers, 20 years on, *Phil. Trans. R. Soc. A* **364**, 3521-337 (2006).
- [7] A. Ashkin, History of trapping and manipulation of small-neutral particle, atoms, and molecules, *IEEE Journal on selected topics in quantum electronics* **6** (6), 841-856 (2000).
- [8] A. Ashkin, Aceleration and trapping of particles by radiation pressure, *Phys. Rev. Lett.* **24** (4), 156-159 (1970).
- [9] A. Ashkin, Laser Manipulation of Atoms, *Nature* **330**, 608-609 (1987).
- [10] A. Ashkin, J. M. Dziedzic, Optical levitation by radiation pressure. *App. Phys. Lett.* **19** (8), 283-285 (1971).
- [11] A. Ashkin and J. M. Dziedzic, Stability of Optical Levitation by Radiation Pressure, *Appl. Phys. Lett.* **24** (12), 586-588 (1974).
- [12] A. Ashkin, Trapping of atoms by resonance radiation pressure, *Phys. Rev. Lett.* **40** (12), 729-732 (1978).
- [13] A. Ashkin, J. M. Dziedzic, J. Bjorkholm, and S. Chu, Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles, *Opt. Lett.* **11**, 288-290 (1986).
- [14] K. Volke-Sepúlveda, *Light beams with angular momentum and applications in optical tweezers*, tesis de doctorado, (INAOE, Puebla, México, 2003).
- [15] K. Svoboda and S. M. Block, Biological applications of optical forces, *Annu. Rev. Biophys. and Biomolec. Structure* **23**, 247-285 (1994).

- [16] A. Ashkin, Optical trapping and manipulation of neutral particles using lasers, Proc. Natl. Acad. Sci. USA **94** (10), 4853-4860 (1997).
- [17] A. Ashkin, J. M. Dziedzic, T. Yamane, Optical trapping and manipulation of single cells using infrared laser beams, Nature **330**, 769-771 (1987).
- [18] A. Ashkin, J. M. Dziedzic, Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria, Science **235**, 1517-1520 (1987).
- [19] A. Ashkin, J. M. Dziedzic, Optical trapping and manipulation of single living cells using infrared-laser beams, Ber. Bunsenges. Phys. Chem. **93** (3), 254-260 (1989).
- [20] S. M. Block, Making light work with optical tweezers, Nature **360**, 493-95 (1992).
- [21] S. C. Kuo, M. P. Sheetz, Optical tweezers in cell biology, Trends Cell Biol. **2**, 116-118 (1992).
- [22] M. W. Berns, Laser Scissors and Tweezers, Sci. Am. **278**, 62-67 (1998).
- [23] N. B. Simpson, K. Dholakia, L. Allen, and M. J. Padgett, Mechanical equivalence of spin and orbital angular momentum of light: an optical spanner, Opt. Lett. **22** (1), 52-54 (1997).
- [24] A. E. Chiou, W. Wang, G. J. Sonek, J. Hong and M. W. Berns, Interferometric optical tweezers, Opt. Commun. **133**, 7-10 (1997).
- [25] K. C. Neuman, and S. M. Block, Optical trapping (review article), Rev. Sci. Instrum. **75** (9), 2787-2809 (2004).
- [26] M. J. Lang, and S. M. Block, Resource Letter: LBOT-1: Laser-based optical tweezers, Am. J. Phys. **71** (3), 201-215 (2003).
- [27] T. A. Nieminen, H. Rubinsztein-Dunlop, N.R. Heckenberg, Calculation and optical measurement of laser trapping forces on non-spherical particles, Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer **70**, 627-637 (2001).
- [28] K. F. Ren, G. Gréha, G. Gouesbet, Radiation pressure forces exerted on a particle arbitrarily located in a Gaussian beam by using the generalized Lorenz-Mie theory, and associated resonance effects, Opt. Commun. **108**, 343-354 (1994).
- [29] N. Malagnino, G. Pesce, A. Sasso, E. Arimondo, Measurements of trapping efficiency and stiffness in optical tweezers, Opt. Commun. **214**, 15-24 (2002).
- [30] H. C. van de Hulst, *Light scattering by small particles*, (Dover, New York, 1981).

- [31] Y. K. Nahmias and D. J. Odde, Analysis of Radiation Forces in Laser Trapping and Laser-Guided Direct Writing Applications, *IEEE Journal of Quantum Electronics* **38** (2), 1-11 (2002).
- [32] G. Gouesbet, B. Maheu, and G. Gréhan, Light scattering from a sphere arbitrarily located in a Gaussian beam, using a Bromwich formulation, *JOSA A* **5** (9), 1427-1443 (1988).
- [33] M. Kerker, *the scattering of light and other electromagnetic radiation*, (Academic Press, New York, 1969).
- [34] A. Ashkin and J. M. Dziedzic, Observation of optical resonances of dielectrics spheres by light scattering, *Appl. Opt.* **20**, 1803-1814 (1981).
- [35] G. Gouesbet, Validity of the localized approximation for arbitrary shaped beams in the generalized Lorenz–Mie theory for spheres, *JOSA A* **16** (7), 1641-1650 (1999).
- [36] H. Felgner, O. Muller, and M. Schliwa, Calibration of light forces in optical tweezers, *Appl. Opt.* **34** (6), 977-982 (1995).
- [37] A. Ashkin, Forces of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regime, *Biophysical Journal* **61**, 569-582 (1992).
- [38] M. Born and E. Wolf, *Principles of Optics*, 6th ed. (reprinted with corrections), (Pergamon Press Inc., New York, 1986).
- [39] B. A. Brown, and P. R. Brown, Optical tweezers: theory and current applications, *American Laboratory Articles*, November issue, 13-20 (2001).
- [40] P. N. Prasad, *Introduction to biophotonics*, (John Wiley and Sons, New Jersey, 2003).
- [41] J. E. Molloy, and M. J. Padgett, Light, actions: optical tweezers, *Contemporary physics* **43** (4), 241-258 (2002).
- [42] G. Roosen, and C. Imbert, Optical levitation by means of two horizontal laser beams - a theoretical and experimental study, *Phys. Lett.* **59A**, 6-8 (1976).
- [43] Y. Harada and T. Asakura, Radiation forces on a dielectric sphere in the Rayleigh scattering regime, *Opt. Commun.* **124**, 529-541 (1996).
- [44] J. P. Gordon, Radiation forces and momenta in dielectric media, *Phys. Rev. A* **8** (1), 14-21 (1973).
- [45] J. A. Stratton, *Electromagnetic theory*, (McGraw-Hill, New York, 1941).

- [46] G. Grehan, F. Guilloteau, and G. Gouesbet, Optical levitation experiments for generalized Lorenz–Mie Theory Validation, *Particle & Particle Syst. Characteriz.* **7**, 248–249 (1990).
- [47] G. Martinot-Lagarde, B. Pouligny, M. I. Angelova, G. Grehan, and G. Gouesbet, Trapping and levitation of a dielectric sphere with off-centered Gaussian beams: II. GLMT analysis, *Pure & Appl. Opt.: J. Eur. Opt. Soc. Pt. A* **4**, 571–585 (1995).
- [48] Z. Ding, G. Lai, T. Sakakibara, and S. Shinohara, Determination of the spring constant of an optical trap by external sinusoidal excitation and lock-in detection, *J. Appl. Phys.* **88** (2), 737-741 (2000).
- [49] M. C. Williams, *Optical Tweezers: Measuring Piconewton Forces*, Department of Physics and Centre of Interdisciplinary Research on Complex Systems, Northeastern University.
- [50] F. Gittes, and C. F. Schmidt, Interference model for back-focal-plane displacement detection in optical tweezers, *Opt. Lett.* **23**, 7-9 (1998).
- [51] K. T. Gahagan and G. A. Swartzlander, Jr., Optical vortex trapping of particles, *Opt. Lett.* **21**, 827-829 (1996).
- [52] M. P. MacDonald, L. Paterson, W. Sibbett, and K. Dholakia, Trapping and manipulation of low-index particles in a two-dimensional interferometric optical trap, *Opt. Lett.* **26**, 863-865 (2001).
- [53] V. Garcés-Chávez, K. Volke-Sepúlveda, S. Chávez-Cerda, W. Sibbett, and K. Dholakia, Orbital angular momentum transfer to an optically trapped low-index particle, *Phys. Rev. A* **66**, 063402 (2002).
- [54] P. J. Rodrigo, V. R. Daria, and J. Gluckstad, Real-time interactive optical micromanipulation of a mixture of high- and low-index particles, *Optics Express* **12**, 1417-1425 (2004).
- [55] K. T. Gahagan and G. A. Swartzlander, Jr., Trapping of low-index microparticles in an optical vortex, *Optical J. Opt. Soc. Am. B* **15**, 524-534 (1998).
- [56] K. T. Gahagan and G. A. Swartzlander, Jr., Simultaneous trapping of low-index and high-index microparticles observed with an optical-vortex trap, *J. Opt. Soc. Am. B* **16**, 533-537 (1999).

- [57] L. Paterson, Novel micromanipulation techniques in optical tweezers, thesis for the degree of Doctor of Philosophy, (University of St Andrews, Scotland, 2003).
- [58] D. N. Moothoo, J. Arlt, R. S. Conroy, F. Akerboom, A. Voit, and K. Dholakia, Beth's experiments using optical tweezers, *Am. J. Phys.* **69** (3), 271-276 (2001).
- [59] R. Omori, T. Kobayashi, and A. Suzuki, Observation of a single-beam gradient-force optical trap for dielectric particles in air, *Opt. Lett.* **22** (11), 816-818 (1997).
- [60] T. Wohland, A. Rosin, and E. H. K. Stelzer, Theoretical determination of the influence of the polarization on forces exerted by optical tweezers, *Optik* **102** (4), 181-190 (1996).
- [61] K. Volke-Sepúlveda, S. Chávez-Cerda, V. Garcés-Chávez and K. Dholakia, Three-dimensional Optical forces and transfer of orbital angular momentum from multi-ringed light beams to spherical microparticles, *J. Opt. Soc. Am. B* **21**, 1749-1757 (2004).
- [62] S. Sato, Y. Harada, and Y. Waseda, Optical trapping of microscopic metal particles, *Opt. Lett.* **19**, 1807-1809 (1994).
- [63] M. E. Friese, T. A. Nieminen, N. R. Heckenberg, and H. Rubinsztein-Dunlop, Optical torque controlled by elliptical polarization, *Opt. Lett.* **23**, 1-3 (1998).
- [64] B. L. Lu, Y. Q. Li, H. Ni, and Y. Z. Wang, Laser-induced hybrid trap for microbubbles, *Appl. Phys. B* **71**, 801-805 (2000).
- [65] M. E. J. Friese, T. A. Nieminen, N. R. Heckenberg, and H. Rubinsztein-Dunlop, Optical alignment and spinning of laser-trapped microscopic particles, *Nature* **394**, 348-350 (1998).
- [66] M. P. MacDonald, L. Paterson, K. Volke-Sepúlveda, J. Arlt, W. Sibbett, and K. Dholakia, Creation and manipulation of three-dimensional optically trapped structures, *Science* **296**, 1101-1103 (2002).
- [67] K. O. Greulich, *Micromanipulation by Light in Biology and Medicine*, (Birkhäuser Verlag, Germany, 1999).
- [68] J. Guck, R. Ananthakrishnan, H. Mahmood, T. J. Moon, C. C. Cunningham, and J. Käs, The Optical Stretcher: A Novel Laser Tool to Micromanipulate Cells, *Biophys. J.* **81**, 767-784 (2001).
- [69] M. P. MacDonald, G. C. Spalding, and K. Dholakia, Microfluidic sorting in an optical lattice, *Nature* **426**, 421-424 (2003).

- [70] K. Ladavac, K. Kasza, and D. G. Grier, Sorting by periodic potential energy landscapes: Optical fractionation, *Phys. Rev. E* **70**: Art. No. 010901 (2004).
- [71] M. E. J. Friese, H. Rubinsztein-Dunlop, J. Gold, P. Hagberg, and D. Hanstorp, Optically driven micromachine elements, *Appl. Phys. Lett.* **78**, 547-549 (2001).
- [72] P. Galajda and P. Ormos, Complex micromachines produced and driven by light, *Appl. Phys. Lett.* **78**, 249-251 (2001).
- [73] 1-chip DLP™ projection system (Texas Instruments Incorporated, 2005)
http://www.dlp.com/dlp_technology/dlp_technology_overview.asp#1
- [74] S. Coyle, G. V. Prakash, J. J. Baumberg, M. Abdelsalem, and P. N. Barlett, Spherical micromirrors from templated self-assembly: Polarization rotation on the micron scale, *Appl. Phys. Lett.* **83**, 767-769 (2003).
- [75] Z. Moktadir, G.V. Prakash, E. Koukharenko, C. Gollasch, D. M. Bagnall, M. Kraft, E. Hinds, and J. J. Baumberg, Fabrication of micromirrors with pyramidal shape using anisotropic etching of silicon with KOH, *Proceeding CLEO/IQEC 2004*, vol. 2, pp. 2, San Francisco, California, USA, 2004.
- [76] Z. Cheng, P. M. Chaikin, and T. G. Mason, Light Streak Tracking of Optically Trapped Thin Microdisks, *Phys. Rev. Lett.* **89** (10), 108303-1 (2002).
- [77] A. A. Maradudin, T. Michel, A. R. McGurn, and E. R. Méndez, Enhanced Backscattering of Light from a Random Grating, *Ann. Phys.* **203**, 255-307 (1990).
- [78] A. Mendoza-Suárez and E. R. Méndez, Light scattering by a reentrant fractal surface, *Appl. Opt.* **36**, 3521-3531 (1997).
- [79] J. D. Jackson, *Classical Electrodynamics*, Third Edition, (Wiley, New York, 1998).
- [80] M. Born and E. Wolf, *Principles of Optics*, 7th (expanded) edition (Cambridge University Press, UK, 1999).
- [81] J. G. Alvarez, J. L. Lasso, L. Blasco, R. C. Nunez, S. Heyner, P. P. Caballero, and B. T. Storey, Centrifugation of human spermatozoa induces sublethal damage; separation of human spermatozoa from seminal plasma by a dextran swim-up procedure without centrifugation extends their motile lifetime, *Human Reproduction* **8**, 1087-1092 (1993).
- [82] <http://www.citometriadeflujo.com/>

- [83] X.-B. Wang, Y. Huang, P. R. C. Gascoyne, and F. F. Becker, Dielectrophoretic manipulation of particles, *IEEE Transactions on Industry Applications* **33** (3), 660-669 (1997).
- [84] H. A. Pohl, *Dielectrophoresis*, (Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1978).
- [85] P. Y. Chiou, A. T. Ohta and M. C. Wu, Massively parallel manipulation of single cells and microparticles using optical images, *Nature* **436**, 370-372 (2005).
- [86] K. Dholakia, Optoelectronic tweezers, *Nature materials* **4**, 579-580 (August 2005).
- [87] T. Imasaka, Y. Kawabata, T. Kaneta, and Y. Ishidzu, Optical Chromatography, *Analytical Chem.* **67**, 1763-1765 (1995).
- [88] T. Imasaka, Optical chromatography. A new tool for separation of particles, *ANALYSIS MAGAZINE* **26** (5), 53-55 (1998).
- [89] S. J. Hart, A. Terray, K. L. Kuhn, J. Arnold, and T. A. Leski, Optical Chromatography of Biological Particles, *American Laboratory*, 14-17 (December 2004).
- [90] S. J. Hart and A. V. Terray, Refractive-index-driven separation of colloidal polymer particles using optical chromatography, *Appl. Phys. Lett.* **83**, 5316-5318 (2003).
- [91] A. Terray, J. Arnold, S. J. Hart, Enhanced optical chromatography in a PDMS microfluidic system, *Optics Express* **13**, 10406-10415 (2005).
- [92] K. Ladavac, K. Kasza and D. G. Grier, Sorting mesoscopic objects with periodic potential landscapes: optical fractionation, *Phys. Rev. E* **70**, 010901(R) (2004).
- [93] G. Milne, D. Rhodes, M. MacDonald, and K. Dholakia, Fractionation of polydisperse colloid with acousto-optically generated potential energy landscapes, *Opt. Lett.* **32** (9) 1144-1146 (2007).
- [94] Y. Roichman, V. Wong, and D. G. Grier, Colloidal transport through optical tweezer arrays, *Phys. Rev. E* **75** (1), 011407 (2007).
- [95] J. Glückstad, Sorting particles with light, *Nature Materials* **3** (1), 9-10 (2004).
- [96] B. A. Koss and D. G. Grier, Optical Peristalsis, *Appl. Phys. Lett.* **82**, 3985-3987 (2003).
- [97] S.-H. Lee, K. Ladavac, M. Polin, and D. G. Grier, Observation of flux reversal in a symmetric optical thermal ratchet, *Phys. Rev. Lett.* **94**, 110601 (2005).
- [98] S.-H. Lee and D. G. Grier, Flux reversal in a two-state symmetric optical thermal ratchet, *Phys. Rev. E* **71**, 060102(R) (2005).

- [99] S.-H. Lee and D. G. Grier, One-dimensional optical thermal ratchets, *J. Phys.: Condens. Matt.* **17**, S3685–S3695 (2006).
- [100] T. Čižmár, M. Šiler, M. Šerý, and P. Zemánek, V. Garcés-Chávez, and K. Dholakia, Optical sorting and detection of submicrometer objects in a motional standing wave, *Phys. Rev. B* **74**, 035105 (2006).
- [101] A. Jesacher, S. Fuhpater, S. Bernet, et al., Size selective trapping with optical “cogwheel” tweezers, *Optics Express* **12**, 4129-4135 (2004).
- [102] P. Zemánek, V. Karásek and A. Sasso, Optical forces acting on Rayleigh particle placed into interference field, *Opt. Commun.* **240**, 401-415 (2004).
- [103] A. N. Rubinov, Physical grounds for biological effect of laser radiation, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **36**, 2317-2330 (2003).
- [104] I. Ricárdez-Vargas, P. Rodríguez-Montero, R. Ramos-García, K. Volke-Sepúlveda, Modulated optical sieve for sorting of polydisperse microparticles, *Appl. Phys. Lett.* **88**, 121116 (2006).
- [105] R. Gussgard, T. Lindmo, and I. Brevik, Calculation of the trapping force in a strongly focused laser beam, *J. Opt. Soc. Am. B* **9**, 1922–1930 (1992).
- [106] S. Nemoto and H. Togo, Axial force acting on a dielectric sphere in a focused laser beam, *Appl. Opt.* **37**, 6386-6394 (1998).
- [107] P. Zemánek, A. Jonáš, and M. Liška, Simplified description of optical forces acting on a nanoparticle in the Gaussian standing wave, *J. Opt. Soc. Am. A* **19** (5), 1025-1034 (2002).
- [108] K. Sasaki, M. Koshioka, H. Misawa, N. Kitamura and H. Masuhara, Pattern formation and flow control of fine particles by laser-scanning micromanipulation, *Opt. Lett.* **16** (19), 1463-1465 (1991).
- [109] C. Mio, T. Gong, A. Terray, and D. M. Marr, Design of a scanning laser optical trap for multiparticle manipulation, *Rev. Sci. Instrum.* **71**, 2196-2200 (2000).
- [110] I. Ricárdez-Vargas, M. D. Iturbe-Castillo, R. Ramos-García, K. Volke-Sepúlveda, and V. Ruíz-Cortés, Hollow spheres as individual movable micromirrors in optical tweezers, *Opt. Express* **13**, 968-976 (2005).
- [111] S. M. Block, D. F. Blair, and H. C. Berg, Compliance of bacterial flagella measured using optical tweezers, *Nature (London)* **338**, 514–518 (1989).

- [112] M. W. Berns, W. H. Wright, B. J. Tramberger, G. A. Profeta, J. J. Andrews, and R. J. Walters, Use of a laser-induced force trap to study chromosome movement on the mitotic spindle, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**, 4539–4543 (1989).
- [113] A. Ashkin and J. M. Dziedzic, Internal cell manipulation using infrared laser traps, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**, 7914–7918 (1989).
- [114] K. Svoboda and S. M. Block, Optical Trapping of Metallic Rayleigh Particles, *Opt. Lett.* **19** (13), 930–932 (1994).
- [115] M. D. Wang, H. Yin, R. Landick, J. Gelles, and S. M. Block, Stretching DNA with Optical Tweezers, *Biophysical Journal* **72**, 1335-1346 (1997).
- [116] K. Dholakia, G. Spalding, and M. MacDonald, Optical tweezers: the next generation, *Phys. World* **15**, 31 (2002).
- [117] D. G. Grier, A revolution in optical manipulation, *Nature* **424**, 810 (2003).
- [118] D. Bonessi, K. Bonin and T. Walker, Optical forces on particles of arbitrary shape and size, *J. Opt. A: Pure Appl. Opt.* **9**, S228–S234 (2007).
- [119] F. Gittes, C. Schmidt, Signals and Noise in Micromechanical Measurements, *Methods in Cell Biology* (M. P. Sheetz, ed.), vol. **55** (*Laser Tweezers in Cell Biology*), ch. 8, 129-156, Academic Press (1998).
- [120] N. A. M. Verhaegh and A. van Blaaderen, Dispersions of rhodamine-Labeled silica spheres synthesis, characterization, and fluorescence confocal scanning laser microscopy, *Langmuir* **10**, 1427 (1994).
- [121] M. Lankford, C. Z. Behm, J. Yeh, A. L. Klibanov, P. Robinson and J. R Lindner, Effect of microbubble ligation to cells on ultrasound signal enhancement. implications for targeted imaging, *Invest. Radiol.* **41**, 721–728 (2006).
- [122] M. P. MacDonald, S. Neale, L. Paterson, A. Richies, K. Dholakia, G. C. Spalding, Cell cytometry with a light touch: Sorting microscopic matter with an optical lattice, *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 200-205 (2004).