



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA FÍSICA

MANIPULACIÓN Y CAPTURA ÓPTICA DE
MICROORGANISMOS DE AGUA ESTANCADA EN LA CIUDAD
DE RIOBAMBA

Trabajo de Integración Curricular Tipo:

Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

FÍSICA

AUTORES:

ADRIANA MISHHELL PARRA CAJIAS

VIVIANA PATRICIA VARGAS SÁNCHEZ

DIRECTORA: BIOF. MARÍA FERNANDA HEREDIA MOYANO, MSC

Riobamba – Ecuador

2023

©2023, Adriana Mishell Parra Cajias y Viviana Patricia Vargas Sánchez

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

Nosotras, Adriana Mishell Parra Cajias y Viviana Patricia Vargas Sánchez, declaramos que el presente trabajo de titulación es de nuestra autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados. Como autores asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 22 de mayo del 2023



Adriana Mishell Parra Cajias

0604541813



Viviana Patricia Vargas Sánchez

0604709030

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA FÍSICA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; tipo: Proyecto Integrador, **MANIPULACIÓN Y CAPTURA ÓPTICA DE MICROORGANISMOS EN AGUA ESTANCADA EN LA CIUDAD DE RIOBAMBA**, realizado por las señoritas: **ADRIANA MISHHELL PARRA CAJIAS y VIVIANA PATRICIA VARGAS SÁNCHEZ**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Msc. Myrian Cecilia Borja Saavedra PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		22-05-2023
Biof. María Fernanda Heredia Moyano DIRECTOR(A) DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		22-05-2023
Dr. Jiri Svozilik ASESOR(A) DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR		22-05-2023

DEDICATORIA

Este presente proyecto de investigación está dedicado a mis padres José Vargas y Blanca Sánchez quienes me han enseñado a no rendirme nunca y seguir sin importar los obstáculos que se presente en mi vida, han sido el apoyo durante todo este tiempo, gracias por la paciencia y el esfuerzo que ha hecho para culminar mis estudios ya que sin su ayuda esto no sería posible, de igual manera va dedicado a mis hermanos Juan, Gloria, Irene y Belén quienes han sido mi ejemplo y mis mejores consejeros.

Viviana

El presente proyecto de investigación está dedicado a mis maravillosos padres, quienes con tanto amor y entrega han sido incondicionales durante toda mi vida, me han regalado una eterna alegría en cada uno de mis días, con sus dulces palabras y risas compartidas el mundo parecía menos hostil, gracias por enseñarme a no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre, así también a mis extraordinarios hermanos mayores David y Antonio quienes han sido mis más grandes amigos, gracias por cuidarme, yo creo en ustedes así como ustedes en mí, no podría vivir sin nuestros pequeños momentos de disgusto, pues son los que esconden más amor. Y finalmente a mis queridos abuelitos quienes siempre esperaron este momento y quisieron lo mejor para mí.

Adriana

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xv
RESUMEN.....	xviii
ABSTRACT.....	xix
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	5
1.1. Planteamiento del problema.....	5
1.2. Objetivos.....	5
1.3. Justificación.....	6

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	7
2.1. Fenómenos ópticos.....	7
2.1.1. Teoría de rayos.....	7
2.1.1.1. Efectos ópticos.....	8
2.1.1.2. Óptica Gaussiana.....	10
2.1.2. Teoría ondulatoria.....	12
2.1.2.1. Ondas armónicas.....	12
2.1.2.2. Fenómenos básicos.....	13
2.1.3. Propagación.....	16
2.1.3.1. Parámetros de dispersión.....	17
2.1.3.2. Campos en la materia.....	19
2.1.3.3. Dieléctricos.....	19
2.1.3.4. Dispersión Rayleigh.....	21
2.2. Haz Gaussiano.....	22
2.2.1.1. Ecuación de onda paraxial.....	23
2.2.2. Modo principal Gaussiano.....	24
2.2.3. Propiedades.....	28

2.2.3.1. <i>Intensidad</i>	28
2.2.3.2. <i>Potencia</i>	29
2.2.4. Parámetros	29
2.2.4.1. <i>Radio de Curvatura</i>	30
2.2.4.2. <i>Ancho del haz</i>	30
2.2.4.3. <i>Factor de fase</i>	31
2.3. Láser	31
2.3.1. Funcionamiento	32
2.3.1.1. <i>Amplificación óptica y retroalimentación</i>	34
2.3.2. Modos de cavidad longitudinal	35
2.3.2.1. <i>Modo Longitudinal o axial</i>	36
2.3.2.2. <i>Modo Transversal</i>	37
2.3.3. Propiedades del rayo láser	38
2.4. Pinzas ópticas	40
2.4.1. <i>Arreglo experimental de pinzas ópticas</i>	40
2.4.2. <i>Montaje experimental</i>	41
2.5. Regímenes de atrapamiento óptico	44
2.5.1. Régimen de la óptica geométrica	45
2.5.1.1. <i>Fuerza de Scattering</i>	47
2.5.1.2. <i>Fuerza de gradiente</i>	49
2.5.2. Régimen de Rayleigh	50
2.5.2.1. <i>Fuerzas de radiación</i>	51
2.6. Microorganismos de agua	53
2.6.1. Reinos	54
2.6.2. Grupos	55
2.6.2.1. <i>Bacterias</i>	55
2.6.2.2. <i>Hongos</i>	56
2.6.2.3. <i>Virus</i>	57
2.6.2.4. <i>Parásitos</i>	58

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO	60
3.1. Elementos de la pinza óptica	60
3.1.1. <i>Microscopio Invertido</i>	60
3.1.2. <i>Iluminación y láser</i>	63
3.1.3. <i>Plataforma ajustable</i>	65

3.1.4.	<i>Elementos y piezas adicionales</i>	66
3.1.5.	<i>Kit de preparación de muestras</i>	67
3.2.	Montaje de la pinza óptica	68
3.2.1.	<i>Limpieza de elementos</i>	68
3.2.2.	<i>Arreglo experimental de la pinza óptica</i>	69
3.3.	Alineación del haz óptico	73
3.4.	Toma de muestras	74
3.5.	Preparación de espécimen	75
3.5.1.	<i>Micropartículas de dióxido de silicio</i>	75
3.5.2.	<i>Microorganismos de agua</i>	76
3.5.2.1.	<i>Muestra de Escherichia coli (cultivo)</i>	76
3.5.2.2.	<i>Muestra de Hongos (cultivo)</i>	77
3.5.2.3.	<i>Muestra de Protozoos</i>	78
3.5.3.	<i>Preparación general de espécimen (Enfoque gráfico)</i>	79
3.6.	Ajuste final	79

CAPÍTULO IV

4.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	85
4.1.	Captura óptica de micropartículas de sílica	85
4.1.1.	<i>Observación y medición individual</i>	86
4.1.1.1.	<i>Distancia Corta y estudio dinámico</i>	86
4.1.1.2.	<i>Distancia amplia</i>	87
4.1.2.	<i>Captura múltiple</i>	88
4.1.3.	<i>Manipulación XY</i>	90
4.2.	Manipulación óptica de organismos microscópicos	91
4.2.1.	<i>Organismos procariotas</i>	92
4.2.1.1.	<i>Escherichia coli</i>	92
4.2.2.	<i>Organismos eucariotas</i>	92
4.2.2.1.	<i>Hongos en agar</i>	94
4.2.2.2.	<i>Composición hongos-agua</i>	95
4.2.2.3.	<i>Protozoos</i>	96
4.3.	Radiación UV y microorganismos	98

CAPITULO V

CONCLUSIONES	100
--------------	-------	-----

RECOMENDACIONES	101
------------------------------	-----

GLOSARIO

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1: Organismos.....	55
Tabla 3-1: Microscopio Invertido.....	60
Tabla 3-2: Iluminación y láser	63
Tabla 3-3: Plataforma ajustable.....	65
Tabla 3-4: Elementos y piezas adicionales.....	66
Tabla 3-5: Kit de preparación de muestras.....	67
Tabla 3-6: Recolección de muestras de agua.....	74
Tabla 4-1: Desplazamiento y distancia de captura de microesfera.....	88

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 2-1:	Fenómeno de reflexión y refracción en una interfaz de dos medios.	8
Ilustración 2-2:	Fenómeno de reflexión interna total: (a) Rayo incidente partiendo del medio con mayor índice de refracción que emerge hacia el de menor, (b) Aumento gradual del ángulo y (c) Ángulo incidente igual al ángulo refractado.	9
Ilustración 2-3:	Rayo luminoso en una fibra óptica perfecta.	10
Ilustración 2-4:	Traslación de un rayo.	11
Ilustración 2-5:	Refracción de un rayo en una superficie esférica.	11
Ilustración 2-6:	Reflexión de un rayo en una superficie esférica.	12
Ilustración 2-7:	Ondas en fase.	14
Ilustración 2-8:	Fuentes auxiliares de Huygens-Fresnel en cada punto del frente de onda (a) y difracción de ondas por una pequeña abertura (b).	14
Ilustración 2-9:	Ondas de tipo planas incidentes en una abertura de ancho d se difractan y generan un patrón de intensidad en un monitor.	15
Ilustración 2-10:	Ángulo sólido diferencial.	17
Ilustración 2-11:	Onda incidente sobre un objeto dispersor.	19
Ilustración 2-12:	(a) dieléctrico formado por moléculas polares, sin campo eléctrico, (b) dieléctrico en presencia de campo eléctrico.	20
Ilustración 2-13:	Perlas de sílica.	21
Ilustración 2-14:	Dispersión dentro del régimen Rayleigh.	22
Ilustración 2-15:	Ilustración de un haz gaussiano y sus parámetros.	23
Ilustración 2-16:	Función gaussiana.	26
Ilustración 2-17:	Relación intensidad y ancho de cintura del haz.	29
Ilustración 2-18:	Parámetros del haz gaussiano.	30
Ilustración 2-19:	Estructura Básica de un sistema láser.	32
Ilustración 2-20:	(a) absorción, (b) emisión espontánea.	32
Ilustración 2-21:	Emisión estimulada.	33
Ilustración 2-22:	(a) Equilibrio térmico, (b) Inversión de población.	34
Ilustración 2-23:	Generación de haz.	34
Ilustración 2-24:	Función de forma de onda o línea.	35
Ilustración 2-25:	Dos modos longitudinales diferentes que funcionan simultáneamente en la cavidad.	36
Ilustración 2-26:	(a) Serie de modos longitudinales y (b) Restricción de modos longitudinales.	37
Ilustración 2-27:	Modos Transversales.	37

Ilustración 2-28:	Ilustración de modo <i>TEM00</i>	38
Ilustración 2-30:	(a) Coherencia temporal y espacial, (b) coherencia espacial (c) ejemplo de coherencia en un tiempo τ_0	39
Ilustración 2-30:	Difracción de onda.....	40
Ilustración 2-31:	Diseño experimental básico.....	41
Ilustración 2-32:	Pinza óptica.....	41
Ilustración 2-33:	Alineación del rayo láser para generar unas pinzas ópticas.....	43
Ilustración 2-34:	Regímenes de atrapamiento óptico.....	45
Ilustración 2-35:	Rayo incidente con potencia P que interactúa con una esfera formando un $\alpha = \theta$ con la normal.....	47
Ilustración 2-36:	Haz gaussiano interactuando con una esfera dieléctrica	51
Ilustración 2-37:	Tamaño de los seres vivos.....	54
Ilustración 2-38:	Imágenes obtenidas por microscopía electrónica de bacterias con forma de cocos (A), bacilos (B) y espirilos (C).....	55
Ilustración 2-39:	Hifas tubulares (fila-A) y levaduras (fila- B).....	57
Ilustración 2-40:	Virus del HIV (A), virus VSV (B) y un bacteriófagos (C).....	58
Ilustración 2-41:	Ciliados representativos bajo microscopio	59
Ilustración 3-1:	(a) asa y fosforera, (b) alcohol, porta y cubreobjetos.....	68
Ilustración 3-2:	(a) Montaje antiguo, (b) limpieza de filtros de paso de banda, (c) desmontaje	69
Ilustración 3-3:	Esquema del arreglo experimental de la pinza óptica.....	70
Ilustración 3-4:	Elementos del microscopio invertido.....	70
Ilustración 3-5:	Montaje de microscopio invertido	71
Ilustración 3-6:	Montaje de la cámara.....	72
Ilustración 3-7:	(a) Ubicación del láser, (b) calibración, (c) imagen obtenida con la muestra de las perlas de sílica.....	73
Ilustración 3-8:	(a) Láser Verde, (b) ubicación de láser, (c) imagen capturada.....	73
Ilustración 3-9:	Micropartículas depositadas en el cubreobjetos.....	76
Ilustración 3-10:	(a) Portaobjetos con muestra de <i>Escherichia coli</i> (b) Cultivo de <i>Escherichia coli</i>	77
Ilustración 3-11:	(a) Portaobjetos con muestra de Hongos (b) Cultivo de hongos.....	78
Ilustración 3-12:	(a) Portaobjetos con muestra de agua (b) Botella contenida por agua de depósito	79
Ilustración 3-13:	Preparación de espécimen.....	79
Ilustración 3-14:	Ingreso al sistema Thorcam.....	80
Ilustración 3-15:	Ventana en Vivo	81
Ilustración 3-16:	Configuración de fotogramas.....	81

Ilustración 3-17:	Configuración Cámara	82
Ilustración 3-18:	Configuración de Imagen	83
Ilustración 3-19:	Grafica Intensidad vs Número de pixel.....	83
Ilustración 4-1:	(a) enfoque inicial con dos micropartículas adheridas, (b) enfoque después de la limpieza.....	85
Ilustración 4-2:	(a) distancia entre el foco del haz y la partícula, (b) captura de la partícula.	87
Ilustración 4-3:	Captura de micropartículas en inmersión de agua: (a), sin láser; (b), distancia mayor de alcance de la trampa; (c), (d), (e), (f) secuencia de proceso de captura.....	88
Ilustración 4-4:	(a) Perlas sin interacción, (b) haz de luz ubicado en la parte superior izquierda, (c) acercamiento de microesferas, captura de: 1 (d), 2 (e), 3 (f), 5 (g), 6 (h), 12 (i) micropartículas.....	90
Ilustración 4-5:	Manipulación XY en: (a), (b), (c), (d), (e) y atrapamiento de 15 esfera en (f)	91
Ilustración 4-6:	(a) Bacteria vista en un acercamiento máximo con el objetivo, (b) colonia de Escherichia coli y manipulación.....	92
Ilustración 4-7:	Tamaño hongos (45 pix) , perlas de sílica (24 pix).....	94
Ilustración 4-8:	Hongos	94
Ilustración 4-9:	Hongos en presencia de láser	95
Ilustración 4-10:	Interacción láser hongos-microorganismos	95
Ilustración 4-11:	Interacción láser hongos-microorganismos, 2 s después	96
Ilustración 4-12:	Interacción láser hongos-microorganismos, 5 s después	96
Ilustración 4-13:	Manipulación con movimiento en dos direcciones determinadas (a) y (b) .	97
Ilustración 4-14:	Interacción láser – especie de protista 2, captura	97
Ilustración 4-15:	Microorganismo liberado.....	98
Ilustración 4-16:	Movimiento de microorganismos.....	99

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** ANÁLISIS QUÍMICO DE AGUA ESTANCADA
- ANEXO B:** VERIFICACIÓN DEL USO DEL LENTE
- ANEXO C:** ARREGLO EXPERIMENTAL
- ANEXO D:** CALIBRACIÓN DE LASER ROJO
- ANEXO E:** MEDICIÓN DE POTENCIA
- ANEXO F:** ANÁLISIS DE PARTÍCULAS
- ANEXO G:** MICROPARTÍCULAS DE SÍLICA
- ANEXO H:** INTERACCIÓN DEL LÁSER ULTRAVIOLETA Y LA MUESTRA
- ANEXO I:** *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
- ANEXO J:** MUESTRA DE HONGOS
- ANEXO K:** DEMOSTRACIÓN - SECCIÓN TRANSVERSAL DE DISPERSIÓN

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

E	Campo eléctrico
H	Campo magnético
NA	apertura numérica del objetivo
R	Reflectividad
T	Transmisividad
OT	pinza óptica
σ	sección transversal
U	energía absorbida
<i>p</i>	impulso
<i>p_o</i>	impulso transferido
<i>p_f</i>	impulso entregado
\hat{s}	onda plana
\parallel	perpendicular
\perp	paralelo
<i>I</i>	Intensidad
θ_t	Ángulo incidente
θ_r	Ángulo de refracción
<i>n</i>	índice de refracción
<i>c</i>	velocidad de la luz en el vacío
<i>v</i>	velocidad
<i>E_F</i>	energía transferida
<i>d</i>	tamaño de la partícula
λ	longitud de onda
λ_0	longitud de onda en el vacío
<i>k</i>	vector de onda
<i>P_r</i>	Potencia
<i>P_r⁺</i>	Potencia reducida
\hbar	constante de Planck
\hat{n}	normal
<i>F_r</i>	Fuerza de reflexión
\hat{u}	vector unitario
<i>F_{sc}</i>	Fuerza de dispersión
<i>F_g</i>	Fuerza de Scattering

Q	Factor de calidad
α	constante de polarizabilidad
ϵ_0	permitividad en el vacío
m	relación del índice de refracción
$w(z)$	cintura del rayo láser
S	vector de Poyting
f	Frecuencia
F_i^+	Fuerza de presión de radiación inducida
ρ	dirección transversal del haz
∇^2	Operador laplaciano
∇_t^2	Operador laplaciano transversal
C_m	velocidad de la luz en el medio
$E(\mathbf{r}, t)$	función de onda escalar
\Re	parte real
$E(r)$	Función fasor
$A(\mathbf{r})$	envolvente compleja
TEM₀₀	modo principal del haz gaussiano
$q(z)$	función compleja
z_0	distancia Rayleigh
$R(z)$	radio de curvatura
η	factor de fase o Gouy
w_0	mínimo valor de la cintura del haz
σ_s	densidad de carga superficial
σ_b	densidad de carga volumétrica
V	potencial eléctrico
P	polarización
BM	Movimiento browniano
OBJ	lente objetivo
L	lente
f	distancia focal
QDP	cuadrante
μm	micrómetro
s	segundo
m	metro
cm	centímetro
N	Newton

pN	pico newton
W	Watts
IR	Infrarrojo
CCD	dispositivo de carga acoplada
°C	grados centígrados
mm	milímetro
fps	frames por segundo
∅	diámetro
nm	nanómetros
mW	mili Watts
mA	miliamperios
μL	microlitros
g	gramos
TIFF	Tag Image File Format

RESUMEN

En Ecuador son escasos los estudios de microorganismos mediante sistemas físicos como la pinza óptica la cual utiliza la radiación, el laboratorio de óptica de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo cuenta con el instrumento cuya funcionalidad se desconoce, por lo tanto, el objetivo principal de este proyecto de investigación fue analizar y estudiar el efecto de radiación con la materia en un medio de inmersión basado en la técnica de óptica geométrica y física usando la pinza óptica (OT). La parte experimental se llevó a cabo con un objetivo de 63X acoplado al arreglo experimental de la OT, con un láser ubicado en el infrarrojo cercano ($\lambda = 650 \text{ nm}$), una vez calibrado el haz se midió la potencia de entrada y salida por el OBJ, se tomaron muestras de agua estancada de tres lugares de la ciudad, se hizo un análisis de calidad de agua para hacer el cultivo de *Escherichia coli* y Hongos, en la preparación de la muestra se usó agua destilada y perlas de sílica, la observación fue realizada a través de una cámara y el software Thorcam, los resultados obtenidos fueron la manipulación y captura individual y grupal de microesferas de sílica, *E. Coli* y Hongos, también se logró observar la presencia de distintos tipos de protozoos, se formó una trampa óptica con una potencia de 7 mW, cuya cintura del haz fue $0,24 \mu\text{m}$ y una intensidad de energía de $3,87 \times 10^{10} \text{ W/m}^2$. En conclusión, los microorganismos fueron estudiados, capturados y manipulados en un régimen óptico estable ($d \gg \lambda$), también se los caracterizó hallando su tamaño: $\emptyset 3,84 \mu\text{m}$ en los Hongos; $5,84 \mu\text{m}$ de largo y $1,28 \mu\text{m}$ de ancho para la *E. Coli*.

Palabras clave: <PINZA ÓPTICA>, <HAZ>, <TRAMPA ÓPTICA>, <RÉGIMEN MIE>, <MICROORGANISMOS>, <FUERZA DE ARRATRE>, <PRESIÓN DE RADIACIÓN>.

1314-DBRA-UPT-2023



ABSTRACT

In Ecuador there are few studies of microorganisms using physical systems such as the optical tweezers which use radiation, the optics laboratory of the Escuela Superior Politécnica de Chimborazo has the instrument whose functionality is unknown, therefore, the main objective of this research project was to analyse and study the effect of radiation with matter in an immersion medium based on the technique of geometric and physical optics using the optical tweezers (OT). The experimental part was carried out with a 63X objective coupled to the OT experimental arrangement, with a laser located in the near infrared ($\lambda = 650 \text{ nm}$), once the beam was calibrated the input and output power was measured by the OBJ, samples of stagnant water were taken from three locations in the city, A water quality analysis was made to make the culture of Escherichia coli and fungi, distilled water and silica beads were used in the preparation of the sample, the observation was done through a camera and Thorcam software, the results obtained were the manipulation and individual and group manipulation and capture of silica microspheres, E. Coli and Fungi, it was also possible to observe the presence of different types of protozoa, an optical trap was formed with a power of 7 mW, whose beam waist was $0.24 \mu\text{m}$ and an energy intensity of $3,87 \times 10^{10} \text{ W/m}^2$. In conclusion, the microorganisms were studied, captured and manipulated in a stable optical regime ($d \gg \lambda$), they were also characterised by finding their size: $\emptyset 3.84 \mu\text{m}$ in Fungi; $5.84 \mu\text{m}$ long and $1.28 \mu\text{m}$ wide for E. Coli.

Keywords: <OPTIC PINZA>, <HAZ>, <OPTIC TRAP>, <MIE REGIME>, <MICROORGANISMS>, <HARRATIVE STRENGTH >, <RADIATION PRESSURE>.



Dr. Carmita Eulalia Rojas Castro, Mgs
0602890469

1314-DBRA-UPT-2023

INTRODUCCIÓN

A lo largo del tiempo la intención de otorgar una explicación a diversos fenómenos y comportamientos físicos asociados con la luz ha llevado al ser humano a revelar grandes descubrimientos y en tal contexto una de las aplicaciones más extraordinaria y visible en los últimos años ha sido la micro manipulación y captura de cuerpos de pequeñas dimensiones a través de la luz emitida en la pinza óptica, la cual fue merecedora de un premio nobel en el año 2018. Los primeros experimentos sobre el comportamiento de partículas de tamaño micrométrico bajo la influencia de haces luminosos fueron propuestos y estudiados por Ashkin y conforme el tiempo transcurrido se construyó un mayor progreso de las técnicas de atrapamiento óptico, lo que condujo precisamente a la creación de la denominada trampa óptica, es así que, a través de una larga recopilación de información la idea general del presente trabajo es analizar las bases físicas del atrapamiento óptico , en esencia es imprescindible reconocer que la luz tiene la capacidad de ejercer fuerzas que a nivel macroscópico son imposibles de percibir, sin embargo, cuando nos trasladamos al mundo microscópico, esto cambia por completo. Lo cual nos encamina a la formulación de diversas preguntas ¿Cuáles son los principios físicos utilizados en la captura óptica?, ¿Cómo se usa la luz para mover y manipular objetos?, ¿Cuáles son las fuerzas ópticas percibidas a escala microscópica?, luego de presentar algunos antecedentes históricos, detallaremos algunos conceptos del electromagnetismo asociados con el transporte de energía y de momento por la luz. Igualmente, estudiaremos el principio físico utilizado en el atrapamiento óptico de partículas, detallando y describiendo concretamente la procedencia física de las llamadas fuerza gradiente y fuerza de dispersión. Hasta este momento se ha nombrado al sistema óptico manipulador como tal, pero es primordial también conocer ciertos parámetros que involucran a las partículas actuando bajo la alteración de la pinza óptica y sobre todo a los diversos objetos micrométricos que se pueden manipular; estos pueden estar comprendidos desde micropartículas dieléctricas individuales, biomoléculas, nanopartículas plasmónicas, virus, bacterias, algas, células eucariotas y más.

La investigación efectuada está enfocada netamente en microorganismos vivos procedentes de agua y dado que el mundo de los seres vivos microscópicos es extenso se ha propuesto una clasificación general que los distribuye de tal forma que sea fácil de contemplarlos y analizarlos dentro del sistema físico. La investigación en su conjunto comprende los siguientes capítulos:

Capítulo I, detalla la base y el origen de la investigación, expone los motivos que conducen al desarrollo del proyecto lo que corresponde a información valiosa que respalda el trabajo de investigación.

Capítulo II, abarca una introducción base de los fundamentos elementales, como conocimiento general para el entendimiento del funcionamiento de la pinza óptica. En este capítulo se muestran temas que contemplan la luz en general, sus características, comportamiento en el vacío y cuando encuentra una superficie u objeto dispersor y la aparición de fuerzas ejercidas sobre este , además se describe los 2 principales regímenes de atrapamiento óptico , haz gaussiano con sus correspondientes conceptos y descripciones matemáticas, así como también muestra el láser y funcionamiento general para luego presentar el montaje y arreglo de la pinza óptica , finalmente trata con una breve introducción a la clasificación de los microorganismos de agua.

Capítulo III, contempla el marco metodológico e incluye los elementos y montaje realizado en el laboratorio del sistema óptico como además la preparación de muestras o espécimen para finalizar con un respectivo ajuste final.

Capítulo IV, contiene los resultados, análisis y discusión obtenidos a partir de la investigación realizada, se presentan precisamente los resultados obtenidos en el proceso de manipulación reconociendo que fue ejecutado de manera satisfactoria.

ANTECEDENTES

En la antigüedad el estudio de la naturaleza de la luz y sus propiedades estuvo relacionada con la visión, para el siglo XVII, Johannes Kepler (1571-1630) formuló una teoría satisfactoria de la radiación a través de aberturas basada en la propagación rectilínea de los rayos de luz, sin embargo, René Descartes (1590-1650) fue el primero en preocuparse por la naturaleza de la luz y las leyes ópticas, publicando así su libro llamado *Dioptric*, En 1621 con la contribución de Pierre de Fermat (1601-1675) del principio del tiempo mínimo se obtuvo la ley empírica exacta de Snell (Götz, 2021, p.15).

Isaac Newton (1642-1727) demostró por primera vez que el color es propiedad de la luz y no del medio. Tras realizar varios experimentos pudo demostrar que la luz generada por el sol constaba de todos los colores, y de igual manera la luz blanca se componía también de todos los colores, defendiendo así la naturaleza corpuscular de la luz, para él, la luz se compone de corpúsculos extremadamente pequeños, mientras que la materia ordinaria se compone de corpúsculos más gruesos, además explicó que el fenómeno de difracción era solo un caso especial de refracción. (Zubairy et al., 2016, p.10). Christian Huygens (1629-1695) en cambio aclaró que la luz eran ondas longitudinales de velocidad finita, limitadas por colisiones de desaceleración elástica en el éter (Götz, 2021, p.169).

Entre el siglo XVII y XVIII aparece Thomas Young (1773-1829) que en 1803 indicó que la luz tiene una naturaleza ondulatoria a través de su experimento de doble rendija, la luz pasa a través de una rendija estrecha aparecen franjas brillantes en la parte oscura de ahí se evidencia que la luz se curva. Además, demostró que dos rayos de luz pueden combinarse para producir franjas claras y oscuras (Zubairy et al., 2016, p.10). Su contemporáneo Augustin Fresnel (1788-1827) apoyó la naturaleza ondulatoria de la luz basado en el fenómeno de difracción, pudo desarrollar una teoría matemática para explicar la reflexión, la refracción, la doble refracción y la polarización de la luz reflejada por una sustancia transparente y además logró predecir la posición de las líneas brillantes y oscuras en función de las vibraciones cuando estaban en fase y fuera de fase (Zubairy et al., 2016, p.10).

James Clerk Maxwell (1831-1879) vinculó fenómenos eléctricos y ópticos con la teoría electromagnética, tuvo la idea de que generar un cambio en el campo eléctrico debería dar como resultado un campo magnético. Agregando así un término en la ley de Ampere que correspondía a una tasa de cambio del campo eléctrico en el tiempo, obteniendo la ecuación de onda para una onda electromagnética que se propaga a la misma velocidad de la luz. La luz como una onda

electromagnética fue demostrada de manera experimental por Heinrich Hertz (1857–1894) en 1888 (Zubairy et al., 2016, p.14).

A finales del siglo XIX y principios del XX, el renacimiento de la teoría de partículas de la luz y el comienzo del concepto moderno del fotón se debe a Albert Einstein (1879-1955). En 1905, Einstein se percató que la idea de Planck de la cuantización de las ondas electromagnéticas debería funcionar también para la luz, entonces junto con los estudios de Planck, postuló que la luz en sí está conformada por cuantos de energía llamados fotones (Zettili, 2009). Un problema que se presentó en esta época fue la difracción en partículas esféricas que fue resuelto en 1908 por Gustav Mie, dando una solución completa al análisis teórico del esparcimiento en partículas esféricas de mayor tamaño a la longitud de onda de la luz que incide.

Lebedev (1898-1948), Nichols (1869-1924) y Hull (1880-1966) a inicios del siglo XX mostraron de manera experimental la existencia de la presión de la luz como onda electromagnética, obteniendo la primera evidencia empírica de la existencia de la presión de radiación. En mayo de 1960 Maiman (1927-2007) de la Hughes Aircraft Company construyó el primer láser usando un cristal de rubí, este dispositivo permitió focalizar un haz de luz coherente de alta intensidad, y se convirtió en una excelente herramienta para el estudio de la presión de radiación.

La primera persona en enfocarse en el estudio de las fuerzas ópticas inducidas por el láser fue el físico Arthur Ashkin (1922-2020), quien descubrió el sistema de trampa óptica bajo desarrollos experimentales en el año 1970 y fue capaz de medir la presión de radiación ejercida por un láser sobre microesferas de látex. A mediados de la década de 1980, Ashkin publicó una serie de artículos sobre el atrapamiento óptico y sus aplicaciones, fue pionero en la levitación óptica, realizó una versión óptica del experimento de Millikan y también hizo mediciones de dispersión Mie de alta presión. Su amigo James Gordon desarrolló un modelo cuántico para entender las trampas de radiación, y posterior a ellos ambos publicaron otro artículo donde demostraron la presión de la radiación resonante, de ahí surge la idea del atrapamiento de átomos con fuerza de dipolo, la cual se logró en 1986.

En el año 1987 Ashkin y Dziedzic experimentaron este sistema óptico con las ciencias biológicas, usándolo para atrapar virus del mosaico del tabaco individual y la bacteria *Escherichia Coli*, convirtiéndose en una nueva herramienta en el ámbito de la biología (Killian et al., 2018). En año 2018 Ashkin obtuvo el Premio Nobel de Física por el descubrimiento de las pinzas ópticas y sus aplicaciones a sistemas biológicos.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento del problema

Debido a los escasos estudios de microorganismos utilizando métodos físicos basados en la pinza óptica en Ecuador se ha llevado a cabo este trabajo siendo necesario hacer uso de esta herramienta para conocer la estrecha relación que existe entre la física y la biología a través de la micro manipulación óptica la cual nos abre puertas increíblemente grandes a un mundo nuevo de investigación y avances científicos. Se desconoce el manejo del instrumento y el montaje de este en el laboratorio de la ESPOCH asimismo existe un profundo vacío en el conocimiento de las estructuras y sistemas celulares, de su comportamiento y es justo lo que nos conduce al empleo de métodos ópticos, el desafío es conocer la efectividad de la pinza óptica y si esta funciona permitiendo obtener buenos resultados para así reconocer si es viable para el estudio de microorganismos. Si bien es cierto existen métodos químicos de desinfección de aguas, aun así, presentan un nivel inferior de esterilización y se ignora enteramente si existe la posibilidad de inactivar de manera rápida y eficiente a microorganismos de agua, mediante un proceso físico, basado en la radiación UV, el reto es descubrir si realmente esto resulta favorable.

1.2. Objetivos

Objetivo general

Determinar la funcionalidad de la pinza óptica en la captura y manipulación de microorganismos en agua estancada de Riobamba.

Objetivos específicos

- Estudio del arte y de los fundamentos físicos del fenómeno de captura óptica.
- Estudiar metodológicamente la aplicación de las pinzas ópticas en la aproximación Rayleigh y Mie, para manipulación de microorganismo en agua estancada.
- Analizar la dinámica de los microorganismos a través de la pinza óptica.
- Demostrar como la luz UV dentro de un intervalo específico de longitud de onda, comprendido entre los 200 y 300 nanómetros funciona como germicida.

1.3. Justificación

La finalidad de este proyecto es atrapar y manipular microorganismos de agua estancada mediante un sistema óptico, con un enfoque estrictamente físico, empleando el montaje de la pinza óptica existente en el laboratorio de óptica y electromagnetismo de la carrera de Física de la ESPOCH. Seremos capaces de manipular in vivo microorganismos sin alterar el sistema, ya que no es un método invasivo, por lo que nos permite capturar a uno o más microorganismos para poder caracterizarlos y conocer cuáles son los fundamentos físicos que están presentes en el fenómeno de captura óptica.

Este proyecto de investigación está basado en la aplicación de aportes teóricos con relación a la óptica, el electromagnetismo e incluso la mecánica cuántica, con los cuales se detalla de manera profunda la interacción de la radiación con material biológico. Por lo general es más fácil estudiar de forma particular el comportamiento de un solo microorganismo que quererlos estudiar en su totalidad, si se determinan los procesos sencillos e individuales se puede caracterizar al sistema global, y es justamente lo que nos proporciona este poderoso método. Los resultados que se obtengan permitirán ver el confinamiento de cada sistema biológico en presencia de fuerzas ópticas. Este estudio generará recursos bibliográficos para la comunidad politécnica.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Fenómenos ópticos

Para el estudio de la luz se toma en consideración la división de la óptica en tres ramas principales, la óptica física, la óptica geométrica y la óptica cuántica. Éstas cumplen con la función de otorgar una explicación de los distintos fenómenos ópticos que suceden en la naturaleza. La óptica geométrica u óptica de rayos, establece que la propagación de la luz se da en forma de rayo. En lo que respecta a la óptica física, se describe a la luz como una onda electromagnética, siendo una combinación de campos eléctricos y magnéticos, que tiene la capacidad de describir fenómenos que la óptica geométrica no, tal como, la difracción, la interferencia o el esparcimiento de la luz. En cuanto a la óptica cuántica, se dice que la luz está conformada por corpúsculos llamados fotones (Condado G., 2022).

2.1.1. Teoría de rayos

La óptica de rayos se fundamenta en el principio de Fermat de propagación de la luz por medio del aire. En los postulados de la óptica de rayos se establece que, la característica principal de la luz desplazándose en un medio es su índice de refracción definido como $n = c_0/c$, donde c_0 es equivalente a la velocidad de la luz en el vacío y c es igual la velocidad en el medio en el que se propaga. Con respecto a los medios, para uno homogéneo, el camino óptico entre dos puntos corresponde a $s = nd$, donde d es la distancia entre los puntos. En el caso contrario, cuando un medio es no homogéneo, el camino óptico es $\int_A^B n(\vec{r}) ds$. Por lo que, el tiempo que se demora en atravesar una distancia d es proporcional al camino óptico. Por otra parte, y como último postulado, los rayos trasladándose entre puntos siguen una trayectoria en la que el tiempo de viaje o camino óptico es un mínimo por la proporcionalidad nombrada (Mondal P., 2021).

Por otro lado, las leyes que rigen a la óptica geométrica son: la ley de reflexión y refracción. En la reflexión, cuando un rayo de luz se refleja en el límite que separa dos medios, el rayo reflejado se mantiene en el plano de incidencia y el ángulo de incidencia es equivalente al ángulo de reflexión. El plano de incidencia es aquel formado por el rayo incidente y la normal, la línea perpendicular a la superficie del medio. En cuanto a la ley de refracción (Ley de Snell), cuando un rayo de luz se refracta en una interfaz que separa dos medios, el rayo que se transmite permanece dentro del plano de incidencia y el seno del ángulo de refracción es directamente proporcional al seno del ángulo de incidencia, ambas leyes se simplifican en la Ilustración 2-1, la

cual muestra el caso general en el que un rayo incidente se refleja y se transmite en un límite plano que divide dos medios que son específicamente transparentes (Pedrotti et al., 2006 , p.17).

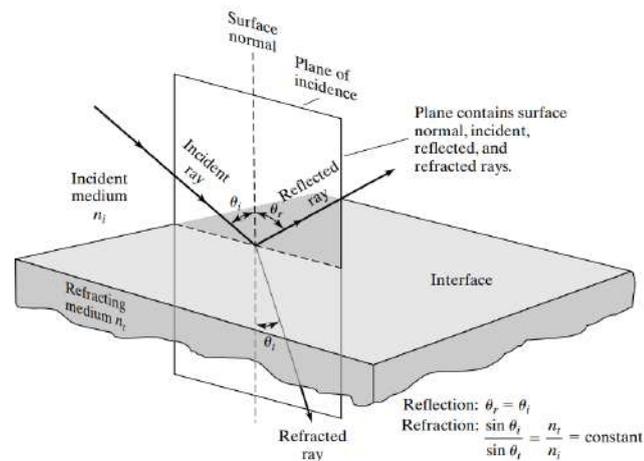


Ilustración 2-1: Fenómeno de reflexión y refracción en una interfaz de dos medios

Fuente: Pedrotti et al., 2006, p.17

2.1.1.1. Efectos ópticos

Suponiendo la existencia de superficies lisas o espejos con capacidad de reflejar los rayos de luz que inciden en ellos, es posible clasificarlos en espejos planos y curvos, el grupo correspondiente a los espejos curvos contempla a los espejos paraboloïdales, elípticos y esféricos, por otro lado, se consideran las lentes como dispositivos ópticos transparentes que cambian las trayectorias de los rayos por la forma que toman (Mondal, P. 2021).

A. Límite plano

Básicamente la relación entre los ángulos de refracción e incidencia, θ_1 y θ_2 , en una interfaz que divide dos medios, cada uno con índices de refracción n_1 y n_2 , está gobernada por la ley de Snell, habiendo dos casos importantes. Cuando el rayo incide desde el medio de menor índice de refracción (Refracción externa $n_1 < n_2$). Si el rayo incidente está en un medio de índice de refracción más alto, $\theta_1 > \theta_2$ y el rayo refractado se dobla (Refracción Interna $n_1 > n_2$) (Mondal, P. 2021).

B. Límite en lentes y espejos esféricos

En esta ocasión la refracción de los rayos se da precisamente en una interfaz esférica de radio R, ésta separa dos medios de índices de refracción n_1 y n_2 , siendo R positivo para un límite convexo

y negativo para un límite cóncavo. Los resultados que se obtienen aplicando la ley de Snell, donde se relaciona los ángulos de incidencia y refracción, consideran solo rayos paraxiales que forman ángulos pequeños con el eje del sistema, de modo que $\text{sen } \theta \approx \theta$ y $\text{tan } \theta \approx \theta$, puede suceder el fenómeno de aberración cuando los rayos de ángulos grandes no obedecen estas leyes (Teich y Bahaa, 2019).

C. Luz dirigida

1) Reflexión total interna

Es posible hacer que la luz sea guiada de un lugar a otro utilizando espejos y lentes, se puede describir como se propaga la luz dentro de la fibra óptica haciendo uso de este hecho. Entonces se utiliza otro fenómeno de la teoría de rayos, la reflexión total interna, estableciendo $n_1 > n_2$ esto sucede cuando se hace incidir un rayo mayor a un ángulo crítico en el límite de dos medios. Dado este fenómeno, de acuerdo con la Ilustración 2-2 c) el ángulo formado por el rayo incidente y el ángulo formado por el rayo reflejado son equivalentes $\phi = \phi$ (Senior y Jamro, 2009, p.15).

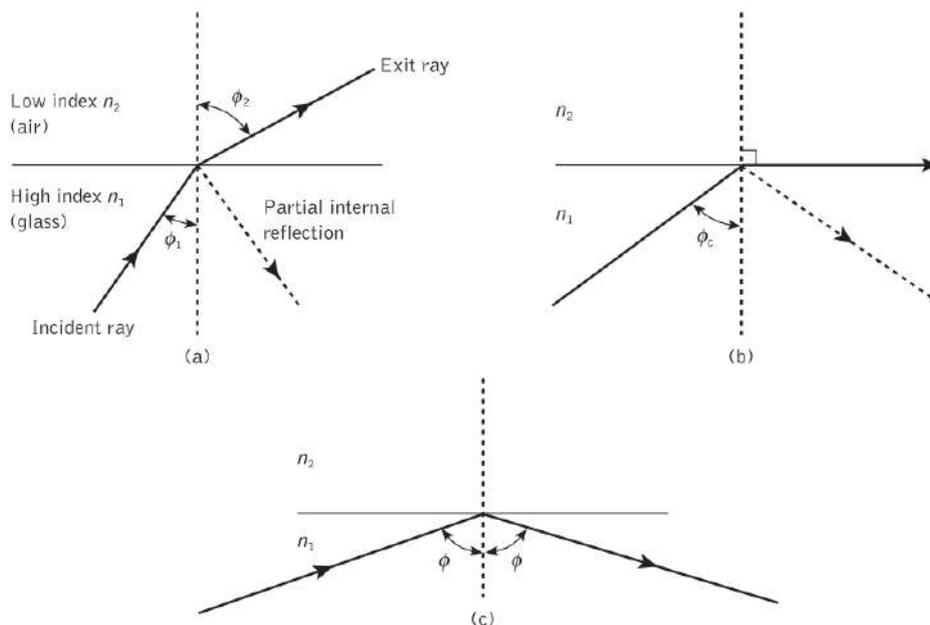


Ilustración 2-2: Fenómeno de reflexión interna total: (a) Rayo incidente partiendo del medio con mayor índice de refracción que emerge hacia el de menor, (b) Aumento gradual del ángulo y (c) Ángulo incidente igual al ángulo refractado

Fuente: Senior y Jamro, 2009, p.15

2) Fibra óptica

La trayectoria de un rayo en la fibra óptica se da mediante sucesivas reflexiones internas totales en la interfaz entre el núcleo el revestimiento de sílice con un índice de refracción levemente menor. De acuerdo con la Ilustración 2-3, el rayo tiene un ángulo de incidencia ϕ en la interfaz que es mayor que el ángulo crítico y se refleja con el mismo ángulo con respecto a la normal (línea punteada), también se observa al rayo meridional que es aquel que pasa por el eje del núcleo de la fibra. Este rayo es particularmente usado para mostrar las propiedades básicas de transmisión de las fibras ópticas (Senior y Jamro, 2009, p.17).

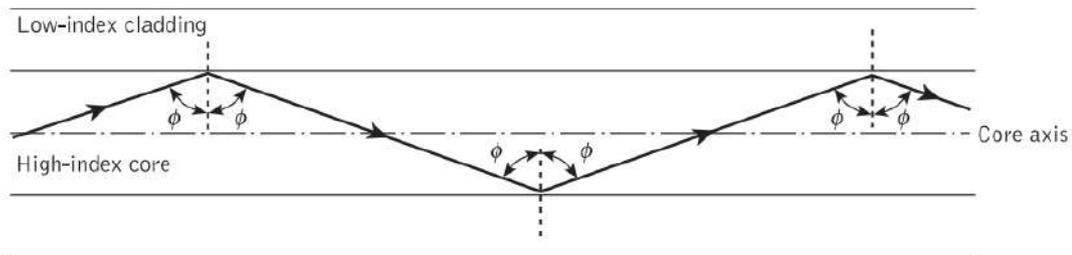


Ilustración 2-3: Rayo luminoso en una fibra óptica perfecta

Fuente: Senior y Jamro, 2009, p.16

2.1.1.2. Óptica Gaussiana

Dentro de la aproximación paraxial, al estudiar la trayectoria de los rayos de luz, pasando por elementos ópticos como espejos y lentes, estos sufren fenómenos de refracción o reflexión, es adecuado utilizar la representación de matrices cuadradas unitarias de segundo orden (Fuentes Betancourt, J. et al., 2005). Se estudia el fenómeno de propagación de un haz a través de una lente aplicando formulación matricial en donde intervienen funciones seno y tangente. Además, se lleva a cabo un desarrollo con series de Taylor de las funciones nombradas, esto funciona en la aproximación paraxial en donde se asume que θ es muy pequeño, por lo que se considera únicamente los términos iniciales de primer orden, los de orden mayor son despreciables. La teoría paraxial o de Gauss se emplea para definir una ecuación matricial lineal que describa la propagación de un haz a través de un sistema óptico. (Hernández A., 2014).

Existen matrices involucradas contempladas en la teoría rayos, la matriz traslacional la cual muestra el movimiento de un rayo de izquierda a derecha (ver ec 2.1), así también se exhibe a la matriz de refracción (ver ec. 2.2) y la matriz de reflexión (ver ec. 2.3) ambas tratadas con una interfaz esférica, siempre considerando la aproximación paraxial para llegar a estas, también existen matrices de lente gruesa y delgada, al cruzar las lentes, el rayo experimenta múltiples refracciones y traslaciones, tales casos son representados por una ecuación matricial (ver ec. 2.4)

la cual funciona para cualquier número N de traslaciones, reflexiones y refracciones, donde M representa cada matriz analizada individualmente (Pedrotti et al., 2006, pp.400-404).

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ \alpha_1 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & L \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} y_0 \\ \alpha_0 \end{bmatrix} \quad (2.1)$$

$$\begin{bmatrix} y' \\ \alpha' \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ \frac{1}{R} \left(\frac{n}{n'} - 1 \right) & \frac{n}{n'} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} y \\ \alpha \end{bmatrix} \quad (2.2)$$

$$\begin{bmatrix} y' \\ \alpha' \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ \frac{2}{R} & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} y \\ \alpha \end{bmatrix} \quad (2.3)$$

$$\begin{bmatrix} y_f \\ \alpha_f \end{bmatrix} = M_N M_{N-1} \dots M_2 M_1 \begin{bmatrix} y_0 \\ \alpha_0 \end{bmatrix} \quad (2.4)$$

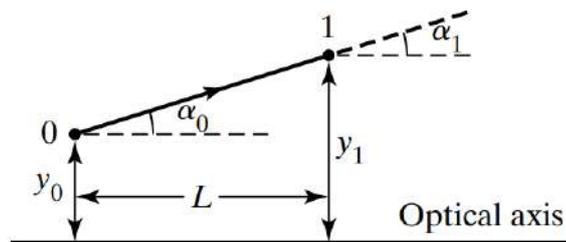


Ilustración 2-4: Traslación de un rayo

Fuente: Pedrotti et al., 2006, p. 400

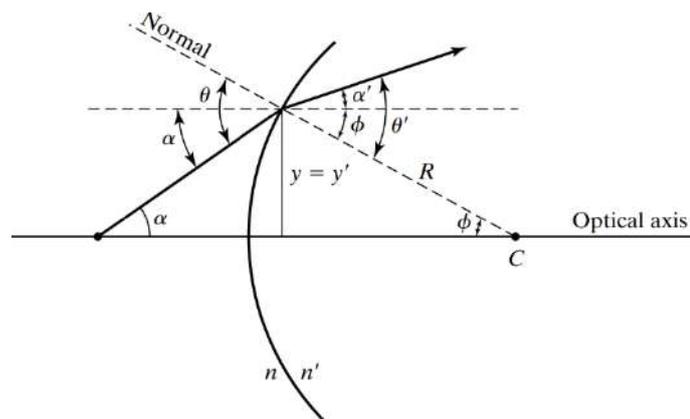


Ilustración 2-5: Refracción de un rayo en una superficie esférica

Fuente: Pedrotti et al., 2006, p. 400

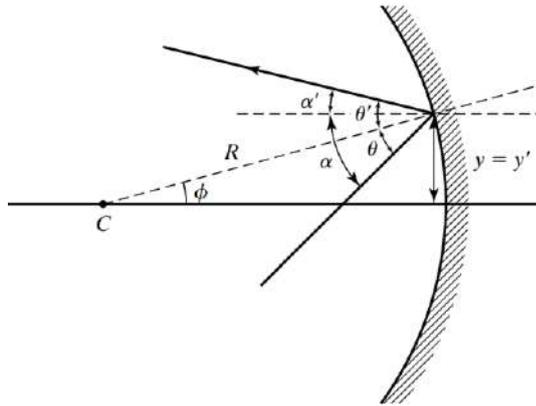


Ilustración 2-6: Reflexión de un rayo en una superficie esférica

Fuente: Pedrotti et al., 2006, p. 401

2.1.2. Teoría ondulatoria

Dentro de la teoría ondulatoria se enuncian postulados iniciales que provienen de la simple observación, entre ellos se mantiene que, la luz viaja en forma de ondas tal como lo hacen las ondas en agua o las ondas de sonido, de la misma manera, ésta se traslada con cierta velocidad $c = c_0/n$ siendo este valor equivalente a $c=3 \times 10^8 \text{ m/s}$ en un medio con índice de refracción $n \geq 1$. Igualmente la onda de luz puede representarse mediante una función de onda dependiente de la posición y tiempo $u(\vec{r}, t)$, la cual puede satisfacer la ecuación de onda descrita a continuación (Mondal P., 2021):

$$\nabla^2 u - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 u}{\partial t^2} = 0 \quad (2.5)$$

Dónde ∇^2 representa el laplaciano en el sistema de coordenadas cartesianas (x,y,z).

2.1.2.1. Ondas armónicas

Estas ondas están descritas por las funciones de seno o coseno además son soluciones de la ecuación de onda diferencial 2.5, muchas operaciones se pueden realizar con mayor facilidad utilizando funciones exponenciales que con funciones trigonométricas. Es por esto por lo que la representación de números complejos tiene la capacidad de otorgar una descripción más simple. Entonces se utiliza la fórmula de Euler, dónde es posible separar la onda armónica en una parte real $Re(u)$ y otra parte imaginaria $Im(u)$ de la función compleja completa descrita en la ecuación 2.6. Tal onda se desplaza netamente en una dirección por tanto se denomina unidimensional, como

la luz presenta oscilaciones armónicas de algún tipo, la sinusoidal en la dirección x es una parte fundamental para observar el fenómeno ondulatorio de la luz (Hecht, Eugene., 2017, pp. 22-31).

$$\mathbf{u}(\mathbf{r}, t) = \Re(\mathbf{A}(\mathbf{r})(\exp i(\mathbf{k}x - \omega t))) \quad (2.6)$$

Las soluciones de la ecuación 2.5 son descritas brevemente entonces inicialmente una función periódica que presenta la forma $u = u(\vec{k} \cdot \vec{r}, t)$ es una onda plana donde las superficies de igual fase son planas. Este término se refiere a una función que es variable armónicamente en el espacio y el tiempo, teniendo un vector posición de un punto en el espacio $\vec{r} (x,y,z)$ y un vector de onda $\vec{k} (k_x, k_y, k_z)$ que se dirige en la dirección de propagación de la onda. Por otro lado, las ondas esféricas que presentan la forma $u = u(\vec{r}, t)$ normalmente se describen en términos de coordenadas esféricas, la forma de la onda esférica depende de la coordenada radial r y el tiempo t , son emitidas por una fuente puntual que transmite energía de forma isotrópica y la simetría sugiere que los frentes de onda sean esferas con un mismo centro (Smith Daniel G., 2013, pp.4-5). Para nuestros propósitos es adecuado considerar una onda cuya energía fluye predominantemente a lo largo de la dirección z , de modo que, se considera una onda plana o conocida como una onda paraxial cuando se encuentra viajando en la dirección z concretamente es decir $u = u(k_z, t)$ la cual satisface la ecuación de Helmholtz (Takenaka et. al, 1985).

$$(\nabla^2 + k^2)\psi = 0 \quad (2.7)$$

La ecuación 2.7 fue nombrada así por Hermann Von Helmholtz (1821-1894), se aplica a una variedad de problemas físicos y define la variación espacial de funciones que son soluciones a ecuaciones diferenciales parciales dependiente del tiempo y del espacio, como la ecuación de onda (sus soluciones incluyen ondas planas, esféricas, paraboloidales y gaussianas) (Zappe, 2010, pp.46-47).

2.1.2.2. Fenómenos básicos

A. Superposición

Normalmente se hace uso del principio de superposición para reducir la descripción de la reflexión de una onda. Entonces se reconoce a la onda incidente como $u(x, t)$ y reflejada $-u(x, t)$, dos posibles ondas en una cuerda. Luego se aplica condiciones de contorno en un punto determinado, resultando en una perturbación total que consiste en $f_T(x, t)$. Los efectos de la interferencia implican conceptos como la superposición, teniendo en consideración un suceso en

el que se dispone de dos fuentes semejantes, imaginando que emiten ondas que se propagan en un mismo eje en este caso z . Al experimentar sincronismo, están en fase (Webb, 2005, pp.31-33).

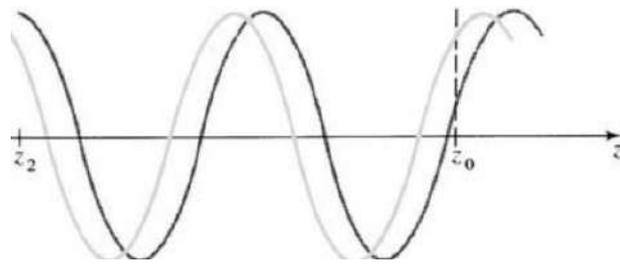


Ilustración 2-7: Ondas en fase

Fuente: Webb, 2005, pp.31-33

B. El postulado de Huygens-Fresnel

La esencia del principio de Huygens-Fresnel, se describe en función de la Ilustración 2-8 (b), dónde hay un medio repleto de líquido separado en dos partes por una pared con un orificio H de dimensión pequeña, se coloca un aparato emisor de ondas circulares en el punto S , en el lado izquierdo las partículas líquidas comienzan a moverse por la onda precedente de S . Con respecto al lado derecho del medio, se vuelven a generar ondas circulares como si se ubicara otro aparato en el punto H . Las vibraciones de las partículas en el orificio son las mismas que las que crearía la fuente S sin de la pared. De acuerdo con la Ilustración 2-8 (a), El principio de Huygens-Fresnel contempla tener un sistema de fuentes puntuales llamadas fuentes auxiliares de Huygens-Fresnel, dispuestas sobre los frentes de onda y que emiten en fase ondas esféricas secundarias, este principio se puede utilizar para deducir las leyes de la reflexión y la refracción. (Chartier,2005, pp. 300-302).

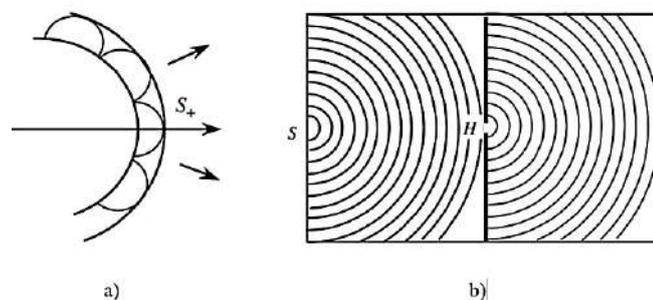


Ilustración 2-8: Fuentes auxiliares de Huygens-Fresnel en cada punto del frente de onda (a) y difracción de ondas por una pequeña abertura (b)

Fuente: Chartier,2005, pp. 300-303

C. Difracción

Consiste en la aparición de regiones brillantes y opacas como consecuencia de interferencias constructivas y destructivas entre las ondas que escapan por cierto orificio o rendija, ya que cada punto, de acuerdo con el principio anterior, sugiere ser un foco emisor de ondas. En cuanto a los tipos de difracción existentes, se establece que, cuando se coloca una pantalla a una distancia finita de la fuente se estaría hablando de la difracción de Fresnel, en el caso opuesto considerando distancias infinitas encaja perfectamente con la difracción de Fraunhofer (Garrigós Oltra L., 2006). Se los puede diferenciar a partir de la distancia L entre la pantalla y la rendija, básicamente cuando L es mucho mayor que la distancia de Rayleigh (d^2/λ), entonces el patrón de difracción se encuentra en el límite de campo lejano (Fraunhofer), cuando L es mucho menor que (d^2/λ) corresponde al campo cercano (Fresnel). La condición de Fraunhofer se produce normalmente insertando un lente entre la rendija y la pantalla. El ángulo en el que se genera el primer mínimo si se considera una aproximación de ángulo pequeño se manifiesta como (Fox M., 2006, p. 14):

$$\theta_{min} = \frac{\lambda}{d} \quad (2.8)$$

Además, los patrones de difracción obtenidos a partir de aperturas con formas distintas por ejemplo un orificio circular de diámetro D . El mínimo inicial se produce con un ángulo de:

$$\theta_{min} = \frac{1.22\lambda}{D} \quad (2.9)$$

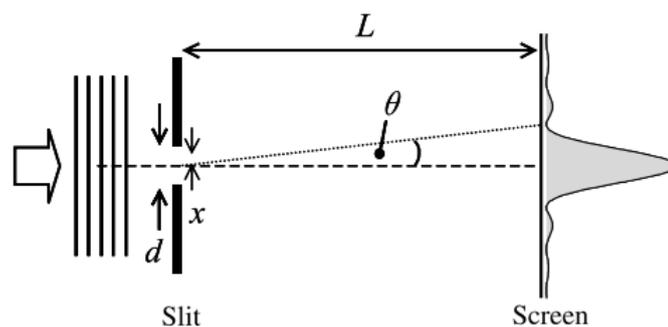


Ilustración 2-9: Ondas de tipo planas incidentes en una abertura de ancho d se difractan y generan un patrón de intensidad en un monitor

Fuente: Fox M., 2006, p. 13

2.1.3. Propagación

Al considerar una onda electromagnética desplazándose en el vacío no existe una fuente en el medio considerado ($J=0$), por lo que las ecuaciones de Maxwell son modificadas y escritas como un conjunto de 4 ecuaciones diferenciales, a partir de éstas es factible conocer el comportamiento de la onda en el vacío. La ecuación de Ampere establece que un campo magnético circulante H es producido por la variación de campo eléctrico E en el tiempo t . Luego, la ecuación de Faraday demuestra que un campo magnético H cambiante en t produce un campo eléctrico E circulante. Para comprender las predicciones de las ondas electromagnéticas, se describe a una onda plana uniforme, la cual está formada por un campo eléctrico E y magnético H , ambos ortogonales entre sí encontrándose en un plano transversal a la dirección de propagación de la onda, por lo tanto, la onda lleva el nombre de onda electromagnética transversal (TEM) (Hayt y Buck, 2006, pp.396-397). Se supone una onda incidente sobre una partícula con permitividad ϵ_p llamada dispersor, se denotan \mathbf{E}_i y \mathbf{H}_i a los campos eléctricos y magnéticos que conforman dicha onda, como la partícula tiene la capacidad de dispersar ondas, para este caso definimos campos eléctricos y magnéticos \mathbf{E}_s y \mathbf{H}_s precisamente dispersos, donde k es el vector de onda para el medio omitiendo la dependencia de la onda en el tiempo, se puede expresar como (Frezza et al., 2018):

$$\mathbf{E}_i = \mathbf{E}_0 \exp ik \cdot \mathbf{r} \quad (2.10)$$

$$\mathbf{H}_i = \mathbf{H}_0 \exp ik \cdot \mathbf{r} \quad (2.11)$$

Asimismo, es importante nombrar al vector de Poynting como una generalización del caso incidente y dispersado, el cual indica el flujo de potencia por unidad de área, donde \mathbf{S}_i es el vector de Poynting de la onda que incide y \mathbf{S}_s es el vector de Poynting de la onda dispersada y viene dado por (Frezza et al., 2018):

$$\mathbf{S} = \frac{1}{2} \Re(\mathbf{E}_i + \mathbf{H}_i^*) + \frac{1}{2} \Re(\mathbf{E}_s + \mathbf{H}_s^*) = \mathbf{S}_i + \mathbf{S}_s \quad (2.12)$$

Una onda electromagnética traslada impulso, si esta se desplaza en la dirección x e incide en una carga q estática, el campo eléctrico apunta en la dirección y , mientras que el campo magnético apunta en la dirección z . El campo eléctrico ejerce una fuerza $q\mathbf{E}$, lo cual acelera a la carga y esta presenta una velocidad v_y , debido al movimiento de la carga, el campo magnético actúa sobre ella ejerciendo una fuerza $qv_y \times \mathbf{B}$ que precisamente va en la dirección de propagación x , la carga adquiere cierto impulso proveniente de la onda, el impulso transferido por una onda es equivalente a la energía transportada por la onda sobre c (Tipler y Mosca, 2015, pp.994).

2.1.3.1. Parámetros de dispersión

A. Ángulo sólido

Para determinar la intensidad o potencia de un haz es necesario tomar en consideración la dispersión de este, siendo fundamental obtener una medida del área angular. La dispersión en una dirección se mide mediante un ángulo plano; sin embargo, sobre un área se mide en función de un ángulo sólido. Para describir el ángulo sólido se considera el área de la superficie esférica que un ángulo sólido proyecta sobre una esfera, el término dA el cual es un diferencial de área, y se encuentra definido como (Quincey, 2020):

$$dA = r \sin \theta_s d\phi_s \quad (2.13)$$

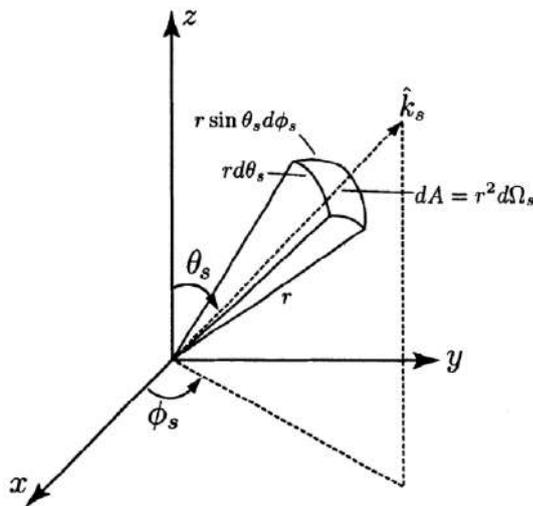


Ilustración 2-10: Ángulo sólido diferencial

Fuente: Chartier, 2005, pp. 300-303

B. Potencia y sección transversal

La potencia diferencial dispersada por unidad de ángulo sólido (ver ec. 2.15) es proporcional a la intensidad asociada con vector de Poynting de la onda dispersada, al reemplazar la expresión correspondiente en 2.15, se obtiene una relación en términos de la intensidad del campo incidente que convenientemente se expresa en función de la sección transversal de dispersión σ con dimensiones de área, al integrar la ecuación 2.15 se obtiene la potencia dispersa por la partícula considerada en 2.16 (Tsang et. al, 2000, pp. 3-5).

$$dP_S = |\mathcal{S}_s| r^2 d\Omega \quad (2.14)$$

$$\frac{dP_S}{|\mathbf{S}_i|} = \sigma d\Omega \quad (2.15)$$

$$P_S = \sigma |\mathbf{S}_i| \quad (2.16)$$

Ahora es conveniente nombrar al término de la sección transversal de absorción σ_i (ver ec. 2.17), dispersión σ_s (ver ec. 2.18) y extinción σ_e (ver ec. 2.19). La sección transversal de absorción es la relación de la potencia absorbida por el dispersor y la cantidad de energía por unidad de área desplazada por la onda incidente. Del mismo modo, la sección transversal de dispersión es la relación de la potencia dispersada por la partícula y la cantidad de energía por unidad de área llevada por la onda incidente. Por último, la sección transversal de extinción es la cantidad de energía total restada de la onda incidente sobre la cantidad de energía por unidad de área trasladada por la onda incidente. La cantidad de energía absorbida por la partícula puede hallarse al contemplar la superficie del dispersor A , es así como la potencia total viene expresada como la sumatoria de la potencia incidente o energía absorbida P_i por la partícula y la energía o potencia dispersada P_s (ver ec. 2.22), al considerar una potencia incidente $P_i = 0$ cuando se considera al dispersor como no absorbente entonces P_e toma el nombre de poder de extinción (Frezza et al., 2018).

$$\sigma_i = \frac{P_i}{|\mathbf{S}_i|} \quad (2.17)$$

$$\sigma_s = \frac{P_s}{|\mathbf{S}_i|} \quad (2.18)$$

$$\sigma_e = \frac{P_e}{|\mathbf{S}_i|} \quad (2.19)$$

$$P = P_i - P_s + P_e \quad (2.20)$$

C. Gráfico de dispersión

En la electrodinámica, el proceso de dispersión se puede suponer de tal forma que una onda electromagnética plana (monocromática) excita el cuerpo dispersor de alguna forma. En consecuencia, este vuelve a emitir radiación electromagnética, tomando el nombre de radiación dispersa. Es importante relacionar la radiación dispersada con la radiación entrante y el dispersor, a causa de este hecho, se incluye el término de sección transversal σ como variable que caracteriza exactamente esta conexión. La Ilustración 2-11 exhibe el proceso, en dónde una onda

electromagnética incide sobre cuerpo dispersor o partícula esférica, la radiación se dispersa en forma cónica, el cambio de dirección del campo dispersado se da por una interacción de las partículas incidentes con los centros de dispersión del dispersor (Schallus D., 2016, pp. 53-54).

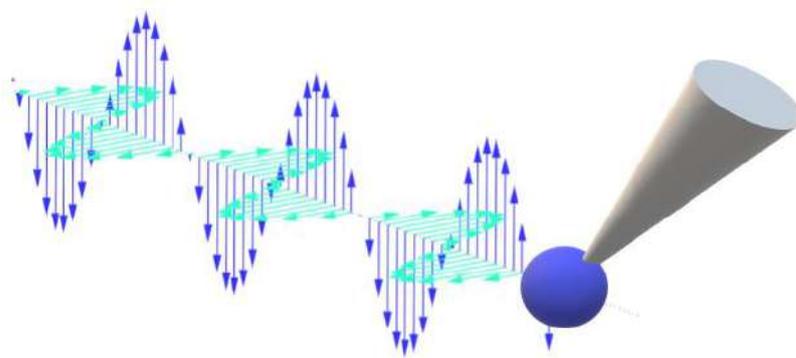


Ilustración 2-11: Onda incidente sobre un objeto dispersor

Realizado por: Parra y Vargas, 2023

2.1.3.2. Campos en la materia

1. Dipolo Inducido

En presencia de un campo eléctrico E , el átomo cuenta con un núcleo formado por protones o conjunto de cargas positivas y una nube de electrones desplazándose alrededor de este, este provoca que el núcleo se dirija en su dirección y empuja a las cargas negativas en la dirección contraria, las fuerzas generadas por el campo separa los electrones y el núcleo, pero la atracción entre ambos los junta llegando a un equilibrio, lo cual produce un átomo polarizado, esto es, con la carga positiva en un lado y la negativa en otro, separadas por una pequeña distancia, resultando en un dipolo inducido que presenta momento dipolar \mathbf{p} proporcional al campo eléctrico \mathbf{E} (Griffiths, D., 2012, pp. 167-186).

2. Dipolo inducido oscilante

Al colocarlo dentro de un campo eléctrico homogéneo variable en el tiempo $E(t)$, se induce de igual manera un momento dipolar oscilante \mathbf{p} . Considerando que el dipolo oscila a una frecuencia angular ω , orientado a lo largo de un eje cualquiera y colocado en el origen de un sistema de coordenadas esféricas, emite un campo que se propaga hacia el exterior como una onda esférica (Jones et al., 2015).

2.1.3.3. Dieléctricos

Considerando un dieléctrico conformado de moléculas polares colocadas en el campo eléctrico entre las placas de un capacitor. Los dipolos (las moléculas polares que forman el dieléctrico) se orientan de manera aleatoria sin un campo eléctrico aplicado, en presencia de un campo eléctrico, experimentan un momento de torsión sobre, lo que provoca una alineación con el campo, entonces el dieléctrico es un material polarizado. Si las moléculas del material dieléctrico no son polares, el campo eléctrico debido a las placas produce una polarización inducida en la molécula. Estos momentos de dipolo inducido tienden a alinearse con el campo externo, y el dieléctrico se polariza. Por esta razón, se puede polarizar un dieléctrico a través de un campo externo, independientemente de que las moléculas en el dieléctrico sean polares o no polares (Serway, 2018, p.681). Las partículas polarizadas van a moverse en dirección a la mayor intensidad de campo. El mecanismo de captura y manipulación en las pinzas ópticas está basado en la intensidad cerca del foco de un rayo láser, cualquier objeto dieléctrico neutro en presencia de un rayo experimenta una fuerza en la dirección de gradiente de intensidad, quedan atrapados cerca del foco y pueden moverse junto con él, e incluso pueden girarlos (Padgett, 2010, p.128.)

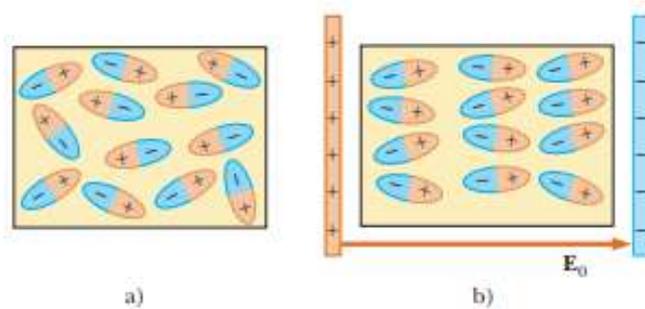


Ilustración 2-12: (a) dieléctrico formado por moléculas polares, sin campo eléctrico, (b) dieléctrico en presencia de campo eléctrico

Fuente: Serway, 2018, p.681

a) Agua

El agua es una sustancia líquida, consiste en dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno, con características de alta polaridad y fuertes enlaces de hidrógeno que permiten el transporte de varias moléculas, eléctricamente es neutra, pero tiene partes cargadas, disuelve fácilmente compuestos de partículas polares.

b) Propiedades dieléctricas del agua

En el H₂O líquida, los vectores momento dipolar total de las moléculas están orientados en todas las direcciones de forma aleatoria, si este medio está sometido a un campo eléctrico externo, los vectores momento dipolar de las moléculas se alinean con el vector de campo eléctrico externo, generando un campo eléctrico inducido el cual es el origen del carácter dieléctrico del agua (Gispert, 2019, p.135). El carácter polar es responsable del valor elevado de la constante dieléctrica que es igual a 80 y del gran poder de disolvente que tiene. El agua pura es un medio dieléctrico sin embargo la presencia de sales minerales hace que tengan carga eléctrica y sean buenos conductores. El agua desionizada es un tipo de agua pura que significa eliminación de iones, es decir es un medio sin presencia de partículas cargadas eléctricamente.

c) Dióxido de silicio Fundido (SiO₂)

El dióxido de silicio también es conocido como perlas de sílica, gel de sílica u óxido de silicio es un vidrio transparente y es un dieléctrico eficaz (Fitchen, 1975, p.39). Según su fabricante Bangs Laboratories, Inc. tiene un diámetro de 2,06 μm , con densidad de 2 g/mL, la temperatura de almacenamiento recomendada es de 2 a 8 °C, su composición es de 10% de sílice y 90% de agua desionizada, índice de refracción de 1,46, su forma es esférica, no porosa, insoluble en el agua. La constante dieléctrica para el sílice gel es de 3,8, es uno de los materiales más empleados en la fabricación de capilares debido a sus propiedades intrínsecas como: mayor transparencia a la luz UV, conductividad térmica alta, facilidad de fabricar capilares con diámetros muy pequeños (Blanco, 2020, p.94). Las propiedades ópticas tales como reflexión, la absorción y la refracción se pueden ir variando de acuerdo a su composición y tratamiento, por lo cual es usada en aparatos electrónicos de precisión.

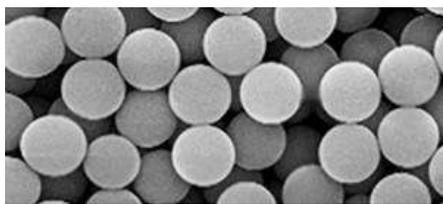


Ilustración 2-13: Perlas de sílica

Fuente: Bangs Laboratories, Inc.

2.1.3.4. *Dispersión Rayleigh*

La condición más importante para dar origen a la dispersión Rayleigh es que el tamaño de la partícula debe ser mucho menor que la longitud de onda del campo aplicado. Si esto se cumple, se induce un dipolo oscilatorio con momento dipolar \mathbf{p} en el interior de la partícula. El campo emitido por este se denomina campo disperso (Tsang et. al, 2000, p.9). La idea básica dentro de este

proceso es que las partículas como electrones, moléculas emiten radiación electromagnética como si fueran una antena cuando son forzadas a oscilar por el efecto del campo electromagnético aplicado, tal radiación presenta sincronización con el campo entrante. Es posible hallar ciertos parámetros que fueron mostrados en la sección 2.1.4. La Ilustración 2-14 muestra precisamente el proceso, inicialmente β es el ángulo entre dipolo \mathbf{p} y el eje vertical z , ϕ es el ángulo de observación referente al vector \mathbf{p} . El campo eléctrico disperso E_s , es un vector normal al vector de propagación de dispersión, \mathbf{O} . Por último, se pueden divisar los ángulos $\theta_x, \theta_y, \theta_z$ en función del eje centrado en el dipolo x, y, z (Miles et. al, 2001).

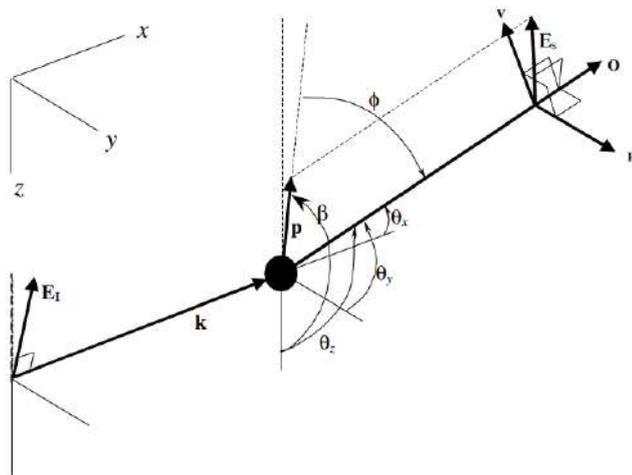


Ilustración 2-14: Dispersión dentro del régimen Rayleigh

Fuente: Miles et. al, 2001

2.2. Haz Gaussiano

En este apartado se busca describir la propagación de la luz a través de la teoría ondulatoria, se han tratado sistemas ópticos que funcionan usando ondas planas, sin embargo, esto es una idealización ya que se consideran aproximaciones. La mayoría de los sistemas ópticos se encuentran basados en el haz gaussiano, y los láseres son un ejemplo de este sistema, pues está diseñado para generar un haz gaussiano como salida.

En un medio homogéneo, la radiación óptica, por su naturaleza, no puede medirse y propagarse al mismo tiempo sin tener una variación angular. Considerada como una propiedad que se presenta en sus límites, para ondas planas uniformes y ondas esféricas. Al hablar de ondas planas nos referimos a una energía que se extiende en todo el espacio, sus normales del frente de onda (rayos) asociados se propagan paralelamente, no hay dispersión angular, por el contrario, una

onda esférica emana de un solo punto, pero los rayos correspondientes divergen en todas las direcciones (Teich y Saleh, 2019, p.270).

A pesar de esta propiedad física inherente a las ondas, ciertas fuentes de luz, como los láseres, emiten haces de luz cuya energía puede propagarse con poca dispersión espacial, las ondas cuyas normales de frente de onda forman pequeños ángulos con el eje z se denominan ondas paraxiales, la cual tiene que satisfacer la ecuación de Helmholtz (Teich y Saleh, 2019, p.270).

El haz gaussiano se define como el patrón de propagación luminosa caracterizado por frentes de onda paraxiales y energía concentrada alrededor del eje de propagación (España, 2005, p.116), es una solución de la ecuación de Helmholtz, en su modo más simple posee simetría cilíndrica alrededor del eje de propagación y presenta una distribución de intensidad en cualquier plano transversal en forma de campana de Gauss, de la cual procede su nombre. En condiciones ideales el haz que sale de un láser se puede aproximar bien mediante una distribución gaussiana de la amplitud del campo eléctrico.

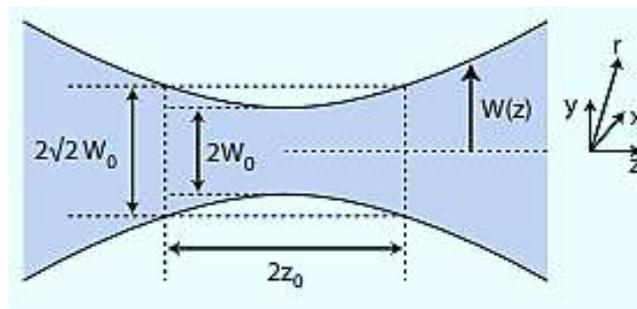


Ilustración 2-15: Ilustración de un haz gaussiano y sus parámetros

Fuente: Zappe, 2010, p.47

2.2.1.1. Ecuación de onda paraxial

Un caso especial de la solución de la ecuación de Helmholtz son las ondas paraxiales siendo la base para la propagación del haz gaussiano, teniendo una variación transversal limitada en comparación a la onda plana. Para una onda plana las amplitudes de los campos eléctrico y magnético son constantes y sus direcciones son mutuamente excluyentes y perpendiculares al vector de propagación, el haz de radiación tiene un comportamiento similar a una onda plana, pero se permite una variación perpendicular al eje de propagación y aun así se puede decir que los campos eléctrico y magnético son mutuamente perpendiculares a la dirección de propagación (Yeap y Hirasawa, 2020, p.132). Al tener en cuenta la dirección en z positivo se puede escribir la distribución para cualquier componente del campo eléctrico (sin dependencia del tiempo) como:

$$E(r, z) = u(r, z)e^{-jkz} \quad (2.21)$$

En la ecuación 2.21: $u(x, y, z)$ es una función escalar compleja y describe la parte de la onda no plana del haz. Al reemplazar la ec. 2.21 en la ecuación de Helmholtz obtenemos:

$$\left(\frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial z^2} \right) e^{(-jkz)} + k^2 u(r) e^{(-jkz)} - 2jk \frac{\partial u}{\partial z} e^{(-jkz)} - k^2 u(r) e^{(-jkz)} = 0 \quad (2.22)$$

Para que la ec. 2.22 satisfaga la ecuación 2.7 usamos la aproximación paraxial, por ello se dice que es necesaria la condición de variación lenta (Δz) a lo largo del eje de propagación z , que debido a la difracción Δz va a ser comparable a λ , el cambio que experimenta (Δu) es menor que u , es decir, $[\Delta(\partial u/\partial z)/\partial z]\lambda \ll \partial u/\partial z$, por lo que la onda mantiene su naturaleza de onda plana y despreciamos a $\partial^2 u/\partial z^2$ (Teich y Saleh, 2019, p.208). El resultado que se obtiene es la llamada ecuación de onda paraxial:

$$\nabla_t^2 u - j2k \frac{\partial u}{\partial z} = 0 \quad (2.23)$$

$$\frac{\partial^2 u}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial u}{\partial r} - j2k \frac{\partial u}{\partial z} = 0 \quad (2.24)$$

$\nabla_t^2 = \partial^2/\partial x^2 + \partial^2/\partial y^2$: es el operador laplaciano transversal, a veces por analogía con la mecánica cuántica también se la llama ecuación de Schrödinger lineal (Forbes, 2014, p.49). Las soluciones de la ecuación de onda paraxial son los modos del haz Gaussiano.

2.2.2. Modo principal Gaussiano

La ecuación 2.23 expresada en coordenadas cilíndricas nos proporciona una solución más simple de la onda paraxial axialmente simétrica, su forma es (Yeap y Hirasawa, 2020, p.132):

$$(r, z) = A(z) \exp\left(-\frac{jk r^2}{2q(z)}\right) \quad (2.25)$$

r es nuestro parámetro radial ($r^2 = x^2 + y^2$), A representa un cambio de fase complejo que está asociado al eje de propagación z y q es un parámetro del haz complejo que representa la variación gaussiana en la intensidad del haz con la distancia desde el eje óptico y también nos indica la

curvatura del frente de fase cuando es esférico cerca del eje (Kogelnik y Li, 1966, p.1553), A y q aún no se determinan, para encontrar la solución a los dos términos desconocidos sustituimos (2.25) en (2.24) y se obtiene la expresión (2.26), para satisfacer tal equivalencia, ambas partes en paréntesis deben ser igual a 0, obteniendo dos relaciones que deben satisfacerse simultáneamente:

$$\frac{k^2 r^2 A}{q^2} \left(\frac{\partial q}{\partial z} - 1 \right) - 2jk \left(\frac{A}{q} + \frac{\partial A}{\partial z} \right) = 0 \quad (2.26)$$

$$\frac{\partial q}{\partial z} = 1 \quad y \quad \frac{\partial A}{\partial z} = -\frac{A}{q} \quad (2.27)$$

La primera parte de la igualdad 2.27 tiene la solución:

$$q(z) = q(z_0) + (z - z_0) \quad (2.28)$$

Donde: $q(z)$, representa el parámetro de salida de un plano, y $q(z_0)$, el parámetro de un segundo plano (cuando entrada), separados por una diferencia entre la distancia inicial (z_0) y final (z) (Kogelnik y Li, 1966, p.1553), definimos la posición de referencia a lo largo del eje z como $z_0=0$ consiguiendo:

$$q(z) = q(0) + z \quad (2.29)$$

Debido a que en la función 2.25 aparece como $1/q(z)$ es necesario reescribir en función de sus dos parámetros real (r) e imaginario (i) obteniendo la equivalencia 2.30 que al ser reemplazada en 2.25 nos da como resultado la ecuación 2.31:

$$\frac{1}{q} = \left(\frac{1}{q} \right)_r - j \left(\frac{1}{q} \right)_i \quad (2.30)$$

$$\exp \left(\frac{-jkr^2}{2q(z)} \right) = \exp \left[\frac{-jkr^2}{2} \left(\frac{1}{q} \right)_r - \frac{kr^2}{2} \left(\frac{1}{q} \right)_i \right] \quad (2.31)$$

El término imaginario presenta la forma de la variación de fase el cual produce un frente de onda esférico en nuestro límite paraxial, esta comparación esta descrita por la ecuación 2.32 para el caso de un plano de valor fijo en z (Forbes, 2014, p.51), donde R representa el radio de curvatura, tenemos que en el límite cuando $r \ll R$, el aplazamiento de la fase conduce a que sean aproximadamente iguales, entonces se tendrá una superficie con radio de curvatura $R(z)$ y la

variación de fase relativa estará dada por $\eta(r) = \pi r^2 / \lambda R(z)$ (Yeap y Hirasawa, 2020, p.133), de este modo se puede identificar la parte real de $1/q(z)$ obteniendo la solución (2.33)

$$\exp\left(-jk(R - \sqrt{R^2 - r^2})\right) = \exp\left[-j \frac{\pi r^2}{\lambda R(z)}\right] \quad (2.32)$$

$$\left(\frac{1}{q}\right)_r = \frac{1}{R(z)} \quad (2.33)$$

La segunda parte de la ecuación (2.31) tiene una variación gaussiana en función a la distancia del eje de propagación z , por lo que toma la forma de una distribución gaussiana:

$$f(r) = f(0) \exp\left[-\left(\frac{r}{r_0}\right)^2\right] \quad (2.34)$$

r_0 representa la distancia $1/e$ respectiva al valor en el eje de propagación (Yeap y Hirasawa, 2020, p.135), para que la parte imaginaria tome esa forma necesitamos reemplazarlo por:

$$\left(\frac{1}{q}\right)_i = \frac{2}{kw^2(z)} = \frac{\lambda}{\pi w^2} \quad (2.35)$$

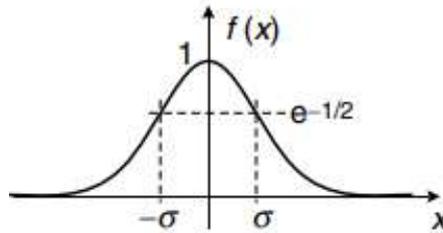


Ilustración 2-16: Función gaussiana.

Fuente: Lipson et al, 2010, p.107

Para la igualdad 2.35, w se define como la cintura del haz en la cual el campo cae a $1/e$ relativamente al valor del eje, y r representa la distancia perpendicular desde el eje del haz. La Ilustración 2-16 muestra el diámetro de $1/e^2$ de la función gaussiana, considerada en este caso como $2w$. Como q depende del eje de propagación z , tanto R como w dependerán de la posición de z (Silfvast et al, 2003, p.23). Al encontrar los valores de $q(z)$, tanto la parte real como imaginaria tenemos la siguiente solución:

$$\frac{1}{q(z)} = \frac{1}{R(z)} - \frac{j\lambda}{\pi w^2} \quad (2.36)$$

Cuando $z=0$ en la función 2.25 aparece el término $q(0)$ y A_0 , y con w_0 igual a $(\lambda q(0)/j\pi)^{1/2}$ se encuentra la distribución relativa del campo escalar:

$$u(r, 0) = u(0,0) \exp\left(\frac{-r^2}{w_0^2}\right) \quad (2.37)$$

El haz gaussiano va a contraerse hasta un diámetro mínimo de $2w_0$ también llamado el radio de cintura del haz, $q(0)$ es el parámetro del haz complejo en la cintura puramente imaginario, y con ello obtenemos una nueva expresión para la función $q(z)$ a una distancia z (Kogelnik y Li, 1966, p.1553):

$$q(z) = \frac{j\pi w_0^2}{\lambda} + z \quad (2.38)$$

Para tener un mejor manejo de los parámetros del haz gaussiano simplemente se expresa en términos de distancia focal también conocido como “distancia Rayleigh” el cual deriva de la teoría del resonador, $z_r = \pi w_0^2/\lambda$ (Teich y Saleh, 2019, p.280), con esto se puede reescribir la ecuación 2.38:

$$q(z) = jz_r + z \quad (2.39)$$

Combinado la ecuación 2.39 y 2.36 hallamos el radio de curvatura del haz gaussiano (R) y el ancho de la cintura del haz (w) (Eichhorn, 2014, p.58) :

$$R(z) = z \left[1 + \left(\frac{z_r}{z}\right)^2\right] \quad y \quad w(z) = w_0 \sqrt{\left[1 + \left(\frac{z}{z_r}\right)^2\right]} \quad (2.40)$$

Para finalizar con la solución de la ecuación básica del haz gaussiano, reescribimos nuestra segunda parte de la ecuación (2.27) con $dz = dq$ tenemos $\frac{dA}{A} = -\frac{dq}{q}$ y de deducimos que $A(z)/A(0) = q(0)/q(z)$ y sustituyendo tenemos:

$$\frac{A(z)}{A(0)} = \frac{1 + \frac{j\lambda z}{\pi w_0^2}}{1 + \left(\frac{\lambda z}{\pi w_0^2}\right)^2} \quad (2.41)$$

Teniendo en cuenta que el cambio de fase del haz gaussiano, obtenemos:

$$\frac{A(z)}{A_0} = \frac{w_0}{w} \exp(j\eta) \quad (2.42)$$

Al encontrar todos los parámetros y tomando la amplitud en el eje de la cintura de haz, se obtiene la expresión completa para el modo del haz gaussiano fundamental, r es nuestro parámetro radial (Yeap y Hirasawa, 2020, p.136):

$$u(r, z) = A_0 \frac{w_0}{w(z)} \exp\left(\frac{-r^2}{w^2} - \frac{j\pi r^2}{2R(z)} + j\eta\right) \quad (2.43)$$

Para obtener el campo eléctrico solo reemplazamos la ecuación (2.43) en (2.21) podemos ver que solo difiere en el factor de fase de onda plana, entonces el campo eléctrico escalar de un haz gaussiano monocromático polarizado uniformemente está dado por (Hokr et al., 2015, p.3):

$$E(r, z) = E_0 \frac{w_0}{w} \exp\left(\frac{-r^2}{w^2} - jkz - \frac{j\pi r^2}{2R(z)} + j\eta\right) \quad (2.44)$$

2.2.3. Propiedades

2.2.3.1. Intensidad

La intensidad óptica $I(r, z) = |E(r, z)|^2$ en función de las posiciones axial (z) y radial (r) se puede expresar como lo indica la ecuación (2.45), donde $I_0 = |E_0|^2$ en cualquier valor, se puede decir que la intensidad es una distribución gaussiana de r , presenta un pico en el eje z cuando $r=0$, y disminuye a medida que aumente r , el ancho del haz w de la distribución gaussiana aumenta con la distancia axial como lo indica la Ilustración 2-17 (Teich y Saleh, 2019, p.275) :

$$I(r, z) = I_0 \left(\frac{w_0}{w(z)}\right)^2 e^{-\frac{2r^2}{w(z)^2}} \quad (2.45)$$

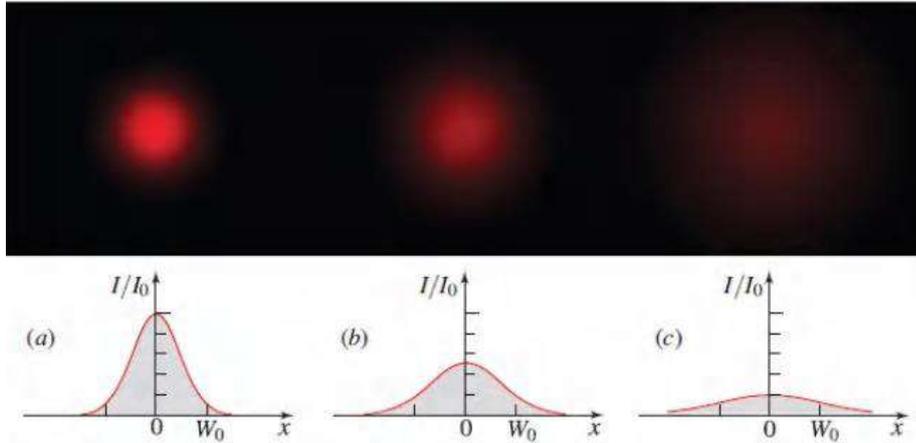


Ilustración 2-17: Relación intensidad y ancho de cintura del haz

Fuente: Teich y Saleh, 2019, p.276

Cuando $r=0$, la ec. (2.45) tiende a reducirse a la igualdad 2.46 y además cuando nuestro eje axial $z=0$ vamos a tener que $I(0,0) = I_0$ (Teich y Saleh, 2019, p.276):

$$I(0, z) = I_0 \left(\frac{w_0}{w(z)} \right)^2 = \frac{I_0}{1 + \left(\frac{z}{z_r} \right)^2} \quad (2.46)$$

2.2.3.2. Potencia

La potencia total que es transportada por el haz es igual a la integral de la intensidad óptica sobre cualquier plano transversal (eje de propagación z) (Teich y Saleh, 2019, p.276).

$$P = \int_0^{\infty} I(r, z) 2\pi r dr \quad (2.47)$$

Del cual se puede obtener que:

$$P = \frac{I_0 \pi (w)^2}{2} \quad (2.48)$$

Por lo tanto, se dice que la potencia es equivalente la mitad de la intensidad máxima multiplicada por el área del haz cuyo resultado es independiente de z (Teich y Saleh, 2019, p.276).

2.2.4. Parámetros

De la ecuación 2.44 definimos los siguientes parámetros tales como indica la Ilustración 2-18:

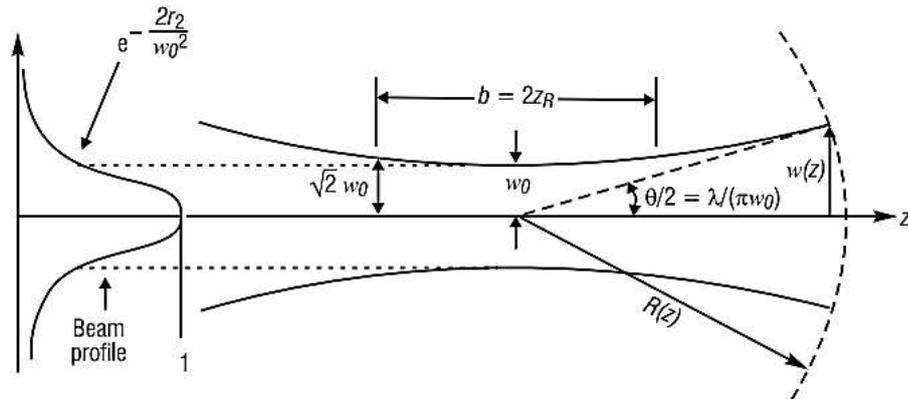


Ilustración 2-18: Parámetros del haz gaussiano

Fuente: Silfvast et al, 2003, p.23

2.2.4.1. Radio de Curvatura

$$R(z) = z \left[1 + \left(\frac{z_r}{z} \right)^2 \right] \quad (2.49)$$

El radio de curvatura del frente de onda $R(z)$ es la medida de la curvatura de los frentes de onda para cualquier z . El valor de $R(z)$ tiene cambios en tres regiones: si $z \ll z_r$, $R(z) \rightarrow \infty$, es decir si z es muy pequeño en comparación con la distancia de Rayleigh z_r , se dice que z tiende a estar cerca a la cintura del haz; si $z = z_r$, entonces $R(z) = 2z_r$, por lo que, en la distancia de Rayleigh, se obtiene la máxima curvatura de los frentes de onda; si $z \gg z_r$, se tiene que $R(z) = z$, entonces el haz se propaga demasiado y el frente de onda del haz Gaussiano es esférico. Después de haber analizado los tres casos, cuando el haz gaussiano se encuentra cerca de la cintura del haz, el frente de onda es plano, y si está en el infinito el frente de onda es esférico (Meschede, 2006, p.48).

2.2.4.2. Ancho del haz

$$w(z) = w_0 \sqrt{\left[1 + \left(\frac{z}{z_r} \right)^2 \right]} \text{ con } w_0 = \left(\frac{z_r \lambda}{n\pi} \right)^{1/2} \quad (2.50)$$

En la ecuación 2.50: w_0 es el valor mínimo del radio de cintura del haz para $z = 0$; $w(z)$, determina el radio de la sección transversal del haz para cualquier z . Para la región dentro de la zona de Rayleigh, el radio del haz $w(z)$ permanece constante, mientras que, en la región lejana, aumenta linealmente según (Meschede, 2006, p.48) :

$$w(z) \simeq w_0 \left(\frac{z}{z_r} \right) \quad (2.51)$$

2.2.4.3. Factor de fase

$$\eta = \tan^{-1} \left(\frac{z}{z_r} \right) \quad (2.52)$$

η , es un factor de fase que representa una pequeña desviación de la evolución de fase lineal de onda plana que va de $-\pi/2 \leq \eta \leq \pi/2$. Esta fase también es conocida como fase Gouy; la mitad se recolecta dentro de la zona de Rayleigh. Al viajar a través del foco, la fase se invierte efectivamente, lo que recuerda a dos rayos parciales que intercambian posiciones relativas cuando se cruzan en un punto focal (Meschede, 2006, p.49).

2.3. Láser

A finales de 1950 y principios de 1960 los físicos y laboratorios de investigación buscaban aprovechar las capacidades de la amplificación de ondas, Charles Townes descubrió que esto era posible al construir el máser, posteriormente junto con Schawlow publicaron un artículo para extender la idea del máser a frecuencias ópticas ya que en ese momento las longitudes de ondas producidas en el máser eran comparables a las dimensiones de dispositivo (1,25 cm). En 1960 Theodore Maiman construyó el primer láser usando un cristal de rubí como amplificador y una lámpara de destello como fuente de energía de ahí se produjo un rayo rojo intenso que salía desde el extremo de la varilla cuando se disparó la lámpara (Silvvest et al, 2004, p.4). Desde entonces se ha fabricado algunos láser tales como el de gas que está compuesto de helio y neón fabricado por Bell Laboratories.

El acrónimo Láser significa Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, es decir, ampliación de luz por emisión estimulada de radiación, se deriva de su predecesor el máser, es un oscilador óptico con fuente de campos de luz intensos y coherentes, teóricamente sus propiedades ópticas fueron estudiadas por Schawlow y Townes en el llamado máser óptico, más tarde llamado láser. Este dispositivo consta de un amplificador óptico un conjunto de espejos útiles para retroalimentar la luz, como se puede ver en la Ilustración 2-19, la salida del láser se da por el espejo parcialmente transmisor (Teich y Saleh, 2007, p. 569).

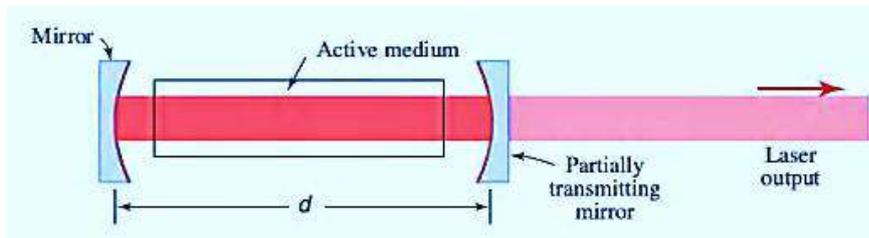


Ilustración 2-19: Estructura Básica de un sistema láser

Fuente: Teich y Saleh, 2007, p. 569

2.3.1. Funcionamiento

La clave del funcionamiento de láser es la emisión estimulada, basada en la idea cuántica de Max Planck donde se explica la radiación del cuerpo negro, Albert Einstein en 1917 propuso los conceptos de emisión y absorción estimulada de la radiación (Hernández y Thompson, 2017, p.579). Para describir la interacción de fotones con átomos, se debe considerar niveles de energía existentes, cuyo átomo aislado puede existir en su estado fundamental con energía E_1 , o en un estado excitado cuya energía es E_2 . Existen 3 procesos en los cuales el átomo puede pasar de un estado a otro:

1.- Absorción: el átomo se encuentra en su estado de menor energía (fundamental) que en presencia de un modo de radiación altera a la frecuencia (f), este corpúsculo absorbe una cantidad de la energía $E = hf$ de ese campo y pasa al estado de mayor energía (Halliday, 2013, pp. 1241-1244).

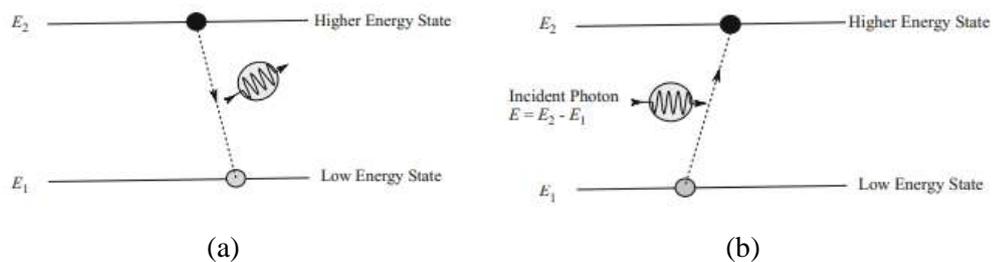


Ilustración 2-20: (a) absorción, (b) emisión espontánea

Fuente: Vanderwerf, 2017, p.76

2.- Emisión espontánea: el átomo inicialmente se encuentra en el estado excitado, durante unos pocos nanosegundos caerá a un estado de menor energía y liberará su energía emitiendo un fotón que no tiene dirección particular (Vanderwerf, 2017, p.75), es llamado emisión espontánea porque dicha transición es independiente del número de fotones (Ver Ilustración 2-20 (b)).

3.- Emisión estimulada: Si la energía del fotón incidente es igual a la diferencia entre los dos niveles de energía, al pasar el electrón al nivel de baja energía, el fotón va a estimular la caída del electrón y crea otro fotón duplicado el cual va a moverse en la misma dirección del fotón original (Ver Ilustración 2-21), este par de fotones adicionales van a viajar juntos con propiedades idénticas como lo dice Satyendra Bose y Albert Einstein en su teoría estadística desarrollada en 1920 (Vanderwerf, 2017, pp.75).

Tanto la absorción, emisión espontánea y emisión estimulada se basan en la densidad de probabilidad dentro de la cavidad de volumen V , es decir, la probabilidad de que se produzca cualquiera de los procesos en un intervalo de tiempo, y se rigen la misma ley:

$$p_{ab} = \frac{c}{V} \sigma(f) \quad (2.53)$$

Donde c es la velocidad de la luz, $\sigma(f)$ es conocida como la sección transversal de transición que depende de nuestra frecuencia de resonancia (f) con unidades de cm^2 (Teich y Saleh, 2007, p. 502).

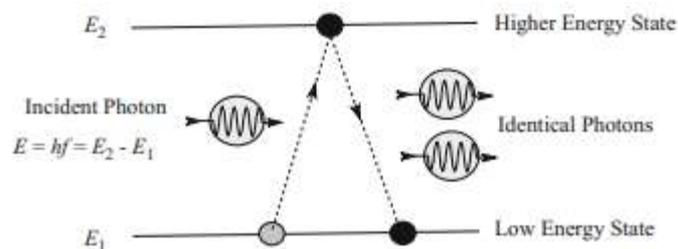


Ilustración 2-21: Emisión estimulada

Fuente: Vanderwerf, 2017, p.76

Normalmente existen más átomos en el estado fundamental que en los estados superiores como lo indica la Ilustración 2-22 (a), sin embargo, para producir la luz se requiere más átomos en el estado excitado (E_2) en comparación con el estado fundamental (E_1), este proceso es llamado inversión de población y se lo puede ver en la Ilustración 2-22 (b), es necesaria para la emisión estimulada ya que produce una emisión de fotones adicionales todos en fase y moviéndose en la misma dirección al fotón original (Halliday, 2013, pp. 1243) (Ver Ilustración 2-23) .

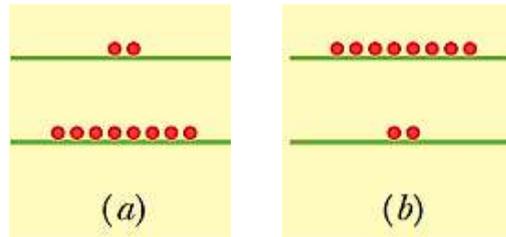


Ilustración 2-22: (a) Equilibrio térmico, (b) Inversión de población.

Fuente: Halliday, 2013, pp. 1241

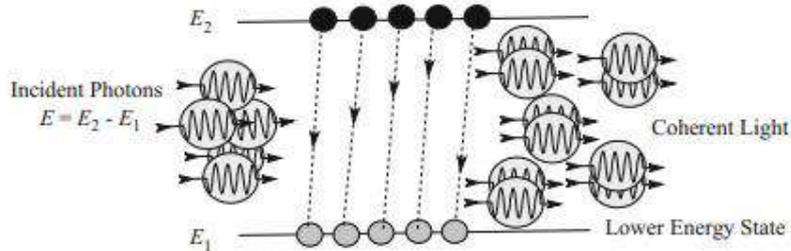


Ilustración 2-23: Generación de haz

Fuente: Vanderwerf, 2017, p.76

2.3.1.1. Amplificación óptica y retroalimentación

La amplificación de señales ópticas se basa en el fenómeno de emisión estimulada e inversión de población, esto ocurre cuando se logra una ruptura en el sistema de equilibrio térmico, es decir, el sistema de niveles de energía sale de su estado de equilibrio, provocando que la cantidad de átomos del medio activo en niveles más altos de energía sea mayor que los átomos en los niveles de menor energía, este suceso se rige bajo la distribución de Boltzmann:

$$N_2 = N_1 e^{-\frac{E_2 - E_1}{k_B T}} \quad (2.54)$$

Donde sabemos que $E_2 > E_1$, $E_2 - E_1 = hf_0$, f_0 es la frecuencia de resonancia de transmisión entre los dos niveles de energía, solo cuando $T \rightarrow \infty$ y exista un medio de ganancia existirán más átomos ($N_2 > N_1$) en el nivel de energía más alto.

Por este motivo se necesita en primero lugar dar un aporte de energía externa para conseguir la inversión de población a través de un bombeo óptico, cuya fuente de luz puede ser de naturaleza eléctrica, óptica o química, como ejemplo tenemos el aplicar corriente eléctrica, una reacción

química, la descarga de electrones en el seno de un gas, la iluminación mediante otra fuente luminosa, entre otras (Vanderwerf, 2017, p.77).

En segundo lugar, debe existir un mecanismo que devuelva los fotones generados hacia el medio amplificador, consiste en una cavidad que está compuesto por un par de espejos donde rebota la luz emitida de un lado a otro, separados por una longitud L , y al pasar por el medio activo aumenta la intensidad de la luz emitida, proceso conocido como amplificación óptica o en cascada (Vanderwerf, 2017, pp.71-79). Esta construcción se puede observar en la Ilustración 2-19, recibe el nombre de cavidad de Fabry-Perot cuyo coeficiente de reflexión de los espejos debe ser elevado para favorecer la realimentación, pero no excesivamente, de esta manera va a dejar escapar hacia el exterior de la cavidad la potencia suficiente para generar nuestro haz de fotones deseado (Boquera, 2005, 2012).

El incremento de intensidad de la luz emitida en el amplificador óptico esta descrito por la ecuación 2.55, $\gamma(f)$ representa la ganancia del medio por unidad de longitud del medio, y z es el eje de propagación, el coeficiente de ganancia es proporcional a la diferencia de la población $N = N_2 - N_1$, y $\sigma(f) = (\lambda^2/8\pi t_{sp})g(f)$ (Teich y Saleh, 2007, p.465).

$$I(z) = I(0) \exp(\gamma(f)z) \quad \text{con} \quad \gamma(f) = N\sigma(f) \quad (2.55)$$

Dónde $g(f)$, es una función de forma de onda o de línea, la cual puede tener una forma Lorentziana o Gaussiana, en los láseres donde el medio activo es un sólido $g(f)$ es Lorentziana, mientras que cuando el medio activo es un gas $g(f)$ es Gaussiana como lo indica la Ilustración 2-24. y t_{sp} , es el tiempo de vida de radiactivo de la transición láser (Aboites, 2017, p.4).

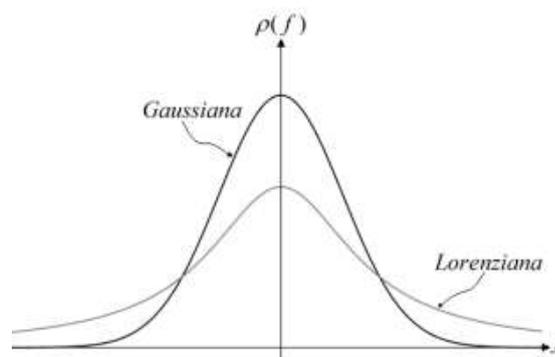


Ilustración 2-24: Función de forma de onda o línea

Fuente: Aboites, 2017, p.4

2.3.2. Modos de cavidad longitudinal

El funcionamiento y la construcción de un láser usualmente se basa en la resonancia que ocurre dentro de la cavidad del láser debido a la producción de ondas estacionarias con un nodo en cada espejo, sin embargo, el tener los espejos en cada extremo conlleva al desarrollo de modos longitudinales que dependen de la frecuencia oscilante y modos transversales que dependen del espacio.

2.3.2.1. Modo Longitudinal o axial

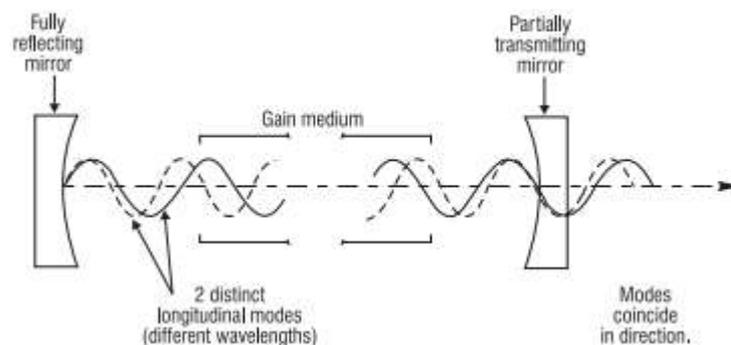


Ilustración 2-25: Dos modos longitudinales diferentes que funcionan simultáneamente en la cavidad

Fuente: Silfvast et al, 2003, p.22

La Ilustración 2-25. nos indica que dentro de la cavidad del láser se desarrolla el haz, el cual viaja de un lado a otro entre la distancia de los espejos donde ocurre un número exacto de algunas longitudes de onda que están dentro del ancho de banda de ganancia del láser, las cuales tienden a mejorar más que otras, dichas longitudes son aquellas que forman una onda estacionaria que va a tener cientos de miles de picos, si tenemos más de una onda estacionaria, cada onda va a estar separada por una cantidad exacta y fija (Silfvast et al, 2003, p.20). Esta separación de frecuencias estará dada por la ecuación 2.56 al dividir la velocidad de la luz por el doble de la longitud de la cavidad:

$$\Delta f = \frac{c}{2L} \quad (2.56)$$

Normalmente estos modos oscilan de forma independiente, pero existen técnicas disponibles para acoplarlos y unir sus fases (Teich y Saleh, 2019, p.1418). La Ilustración 2-26. (a) nos muestra una serie de modos posibles, separados por una frecuencia Δf constante, donde se representa la intensidad (I) y la frecuencia (f). Como ya se mencionó podemos restringir el número de modos observables: primero, en la Ilustración 2-26. (b) el número está restringido de forma natural por el perfil de

ancho de banda de las transiciones atómicas, es decir se encuentra restringido por la curva de ganancia; segundo, podemos recubrir los espejos para reflejar sobre un ancho de banda de longitud de onda deseado (Vanderwerf, 2017, p.78). Cuando restringimos la emisión a un solo modo, el rayo láser es casi monocromático.

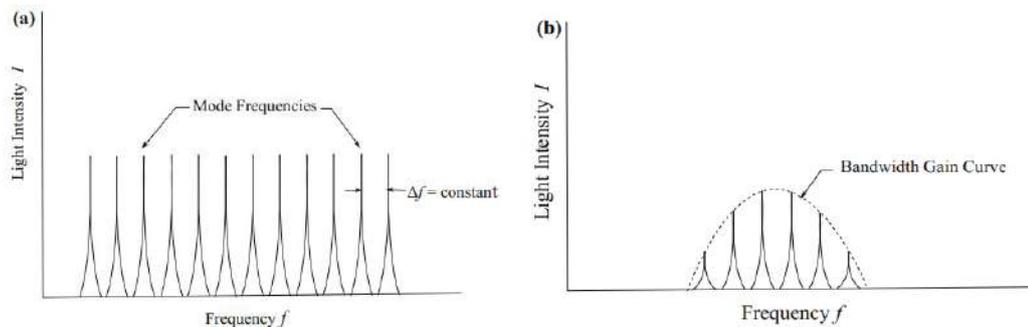


Ilustración 2-26: (a) Serie de modos longitudinales y (b) Restricción de modos longitudinales

Fuente: Vanderwerf, 2017, p.78

2.3.2.2. Modo Transversal

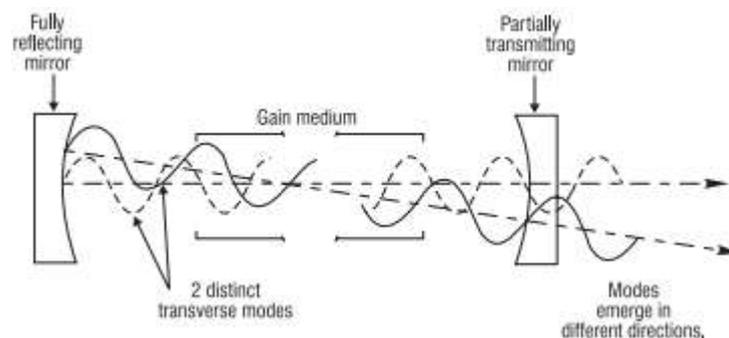


Ilustración 2-27: Modos Transversales

Fuente: Silfvast et al, 2003, p.22

Los modos electromagnéticos transversales (TEM) a diferencia de los modos longitudinales, implican caminos ópticos levemente diferentes a través del medio amplificador, por ende, también involucran direcciones levemente diferentes cuando emergen del láser como lo indica la Ilustración 2-27. Si cada modo transversal viaja en un camino único va a consistir en varios modos longitudinales con una separación de frecuencia dada por la ecuación 2.38 (Silfvast et al, 2003, p.22). En general se expresa como TEM_{mn} , donde m representa el número de líneas de separación de nodos en la dirección x y n indica el número de líneas de separación de nodos en la dirección y (Vanderwerf, 2017, p.79). El modo transversal de orden más bajo es el modo TEM_{00} , se lo puede ver

en la Ilustración 2-28, el cual viaja por el eje central del medio de ganancia del láser, tiene un perfil de intensidad de haz en la dirección transversal a la dirección de propagación que se describe mediante una función gaussiana. Los modos que tienen orden superior poseen haces ligeramente diferentes como lo indica la Ilustración 2-27, y también en la Ilustración 2-28 se muestra el modo TEM_{11} cuando se proyecta en una pantalla, tiene una división en la dirección x y también una separación de nodos en y.

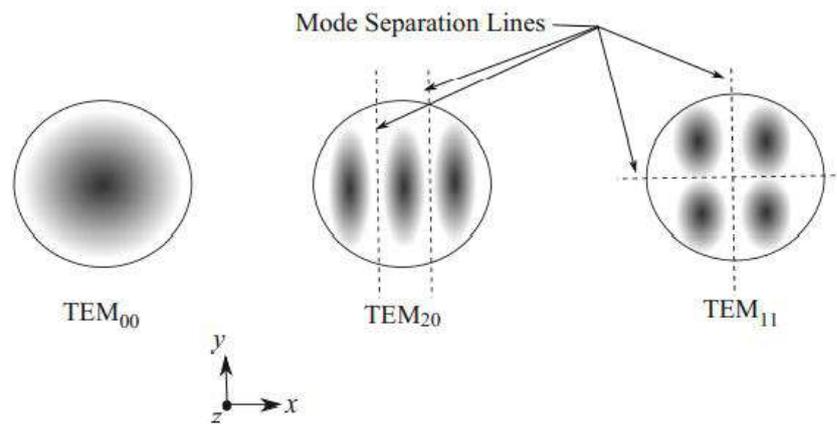


Ilustración 2-28: Ilustración de modo TEM_{00}

Fuente: Vanderwerf, 2017, p.79

2.3.3. Propiedades del rayo láser

El láser es una fuente de energía luminosa, pero debido a sus propiedades especiales las convierte en un tipo especialmente adecuado para aplicaciones de investigación tales como médicas.

1. **Monocromaticidad:** los láseres emiten una sola longitud de onda, es decir un haz puro o monocromático, esta propiedad se debe a que solo una onda electromagnética monocromática de frecuencia ν_0 dada por $f_0 = (E_2 - E_1)/h$ puede ser amplificada y además dado que el arreglo de espejos forma una cavidad resonante, la oscilación puede ocurrir solo en las frecuencias de resonancia de esta cavidad. Esta última circunstancia conduce a que el ancho de línea del láser sea a menudo mucho más estrecho que el ancho de la línea donde ocurre transición de niveles (Svelto, 2010, pp.8-13).
2. **Coherencia:** Para cualquier onda electromagnética monocromática se introduce dos conceptos de coherencia: espacial, tiene que ver con el comportamiento en el tiempo que exhiben la diferencia de fase para las ondas que conforman el haz, dicha diferencia debe ser constante en el tiempo para que exista tal coherencia perfecta o lateral, por ejemplo, tenemos dos puntos b_1 y b_2 en un $t = 0$, los cuales al encontrarse en el mismo frente de onda y con campos eléctricos $E_1(t)$ y $E_2(t)$, por definición la diferencia entre las dos fases de campo

cuando el $t = 0$ es cero y por ende ahora permanece cero en cualquier tiempo y la coherencia es perfecta entre los dos puntos. Si esto ocurre entre dos puntos del frente de onda existirá tal coherencia perfecta espacial (Ver Ilustración 2-29 (a)); temporal, es necesario considerar un campo eléctrico de la onda electromagnética en un cierto punto B en los tiempos $t + \tau$, si se le da un cierto tiempo de retado τ y si la diferencia de fase entres los campos permanecen iguales dentro de cualquier tiempo t , existirá una coherencia temporal (Svelto, 2010, pp.8-13). Con todo lo mencionado se llega a la conclusión de que toda la energía propagada desde la fuente inicial está en fase. A menudo esta propiedad se usa para crear líneas de interferencia.

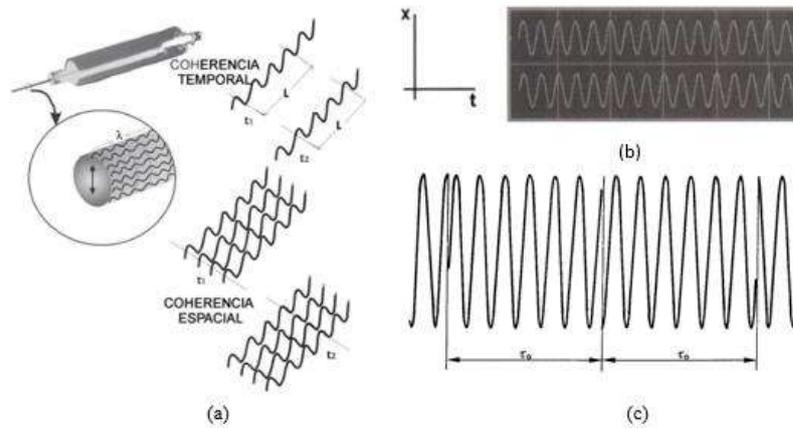


Ilustración 2-29: (a) Coherencia temporal y espacial, (b) coherencia espacial (c) ejemplo de coherencia en un tiempo τ_0

Fuente: González, 2000, pp.35

- 3. Direccionalidad:** Esta es una propiedad que surge como consecuencia de colocar el medio activo en una cavidad resonante. El láser emite un haz estrecho que se va abriendo muy lentamente, Es decir por cada metro recorrido del diámetro del haz aproximadamente crece 1 mm. Todo este fenómeno se debe a que la coherencia espacial perfecta ya que a pesar tener una apertura finita tiene una pequeña divergencia debido a la difracción. Para entender estas partes, se usa la Ilustración 2-30. la cual muestra un haz monocromático con una intensidad uniforme y frente de onda plano el cual incide sobre la pantalla (S) que tiene una apertura (D). El principio de Huyghens establece que “el frente de onda en algún plano P detrás de la pantalla se puede obtener de la superposición de las ondas elementales emitidas por cada punto de la apertura”, por lo que debido al tamaño infinito D que tiene la apertura, el haz pose una divergencia finita y su valor puede ser hallado baja la teoría de la difracción (Svelto, 2010, pp.8-13).

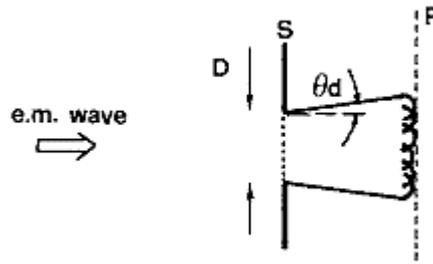


Ilustración 2-30: Difracción de onda

Fuente: Svelto, 2010, pp.36

2.4. Pinzas ópticas

La pinza óptica es un instrumento que permite aplicar fuerzas ópticas para el estudio de partículas microscópicas, aparecieron por primera vez en 1986 por Ashkin, quien demostró que al enfocar un rayo láser con un lente objetivo se puede atrapar una partícula dieléctrica transparente. En 1987, se demostró el atrapamiento láser de células vivas mediante el uso de láseres cercanos al espectro infrarrojo para evitar el calentamiento intenso del láser y el foto-daño de las muestras biológicas (Ashkin y Dziedzic, 1987, p.1517). Desde entonces, las pinzas ópticas son de gran importancia para caracterizar las fuerzas generadas por los láseres, así como para manipular, clasificar y modelar células biológicas. La parte óptica geométrica es evidente cuando se da la fuerza de radiación y de gradiente. La fuerza de radiación empuja la partícula a lo largo de la dirección de propagación de la luz, sin embargo, no atrapa la partícula de manera estable, en cambio, la fuerza del gradiente óptico atrae partículas a regiones con mayor intensidad de luz (Kitamori y Chih-Ming, 2011, p.318). Se logra una trampa óptica estable, si el rayo láser está bien enfocado, donde la fuerza del gradiente domine la fuerza de la radiación.

Propiedades

2.4.1. Arreglo experimental de pinzas ópticas

Las pinzas ópticas se obtienen orientando un rayo láser hacia un punto de difracción limitada, usando un lente objetivo de alta apertura numérica (OBJ). Adicionalmente se necesita un espejo de dirección del haz y un telescopio formado por los lentes (L1 y L2), con la finalidad de dirigir la posición de la pinza óptica, las imágenes de la muestra se obtienen a través de la iluminación, espejos dicróicos (DM) y una cámara. El condensador, el lente L3 y el cuadrante (QPD), permite rastrear la información de la muestra, las huellas resultantes posibilitan el seguimiento del movimiento browniano (BM) y la calibración de la rigidez de las pinzas ópticas. En el primer recuadro tenemos una trampa óptica estable, se puede ver a la muestra dentro del haz (Ver Ilustración 2-31).

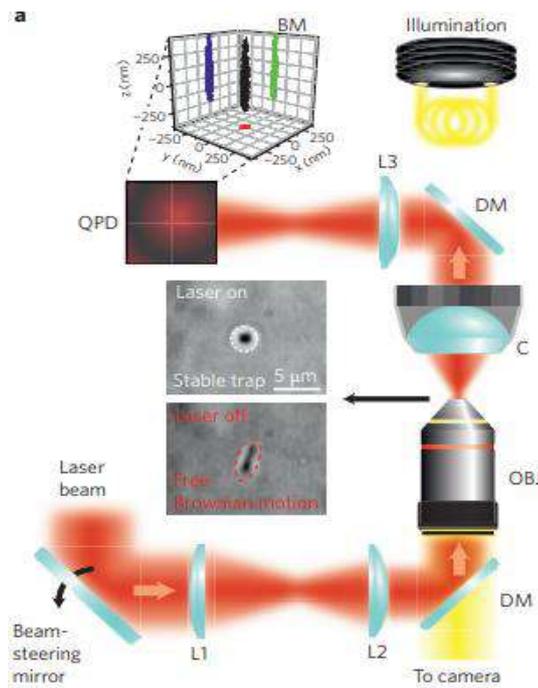


Ilustración 2-31: Diseño experimental básico

Fuente: Maragò et al., 2013, p.810

2.4.2. Montaje experimental

Existen equipos comerciales, sin embargo, la mayoría de los laboratorios de investigación implementan su propio equipo ya que su costo es mucho menor. Se debe evitar, que la trampa óptica no interfiera en el uso normal del microscopio y con esto usarlo para los diferentes experimentos. En la Ilustración 2-32 se muestra un ejemplo del montaje de una pinza óptica básica de un solo haz de luz.

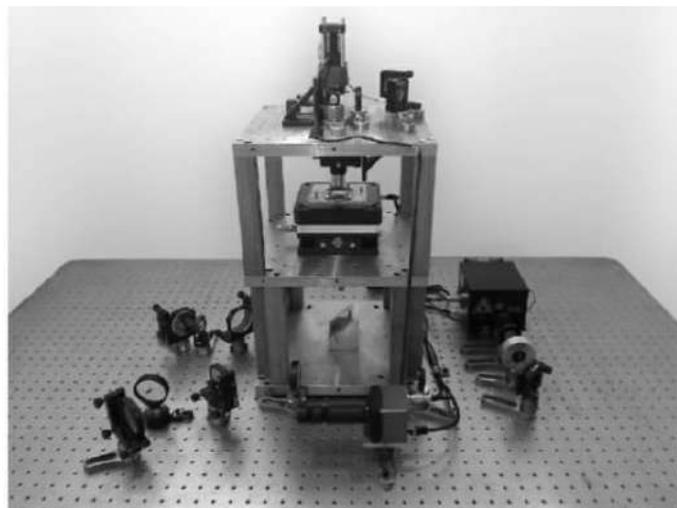


Ilustración 2-32: Pinza óptica

Fuente: Jones et al., 2015

La ubicación correcta: Se debe elegir la ubicación adecuada para garantizar la estabilidad del montaje y la calidad de los resultados experimentales. Para experimentos complejos es necesario elegir un laboratorio con temperatura y humedad estabilizadas, utilizar un laboratorio en la planta baja y con ello limitar las vibraciones del edificio.

Construcción del microscopio invertido: El microscopio se construirá en varios niveles. Se inicia la construcción de estructura de dos niveles, como se evidencia en las Ilustración 2-33 (a) y 2-33 (b). En la parte inferior se fija la mesa óptica; donde se alojarán los componentes ópticos necesarios para preparar el haz óptico y enfocar la imagen de muestra en la cámara. El segundo nivel es una protoboard apoyada en cuatro columnas; donde se alojarán las etapas para sujetar y manipular la muestra. Es importante que ambos niveles sean estables y horizontales. La plataforma de traslación debe estar unida al lado inferior de la placa de pruebas con la finalidad de poder controlar la posición vertical objetivo como se lo puede apreciar en la Ilustración 2-33 (c). Después de esto se puede montar la parte donde se va a colocar la muestra en tres dimensiones, como se evidencia en la parte de la Ilustración 2-33 (d), se coloca la placa de pruebas como un segundo nivel. Se construye un tercer nivel como se muestra en la Ilustración 2-33 (e), donde se ubicarán los componentes de iluminación, detección y condensador. Esta parte nos permite alinear la posición del condensador a lo largo de las direcciones laterales y con ello, poder centrar la posición del haz recolectado. Como último punto, se procede a colocar el objetivo (OBJ) para poder tomar la imagen. Como recomendación se debe colocar un objetivo de bajo aumento porque permite una alineación sencilla.

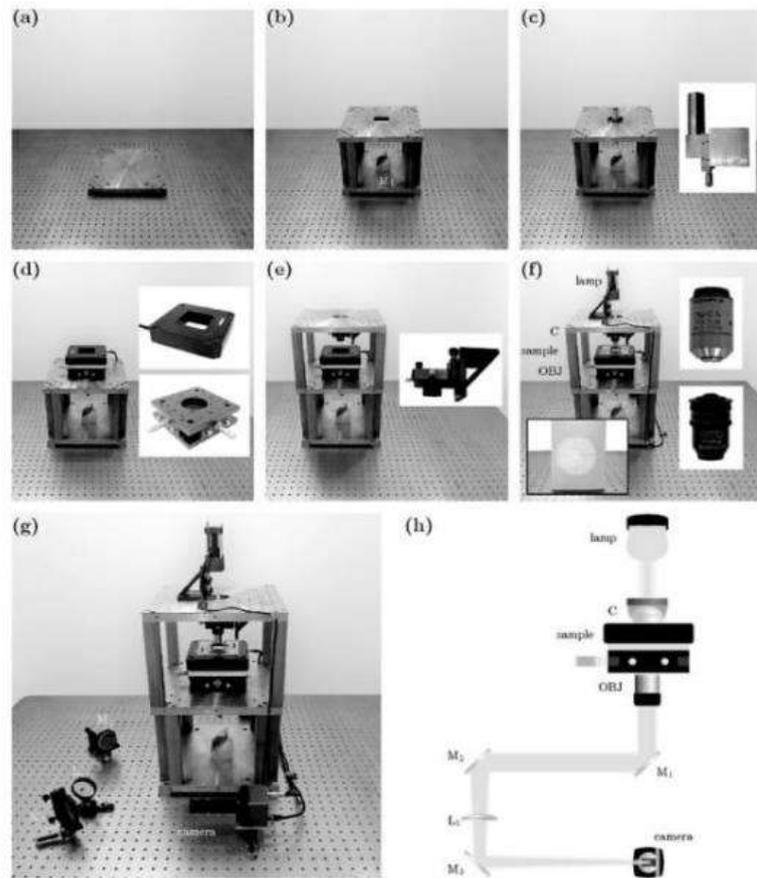


Ilustración 2-33: Alineación del rayo láser para generar unas pinzas ópticas

Fuente: Jone et al., 2015

Preparación de la muestra: lo más sencillo es utilizar alguna micropartícula sintética en una solución acuosa, estas presentan muy buenas características, por ejemplo, esfericidad y variación de tamaño, están ampliamente disponibles de proveedores comerciales. El tamaño ideal para empezar se encuentra en el régimen de tamaño intermedio, es decir, de alrededor de $0,5$ a $2 \mu m$ de radio, donde se maximizan las fuerzas ópticas (Jones et al., 2015).

Alineación del haz óptico: Se debe acoplar el rayo láser a nuestro microscopio invertido. El primer paso es seleccionar el haz adecuado a utilizar, debe elegirse de acuerdo con el tipo de experimento que vamos a hacer. La mayoría utiliza láseres infrarrojos (IR), ya que las muestras biológicas presentan un mínimo de absorción en esta región del espectro electromagnético (Neuman et al., 2004). Al minimizar la absorción de luz por parte de la muestra la posibilidad de dañarla es mínima y los efectos radiométricos (debidos a gradientes de temperaturas) disminuyen, otro parámetro a considerar es la potencia. Hay que tomar en cuenta la calidad del haz ya que es útil para tener un enfoque estrecho, está relacionado con la cintura del haz, la divergencia del haz y considerar el rayo gaussiano. Los lentes nos permiten manipular el diámetro del haz y la

divergencia. Los espejos dielectricos se utilizan para combinar o separar haces de diferentes longitudes de onda como lo hacen los filtros selectivos de longitud de onda, pero al hacerlo introducen una distorsión mínima del frente de onda en los haces transmitidos y reflejados. El haz de salida de la mayoría de los sistemas láser es un haz TEM₀₀ (Gaussiano) con polarización lineal. El control del estado de polarización del haz es importante tanto para manipular el haz, por ejemplo, dividir un solo haz en múltiples haces, como para prepararlo para su uso con dispositivos sensibles a la polarización (Jones et al., 2015).

Captura y manipulación óptica: En este punto todo está listo y se coloca la muestra diluida de micropartículas en la plataforma de la muestra, se procede a atrapar la primera partícula, ajustar la posición y el soporte de la muestra. Adicionalmente para enfocar la imagen es necesario solamente mover el foco de láser unos pocos micrómetros. La cámara CCD es la que permite observar a la partícula.

2.5. Regímenes de atrapamiento óptico

Una partícula queda atrapada en el punto donde el gradiente y las fuerzas de dispersión están en equilibrio, es decir, ligeramente después del foco. El cambio en el momento implica que una fuerza actúa sobre el objeto. Tal fuerza puede, por conveniencia, descomponerse en una *fuerza de dispersión* y una de *gradiente*, donde la primera actúa en la dirección de propagación de la luz y la segunda en la dirección del gradiente de intensidad. Una trampa óptica de un solo haz requiere un gradiente de intensidad pronunciado, que se logra más convenientemente mediante el uso de un objetivo de apertura numérica alta. Aunque el concepto de presión de radiación se conoce desde hace siglos, no es trivial proporcionar una descripción teórica del atrapamiento óptico del tamaño de una micra por un rayo láser fuertemente enfocado que es generalmente válido y fácil de usar. Para simplificar el tratamiento del atrapamiento óptico, se realizan dos aproximaciones dependientes del tamaño que concuerdan bien con los hallazgos experimentales, denominadas aproximaciones de Rayleigh y óptica de rayos (Andersson, 2007, p. 5).

Se establece un supuesto inicial en función del tamaño de la microesfera en relación con la longitud de onda del rayo, o sea que, para una partícula que es mucho más pequeña que la longitud de onda del haz, $d \ll \lambda$, se comporta como un dipolo eléctrico de acuerdo con la dispersión de Rayleigh. Por ese motivo, se desarrolla una descripción simple para las fuerzas ópticas que actúan sobre un dipolo electromagnético, por consiguiente, se lo está tratando dentro del régimen de Rayleigh. Por otro lado, para objetos mucho mayores que la longitud de onda, $d \gg \lambda$, se aborda a la física del haz de captura como un rayo, en otras palabras, la fuerza óptica del haz mencionado se describe en términos de óptica geométrica, considerando varias reflexiones de los rayos en la

microesfera atrapada para determinar el cambio en el momento, es así como estaríamos tratando dentro del régimen de óptica geométrica (Ranha Neves y Cesar, 2019, pp.1525-1526).

Así pues, se exhiben mediante la Ilustración 2-34, los regímenes de atrapamiento óptico y objetos típicos que quedan atrapados dentro de los experimentos de manipulación óptica. Al definirlos, se ha asumido longitudes de onda de atrapamiento que caen en la región espectral visible o del infrarrojo cercano.

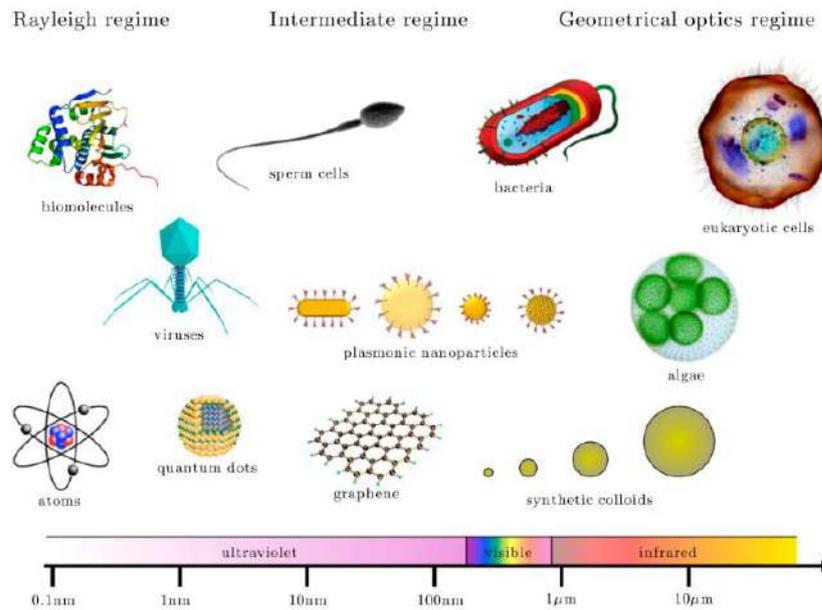


Ilustración 2-34: Regímenes de atrapamiento óptico

Fuente: Jones et al., 2015, p.7

2.5.1. Régimen de la óptica geométrica

Como ya se mencionó, cuando la partícula a atrapar tiene $d \gg \lambda$, nos encontramos en el régimen Mie y las fuerzas que interactuarán en la partícula van a ser calculadas a partir de la óptica de rayos, la luz que ingresa en la partícula sufre el fenómeno de refracción provocando un cambio en el impulso que a su vez corresponde una fuerza de dirección opuesta, el cual se puede entender con la segunda y tercera ley de Newton en donde se menciona que “toda acción tiene su reacción igual y opuesta” (Casterberg, 2008, p.7).

$$F = \frac{dp}{dt} \quad (2.57)$$

El rayo de luz que sale del láser lleva consigo una cantidad de momento lineal $|\mathbf{p}| = \hbar\mathbf{k} = E/n_m c$, que se transfiere en una cierta cantidad cuando interactúa con la superficie de una esfera, E es la energía, n_m índice de refracción del medio, c velocidad de la luz (Casterberg, 2008, p.7) . La magnitud del momento de un rayo de luz (conocido como flujo de momento de un rayo) es la magnitud del momento de los N fotones presentes en el rayo de luz en un intervalo de tiempo (t), y sabiendo que la potencia es la energía usada en un intervalo de t, obtenemos la respectiva magnitud de fuerza asociada a una potencia (dP) (Páez, 2015, p.35):

$$\mathbf{F}_{rayo} = \frac{n_m dP}{c} \quad (2.58)$$

Además, debemos considerar que el rayo incidente posee un momento lineal inicial p_0 el cual va a cambiar cuando interactúe con la esfera a un momento p_f , y por lo tanto esta variación por conservación de momento es transferida a la esfera, como consecuencia por la tercera ley de Newton, la partícula experimenta una fuerza de reacción, en sentido opuesto al cambio del momento lineal del rayo en un intervalo t, teniendo en cuenta el análisis anterior, la fuerza que gana la esfera dependerá solamente de la potencia que le transmite el rayo de luz, del índice de refracción y de c (Páez, 2015, p.36).

$$|\mathbf{F}_{esf}| = \left(n_m \frac{P_0 - P_f}{c} \right) \quad (2.59)$$

Para una partícula que se encuentra dentro de un medio de inmersión, la dirección de la fuerza depende del medio circundante; si el índice de refracción es bajo, la fuerza sobre la esfera estará en la dirección del gradiente; de lo contrario, se alejará. Entonces podemos decir que una partícula como la sílice ($n=1,46$) que tiene un índice de refracción más alto en comparación con el agua ($n=1,33$) va a moverse hacia el centro del haz gaussiano, mientras que una burbuja de aire ($n=1,00$) saldrá del haz (Casterberg, 2008, p.7).

En general la esfera en presencia de un haz gaussiano experimenta dos efectos: el primero es que empuja la partícula en la dirección del haz (z) y la regresa hacia atrás al área de mayor intensidad en dirección perpendicular a la luz (componente transversal y), la fuerza óptica que genera este empuje en dirección axial es conocida como fuerza de Scattering, y la otra fuerza que hace retroceder a la partícula hacia la trampa óptica se conoce como fuerza de gradiente, obteniendo así una fuerza total que actúa sobre la esfera sea igual a (Kumar, 2020, pp.21-22):

$$F_{rayo} = F_{ray,s} + F_{ray,g} \quad (2.60)$$

Este régimen nos permite entender el funcionamiento y la utilidad de las pinzas ópticas tanto cualitativamente como cuantitativamente, ante nuestros ojos son eventos simples sin embargo detrás presenta una teoría compleja.

2.5.1.1. Fuerza de Scattering

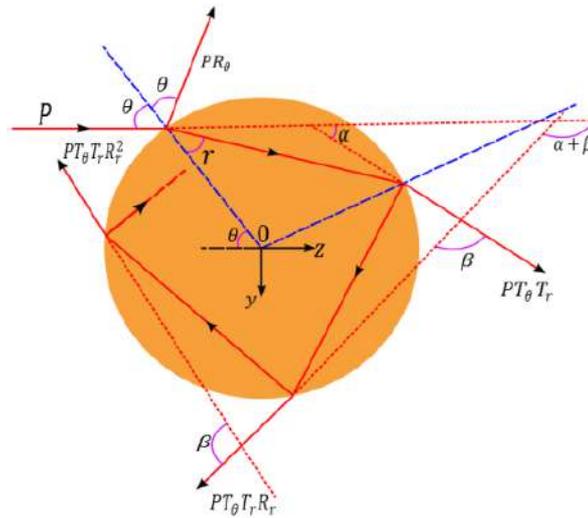


Ilustración 2-35: Rayo incidente con potencia P que interactúa con una esfera formando un $\theta = \theta$ con la normal

Fuente: Páez, 2015, p.37

Partimos de un rayo con potencia P que llega hasta la esfera, la impacta y provoca que sea reflejada o refractada, también se supone que la potencia golpea a la superficie con un cierto ángulo θ y genera múltiples reflexiones y refracciones, tal y como lo indica la Ilustración 2-35, la fuerza que tiene la misma dirección que el eje de propagación z del haz se calcula a partir del cambio de potencia del haz de luz y usando la ecuación 2.73 tenemos (Páez, 2015, p.37):

$$F_z = \frac{n_m}{c} \left[P_{P,z} - (P_{R,z} + \sum_{n=0}^{\infty} P_{Tn,z}) \right] \quad (2.61)$$

En la ecuación 2.61: $P_{P,z}$, es la potencia del rayo que incide en la componente z ; $P_{R,z}$, representa al primer rayo que se refleja en el eje z , y $P_{Tn,z}$ es la potencia de los rayos emergentes de la esfera, es decir, en esta componente se toma en cuenta las reflexiones y refracciones desde que el rayo

ingresa hasta que sale. De la Ilustración 2-35 podemos deducir que las contribuciones tanto para el rayo incidente, el primer rayo reflejado y emergente serán (Páez, 2015, p.38):

$$\begin{aligned}\frac{n_m P_{P,z}}{c} &= \frac{n_m P}{c} \\ \frac{n_m P_{R,z}}{c} &= \frac{n_m P}{c} R_\theta \cos(\pi - 2\theta) \\ \frac{n_m P_{T_1,z}}{c} &= \frac{n_m P}{c} T_\theta T_r \cos(\alpha)\end{aligned}\tag{2.62}$$

Tanto R_θ y T_θ son los coeficientes de Fresnel con un ángulo de incidencia θ : R_θ , intensidad reflejada y T_θ , intensidad transmitida; en la parte interior de la esfera en cambio se tiene a R_r, T_r cuando el ángulo de incidencia es r , obteniendo así las siguientes contribuciones para los 3 siguientes rayos emergentes:

$$\begin{aligned}\frac{n_m P_{T_2,z}}{c} &= \frac{n_m P}{c} R_r T_\theta T_r \cos(\alpha + \beta) \\ \frac{n_m P_{T_3,z}}{c} &= \frac{n_m P}{c} R_r^2 T_\theta T_r \cos(\alpha + 2\beta) \\ \frac{n_m P_{T_4,z}}{c} &= \frac{n_m P}{c} R_r^3 T_\theta T_r \cos(\alpha + 3\beta)\end{aligned}\tag{2.63}$$

De las igualdades 2.62 y 2.63 se dice que: Cada rayo emergente de la esfera forma un ángulo β con su vecino anterior y así hasta formar un ángulo α con eje de propagación z ; T_θ y T_r como se puede ver están presentes en el conjunto de ecuaciones y esto se debe a la trayectoria que tiene el rayo emergente desde que entra hasta que sale, sin embargo, en el primer rayo no está presente el coeficiente de reflexión ya que esto no sucede y en el segundo ocurre una reflexión con ángulo de incidencia dentro de la esfera r , para el tercer rayo va a darse dos reflexiones, en el cuarto rayo sucederán 3 y así sucesivamente hasta que la energía interna de la reflexiones se acabe debido a refracciones. Con todo lo mencionado es posible escribir las contribuciones de los rayos emergentes como (Páez, 2015, p.38):

$$\frac{n_m}{c} \sum_{n=0}^{\infty} P_{T_n,z} = \frac{n_m P}{c} T_\theta T_r \sum_{n=0}^{\infty} R_r^n \cos(\alpha + n\beta)\tag{2.64}$$

Al hallar 2.64 y con las dos primera ecuaciones de 2.62 se puede reescribir la ecuación 2.59 hallando así una fuerza en la componente z igual a:

$$F_z = \frac{n_m P}{c} \left[1 + R_\theta \cos(2\theta) - T_\theta T_r \sum_{n=0}^{\infty} R_r^n \cos(\alpha + n\beta) \right] \quad (2.65)$$

2.5.1.2. Fuerza de gradiente

Partiendo de la misma Ilustración 2-35, se consideran las contribuciones de los rayos que se reflejan y emergen en el componte transversal y para la fuerza, la ecuación 2.66 se tiene:

$$F_y = \frac{n_m}{c} \left[P_{P,y} - (P_{R,y} + \sum_{n=0}^{\infty} P_{T_n,y}) \right] \quad (2.66)$$

Las contribuciones por parte del rayo incidente en el eje y, debido a el primer rayo reflejado y emergente son:

$$\begin{aligned} \frac{n_m P_{P,z}}{c} &= 0 \\ \frac{n_m P_{R,z}}{c} &= -\frac{n_m P}{c} R_\theta \sin(\pi - 2\theta) \\ \frac{n_m P_{T_1,z}}{c} &= \frac{n_m P}{c} T_\theta T_r \cos(\alpha) \\ \frac{n_m P_{T_n,z}}{c} &= \frac{n_m P}{c} R_r^n T_\theta T_r \sin(\alpha + n\beta) \end{aligned} \quad (2.67)$$

La primera ecuación de 2.81 indica que la componente en el eje para el rayo incidente es cero debido al sistema de referencia tomado en el cual coincide con la dirección z. Observando la Ilustración 2-35 se puede deducir que los rayos emergentes cumplen la misma condición que se mencionó anteriormente para la componente z, por ende, se puede escribir que (Páez, 2015, p.39):

$$\frac{n_m}{c} \sum_{n=0}^{\infty} P_{T_n,y} = \frac{n_m P}{c} T_\theta T_r \sum_{n=0}^{\infty} R_r^n \sin(\alpha + n\beta) \quad (2.68)$$

Con 2.68 y las dos primeras ecuaciones de 2.67 y aplicando la propiedad trigonométrica de ángulos dobles para el seno se obtiene la fuerza en el eje y que tiene la esfera:

$$F_y = \frac{n_m P}{c} \left\{ R_\theta \sin(2\theta) - T_\theta T_r \sum_{n=0}^{\infty} R_r^n \sin(\alpha + n\beta) \right\} \quad (2.69)$$

Factor de eficiencia y fuerzas de captura

Las ecuaciones 2.65 y 2.69 , indican la suma de las contribuciones de los rayos que emergen de la esfera, considerar tal sumatoria daría paso a una gran cantidad de cálculos, sin embargo, Rosen y sus colaboradores proponen simplificar estas dos ecuaciones bajo el cálculo de una integral numérica, cuya simplificación tiende a usar el cálculo de la fuerza total en el plano complejo obteniendo así (Ashkin, 1992, p.580):

$$F_z = \frac{n_m P}{c} \left\{ 1 + R_\theta \cos(2\theta) - T_\theta T_r \frac{[\cos(2\theta - 2r) + R_r \cos(2\theta)]}{1 + R_r^2 + 2R_r \cos(2r)} \right\} \hat{z} \quad (2.70)$$

$$F_y = \frac{n_m P}{c} \left\{ R_\theta \sin(2\theta) - T_\theta T_r \frac{[\sin(2\theta - 2r) + R_r \sin(2\theta)]}{1 + R_r^2 + 2R_r \cos(2r)} \right\} \hat{y} \quad (2.71)$$

Estas ecuaciones son exactas ya que suman todos los rayos dispersos, la ecuación 2.70 es la componente que apunta en dirección del rayo incidente llamada fuerza de Scattering (F_s) y la ecuación 2.71 es la componente que apunta en dirección perpendicular del rayo incidente llamada fuerza de gradiente F_g .

Ashkin define un parámetro adimensional llamada “eficiencia de captura”, en la cual relaciona las magnitudes de las fuerzas, el índice de refracción, el número de apertura numérica y el ángulo máximo de incidencia, obteniendo así que la fuerza total es igual a (Ashkin, 1992, p.570):

$$F = Q \frac{n_m P}{c} \hat{u} \quad (2.72)$$

Donde (P) es la potencia del haz de luz incidente, (c) velocidad de la luz, n_m es el índice de refracción del medio. La eficiencia de captura está relacionada con la fuerza de gradiente y la fuerza de Scattering (Páez, 2015, p.46).

2.5.2. Régimen de Rayleigh

El campo electromagnético oscilante del rayo láser como componente de las pinzas ópticas induce un dipolo oscilante, que de igual modo percibe fuerzas de su interacción con el campo electromagnético entrante. Además, el sistema dipolar irradia un campo electromagnético que puede producir un efecto mecánico sobre otros del mismo tipo, lo que lleva, en algunos casos, a la formación de estructuras ordenadas estables, a este fenómeno se conoce como *enlace óptico*.

En este apartado, se examina cómo los dipolos inducidos pueden experimentar fuerzas ópticas en un campo electromagnético. Este planteamiento es útil para estudiar fuerzas ópticas sobre partículas neutras, o también moléculas y nanopartículas. Dentro de este régimen, “pequeño” implica “más pequeño que la longitud de onda electromagnética” y, en contraste, la *aproximación dipolar* es la oposición u antítesis de la tesis de la *óptica geométrica* detallada en el tratado anterior (Jones et al., 2015, p.42). Ahora este régimen se enfoca precisamente en dipolos oscilantes descritos en la sección 2.1.3.2, inducidos por un campo electromagnético emitido por un rayo láser, donde de igual manera se considera un campo re-irradiado por el dipolo (Jones et al., 2015, p.50). La aproximación dipolar se aplica para tratar el comportamiento de un material dieléctrico en presencia de un haz proveniente del láser. En tal contexto, una pequeña esfera dieléctrica se puede tratar como un dipolo oscilante y la fuerza de radiación ejercida sobre este dipolo se puede dividir en dos componentes importantes: fuerza de dispersión y de gradiente relacionados con los cambios de momento de la onda electromagnética debido a la dispersión por el dipolo y la fuerza de Lorentz que actúa sobre el dipolo inducido. En esta situación es conveniente tomar en cuenta el momento dipolar \mathbf{p} para una partícula de radio a tomando en cuenta la ecuación A.12, está dado por (Harada y Asakura, 1996):

$$\mathbf{p}(\mathbf{r}, t) = 4\pi n_2^2 \epsilon_2 a^3 \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right) \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) \quad (2.73)$$

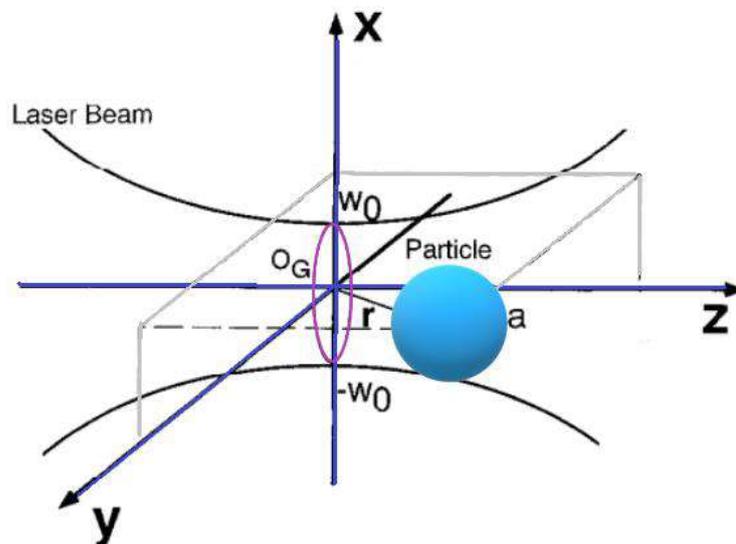


Ilustración 2-36: Haz gaussiano interactuando con una esfera dieléctrica

Realizado por: Parra y Vargas, 2023

2.5.2.1. Fuerzas de radiación

a. Fuerza de Scattering

Como el campo eléctrico oscila armónicamente en el tiempo, el dipolo puntual sigue sincrónicamente al campo eléctrico y, entonces, la partícula actúa como un dipolo eléctrico oscilante que irradia ondas secundarias o dispersas en todas las direcciones. Este evento de dispersión cambia tanto la magnitud como la dirección del flujo de energía de la onda electromagnética. También se produce la correspondiente transferencia de cantidad de movimiento y la fuerza de dispersión asociada con estos cambios se ejerce sobre la partícula. Esta fuerza de dispersión viene dada por (Harada y Asakura, 1996):

$$F = \frac{n}{c} P \quad (2.75)$$

Considerando que el rayo de luz se dirige en la dirección z (eje de propagación), la fuerza de dispersión puede ser denotada en términos de la sección transversal σ de presión de radiación, del promedio temporal del vector de Poynting $|\mathbf{S}(\mathbf{r}, t)|$ orientado en la dirección de propagación del haz $\hat{\mathbf{z}}$ o incluso la intensidad $I(r)$. Adicionalmente se toma en cuenta la ecuación 2.17, para obtener (Rocha, 2009):

$$\mathbf{F}_s(\mathbf{r}) = \frac{n_m}{c} \sigma |\mathbf{S}(\mathbf{r}, t)| \hat{\mathbf{z}} = \frac{n_m}{c} \sigma I(r) \hat{\mathbf{z}} \quad (2.76)$$

Contemplando la ecuación A.14 del anexo K y la ecuación 2.45, la fuerza de dispersión o Scattering dirigida en la dirección z de propagación queda finalmente expresada como:

$$\mathbf{F}_s(\mathbf{r}) = \frac{n_m}{c} \frac{128 \pi^5 a^6}{3 \lambda^4} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2 I(r) \hat{\mathbf{z}} \quad (2.77)$$

b. Fuerza gradiente

La fuerza que experimenta el dipolo en consecuencia de la interacción de los campos eléctrico y magnético sobre este es descrita por la “fuerza de Lorentz”. Tomando en consideración las posiciones de las cargas \mathbf{r}_1 y \mathbf{r}_2 del sistema dipolar, viene dada por:

$$\mathbf{F} = q(\mathbf{E}(\mathbf{r}, t) + \frac{d\mathbf{r}}{dt} \times \mathbf{B}(\mathbf{r}, t)) \quad (2.78)$$

Usando la identidad vectorial, $\nabla E^2 = 2(\mathbf{E} \cdot \nabla)\mathbf{E} + 2\mathbf{E} \times (\nabla \times \mathbf{E})$ con $\nabla \times \mathbf{E} = 0$ como resultado de una de las ecuaciones de Maxwell se obtiene la fuerza gradiente instantánea. Dicha fuerza presenta tres componentes rectangulares dirigidas hacia la zona de mayor incremento de intensidad del haz (Correa Rojas, 2012). A continuación, se expresan la dicha fuerza

$$\mathbf{F}_g(\mathbf{r}, t) = [\mathbf{p}(\mathbf{r}, t) \cdot \nabla](\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)) \quad (2.79)$$

$$\mathbf{F}_g(\mathbf{r}, t) = 2\pi n_m^2 \epsilon_2 a^3 \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2 \nabla E^2(\mathbf{r}, t) \quad (2.80)$$

La fuerza de gradiente que experimenta la partícula en un estado invariable es la interpretación promedio en el tiempo de la ecuación 2.80 esto es $\mathbf{F}_g(\mathbf{r}) = \langle \mathbf{F}_g(\mathbf{r}, t) \rangle_T$. La fuerza gradiente presentará 3 componentes negativas x,y,z para poder empujar a la partícula hacia el área de mayor intensidad según la Ilustración 2-36, es importante reconocer que la fuerza de scattering cumple con la función de acelerar la partícula en la dirección de propagación, y debe ser mayor que la fuerza de gradiente para que exista un confinamiento óptico. Finalmente, la fuerza total que percibe una partícula capturada en la pinza óptica, dentro del régimen de Rayleigh, es la suma de las ecuaciones 2.77 y 2.80 (Correa Rojas, 2012).

2.6. Microorganismos de agua

Para poder conocer el tipo de organismo microscópico que se manipulará en el sistema físico (OT) es necesario comprender que hay miles de organismos de distintas formas y tamaños existentes en el mundo, ciertos microorganismos no presentan célula por lo que se consideran acelulares pero la mayoría están conformados por células, en función de esto los organismos pueden ser unicelulares (presentan una sola célula) o pluricelulares (presentan más de una sola célula) (Physics Wallah, 2018).

De acuerdo con Angulo, A., et al. (2012), la clasificación de las células se basa en los siguientes parámetros:

1. Tamaño y Forma

Las células pueden ser esféricas, ovaladas, elípticas, cuboidales, poligonales, planas. Y se descubrió que la forma de la célula depende de la función que realiza. Ciertas células bacterianas tienen forma cilíndrica de menos de 1 μm de longitud, por otro lado, las células vegetales miden

entre 20-30 μm de longitud, tienen forma poligonal y pared celular rígida. En promedio, las células del reino animal miden de 10-60 μm de diámetro; su membrana celular es muy delgada y flexible.

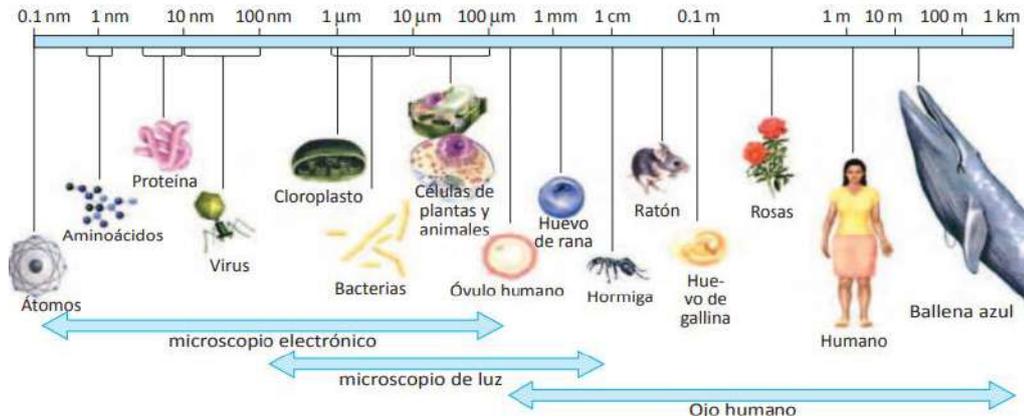


Ilustración 2-37: Tamaño de los seres vivos

Fuente: Angulo et al., 2012

2. Complejidad

Las células son de 2 tipos:

Procarionta: presentan un único compartimiento cerrado rodeado por la membrana plasmática, no tienen un núcleo definido.

Eucariota: disponen de un núcleo bien desarrollado y son más complejas que las células procariontas.

2.6.1. Reinos

En el artículo de Vargas y Villazante (2014) se sostiene que Whittaker en 1969 propuso una nueva sociedad en la que se incluía cinco reinos:

- Monera: se encuentran los organismos procariontas.
- Protista: se encuentran los organismos eucariotas unicelulares.
- Fungi: donde se encuentran todos los hongos pluricelulares.

Más adelante en 1978 Woese propone un nuevo conjunto que incluye dominios fundamentado en la estructura lipídica de la membrana, estos son:

- Bacteria: incorpora procariontas que contienen peptidoglucano en su pared celular.
- Archaea: incorpora procariontas que no contienen peptidoglucano en su pared celular.
- Eukarya: conformado por todos los eucariotas.

Tabla 2-1: Organismos

Procariotas	Eucariotas		VIRUS
Unicelular	Unicelular	Pluricelular	Acelular
Reino Monera	Reino Protista	Reino Fungi	
BACTERIAS	PARÁSITOS	HONGOS	
ARQUEA			

Realizado por: Vargas y Parra, 2023

2.6.2. Grupos

2.6.2.1. Bacterias

Forma: Si presentan una forma alargada y cilíndrica serán denominados bacilos, si tienen forma redondeada se llaman cocos, los de estructura helicoidal serán los espirilos, los cortos y curvados con forma de “coma” se denominan vibrios (Vargas y Villazante, 2014).

Tamaño: William Evans (2009) menciona que: “Las bacterias son organismos unicelulares, poseen un tamaño de 0,75 a 8 μm . Se reproducen por fisión binaria, no contienen clorofila, aunque hay grupos que contienen un pigmento similar a la clorofila y realizan la fotosíntesis” (p.18).

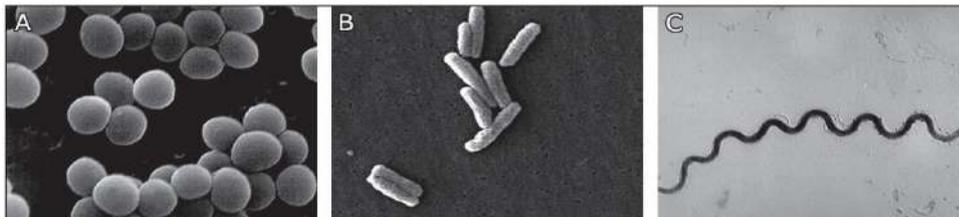


Ilustración 2-38: Imágenes obtenidas por microscopía electrónica de bacterias con forma de cocos (A), bacilos (B) y espirilos (C)

Fuente: Musto, A., et al., 2013, p.37

Dentro de este grupo se encuentra a:

- *Escherichia Coli*: Según Steven Percival et al. (2004) son bacterias Gramnegativas, con forma de bastón (2,0–6,0 μm de largo y bacilos de 1,1–1,5 μm de ancho) con extremos redondeados. Se localizan en tipos de fuentes de agua, incluidos estanques, lagos, arroyos, ríos, pozos, piscinas e inclusive en los suministros de agua de la ciudad local que no han sido desinfectados. Sobrevive en el agua potable entre 4 y 12 semanas, dependiendo de las

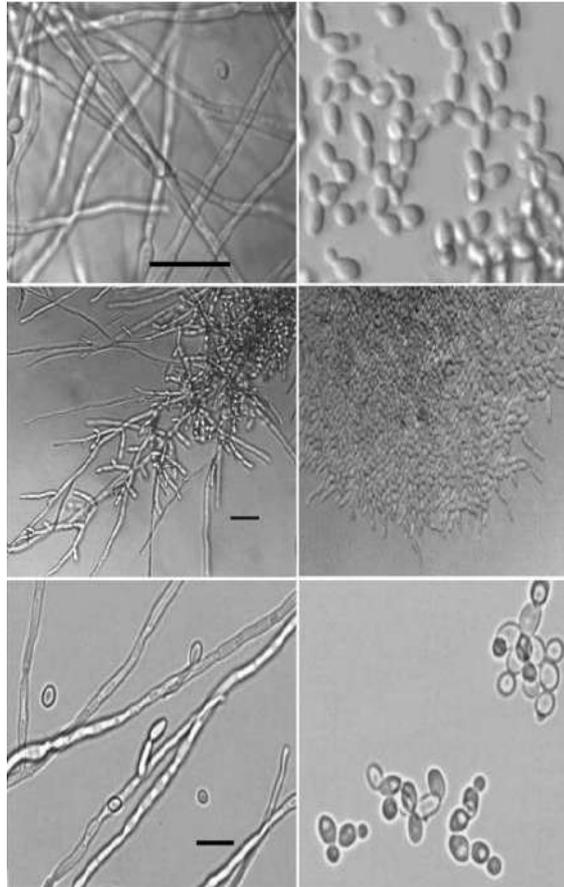
condiciones ambientales tales como: temperatura, microflora, radiación solar, entre otros (Edeberg et al.,2000).

- **Enterobacterias y Klebsiella:** estas bacterias, se hallan en superficies interiores tales como tuberías de agua y tanques de almacenamiento, debido a la presencia de nutrientes que construyen biopelículas a temperaturas cálidas, bajas concentraciones de desinfectantes y períodos de tiempo largos de almacenamiento (Ajayasree et al., 2018).

2.6.2.2. *Hongos*

De acuerdo con Vargas y Villazante (2014) “Son organismos eucariotas uni o pluricelulares, su reproducción es por gemación, esporulación o fragmentación en el medio extracelular y se clasifican en levaduras o en hongos con hifas”.

Forma y tamaño: Los hongos poseen estructuras vegetativas filamentosas llamadas *hifas*, las cuales se desarrollan en forma de largos brazos que se distribuyen en toda dirección, estas son usualmente uniformes y delgadas presentan un diámetro en un rango de 1 a 2 μm , a pesar de que algunos hongos pueden llegar a tener hasta 100 μm de grosor (Garcés de Granada E., et al., 2003). Por otro lado, según lo descrito por Estrada y Ramírez (2019) “Las levaduras son hongos unicelulares, poseen morfología esférica o elíptica. Muchas levaduras, en determinadas circunstancias y dependiendo de la especie pueden producir hifas y pseudohifas” (p.41). Además, según la Ilustración 2-39, las levaduras presentan un diámetro en un rango de 3-100 μm .



(A)

(B)

Ilustración 2-39: Hifas tubulares (fila-A) y levaduras (fila- B)

Fuente: Govindsamy et al.,2013

2.6.2.3. Virus

Forma: Son organismos muy básicos no tienen la capacidad de nutrirse, relacionarse ni reproducirse por sí mismos, lo que los transforma en parásitos dependientes de una actividad intracelular ya sea animal o vegetal para subsistir. Pueden ser *icosaedricos* si presentan una forma esférica, helicoidales o cilíndricos si es que son alargados, y *los complejos* que presentan dos partes una cabeza y una cola. Los virus pueden llegar a ser citopáticos si matan a la célula que infectan, mientras que si solo producen una infección crónica y no matan a la célula huésped se denominan virus no citopático (Vargas y Villazante, 2014).

Tamaño: Los virus más pequeños tienen unos 20 nm de diámetro, aunque la gripe y VIH/SIDA tienen un tamaño de aproximadamente 100 nm de diámetro, otros son significativamente más grandes que 100 nm. Los poxvirus, como la viruela, pueden alcanzar los 400 nm de longitud, y

los filovirus, como el Ébola y el virus de Marburg, tienen solo 80 nm de diámetro, los cuales se extienden en hilos largos que pueden alcanzar longitudes de más de 1000 nm (Louten, 2016).

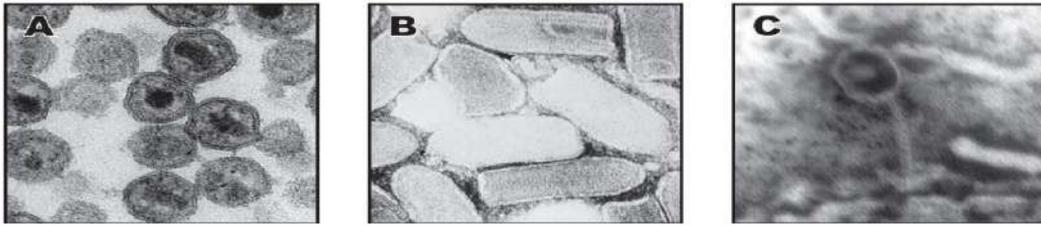


Ilustración 2-40: Virus del HIV (A), virus VSV (B) y un bacteriófagos (C)

Fuente: Musto et al., 2013, p.69

2.6.2.4. Parásitos

Los parásitos se consideran eucariotas, se dividen en protozoos y helmintos. Los protozoos son específicamente unicelulares y se reproducen en el medio intracelular o extracelular. Otro punto importante son los helmintos los cuales son eucariotas pluricelulares, se llaman gusanos y su reproducción es sexual (Vargas y Villazante, 2014).

1. Protozoos

De acuerdo con Unzaga y Zonta (2018, p.9) el reino protista es un grupo de organismos unicelulares eucariotas muy antiguo y diverso. Poseen verdaderas organelas y pueden vivir en casi todos los hábitats incluyendo formas libres y parásitas de animales y plantas. Son de tamaño variable, entre $2 \mu\text{m}$ a $100 \mu\text{m}$. Por su forma, pueden ser esféricos, ovoides, polimorfos o de simetría bilateral. Se distinguen dos formas.

Una de ellas es el trofozoito, que es la forma vegetativa (estadios de multiplicación). Son lábiles, móviles e inducen daño. La otra forma son los ooquistes o quistes. Son las formas de resistencia (no multiplicativas), estas formas resisten condiciones adversas y están involucrados en la transmisión. Los protozoos tienen movilidad propia por medio de flagelos, cilios, pseudópodos o por movimientos ondulantes y deslizantes del cuerpo celular (Musto et al., 2013, p.121).

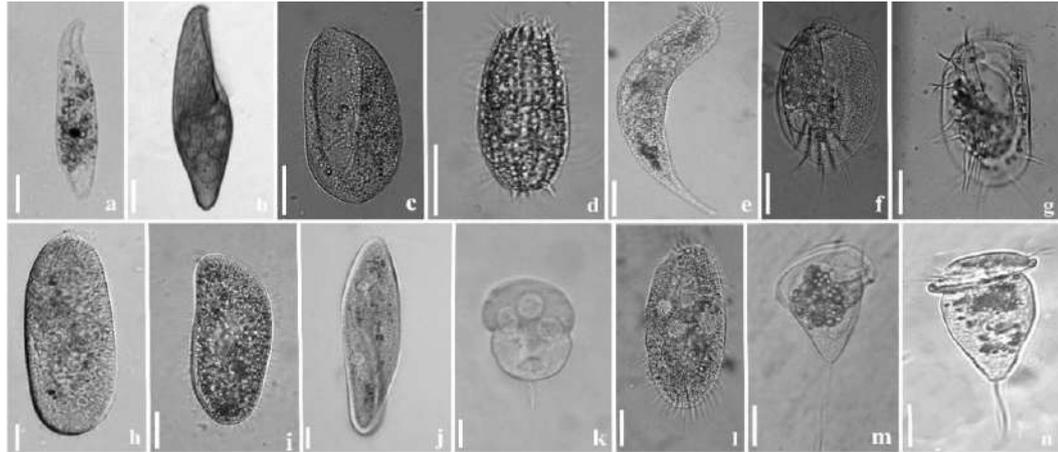


Ilustración 2-41: Ciliados representativos bajo microscopio

Fuente: Boas, J.A. Vilas et al. 2019

2.- Helmintos

Para el caso de los helmintos, Musto, A., et al. (2013, p.134) establecen que los helmintos o gusanos son organismos multicelulares únicos entre las agentes infecciosas de los humanos por su tamaño (desde menos de 1 mm hasta 10 m), tienen ciclos de vida complejos y migraciones en el interior de su huésped. Las enfermedades producidas por parásitos pluricelulares se denominan infestaciones como contraste con las infecciones, producidas por microorganismos unicelulares. Los gusanos se dividen en dos grupos: los nematodos o nematelmintos, que son gusanos largos redondeados de cuerpo cilíndrico no segmentado y platelmintos o gusanos que exhiben una estructura plana.

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

Para poder realizar la parte experimental de nuestro proyecto integrador fue necesario desmontar y limpiar cada una de las piezas de la pinza óptica, posteriormente se realizó una nueva construcción, la calibración del láser, y un análisis de una muestra previa a la manipulación de microorganismos, todo esto con la finalidad de tener un buen manejo y táctica en el uso de la pinza óptica.

3.1. Elementos de la pinza óptica

En los siguientes apartados se indican los diferentes componentes que forman parte de la estructura de la pinza óptica. Los elementos fueron proporcionados por Thorlabs, Inc y fue necesario incluir otros dispositivos como: el láser IR, objetivo 63X, una jaula CP02/M, un acoplador, 4 varillas de 6 mm de diámetro.

3.1.1. *Microscopio Invertido*

La pinza óptica generalmente usa un microscopio invertido con la finalidad de que el rayo láser pueda introducirse al objetivo, esta parte es esencial para poder visualizar los microorganismos de forma clara y requiere de un cuidado especial pues es posible dejar huellas o algún rastro de partículas, entonces el enfoque y calidad de imagen no resulta tan clara. Lo esencial en este apartado fue el uso de un objetivo de 63X. La Tabla 3-1 muestra y detalla la lista de los elementos necesarios para el montaje.

Tabla 3-1: Microscopio Invertido

N.º	Nombre/Número De Pieza	Imagen	Cant.	Características Generales
1	Cámara DCC1645C		1	<ul style="list-style-type: none">• Sensor CMOS grande y de alta calidad• Desde 25 fps (Modo de cuadro completo) hasta 250 fps (ROI reducido)

2	Acoplador SM1T2		2	<ul style="list-style-type: none"> • SM1 (1.035 pulg. -40) • roscas externas • 0,5 pulg. de largo • dos anillos de bloqueo
3	Tubo de lente SM1L15		1	<ul style="list-style-type: none"> • profundidad de rosca de 1,50 pulg. • un anillo de retención incluido
4	Placa de jaula CP02/M		3	<ul style="list-style-type: none"> • SM1, roscada de 30 mm • 0,35" de espesor • 2 anillos de retención, macho M4
5	Placa de jaula CP02T(M)		1	<ul style="list-style-type: none"> • roscada de 30 mm, • 0,50 pulg. de grosor, • 2 anillos de retención, rosca M4
6	Abrazadera de poste deslizable C1498/M		3	<ul style="list-style-type: none"> • orificios roscados 8-32 (M4) • Bloqueo al poste con tornillo de bloqueo de latón que no daña • Escariado de 1/4"
7	Filtro de paso FGB37		2	<ul style="list-style-type: none"> • Ø25 mm BG40 • Filtro de paso de banda de vidrio coloreado • 335 - 610 nm

8	Filtro de paso FES0650		1	<ul style="list-style-type: none"> • Filtro de paso corto de $\text{Ø}1$ pulg. • longitud de onda de corte: 650 nm
9	Lente plano convexo LB1676		1	<ul style="list-style-type: none"> • N-BK7, $\text{Ø}1$ in • $f = 100,0$ mm • sin recubrimiento
10	Adaptador SM1A9		1	<ul style="list-style-type: none"> • Adaptador con roscas externas de montura C y roscas internas SM1 • espaciador de 4,4 mm
11	Cubo divisor de haz CCM1-BS013(M)		1	<ul style="list-style-type: none"> • Divisor de haz no polarizante montado en cubo con jaula de 30 mm • 400 - 700 nm • derivación M4
12	Tapa de extremo SM1CP2		1	<ul style="list-style-type: none"> • con rosca externa SM1 • 0.01 libras / cada uno
13	Poste DP14A(M)		1	<ul style="list-style-type: none"> • Poste amortiguado dinámicamente de $\text{Ø}1.5$" • 14" de largo • métrico

14	Varilla de montaje de jaula ER3		4	<ul style="list-style-type: none"> • 3" de largo • Ø6 mm
15	Varilla de montaje de jaula ER2		4	<ul style="list-style-type: none"> • 2" de largo • Ø6 mm
16	Adaptador SM1A17		1	<ul style="list-style-type: none"> • Adaptador con Rosca SM1 Externa • Rosca M27 x 0.75 Interna
17	Objetivo		1	<ul style="list-style-type: none"> • Zeiss Microscope • 63X, NA = 0,8

Realizado por: Vargas y Parra, 2023

3.1.2. Iluminación y láser

La fuente de luz usada fue luz blanca con una salida mínima de 930 mW. Se usaron tres láseres, sin embargo, el láser rojo con aleación de aluminio sirvió para la captura y manipulación de microorganismos, los demás fueron descartados para este uso debido a su longitud y potencia. En la Tabla 3-2 se puede evidenciar las características generales de los componentes usados, incluyendo los soportes usados.

Tabla 3-2: Iluminación y láser

N.º	Nombre/Número De Pieza	Imagen	Cant.	Características Generales
18	LED montado MCWHL7		1	<ul style="list-style-type: none"> • 6500 K • 930 mW (mín.) • 1300 mA

19	Controlador LED T-Cube LEDD1B		1	<ul style="list-style-type: none"> • corriente de accionamiento máxima de 1200 mA (fuente de alimentación no incluida)
20	Fuente de alimentación KPS201		1	<ul style="list-style-type: none"> • Unidad de fuente de alimentación de 15 V, 2,66 A • Con conector Jack de 3,5 mm para un K- o T-Cube
21	Soporte AP90		1	<ul style="list-style-type: none"> • Soporte de ángulo recto con ranuras escariadas
22	Abrazadera en V VC3		2	<ul style="list-style-type: none"> • brazo de sujeción PM4 • 2,5 pulgadas de largo
23	Poste óptico TR4		2	<ul style="list-style-type: none"> • de Ø1/2 pulg. • tornillo de fijación 8-32, rosca de 1/4 pulg. <ul style="list-style-type: none"> • L = 4 pulg.
24	Base de montaje BA1/M		1	<ul style="list-style-type: none"> • 25 mm x 75 mm x 10 mm

25	Soporte para poste PH2		1	<ul style="list-style-type: none"> • Ø1/2 pulg. • tornillo de mariposa hexagonal de bloqueo accionado por resorte • L = 2 pulg.
26	Puntero Láser Rojo (Profesional)		1	<ul style="list-style-type: none"> • láser rojo profesional de 200mW • con cargador negro 200 mW, 650 nm • Class IIIB Lasers
27	Láser Verde		1	<ul style="list-style-type: none"> • 532 nm • 200 mW • YJOO Linterna verde ajustable para exteriores.
28	Láser ultravioleta UV-A		1	<ul style="list-style-type: none"> • 365 nm MINI - Linterna UV de luz negra -alta definición • recargable , puerto de carga rápida • LED de grado profesional de alta potencia actualizado.

Realizado por: Vargas y Parra, 2023

3.1.3. Plataforma ajustable

Esta plataforma controla la dirección XYZ mediante una platina de traslación, lleva un portaobjetos de microscopía para sostener y mover la muestra. La precisión de esta plataforma XYZ puede alcanzar 25 mm, la cual es suficiente para buscar una micropartícula y moverla dentro de nuestro sistema. En la Tabla 3-3 se puede observar las piezas claves contenidas.

Tabla 3-3: Plataforma ajustable

N.º	Nombre/Número De Pieza	Imagen	Cant.	Características Generales
-----	------------------------	--------	-------	---------------------------

29	Platina de traslación PT3/M		1	<ul style="list-style-type: none"> • Platina de traslación XYZ de 25,0 mm con micrómetros estándar, de 3 ejes, preconfigurados • machos de roscar M6
30	Placa de montaje AP90		1	<ul style="list-style-type: none"> • Placa de montaje en ángulo recto • compatible con 1/4 pulg.
31	Portaobjetos de microscopía MAX3SLH		1	<ul style="list-style-type: none"> • Portaobjetos de microscopio u óptica rectangular de $\geq 1,73$" (44,0 mm) de ancho

Realizado por: Vargas y Parra, 2023

3.1.4. Elementos y piezas adicionales

La tabla 3-4 presenta una lista de elementos que se usaron exclusivamente para la limpieza como en el montaje del sistema físico (OT).

Tabla 3-4: Elementos y piezas adicionales.

N.º	Nombre/Características	Imagen	Cant.
32	Consola de medición de potencia y energía compacta (PM100D): LCD digital de 4 pulgadas, compatible con más de 25 sensores, tarjeta de memoria SD de 8 GB preinstalada para almacenar y transferir datos, interfaz USB 2.0		1

33	Placa de pruebas Nexus (B3060A): 60 mm (2,4") de espesor, acabado mate mecanizado con orificios, 300 mm x 600 mm x 60 mm, orificios de montaje M6 x 1,0.		1
34	Juegos de llaves (TC2): de bola y hexagonal de 20 piezas con soporte, sistema imperial.		1
35	Phywe Optical Cleaning Kit: <ul style="list-style-type: none"> • Mini soplador de aire negro x1ud • Pluma de lente profesional x 1pc • Paño de limpieza de lentes 15 cm x 15 cm x 5 piezas • Tela de ante 11,5x15cm x1ud • Limpiador de lentes 30ml x1ud • Toallitas húmedas x10uds 		1

Realizado por: Vargas y Parra, 2023

3.1.5. *Kit de preparación de muestras*

Este kit es un producto de Thorlabs. Inc con número de pieza OTKBTk, está diseñado para usarse en sistemas de pinzas ópticas. En la Tabla 3-5 se enlista los elementos contenidos por este, sin embargo, solo se usaron la mini pipeta, las perlas de sílica fundida, portaobjetos de vidrio, y cubreobjetos.

Tabla 3-5: Kit de preparación de muestras

IMAGEN	NOMBRE/CARACTERÍSTICAS
	Aceite de inmersión no secante para microscopía, tipo Cargille LDF.
	Perlas de sílica fundida no funcionalizadas en agua desionizada, Ø2,06 µm, 2 g/ml
	Micropipeta con un volumen de 50 µL

	<p>Dos portaobjetos de plástico con canal incorporado, altura de 400 μm, volumen de 100 μL</p> <p>5 portaobjetos de vidrio para microscopio con pocillos de reacción, 10 mm de diámetro, 20 μm de profundidad</p>
---	---

Realizado por: Parra y Vargas, 2023

Fue necesario adquirir otros materiales para evitar contaminar la micropipeta y los portaobjetos que específicamente se usaron para el análisis de las perlas de sílica. Estos elementos adicionales fueron portaobjetos de vidrio, cubreobjetos, un asa, micropipeta de plástico, una fosforera, alcohol y guantes (Ver Ilustración 3-1).



Ilustración 3-1: (a) asa y fosforera, (b) alcohol, porta y cubreobjetos

Realizado por: Parra y Vargas, 2023

3.2. Montaje de la pinza óptica

3.2.1. Limpieza de elementos

En el laboratorio de óptica de la facultad de ciencias este sistema ya se encontraba armado pero no se encontraba en funcionamiento por lo que se tuvo que desmontar parte por parte para su respectiva su limpieza, se quitaron filtros, el cubo divisor del haz, la cámara y los lentes, con cuidado evitando el contacto directo a través de guantes de látex se limpiaron estos componentes (ver Ilustración 3-2 (b) y (c)), se usó los elementos adicionales de la Tabla 3-4 número 34 y 35. La Ilustración 3-2 (a) muestra el montaje antiguo de la pinza óptica, en esta imagen se puede observar la adaptación del lente objetivo de 40X (parte encerrada con rojo).

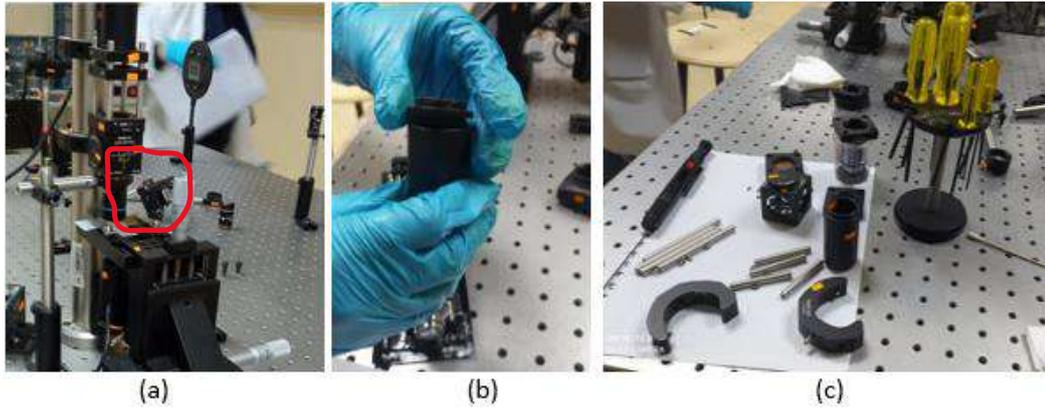


Ilustración 3-2: (a) Montaje antiguo, (b) limpieza de filtros de paso de banda, (c) desmontaje

Realizado por: Vargas y Parra, 2022

3.2.2. *Arreglo experimental de la pinza óptica*

Primero es necesario buscar un lugar amplio y rígido con la finalidad de tener estabilidad y evitar perturbaciones en los resultados que se desea obtener. Además, es necesario evitar el contacto con la radiación solar ya que mataría o exterminaría de inmediato las muestras de microorganismos o secaría la gota de las perlas de sílica. La Ilustración 3-3. muestra un el esquema simple del armado de la pinza óptica usando un solo láser con 200 mW de potencia y una longitud de onda de 650 nm, el objetivo usado en comparación con el montaje antiguo es de 63X por lo que la calidad de imágenes fue mucho mejor, no se usó colimación debido a la falta de elementos en el laboratorio y además para evitar pérdida de potencia, pero en el caso del láser verde y ultravioleta es necesario la instalación de colimación.

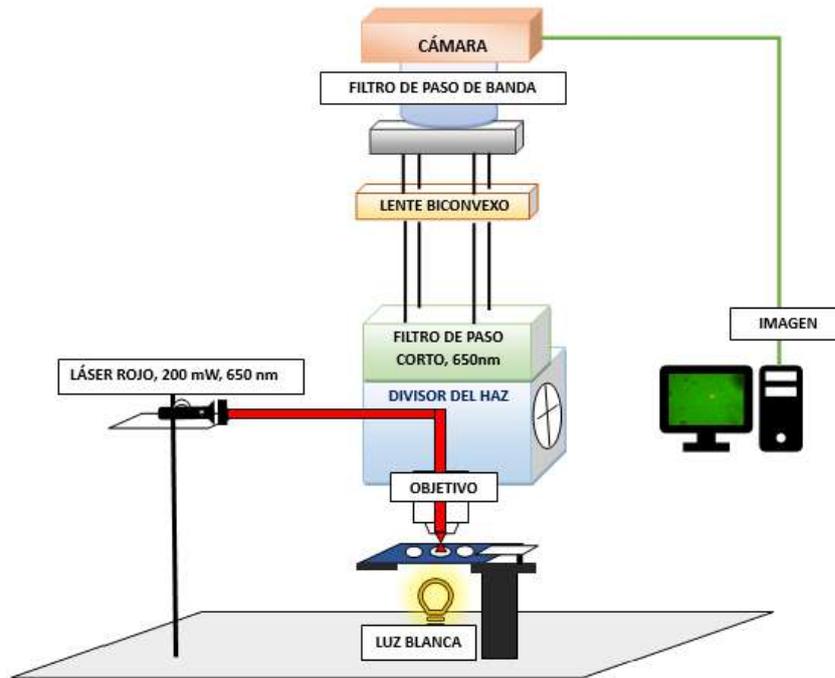


Ilustración 3-3: Esquema del arreglo experimental de la pinza óptica
Realizado por: Vargas y Parra, 2023

Es preciso puntualizar la estructura e indicar las consideraciones que se tuvieron en el armado de esta pieza óptica, a continuación, se detalla por sección el ensamblaje:

Enfoque y observación:

1.- Los elementos usados para el montaje del microscopio invertido se pueden ver en la Ilustración 3-4 enumerada de acuerdo con el proceso de armado, además en la Tabla 3-1 se pueden observar sus características.



Ilustración 3-4: Elementos del microscopio invertido
Realizado por: Parra y Vargas, 2023

2.- Se utilizaron los elementos descritos en la Tabla 3-1, considerando el número de elemento que tienen ubicado a la izquierda.

3.- Se ubicó primero el elemento 11, después se añadieron las varillas de montaje en la parte inferior (N.º 15) y en la parte superior el elemento N.º 15, además se colocó el adaptador en el cubo divisor. (Ver Ilustración 3-5 (a))

4.- Luego se añadió el filtro de paso corto de 650 nm (N.º 8) el cual estaba dentro de la placa de jaula (N.º 5). (Ver Ilustración 3-5 (b))

5.- En la Ilustración 3-5 (c) y (d) se puede ver que con una regla se midieron 4 cm de distancia y ubicamos el lente plano convexo de $f=100$ mm de igual manera dentro de la placa de jaula (N.º 4 y 9), y a 1 cm situamos el elemento 4 sin nada en su interior.

6.- En la parte inferior se puso a 1 cm el objetivo de 63X adaptado al elemento 4, se sujetó los tornillos para evitar movimientos.

7.- Finalmente se completó este armado al poner las dos abrazaderas (N.º 6) en la posterior del armado, y se colocaron en el poste (elemento N.º 13) de forma recta para evitar que la cámara enfoque los filamentos de las placas de jaula. La Ilustración 3-5 (e) y (f) muestra montaje completo de esta parte.

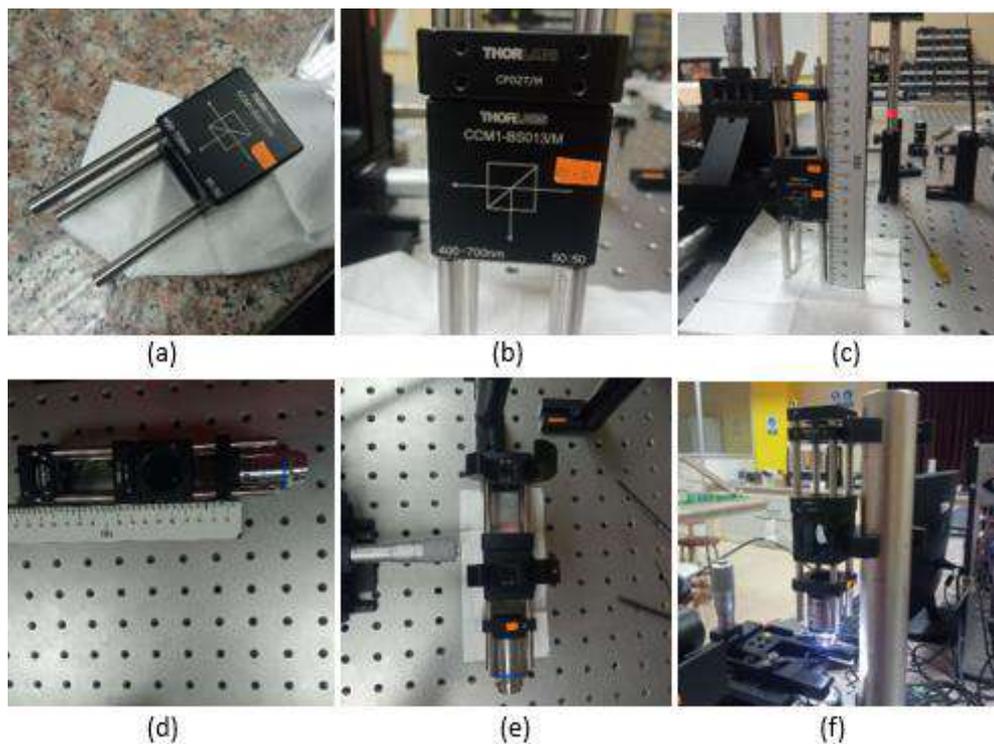


Ilustración 3-5: Montaje de microscopio invertido

Realizado por: Vargas y Parra, 2023

Cámara

8.- En la Ilustración 3-6 (a) se observa que antes de poner la cámara se debe colocar el tubo del lente (N.º 3) que en su interior lleva dos filtros de paso de banda (N.º 7). Como medida de seguridad se sujetó la cámara con cinta adhesiva (Ilustración 3-6 (b)).

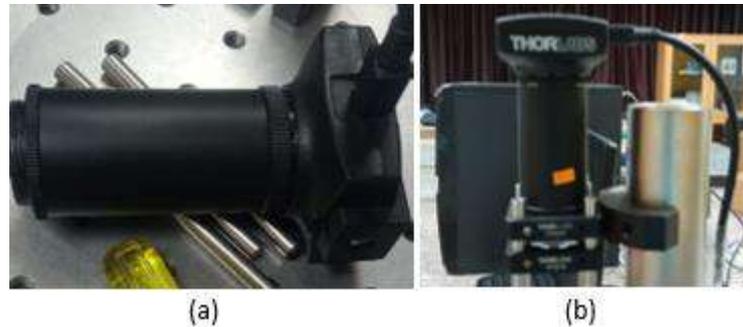


Ilustración 3-6: Montaje de la cámara

Realizado por: Vargas y Parra, 2023

Régimen de posicionamiento de la muestra

9.- La parte de régimen de posicionamiento o plataforma ajustable de la muestra ya estuvo armada y se conservó esta parte, los elementos ya se describieron en la Tabla 3-3.

Luz blanca

10.- Fue necesario desmontar este parte, ya que se observaban manchas negras, la cuales eran del borde del elemento 18 de la Tabla 3-2, se ajustó hasta tener una imagen nítida de color verde, con el con el controlador LED (N.º 19) se iba variando la intensidad de la Luz blanca de acuerdo con nuestras necesidades.

Láser

11.- Aproximadamente a 8,5 cm de distancia tomada desde el cubo división se ubicó el láser rojo de 200 mW de potencia y $\lambda = 650nm$, acomodado en el elemento N.º 22 de la Tabla 3-2, conjuntamente a 10 cm se ubicaron en el poste óptico (N.º 23) el cual se fijó a la placa de pruebas Nexus con la base de montaje (N.º 24). (ver Ilustración 3-7 (a))

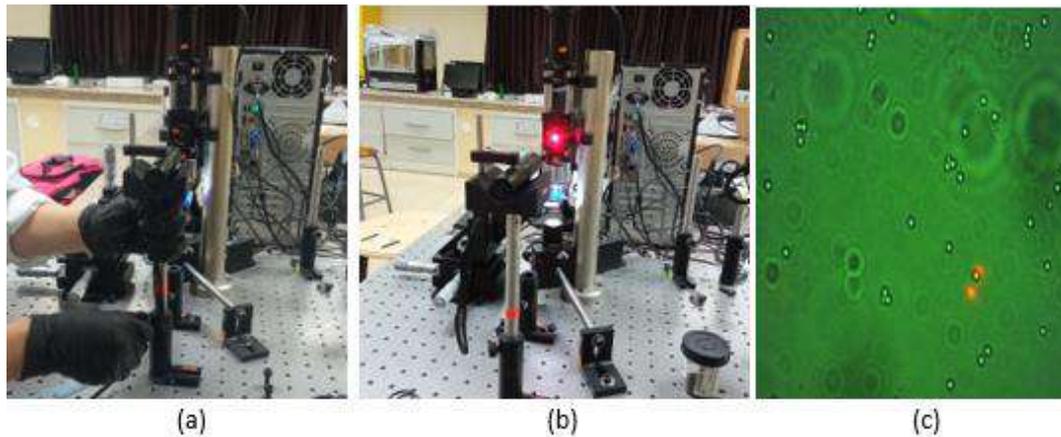


Ilustración 3-7: (a) Ubicación del láser, (b) calibración, (c) imagen obtenida con la muestra de las perlas de sílica

Realizado por: Vargas y Parra, 2023

12.- Para el láser verde se usó una distancia mayor sin embargo debido a su longitud de onda, la cual es de 532 nm y potencia de 200 mW, se visualizó solamente un destello en la pantalla, y con el láser ultravioleta al no ser puntual, y teniendo una longitud de 365 nm y potencia menor a 13,4 mW iluminó en menor medida a la muestra, siendo inútil utilizarlo (Ver Ilustración 3-8).

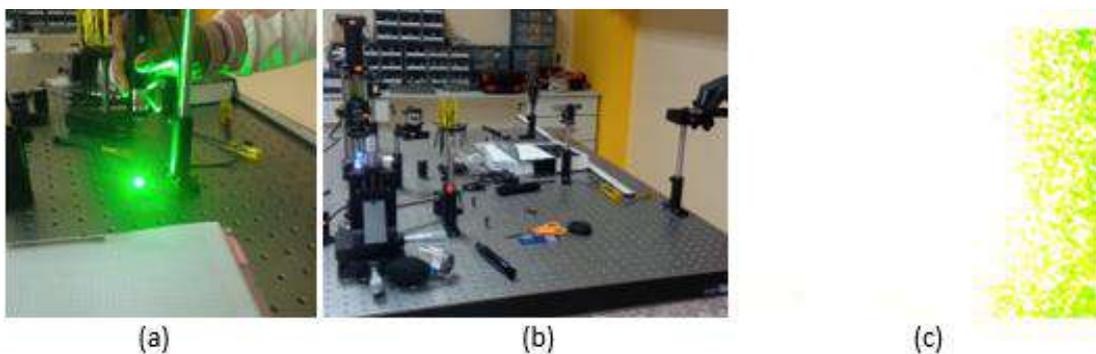


Ilustración 3-8: (a) Láser Verde, (b) ubicación de láser, (c) imagen capturada

Realizado por: Vargas y Parra, 2023

3.3. Alineación del haz óptico

Dentro del proceso de calibración del haz óptico se estimaron ciertas consideraciones, de tal forma que, la altura como la tendencia inclinada que el láser debía tener fueron acomodados y ajustados a conveniencia. Así fue como el haz logró colisionar en el centro del elemento 12 de la Tabla 3-1 a continuación, se quitó dicho elemento del lado izquierdo ubicado en el divisor de haz y se determinó que el rayo se dirigía hacia el centro de la abertura en el divisor del haz para luego escapar por el objetivo de microscopio específicamente hacia la muestra.

- A) Para la actividad la colocación de estos elementos se puede observar en la Ilustración 3-7 (a) haciendo uso del láser rojo (Ver Tabla 3-2 elemento 26).
- B) No se utilizó lentes y espejos, para expandir y alinear el láser, se constató que no eran necesarios e indispensables.
- C) La distancia adecuada para la ubicación del láser fue de 8,5 cm considerándola ideal.
- D) Se manipula la altura del soporte del láser como la inclinación, precisamente para que el haz pueda visualizarse en pantalla utilizando la rueda de calibración (Ver Tabla 3-1 elemento 12) comprobando que el rayo impacte la **X** justo en el centro del cubo divisor y emerja por el objetivo de 63x (ver Tabla 3-1 elemento 17) que se encontraba por debajo del mismo, el cuál va dirigido hacia la muestra.
- E) Se mide la potencia del haz láser antes del cubo divisor y luego de que escape de este al nivel de la muestra. La potencia de entrada fue de 75.8 mW y se consiguió una potencia de salida en un rango de 3 a 5 mW, suficiente para generar la trampa óptica.

3.4. Toma de muestras

Tabla 3-6: Recolección de muestras de agua

Origen	Localización dentro de Riobamba	Profundidad de recolección	Sitio	Recolección
Tanque de almacenamiento	Parque industrial	2 m		
Laguna	Parque Lineal Chibunga	20 cm		

Laguna	San Antonio de Padua	25 cm		
--------	----------------------	-------	--	---

Realizado por: Parra y Vargas, 2023.

3.5. Preparación de espécimen

3.5.1. *Micropartículas de dióxido de silicio*

Para la creación de la muestra es necesario disponer de:

- Portaobjetos de microscopio
- Cubreobjetos
- Pipeta
- Solución con perlas de sílice

Dentro de la primera manipulación del sistema de la pinza óptica, se utilizaron las micropartículas de dióxido de silicio las cuales se encuentran dentro del kit portátil de preparación (ver Tabla 3-5). Dichas perlas de sílice tienen aproximadamente un diámetro de espesor de 1 μm o 3 μm , se considera utilizarlas como paso precedente de la manipulación de microorganismos, porque son apropiadas para conocer inicialmente el funcionamiento y manejo de la pinza óptica.

Es fundamental agitar la solución para luego colocar una gota en el portaobjetos del microscopio utilizando la pipeta. Luego se posicionó el cubreobjetos sobre la muestra, con cierta inclinación para la no formación de aire entre el vidrio y la muestra, la preparación de la muestra fue siempre creada antes de cada manipulación óptica pues luego de cierto tiempo tiende a secarse la solución.



Ilustración 3-9: Micropartículas depositadas en el cubreobjetos

Realizado por: Parra y Vargas, 2022

3.5.2. *Microorganismos de agua*

En este caso se describe un proceso de preparación distinto al anterior pues es necesario considerar condiciones de asepsia, procedimientos y técnicas recomendados además de llevar a cabo un análisis de agua en un laboratorio para comprobar la existencia de bacterias, hongos etc.

3.5.2.1. *Muestra de Escherichia coli (cultivo)*

Para la creación de la muestra es necesario disponer de:

- Portaobjetos de microscopio
- Cubreobjetos
- Asa de siembra
- Fuego (mechero)
- Guantes de látex, mascarilla, alcohol.

Para la toma de la muestra a examinar, proveniente de una placa de Petri se utilizó el asa de siembra, con el encendedor se procedió a flamearla hasta que llegue a tener un rojo incandescente con el fin de esterilizarla, al enfriarse el alambre, se tomó la placa compuesta por los microorganismos (*Escherichia coli*) con los guantes de látex y mascarilla colocados y se introdujo el asa de siembra, se raspó una pequeña zona del cultivo desarrollada sobre la superficie del agar, de manera subsiguiente se ubicó una pequeña gota de agua en el portaobjetos y se frotó el asa suavemente sobre este, se colocó el cubre objetos encima. Por último, se desinfectó con alcohol todas las zonas necesarias dentro del laboratorio.

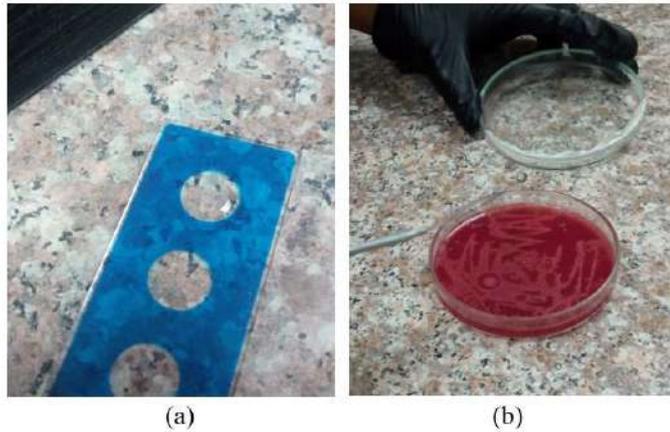


Ilustración 3-10: (a) Portaobjetos con muestra de *Escherichia coli* (b) Cultivo de *Escherichia coli*

Realizado por: Parra y Vargas, 2022.

3.5.2.2. *Muestra de Hongos (cultivo)*

Para la creación de la muestra es necesario disponer de:

- Portaobjetos de microscopio
- Cubreobjetos
- Asa de siembra
- Fuego (mechero)
- Guantes de látex, mascarilla, alcohol.

Se ejecutó un proceso bastante similar a 3.5.2.1 , para la toma de la muestra a examinar, proveniente de una placa de Petri se utilizó el asa de siembra, con el encendedor se procedió a flamearla hasta que llegue a tener un rojo incandescente con el fin de esterilizarla, al enfriarse el alambre, se tomó la placa compuesta por los microorganismos (hongos) con los guantes de látex y mascarilla colocados y se introdujo el asa de siembra, se raspó una pequeña zona del cultivo desarrollada sobre la superficie del agar, se elaboró dos muestras , una directamente con el agar y los organismos microscópicos y otra ubicando una pequeña gota de agua en el portaobjetos en dónde se froto el asa suavemente, luego se mezcló hasta lograr una suspensión extendida y luego se colocó el cubre objetos sobre este. Finalmente se desinfectó con alcohol todas las zonas necesarias dentro del laboratorio.



Ilustración 3-11: (a) Portaobjetos con muestra de Hongos
(b) Cultivo de hongos

Realizado por: Parra y Vargas, 2022.

3.5.2.3. *Muestra de Protozoos*

Para la creación de la muestra es necesario disponer de:

- Portaobjetos de microscopio
- Cubreobjetos
- Micropipeta desechable
- Guantes de látex, mascarilla, alcohol.

Para la toma de la muestra a examinar, se omite precisamente todo el proceso en el que intervino la caja de Petri pues en este caso no se realizó ningún cultivo, más bien se usó una gota de agua directamente del lugar dónde se la recogió para el análisis dentro de la pinza óptica. Usando protección personal, es decir guantes y mascarilla, se colocó en el portaobjetos alrededor de media gota procedente de la botella que contenía el agua empleando la micropipeta desechable, posterior a ello se sitúa el cubreobjetos por encima de este.

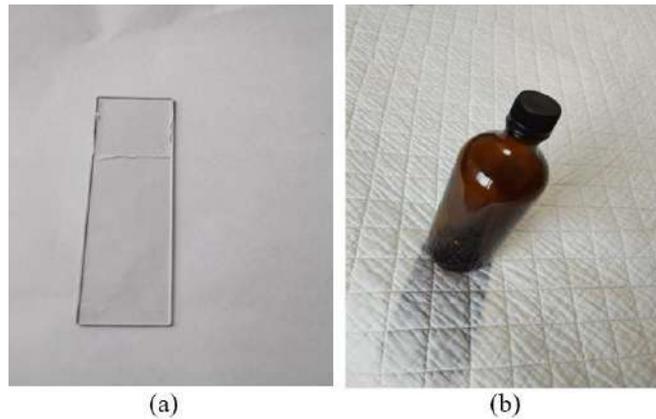


Ilustración 3-12: (a) Portaobjetos con muestra de agua
(b) Botella contenida por agua de depósito

Realizado por: Parra y Vargas, 2022.

3.5.3. Preparación general de espécimen (Enfoque gráfico)

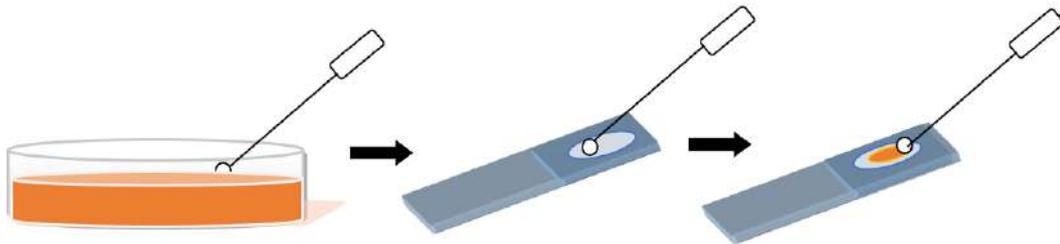


Ilustración 3-13: Preparación de espécimen.

Realizado por: Parra y Vargas, 2022.

3.6. Ajuste final

Los movimientos realizados a continuación fueron considerados y ejecutados para todas las muestras preparadas en el apartado anterior.

Movimiento 1: Punto de partida

- Inicialmente se encendió el láser, el computador y la linterna.
- Luego fue necesario disponer de una muestra lista.

Movimiento 2: Orientación y enfoque

- Fue posible mover el escenario en un plano de coordenadas XYZ empleando los tornillos micrométricos correspondientes a cada eje.
- Se llevó el soporte de muestras hacia abajo en la dirección Z con la ayuda del tornillo, con el objeto de disponer de suficiente espacio para evitar que el objetivo y el portaobjetos choquen.
- Posterior a ello se situó la muestra en el soporte.
- Se elevó gradualmente el soporte siempre observando la imagen obtenida de la cámara en el monitor el computador. Se pudo determinar la formación de un punto láser rojo deformado en el monitor, este desapareció y reapareció, hasta que se encontró el enfoque correcto.

Movimiento 3: Cámara

- Al ingresar dando doble clic izquierdo al sistema thorcam instalado en la computadora (PC) del laboratorio de óptica, aparece un cuadro de dialogo como muestra la Ilustración 3-14, damos clic en Open Camera, se despliega la lista de cámaras conectadas al PC, elegimos la cámara a usar, y aparece la siguiente ventana en vivo (Ver Ilustración 3-14 (b))

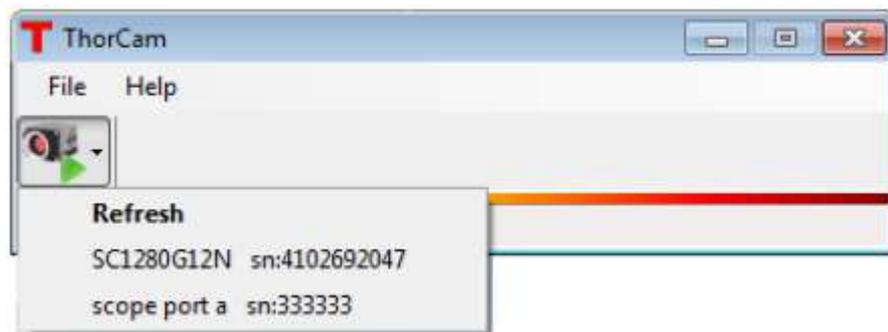


Ilustración 3-14: Ingreso al sistema Thorcam

Fuente: Thorcam

- La ventana en vivo es la que nos va a mostrar las imágenes al dar clic izquierdo en Start capture, contiene una serie de herramientas como indica la Ilustración 3-15, útiles en la medición. A continuación, se detalla los controles de cámara usados en este proyecto de investigación:

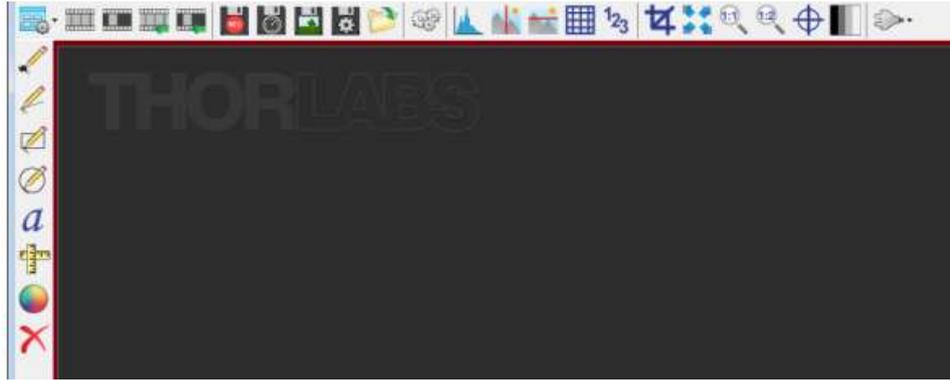


Ilustración 3-15: Ventana en Vivo

Fuente: Thorcam

Controles de cámara:

- 1)  **Start Capture:** Inicia la captura con la configuración ya establecida por el usuario, y se detiene al dar clic.
- 2)  **Start/Stop Record:** Su función es grabar la captura en un archivo TIFF de varias páginas (modo monocromo de 10 bits), tiene la opción de limitar el tamaño de archivo, además se puede establecer el número máximo de fotogramas. La configuración del número de fotogramas usados en la mayoría de nuestros análisis lo indica la Ilustración 3-16.

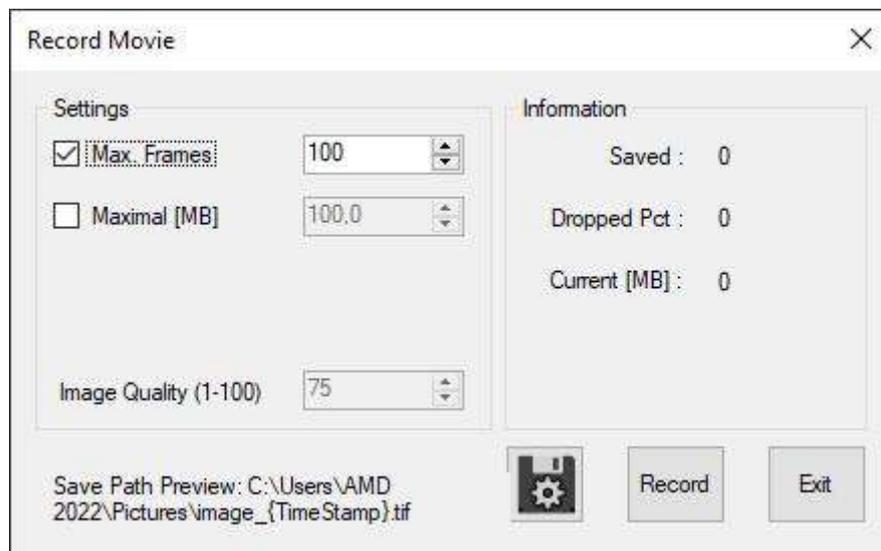


Ilustración 3-16: Configuración de fotogramas

Realizado por: Vargas y Parra, 2023

- 3)  **Camera Settings:** Abre la configuración e indica los parámetros de la cámara, los cuales debemos de ajustar a nuestra medida, se modificó: el *Píxel Clock* cuya función es determinar la

velocidad a la que se leen los píxeles; el *Frame Rate* indica la frecuencia de imágenes, es decir, el número de imágenes que hay en un segundo, *Exposure Time* muestra tiempo de exposición, pero este depende de la velocidad de fotogramas seleccionada. La Ilustración 3-17 presenta la configuración usada:

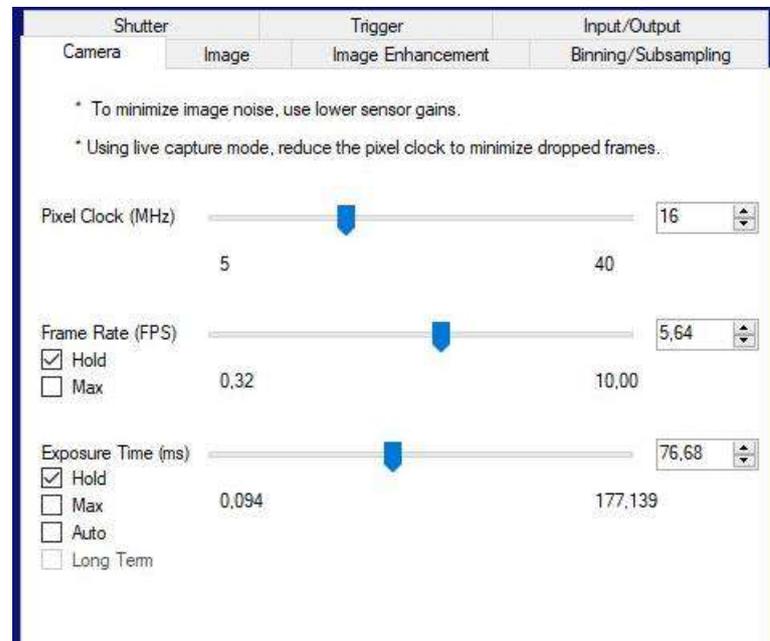


Ilustración 3-17: Configuración Cámara

Realizado por: Parra y Vargas, 2023

La pestaña imagen localizada dentro de este ícono también fue modificada para obtener imágenes más claras: *Gain*, aumenta el brillo de la imagen; *Color Gain*, controla el balance de las diferentes fuentes de luz, permite corregir el nivel de blancos ajustando los canales rojo, azul y verde para reproducir la imagen a color (Ver Ilustración 3-18).



Ilustración 3-18: Configuración de Imagen

Realizado por: Parra y Vargas, 2023

- 4)  **Save Image:** Nos permite capturar y guardar la imagen en ese instante.
- 5)  **Vertical Line Profile:** Dibuja una línea Vertical en la imagen la cual nos enseña los valores de los pixeles a lo largo de la línea. Si colocamos el cursor en cualquier lugar dentro de la ventana en vivo se mide la intensidad de pixeles especificos. En la Ilustración 3-19 se visualiza la grafica inicial en función de la intensidad y el numero de pixel con toda la configuración antes mencionada.

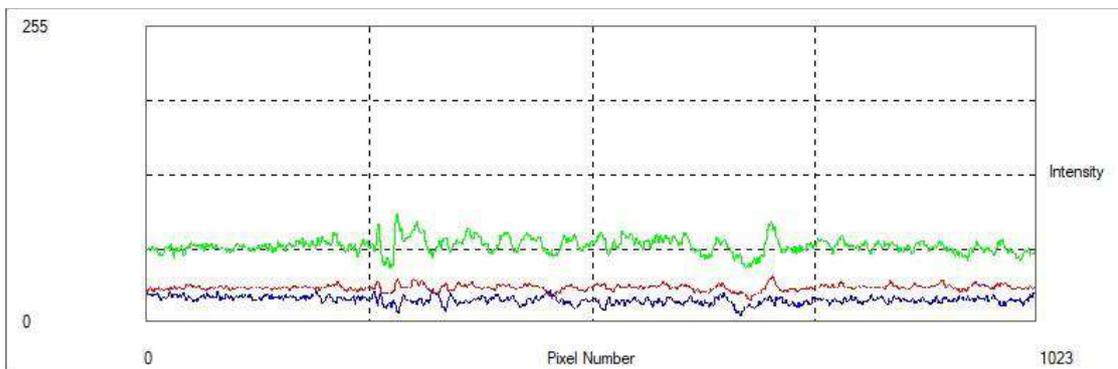


Ilustración 3-19: Grafica Intensidad vs Número de pixel

Realizado por: Parra y Vargas, 2023

Funciones de anotación:

a)  **Measure:** Es el modo de medición, se hace clic en la ubicación de la partícula y se arrastra hasta nuestro punto objetivo, su unidad es el pixel.

b)  **Undo Last Annotation:** Elimina la última anotación de la imagen.

c) **Draw Freehand, Line, Rectangle, Circle:** al dar clic en cualquiera de los iconos se ingresa al modo anotación y con ellos podemos dibujar, señalar con una línea vertical, insertar figuras tales como círculos o cuadrados.

Movimiento 4: Captura

Se consideró una captura cuando cierto integrante de la muestra conformada por las micropartículas o microorganismos se ubique justo por debajo del punto del láser

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos, una vez realizado el procedimiento de manipulación. Puesto que el rango estándar de las dimensiones de las partículas estudiadas en nuestra investigación está comprendido en el régimen de Mie, aquí empleamos entonces este contexto para explicar el atrapamiento.

4.1. Captura óptica de micropartículas de sílica

En la parte experimental se usó el arreglo de la pinza óptica mencionado en el capítulo III, configurado con un haz gaussiano nominal que llega de un láser rojo de 650nm y con una potencia de entrada de 200 mW y salida de 7mW. La muestra utilizada contiene perlas de sílica sólida suspendidas en agua desionizada, con un diámetro de 2,06 μm ubicada en el posillo central de reacción del portaobjetos de 10 mm de diámetro, con índice de refracción de $n = 1,33$. La visualización de captura se hizo mediante la cámara CCD (Tabla 3-1, elemento 1). El lente de 63X permite observar la imagen enfocada, con movimientos en los ejes de la placa de posicionamiento se llevó dicha muestra hacia el objetivo, de este modo las partículas quedan atrapadas tridimensionalmente por medios ópticos como se lo predice con la teoría, antes de encender el haz, las partículas poseen un movimiento browniano o cae por gravedad de acuerdo con su tamaño. Posterior a ello se realizaron distintas actividades.

La Ilustración 4-1 (a) muestra el primer enfoque que se logró obtener luego de haber colocado el objetivo de 63X, sin embargo, al estar presentes pequeñas partículas se procedió a limpiar cada una de las partes obteniendo una nueva imagen de captura como lo indica la Ilustración 4-1 (b).

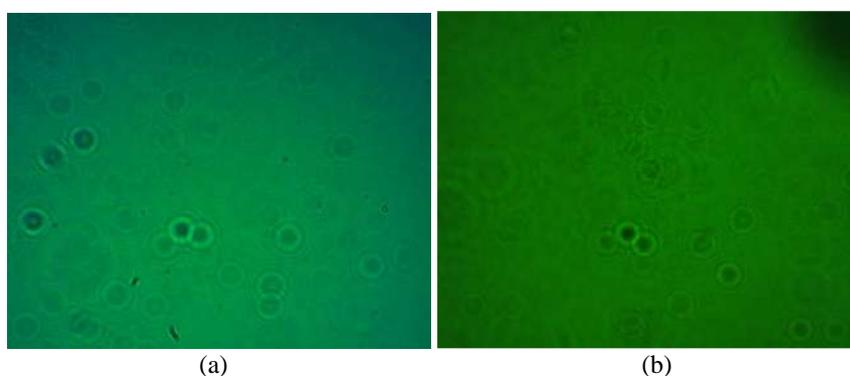


Ilustración 4-1: (a) enfoque inicial con dos micropartículas adheridas, (b) enfoque después de la limpieza

4.1.1. Observación y medición individual

4.1.1.1. Distancia Corta y estudio dinámico

Es útil considerar ciertos parámetros adicionales que caracterizan este sistema óptico, el láser tiene un haz tipo TEM_{00} , con un perfil de intensidad gaussiano siendo uno de los más comunes en las trampas ópticas, se tiene un objetivo con un alto enfoque, definido por $NA = n \sin(\theta)$, este valor ya viene dado para nuestro objetivo de 63X con un valor de $NA=0,8$. Aplicando la ley de Snell $n \sin(\theta) = n_m \sin(\alpha)$ se deduce que el ángulo de convergencia es $\alpha = 37^\circ$, donde n_m es el índice de refracción del medio donde se encuentran las esferas, con estos datos es posible encontrar el tamaño de la cintura del haz en el foco de la trampa:

$$w_0 = \frac{\lambda_0}{\pi \alpha n_m} = \frac{0,650 \mu m}{\pi(0,64 \text{ rad})(1,33)} = 0,24 \mu m \quad (4.1)$$

El valor de la ecuación 4.1 nos indica que la trampa óptica es más pequeña que las esferas, sin embargo, es preciso recordar que la captura sucede por debajo del foco del haz que tiene un alto grado de divergencia. El láser al tener una longitud de onda de $0,650 \mu m$ y un diámetro de microesfera de $2,06 \mu m$, se trata de un estudio bajo el régimen de Mie, donde el tamaño de la partícula es mayor que la longitud de onda, por ende, las fuerzas que genera la luz sobre la muestra son analizadas en términos de la geometría de rayos ópticos, ya que descompone el haz de luz en rayos individuales, los cuales se refractan o se reflejan, en esta trampa óptica se presentan dos fuerzas, la fuerza de dispersión debe ser menor a la fuerza de gradiente, siendo una condición necesaria para darse el atrapamiento.

Al calcular el valor de la magnitud del tamaño focal podemos hallar la densidad de energía que fue necesaria para la captura, usando la siguiente ecuación:

$$I = \frac{P}{\pi(w_0)^2} = \frac{0,007 \text{ W}}{\pi(2,4 \times 10^{-7} \text{ m})^2} = 3,87 \times 10^{10} \frac{\text{W}}{\text{m}^2} = 3,87 \times 10^6 \frac{\text{W}}{\text{cm}^2} \quad (4.2)$$

Una vez seleccionada la partícula a analizar se tomaron 2 eventos que detallan el movimiento y la captura de una sola microesfera, para la conversión de unidades de pixeles a μm , se utilizó el diámetro de la esfera. Siendo necesario multiplicar la distancia medida en pixeles por el cociente entre $2,06 \mu m$ por el diámetro medido en pixeles:

$$\text{Desplazamiento}(\mu\text{m}) = 103 \text{ pixeles} \left(\frac{2,06\mu\text{m}}{24 \text{ pixeles}} \right) = 8,84 \mu\text{m} \quad (4.3)$$

La mayor distancia medida desde que se enciende el láser hasta que es capturada la partícula fue de $8,84 \mu\text{m}$.

El tiempo total se calcula en relación con el número de fotogramas por segundo que proporciona la cámara, es decir, en cada segundo pasan 25 fotogramas consecutivos ante nuestros ojos, se tomaron 6 fotogramas por $(1/25)$ segundos, cada imagen tiene un tiempo consecutivo (tasa temporal) de:

$$t = \left(\frac{6}{25} \right) = 0,402 \text{ s} \quad (4.4)$$

La mayor distancia recorrida que se logró medir desde que se enciende el láser hasta la captura fue de $8,84 \mu\text{m}$, y con un tiempo transcurrido de $0,402 \text{ s}$ obtenemos una velocidad promedio:

$$v = \frac{d}{t} = \frac{8,84 \mu\text{m}}{0,402\text{s}} = 21,99 \frac{\mu\text{m}}{\text{s}} \approx 22 \frac{\mu\text{m}}{\text{s}} \quad (5.4)$$

A una velocidad de $22 \mu\text{m/s}$ la partícula comienza a ser atraída por el láser hacia el foco, siendo esta una velocidad constante. La Ilustración 4-2 (a) muestra la mayor distancia medida en pixeles y adicional se puede ver como la unión de dos microesferas en cierta posición, en (b) indica la captura de una microesfera.

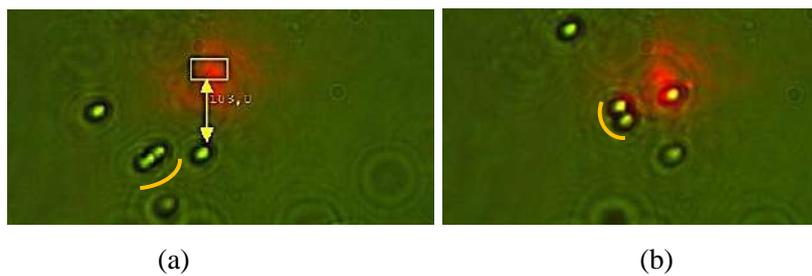


Ilustración 4-2: (a) distancia entre el foco del haz y la partícula, (b) captura de la partícula

Realizado por: Parra y Vargas, 2023

4.1.1.2. Distancia amplia

En este caso las partículas fueron capturadas en una distancia mayor en comparación con la anterior que fue de $8,84 \mu\text{m}$. Esta actividad se hizo de manera individual por lo que la velocidad

y demás cálculos hechos anteriormente no se pueden hallar. La Tabla 4-1 y la Ilustración 4-3 indican dichas distancias con su respectivo tiempo, el método usado para el cambio de unidades ya se mencionó anteriormente, y se logró una medida de atrapamiento mayor de $34,31 \mu\text{m}$ en un tiempo de 72 s, de igual manera se encuentran sumergidas dentro agua desionizada.

Tabla 4-1: Desplazamiento y distancia de captura de microesfera

N.º	TIEMPO (s)	DISTANCIA (pixel)	TAMAÑO (μm)	TAMAÑO (pixel)	DISTANCIA (μm)
1	0	433,00	2,06	26	34,30692308
2	39	305,03	2,06	26	24,16776154
3	52	213,40	2,06	26	16,90784615
4	64	110,30	2,06	26	8,739153846
5	72	0,00	2,06	26	0

Realizado por: Parra y Vargas, 2023

Para evidenciar que dicho movimiento fue sin manipulación de los ejes X y Y, se seleccionó una partícula fija (señalada con una x), la captura de la esfera se presenta en una secuencia de imágenes en la Ilustración 4-3 desde su inicio hasta su llegada a la trampa óptica.

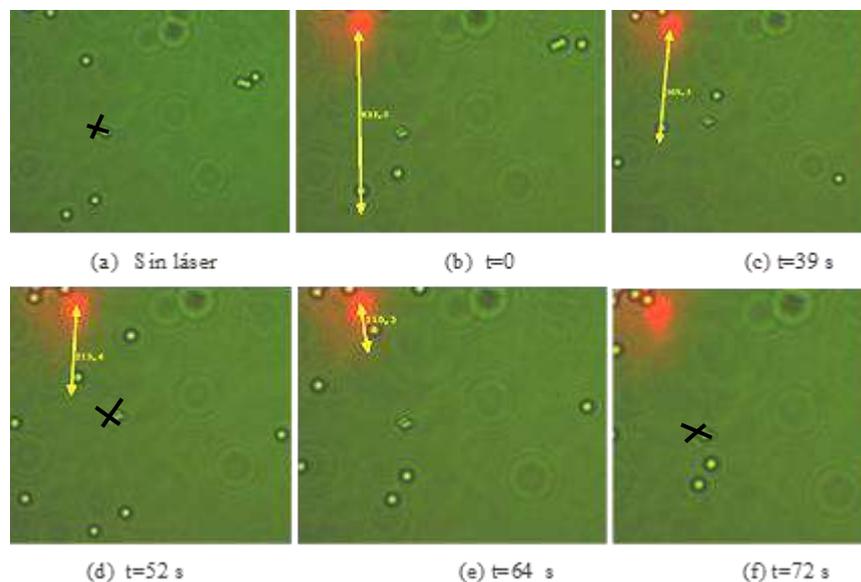


Ilustración 4-3: Captura de micropartículas en inmersión de agua: (a), sin láser; (b), distancia mayor de alcance de la trampa; (c), (d), (e), (f) secuencia de proceso de captura

Realizado por: Parra y Vargas

4.1.2. Captura múltiple

El capturar partículas microscópicas dieléctricas individuales con un solo haz enfocado es un fenómeno común en los experimentos de captura óptica. Por revisión bibliográfica no se encontró información donde se hayan atrapado decenas de perlas usando una sola trampa óptica. Como resultado experimental se obtuvo un confinamiento de 12 microesferas de sílica inmersas en agua desionizada, el enfoque y la posición del haz es un parámetro importante para esta captura múltiple. El comportamiento dinámico de las microesferas es equivalente a una masa atada a un resorte, entonces se modela como una masa en un potencial armónico, con una velocidad constante, cae por efecto de la gravedad y por efecto de flotación, ambas le permiten llegar al equilibrio. Asumiendo esto la Ilustración 4-4: (b), revela nuestra trampa óptica antes de atrapar las micropartículas que tiene una intensidad de 10 mW, la densidad de energía que posee es de $5,52 \times 10^{10} \text{ W/m}^2$; (d), indica nuestra muestra líquida atrapada en un tiempo de 1 minuto 15 segundos, la cual fue capturada a una velocidad constante, y posterior a ello en una espera de 4 minutos con 52 s se logró atrapar las 12 partículas de sílica (Ver Ilustración 4-4. (f)).

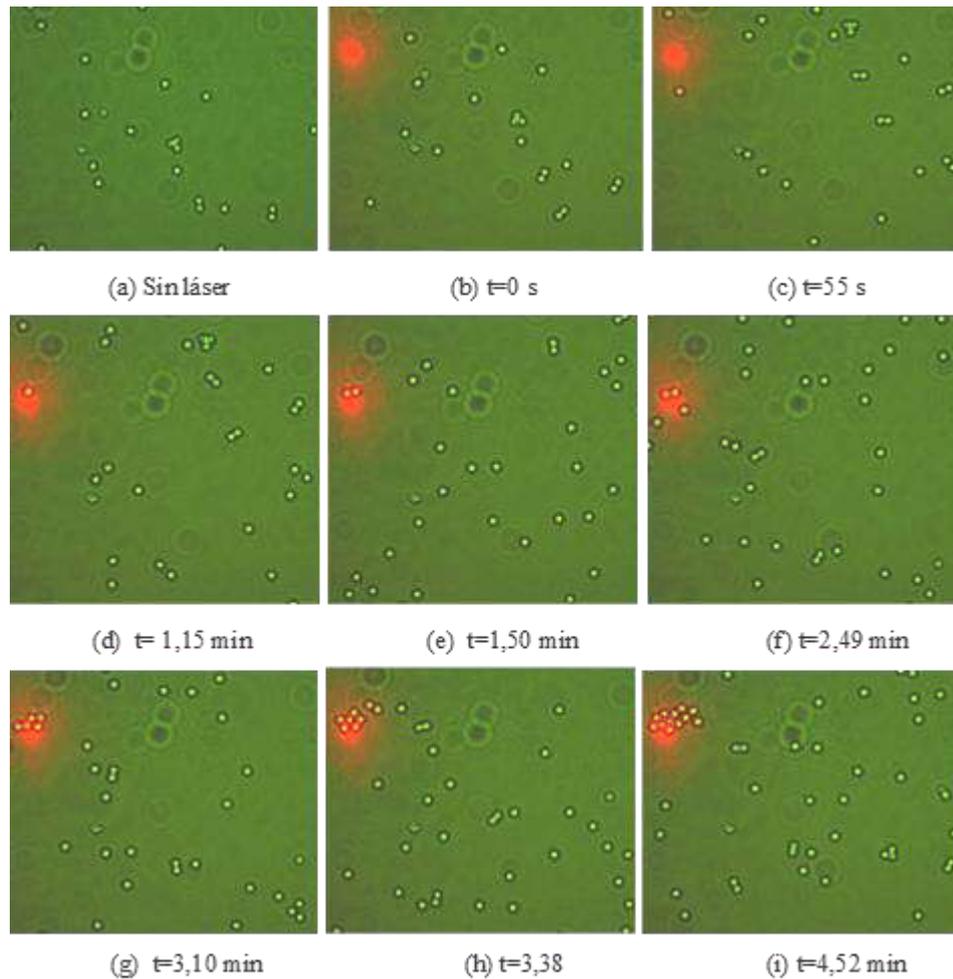


Ilustración 4-4: (a) Perlas sin interacción, (b) haz de luz ubicado en la parte superior izquierda, (c) acercamiento de microesferas, captura de: 1 (d), 2 (e), 3 (f), 5 (g), 6 (h), 12 (i) micropartículas

Realizado por: Parra y Vargas, 2023.

4.1.3. Manipulación XY

La serie de imágenes que se presentan a continuación muestra otro ejemplo de captura grupal de microesferas, esta vez la muestra ya no está fija como en los dos casos anteriores. La grabación de video en el sistema thorcam, proporcionó 274 fotogramas de los cuales se escogieron solo 6 eventos, el tiempo en atrapar a las partículas tuvo una menor duración en comparación con la actividad anterior, siendo de 3 min con 8 s, y el número de micropartículas atrapadas fue de 15, como evidencia de la manipulación de los dos ejes, puntualizamos a una unión de microesferas como se ve en la Ilustración 4-5. (a) con una distancia de $37,23 \mu\text{m}$, en la ilustración (b) se evidencia la manipulación de los ejes ya que se realiza una captura de 3 perlas de sílica en un tiempo de 10 s, esto también se debe a la distancia corta que existe entre la trampa y las partículas de sílica, nuestra partícula puntual de igual manera se encontraba a $15,45 \mu\text{m}$, y es así como se

movieron los ejes de una forma lenta para evitar que las partículas superen la velocidad y escapen de la trampa óptica, en la Ilustración 4-5 (f) se logró el objetivo inicial y las partículas que se encontraban cerca fueron capturadas.

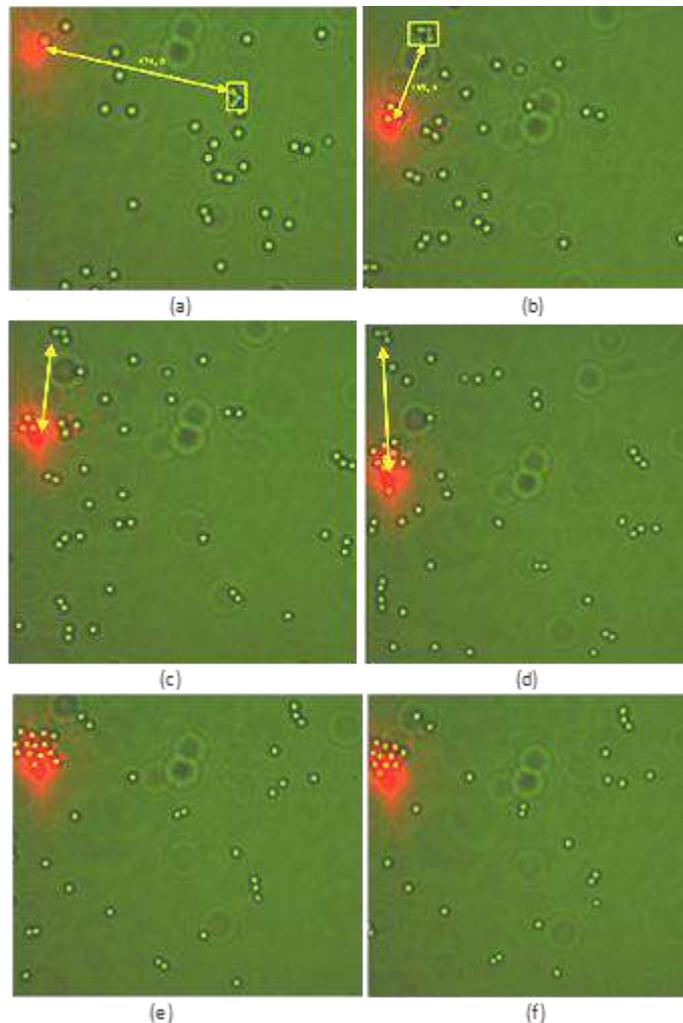


Ilustración 4-5: Manipulación XY en: (a), (b), (c), (d), (e) y atrapamiento de 15 esfera en (f)

Realizado por: Parra y Vargas, 2023.

4.2. Manipulación óptica de organismos microscópicos

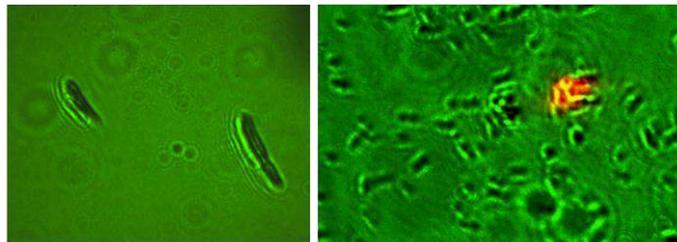
Se busca manipular y capturar microorganismos existentes en agua estancada de la ciudad de Riobamba, se realizaron dos análisis vistos en el Anexo A, se encontraron coliformes totales y fecales y con ello se pudo hacer un cultivo individual de dos bacterias la *Escherichia coli* y hongos. Adicional se manipularon dos tipos de aguas estancadas donde no se realizó ningún análisis sin embargo se evidenció el movimiento y forma de algunos microorganismos.

4.2.1. Organismos procariotas

4.2.1.1. *Escherichia coli*

Este microorganismo es una bacteria gram-negativa, tiene forma de bacilo con extremos redondos, el tamaño de nuestra bacteria fue de 5,84 μm de largo el cual se encuentra dentro del rango de 2,0–6,0 μm y de ancho fue de 1,28 μm de igual manera dentro del rango 1,1–1,5 μm . Se cultivó en agar nutritivo (medio sólido) a una temperatura de 37°C, según la Organización Internacional de Salud pueden crecer y vivir en temperaturas de 7°C a 50°C, y en temperaturas superiores a 70°C se mueren, el agar se vuelve líquido a una temperatura de 80 a 100°C el cual mataría a nuestras bacterias.

La primera imagen de nuestra muestra biológica se puede ver en la Ilustración 4-6, el acercamiento entre esta partícula y el objetivo, al no ser estar en un medio líquido la bacteria no se movía, después se añadió una gota de sílica por lo que se vieron partículas circulares y se logró con éxito evidenciar la existencia de este de tipo de microorganismos, la Ilustración 4-6 (b) indica dicha colonia, en la cual encontramos que estas células nadan en línea recta, en dirección hacia la izquierda, se trabajó en un régimen de óptica geométrica ($D \gg \lambda$), logrando la captura de esta bacteria con la manipulación de los ejes X y Y, y adicional se las movió manipulado solo el eje X, las cuales debido a su movimiento algunas escapaban de la trampa óptica.



(a)

(b)

Ilustración 4-6: (a) Bacteria vista en un acercamiento máximo con el objetivo, (b) colonia de *Escherichia coli* y manipulación

Realizado por: Parra y Vargas, 2023

4.2.2. Organismos eucariotas

La micro manipulación de hongos levaduriformes encontrados pertenecientes al reino Fungi fue efectuada de manera exitosa y llevada a cabo por medio del láser que emitía luz roja (650 nm) con potencia de (200mW), estos organismos unicelulares y microscópicos según bibliografía

presentan dos parámetros fundamentales: tamaño y forma, siendo el primero el diámetro, el cual se encuentra en un rango de 3-100 μm , y el siguiente, presentando una forma con cierta tendencia ovalada lo cual fue verificado en el proceso y provienen precisamente de agua estancada según la Tabla 6-2. Se pudo establecer que se trataba del régimen de la óptica geométrica pues el diámetro del microorganismo fue más grande que la longitud de onda del rayo incidente, por lo cual se consideró $D \gg \lambda$ con valores de diámetro aproximado de 4 μm (hongos) y presentando una longitud de onda $\lambda = 0,65 \mu m$ (láser).

En el primer enfoque se pudo contemplar una diferencia notable en el parámetro de tamaño entre las micropartículas de sílica y las partículas biológicas (hongos) al realizar una muestra contenida por ambas, el análisis óptico a través de la pinza óptica permitió evaluar propiedades estructurales y con esto fue posible corroborar la diferencia de diámetro que presentaban según bibliografía descrita anteriormente. Así pues, se pudo verificar cualitativamente que los hongos son de mayor tamaño en contraste con las micropartículas de sílica, presentado un diámetro mayor, medido con la herramienta *measure* dentro del software, lo cual se puede apreciar en la Ilustración 4-7.

El análisis óptico a través de la pinza óptica permitió evaluar propiedades estructurales de los hongos y las perlas de sílica y con esto fue posible corroborar la diferencia de diámetro que presentaban según bibliografía descrita anteriormente por lo que se pudo verificar cualitativamente que los hongos son de mayor tamaño en contraste con las micropartículas de sílica, presentado un diámetro mayor.

A continuación, se llevó a cabo un pequeño cálculo matemático para hallar de manera aproximada el diámetro de los hongos levaduriformes en la unidad de micrómetros y comprobar de manera cuantitativa tal diferencia de tamaño. La perla de sílica presenta un diámetro de 2,06 μm y en pantalla tiene un valor de 24 píxeles, lo cual representa un valor de referencia para poder calcular tal dato.

$$45 \text{ píxeles} \times \frac{2,06 \mu m}{24 \text{ píxeles}} = 3,86 \mu m \quad (7.4)$$

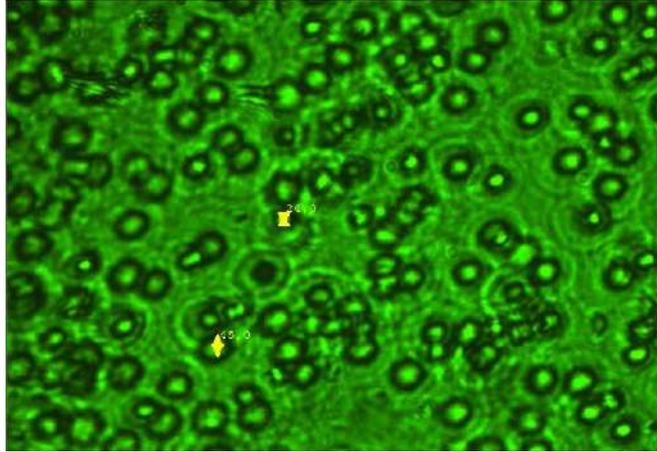


Ilustración 4-7: Tamaño hongos (45 pix) , perlas de sílica (24 pix)

Realizado por: Parra y Vargas, 2023.

4.2.2.1. *Hongos en agar*

Se constató en un siguiente enfoque sin interacción con el láser, que los hongos presentan forma ovalada según lo descrito y debido a que el agar en el que se encontraban estaba en estado sólido, estos permanecían inmóviles, lo cual se aprecia en la Ilustración 4-8 y 4-9, al encender y apagar de manera manual el láser, la mayoría de estos tendían a expandirse y contraerse, se seguía divisando tal comportamiento al mover la montura 3D específicamente en los ejes x y y , como se contempla en la Ilustración 4-6. Además, para poder observar dicho efecto se configuro la amplificación verde al máximo cuando se ajustó la imagen en vivo, y a su vez se disminuyó la intensidad de luz blanca proveniente de la linterna, atenuando ligeramente la imagen.

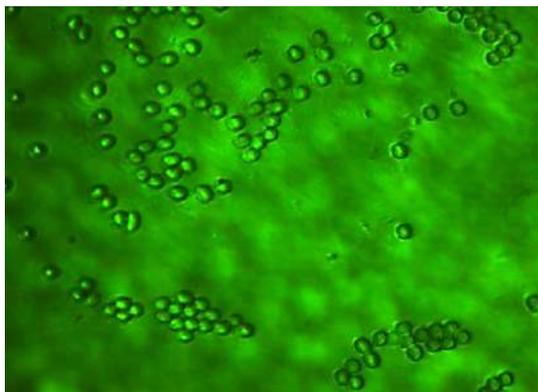


Ilustración 4-8: Hongos

Realizado por: Parra y Vargas, 2023.

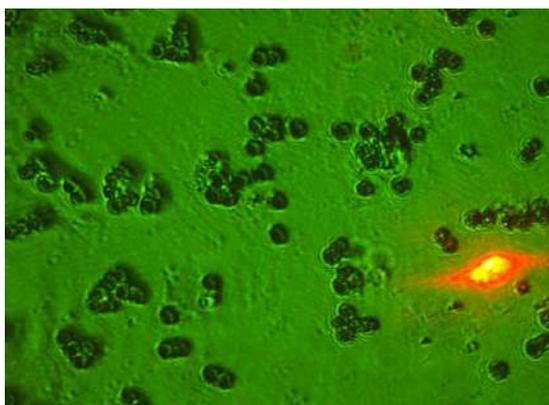


Ilustración 4-9: Hongos en presencia de láser

Realizado por: Parra y Vargas, 2023.

4.2.2.2. *Composición hongos-agua*

Dentro del proceso de interacción con el láser, en un primer instante los hongos comenzaron a fluir en una dirección concreta hacia este, posterior a ello continuamos desplazando el escenario. Luego de cierto tiempo, se descubrió la formación de una burbuja de aproximadamente $18\ \mu\text{m}$ de diámetro, creada a unos 400 px (píxeles) de distancia del láser, los hongos y otras bacterias simultáneamente comenzaron a ser capturadas por el láser y la burbuja precisamente porque eran alterados en dos direcciones, conducta observada en la Ilustración 4-10. Luego de 2 segundos de manera notoria ya se había formado una acumulación mayor de microorganismos en ambas trampas como se evidencia en la Ilustración 4-11 Al transcurrir 5 segundos se produjo una corriente violenta que arrastró y atrajo cualquier cosa que estaba en su camino, de tal forma que, casi el 100% de los organismos microscópicos se habían aglomerado en las trampas, comportamiento exhibido en la Ilustración 4-12.

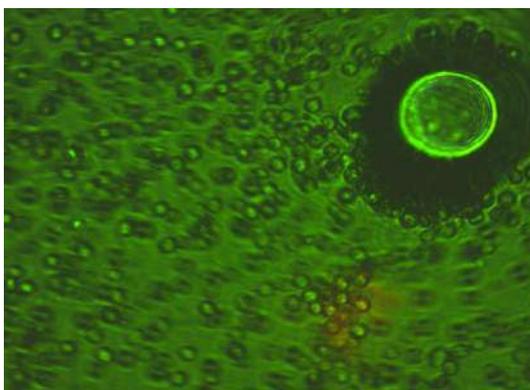


Ilustración 4-10: Interacción láser hongos-
microorganismos

Realizado por: Parra y Vargas, 2023.

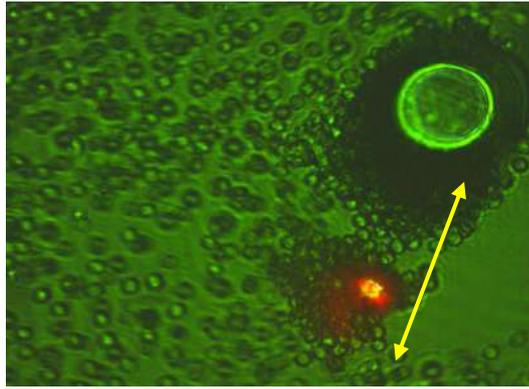


Ilustración 4-11: Interacción láser hongos-
microorganismos, 2 s
después

Realizado por: Parra y Vargas, 2023.

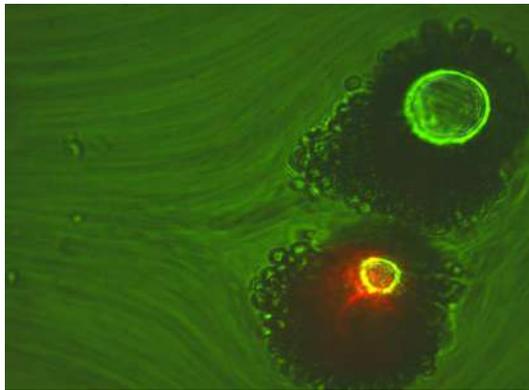
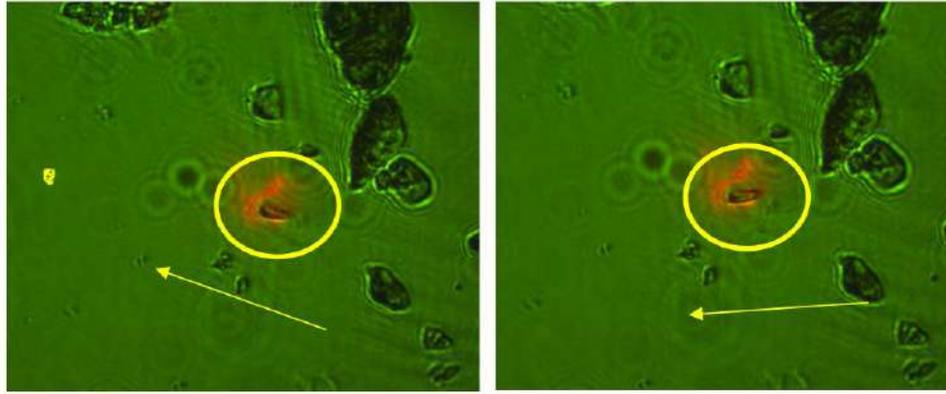


Ilustración 4-12: Interacción láser hongos-
microorganismos, 5 s
después

Realizado por: Parra y Vargas, 2023.

4.2.2.3. *Protozoos*

Este proceso de manipulación se llevó a cabo manejando el láser que emitía luz roja (650 nm) con potencia de (200mW), igualmente se utilizó una gota de agua proveniente del tanque de almacenamiento considerado en la Tabla 3-6, en tal ocasión se contempló varios organismos microscópicos con movilidad propia por medio de flagelos y cilios por lo que se pudo confirmar que estos pertenecían al reino protista, señalado en la teoría. Además, fue posible moverlos en el plano XY con bastante facilidad después de que eran atrapados por el sistema física (OT), En la Ilustración 4-13 se puede observar el fenómeno descrito.



(a)

(b)

Ilustración 4-13: Manipulación con movimiento en dos direcciones determinadas

(a) y (b)

Realizado por: Parra y Vargas, 2023.

Para la segunda especie protista descubierta, se pudo precisar que esta mostraba movimientos apresurados por lo que fue necesario mantenerla en nuestro campo de visión moviendo todo el escenario a través de los tornillos micrométricos, procuró alejarse de la trampa y huir, sin embargo no lo logró, estando en tal situación tuvo la intención de escapar presentando movimientos erráticos y arrebatados, hay que señalar que el organismo fue atrapado a través de su flagelo, efecto evidenciado en la Ilustración 4-14.

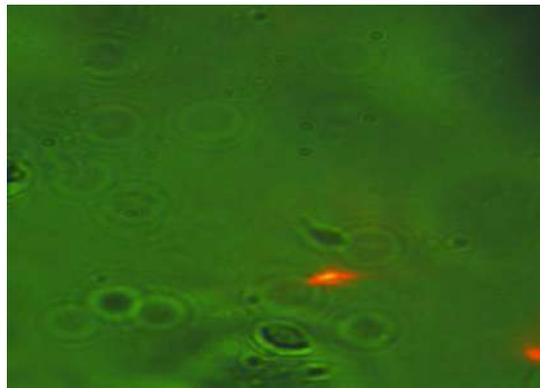


Ilustración 4-14: Interacción láser – especie de protista 2, captura

Realizado por: Parra y Vargas, 2022.

Para una tercera especie protista encontrada en un medio acuático que con una preparación mínima de la muestra y a través de OT permite obtener un análisis rápido de contaminación bacteriana sin generar ningún daño, en un monitoreo en vivo logramos capturar al microorganismo y posterior con una manipulación en los ejes X y Y se liberó de la trampa óptica.

Además, se puede ver varios microorganismos de diferentes tamaños los cuales se alejan en presencia del foco del haz. La muestra de agua estuvo estancada por dos días en un medio abierto en contacto con el aire, la ilustración 4-15, evidencia lo mencionado en este párrafo. En la captura de los 274 fotogramas en un tiempo de 1s cada una muestra como estas se mueven y el arrastre que experimenta nuestra bacteria, incluso se puede que hay microorganismos con movimiento circular, en línea recta, y otros que en su forma se ven con una curvatura en el centro.

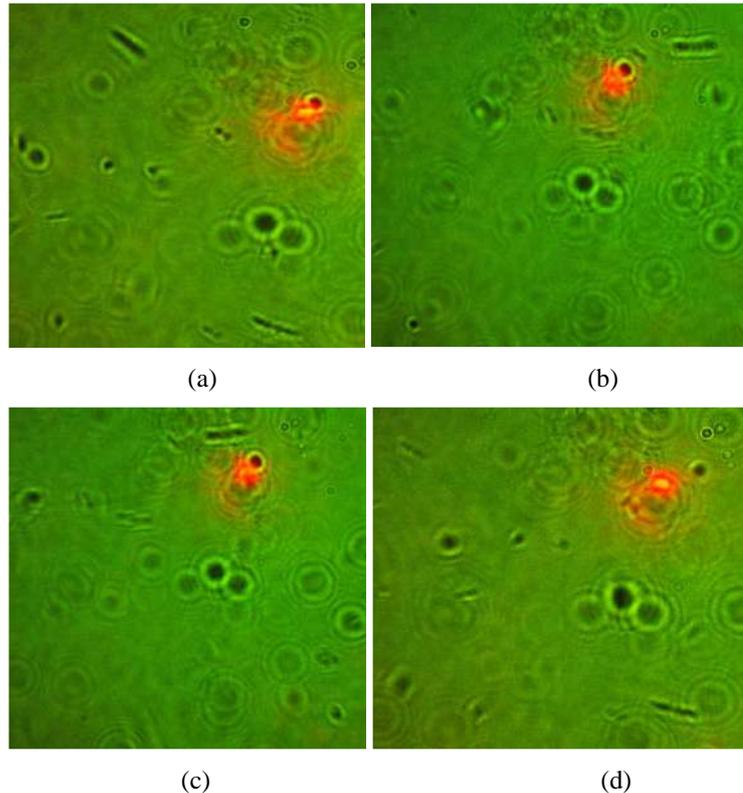


Ilustración 4-15: Microorganismo liberado

Realizado por: Parra y Vargas, 2023.

4.3. Radiación UV y microorganismos

Al examinar una muestra de agua preparada proveniente de la laguna de San Antonio de Padua sin interacción con el láser UV-A de 365 nm de longitud de onda se observaron movimientos aleatorios, rápidos, lentos de microorganismos de diversos tamaños y formas evidenciado en la Ilustración 4-16, en dónde es complejo poder visualizarlos en imagen puesto que tenían movimientos erráticos.

Se requería conocer la potencia de entrada del haz, es decir, antes de que ingrese por el objetivo, midiéndola se obtuvo un valor de 14,80 mW , en consecuencia, cuando las bacterias, los virus y los protozoos presentes fueron sometidas a la radiación UV durante 15 minutos, se pudo reconocer que todavía existía movimiento de microorganismos.



Ilustración 4-16: Movimiento de microorganismos

Realizado por: Parra y Vargas, 2023

Todos los resultados obtenidos anteriormente establecen que las técnicas de captura y manipulación óptica se han utilizado de manera exitosa y son aplicables en partículas biológicas, así como también en partículas no biológicas.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

1. Se determinó que la pinza óptica del laboratorio de óptica de la facultad de ciencias tiene una funcionalidad del 100% en la captura y manipulación de micropartículas y microorganismos inmersas en un medio acuoso.
2. Se ha estudiado teóricamente los fundamentos y el principio básico de la captura óptica utilizando el sistema de un solo haz bajo el régimen Mie ($d \gg \lambda$) y con la ayuda de un láser de 0,65 μm , cuya potencia de salida estaba entre 7 y 10 mW, logrando hallar ciertos parámetros del haz gaussiano.
3. Se realizó un conjunto de procedimientos desde el ensamble de la pinza óptica, la calibración del haz láser hasta la toma y preparación de muestras con la finalidad de capturar y manipular partículas biológicas precisamente de agua estancada, el uso de este sistema físico (OT) permitió evaluar propiedades estructurales y describir la dinámica de manera cualitativa de ciertos microorganismos, también se pudo obtener valores cuantitativos en la dinámica de micropartículas.
4. Se demostró que la luz UV en una longitud de onda de 365 nm al actuar sobre una muestra de agua durante 15 minutos, no redujo la actividad de microorganismos pues el láser UV no emitía radiación en un rango de longitud de onda de entre 100 y 280 nm requerido para la debida inactivación de los microorganismos.

RECOMENDACIONES

- Es preciso saber reconocer todo el conjunto de componentes faltantes de la pinza óptica, con la finalidad de que el técnico docente solicite su adquisición con antelación.
- Es necesario contar con un láser adecuado que permita analizar las muestras, normalmente en un rango de 10 a 100 mW de potencia y así mismo es importante reducir número de componentes (lentes).
- En el caso de las muestras biológicas es necesario considerar longitudes de onda larga para manipularlas o longitudes de onda corta para inactivar o exterminar tales sistemas biológicos.
- Se recomienda realizar un análisis específico sobre microorganismos en interacción con la luz UV.

GLOSARIO

Dieléctrico: Es un material que no admite el paso de corriente además de que en la interacción con un campo externo probablemente haya la formación de dipolos (Parra y Vargas, 2023).

Difracción limitada: La desviación que experimenta el rayo láser en su trayectoria cuando pasa a través de la abertura del objetivo del sistema óptico (Parra y Vargas, 2023).

Dipolo oscilante: Es producido cuando el dipolo es colocado en una región donde existe un campo no uniforme (Parra y Vargas, 2023).

Factor Q: Es un factor de eficiencia o calidad que depende de los parámetros de tamaño de la esfera y de la diferencia de índice de refracción específicamente entre la esfera y el medio el que está inmersa o la envuelve, comúnmente agua (Ricárdez et al., 2008,p.27).

Fasor: Un fasor no es una cantidad física real que tiene una dirección como ciertas magnitudes más bien es una representación geométrica o gráfica, útil para describir y analizar cantidades físicas que cambian de forma sinusoidal con el tiempo, se puede considerar sumas vectoriales de diversos fasores (Young y Freedman , 2018, p.1021).

Rayos paraxiales: en la aproximación paraxial se supone que los caminos recorridos por la luz forman ángulos pequeños (tales que $\theta \approx \theta$) con el eje óptico. Las reglas conseguidas de esta aproximación configuran la óptica paraxial, otras veces llamada óptica de primer orden u óptica gaussiana. Todos los rayos paraxiales que se originan en cada punto del eje de un espejo esférico se reflejan y enfocan en un único punto correspondiente del eje (Teich y Bahaa, 2019).

Re-irradiación: La luz que llega a cualquier superficie experimenta ciertos fenómenos de absorción o reflexión y este proceso denominado re-irradiación sucede cuando la energía absorbida se vuelve a irradiar (Parra y Vargas, 2023).

BIBLIOGRAFÍA

ABOITES, Vicente. “Amplificación Láser y Matemáticas Básicas: Una guía pedagógica”. *Latin-American Journal of Physics Education* [en línea], 2017, 11(3), pp.1-12. [Consulta: 12 enero 2023]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6364297>

ALDA, Javier. “Laser and Gaussian beam propagation and transformation”. *Encyclopedia of optical engineering*, vol. 999, (2003), pp. 1013-1013. Disponible en: https://www.academia.edu/download/46307683/laserandgaussian_eoe_03.pdf

ASHKIN, Arthur. “Forces of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regime”. *Biophysical journal*, 1992, vol. 61, n° 2, pp. 569-582. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000634959281860X>

ASHKIN, Arthur; & DZIEDZIC, James M. *Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria*. Science, 1987, 235(4795), pp. 1517-1520.

BLANCO, Carmen Cruces. *Electroforesis capilar*. Almería España: Servicio de publicaciones Almería, 2000. pp. 55-100.

CASTBERG, Rene. Characterisation and calibration of Optical tweezers [en línea] (Trabajo de titulación). (Maestría) University of Oslo. 2008. pp.2-28. [Consulta: 3 diciembre 2022]. Disponible en: <https://www.duo.uio.no/handle/10852/11197>

CHARTIER, Germain. *Introduction to Optics*. New York, USA: Springer, 2005. ISBN N 0-387-40346-9, pp. 299-349.

CONDADO, G. Análisis de la propagación de un haz paraxial de luz en un medio con esparcimiento [En línea] (Trabajo de titulación) (Maestría) Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias. Puebla, México .2022. pp.1-71. [Consulta: 11 de febrero 2023]. Disponible en: <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3551720>.

CORREA ROJAS, Nelson Alonso. Manipulación de objetos micrométricos por medio de pinzas ópticas [En línea] (Trabajo de titulación) (Maestría) Universidad Nacional de Colombia, Colombia, Facultad de Ciencias, Física, 2012. pp. 1-43. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/9794>.

EICHHORN, Marc. *Laser physics: from principles to practical work in the lab*. Springer Science & Business Media, 2014, pp.49-74.

ESPAÑA BOQUERA, M. C. *Comunicaciones Ópticas*. España: Diaz de Santos, 2005, pp.116-123.

FITCHEN, Franklin C. *Circuitos integrados y sistemas*. Barcelona España: Reverté, 1975. pp.30-62.

FORBES, Andrew (ed.). *Laser beam propagation: generation and propagation of customized light*. Reino Unido: CRC Press, 2014, pp.14-40.

FOX, Mark. *Quantum optics: An introduction*. Oxford, USA: Oxford University Press, 2006. ISBN 978-0-19-856672-4, pp. 8-25.

FREZZA, Fabrizio; MANGINI, Fabio; TEDESCHI, Nicola. “Introduction to electromagnetic scattering: tutorial”. *JOSA A* [En línea], 2018, (Italy) 35(1), pp. 163-173. [Consulta: 4 marzo 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1364/josaa.35.000163>.

FUENTES BETANCOURT, J. et al. “Empleo del tratamiento matricial en el curso de óptica: sistema de lentes”. *Revista Brasileira de Ensino de Física* [En línea]. 2005, (Cuba) 27(3), 357–361 [Consulta: 11 febrero 2023]. ISSN 1806-9126. Disponible en: doi:10.1590/s1806-11172005000300009.

GARRIGÓS OLTRA, Lluís. “Utilización del láser en experiencias por difracción: cálculo de la longitud de onda de una radiación luminosa”. *Enseñanza de las Ciencias. Revista de investigación y experiencias didácticas* [En línea], 2006, (España) 1(1), pp. 46-49. [Consulta: 19 marzo 2023]. ISSN 2174-6486. Disponible en: doi:10.5565/rev/ensciencias.5412

GISPERT, Jaume Casabó. *Estructura atómica y enlace químico*. Barcelona España: Reverte, 2019. pp. 131-143.

GONZÁLEZ, Édgar. *El láser: principios basicos*. Bogotá-Colombia: Universidad Santo Tomás, 2003, pp.34-38.

GÖTZ, Alexander. X-ray Interferometry with the heterodyne nearfield speckles technique for beam size monitoring at FCC-ee (Trabajo de titulación). (Doctoral), 2021. pp.15-16. Disponible en: <https://inspirehep.net/files/b4bfd7664e5b93c8e020ad82a78c2dce>

GRIFFITHS, David J. *Introduction to Electrodynamics: International Edition*. 4ª ed. United States of America: Pearson Education, Limited, 2012. ISBN 978-0-321-85656-2, pp. 167-209.

HALLIDAY, David; et al. *Fundamentals of physics* [en línea]. Estados Unidos: John Wiley & Sons, 2013, pp.1240-1244. [Consulta: 20 diciembre 2022]. Disponible en: <https://www.pdfdrive.com/halliday-resnick-fundamentals-of-physics-e175337758.html>

HARADA, Yasuhiro; & ASAKURA, Toshimitsu. “Radiation forces on a dielectric sphere in the Rayleigh scattering regime”. *Optics communications*, 124,5-6, (1996), (Japan) pp. 529-541.

HAYT, William H.; & BUCK, John A. *Teoría electromagnética*. 7ª ed. CDMX México: McGraw-Hill, 2006. ISBN 970-10-5620-5, pp. 396-433.

HECHT, Eugene. *Optics*. 5ª ed. Boston, USA: Pearson Higher Education. ISBN 10: 1-292-09693-4, pp. 20-40.

HERNÁNDEZ, Alberto. “Matrices ABCD en óptica”. *Lat. Am. J. Phys. Edu* [En línea],2014, (México), 8(2), pp. 304-310. [Consulta: 11 de febrero 2023]. ISSN 1870-9095. Recuperado de: http://www.lajpe.org/jun14/10_LAJPE_901_Alberto_Sandino.pdf

HOKR, Brett H.; et al. Modeling focusing Gaussian beams in a turbid medium with Monte Carlo simulations. *Optics Express*, 2015, vol.23, n°7, pp.8699-8705. Disponible en: <https://opg.optica.org/oe/fulltext.cfm?uri=oe-23-7-8699&id=314239>

JONES, Philip H. et al., *Optical tweezers: Principles and applications* [En línea]. Cambridge, Inglaterra: Cambridge University Press, 2015. [Consulta: 19 diciembre 2022]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1017/cbo9781107279711>.

KILLIAN, Jessica L.; et al. “Optical tweezers: A force to be reckoned with”. *Cell* [en línea]. 2018, vol. 175, núm. 6, pp. 1445–1448. DOI 10.1016/j.cell.2018.11.019. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2018.11.019>

KITAMORI, Takehiko; & CHIH-MING Ho (ed.). “Micro/nano technology systems for biomedical applications. Microfluidics, optics and surface chemistry”. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [en línea]. 2010, 399(1), 163–164. [Consulta: 13 de diciembre de 2022]. ISSN 1618-2650. Disponible en: doi:10.1007/s00216-010-4359

KOGELNIK, H; & LI, T. “Laser beams and resonators”. *Applied optics* [en línea], 1966, Estados Unidos, 5(10), pp.1550-1567. [Consulta: 2 marzo 2023], Disponible en: <https://doi.org/10.1364/AO.5.001550>

KUMAR, Aashutosh. Spectroscopic characterization of optically trapped nanoparticles [en línea] (Trabajo de titulación). (Doctoral) Université Grenoble Alpes, 2020, pp.4-7. [Consulta: 9 marzo 2023]. Disponible en: <https://theses.hal.science/tel-03150718/>

LIPSON, Ariel; et al. *Física óptica* [en línea]. Estados Unidos: Prensa de la Universidad de Cambridge, 2010, pp.93-128. [Consulta: 18 marzo 2023], Disponible en: [https://library.uoh.edu.iq/admin/ebooks/55611-ariel-lipson,-stephen-g.-lipson,-henry-lipson---optical-physics,-4th-edition-\(2010,-cambridge-university-press\)---libgen.lc.pdf](https://library.uoh.edu.iq/admin/ebooks/55611-ariel-lipson,-stephen-g.-lipson,-henry-lipson---optical-physics,-4th-edition-(2010,-cambridge-university-press)---libgen.lc.pdf)

LUKISHOVA, Svetlana G.; et al. “Icons of Russian physics: From the Lebedev scientific school in physics to the Lebedev physical institute”. *Contemporary physics* [en línea], 2021, vol. 62, n°. 1, pp. 1–13. DOI 10.1080/00107514.2021.1959096. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/00107514.2021.1959096>

MALACARA, Daniel; & THOMPSON, Briam (ed.). *Advanced optical instruments and techniques* [en línea]. London-U.K: CRC Press, 2017. [Consulta: 18 marzo 2023] Disponible en: <https://www.perlego.com/book/1479392/advanced-optical-instruments-and-techniques-pdf>

MARAGÒ, Onofrio; et al. “Optical trapping and manipulation of nanostructures”. *Nature Nanotechnology* [en línea]. 2013, 8(11), 807–819. [Consulta: 13 de diciembre de 2022]. ISSN 1748-3395. Disponible en: doi:10.1038/nnano.2013.208

MESCHEDE, Dieter. *Optics, Light, and Lasers*. Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2017, pp.33-76. ISBN 9783527685486. Disponible en: doi:10.1002/9783527685486

MILES, Richard B.; et al. “Laser Rayleigh Scattering”. *Measurement Science and Technology*, 2,5 (2001), (United States of America) pp. R33-R51.

MONDAL, Partha Pratim. “Foundation of Ray Optics, Wave Optics, and Electromagnetic Optics” *AIP Publishing LLC* [En línea], 2021, (United States of America), pp.1-1-1-40. [Consulta: 23 febrero 2023]. Disponible en: https://doi.org/10.1063/9780735423398_001

PADGETT, Miles J.; et al. (ed.). *Optical Tweezers: methods and applications* [En línea]. Boca Ratón-USA: CRC press, 2010. [Consulta: 15 noviembre 2022]. Disponible en: <https://books.google.com.ec/books?id=KynNBQAAQBAJ&lpg=PP1&ots=eBYmNtKH-m&dq=PADGETT%2C%20Miles%20J.%20Optical%20tweezers%3A%20Methods%20and%20applications&lr&hl=es&pg=PP1#v=onepage&q=PADGETT,%20Miles%20J.%20Optical%20weezers:%20Methods%20and%20applications&f=false>.

PÁEZ AMAYA, Darby. Estudio de las fuerzas de una pinza óptica sobre una esfera dieléctrica en el regimen de la óptica de rayos para un haz de captura laguerre gaussiano modo. Bistua revista de la facultad de ciencias basicas [en línea] (Trabajo de titulación). Universidad de Pamplona 2018. pp.34-72 [Consulta: 3 de diciembre de 2022]. ISSN 0120-4211. Disponible en: doi:10.24054/01204211.v2.n2.2018.2990

PEDROTTI, Leno; et al. *Introduction to Optics*. 3ª ed. USA: Addison-Wesley, 2006. ISBN 9780131499331, pp. 396-418.

QUINCEY, Paul. “Solid angles in perspective”. *Physics Education* [En línea], 2020, (United Kingdom of Great Britain) 2020, 55(5), p. 055003. [Consulta: 16 marzo 2023]. ISSN 1361-6552. Disponible en: <https://doi.org/10.1088/1361-6552/ab9323>.

ROCHA, M. S. “Optical tweezers for undergraduates: Theoretical analysis and experiments”. *American Journal of Physics* [En línea]. 2009, (Brasil) 77(8), pp. 704–712 [Consulta: 7 diciembre 2022]. ISSN 1943-2909. Disponible en: doi:10.1119/1.3138698.

RUSO, Juan M. Introducción al electromagnetismo. Santiago de Compostela: Servizo de Publicacións e Intercambio Científico, 2008. pp.85-100.

SCHALLUS, Daniel. *Kausalität, Analytizität und Dispersionsrelationen* [En línea]. Wiesbaden-Alemania: Springer Spektrum, 2016. [Consulta: 17 enero 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-3-658-13201-9>.

SENIOR, John. *Optical Fiber Communications: Principles and Practice*. 3ª ed. Harlow-Inglaterra: Prentice Hall, 2008. pp.12-85.

SEPULVEDA, K. Volke; et al. A Very Brief History of Light. *Optics in Our Time*, 2007, vol. 58, no 3, pp. 18-25. Disponible en: <https://inaoe.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1009/94>

SERWAY, Raymond A.; & JEWETT, John W. *Física para ciencia e ingeniería traducido*. 10ª ed. CDMX-México: Cengage Learning Editores, 2018. pp. 663-690.

SILFVAST, William; et al. *Fundamentals of Photonics* [en línea]. Orlando-Florida: University of Connecticut, 2003. [Consulta: 18 marzo 2023], Disponible en: <http://www.academy.rbru.ac.th/uploadfiles/books/123-2018-01-09-12-36-58.pdf>

SMITH, Daniel G. *Field Guide to Physical Optics* [En línea]. Washington-USA: SPIE, 2013. [Consulta: 16 marzo 2023]. Disponible en: doi:10.1117/3.883971.

SVELTO, Orazio; et al. *Principles of lasers* [en línea]. New York: Springer, 2010. [Consulta: 1 febrero 2023], Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-1-4419-1302-9.pdf>

TAKENAKA, Takashi; et al. "Propagation of light beams beyond the paraxial approximation". *JOSA A*, vol. 2, n°6 (1985), (Japan) pp. 826-829.

TEICH, Malvin; & SALEH, Baháa. *Fundamentals of Photonics*. 2ª ed John Wiley & Sons, 1991, vol. 92.

TEICH, M.; & BAHAA E. *Fundamentals of Photonics*. 3ª ed. United States of America: Wiley & Sons, Inc. 2019. pp.1-1370.

TIPLER, Paul; & MOSCA, Gene. *Physik: für Wissenschaftler und Ingenieure* [En línea]. 7ª ed. Berlín-Alemania: Springer Spektrum, 2015. [Consulta: 6 febrero 2023]. Disponible en: DOI 10.1007/978-3-642-54166-7.

TSANG, Leung; et al. *Scattering of electromagnetic waves: theories and applications* [En línea]. New York: John Wiley & Sons, 2000. [Consulta: 25 enero 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/0471224286>.

VANDERWERF, Dennis. *The Story of Light Science*. Springer, Cham, 2017, pp.49-81.

WEBB, Robert H. *Elementary wave optics*. New York, USA: Dover Publications, Inc., 2005. ISBN 0-486-43935-6, pp. 31-47.

YEAP, Kim Ho; & HIRASAWA, Kazuhiro (ed.). *Analyzing the Physics of Radio Telescopes and Radio Astronomy* [en línea]. Estados Unidos: IGI Global, 2020. [Consulta: 01 abril 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.4018/978-1-7998-2381-0>

ZAPPE, Hans. *Fundamentals of Micro-optics*. Cambridge University Press, 2010.

ZETTILI, Nouredine. *Quantum Mechanics: Concepts and Applications (2nd ed)*. Hoboken, NJ, Estados Unidos de América: Wiley-Blackwell, 2009. ISBN 9780470026793.

ZUBAIRY, M. Suhail; et al. *Optics in our time*. Springer Nature, 2016, pp. 3-24. Disponible en: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-31903-2_1#:~:text=The%20earliest%20studies%20on%20the,Epicurus%2C%20Plato%2C%20and%20Aristotle.



ANEXOS

ANEXO A: ANÁLISIS QUÍMICO DE AGUA ESTANCADA



Contactanos: 0998580374 - 032924322
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes Riobamba – Ecuador

INFORME DE ANÁLISIS BACTEREOLÓGICOS

ANÁLISIS SOLICITADO POR: Sra. Viviana Vargas
UBICACION: Parque Ecológico Riobamba
TIPO DE MUESTRA: Agua superficial, estancada
FECHA DE ENTREGA: 05 de enero del 2023

Examen Físico

Parámetros	Resultados
COLOR:	Ligeramente verdosa
OLOR:	Inolora
ASPECTO:	Semiturbia

Examen Bacteriológico

Determinaciones	Unidades	Resultados
Coliformes Totales	UFC/100 mL	1000
Coliformes Fecales	UFC/100 mL	200

Observaciones:

Atentamente,



Dra. Gina Álvarez R.
RESPONSABLE TÉCNICO LABORATORIO

Nota: El presente informe afecta solo a la muestra analizada.

Presencia de coliformes en agua estancada

ANEXO B: VERIFICACIÓN DEL USO DELLENTE



Lente plano convexo $f=100$ mm

ANEXO C: ARREGLO EXPERIMENTAL



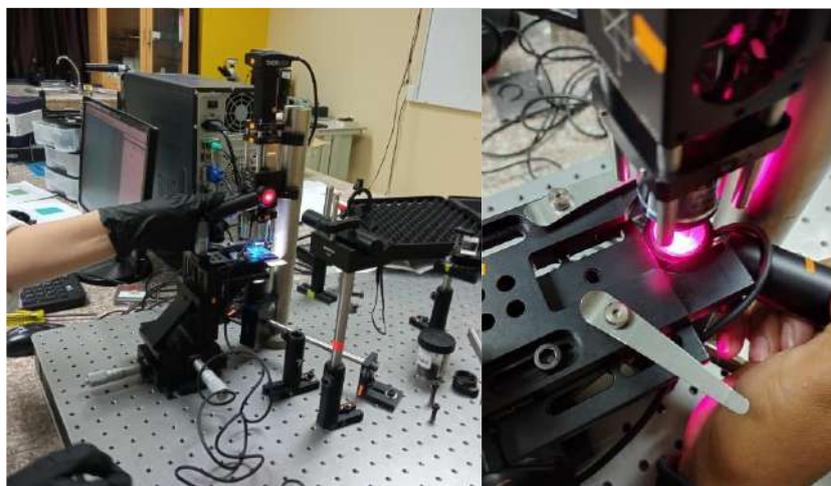
Montaje de la OT usado en la parte experimental.

ANEXO D: CALIBRACIÓN DE LASER ROJO



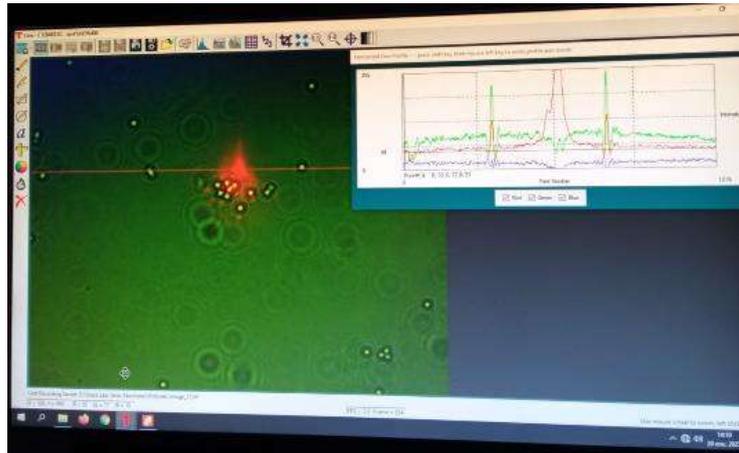
Calibración del haz de $\lambda=650$ nm y 200 mW de potencia

ANEXO E: MEDICIÓN DE POTENCIA



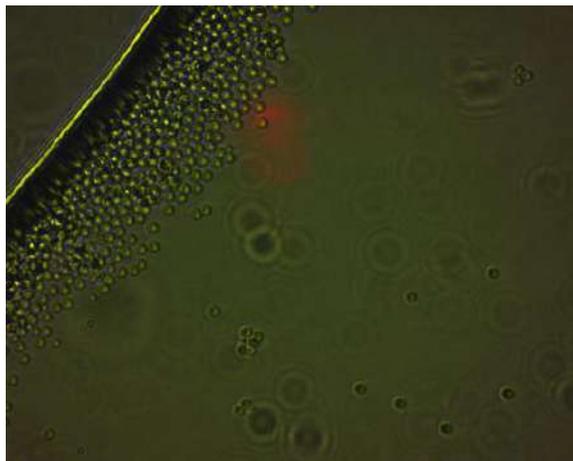
Medición de potencia al entra al cubo divisor del haz y al salir por el objetivo

ANEXO F: ANÁLISIS DE PARTÍCULAS



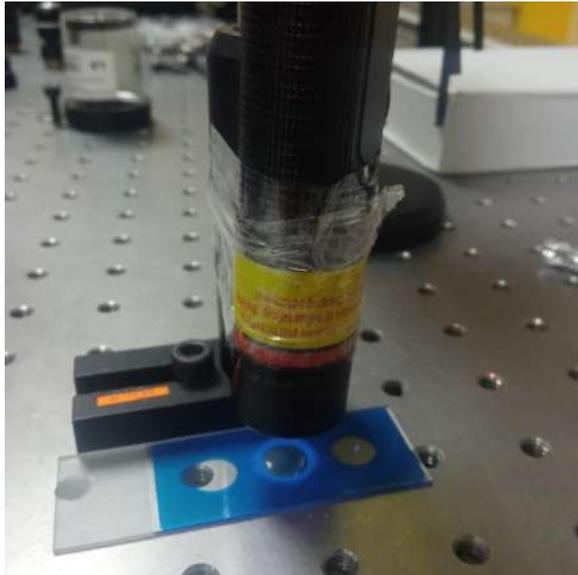
Enfoque del haz y agrupamiento de la tercera muestra

ANEXO G: MICROPARTÍCULAS DE SÍLICA



Foco de haz con partículas después de tres horas

ANEXO H: INTERACCIÓN DEL LÁSER ULTRAVIOLETA Y LA MUESTRA



Arreglo experimental con agua estancada

ANEXO I: *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*



Microorganismos de agua estancada

ANEXO J: MUESTRA DE HONGOS



Portaobjetos después de la interacción con el foco del haz

ANEXO K: DEMOSTRACIÓN - SECCIÓN TRANSVERSAL DE DISPERSIÓN

En primera instancia, la sección transversal puede ser hallada utilizando la electrodinámica clásica de radiación de un dipolo oscilante, la amplitud y la intensidad del campo eléctrico propagándose a partir de este vienen expresadas como:

$$|\mathbf{E}_s| = \frac{\omega^2 p \sin \phi}{4\pi r \epsilon_0 c^2} \quad (\text{A.1})$$

$$\mathbf{S}_s = \frac{\epsilon_0 c |\mathbf{E}_s|^2}{2} \quad (\text{A.2})$$

Donde ω representa frecuencia de oscilación y p es la magnitud del momento dipolar oscilante (carga por desplazamiento) inducida por el campo incidente. La ecuación A.1 refleja proporcionalidad entre la amplitud del campo y la variable ω^2 , la cual implica la existencia de una aceleración de carga oscilante y por esta razón, el dipolo actúa como un *oscilador armónico*. Al sustituir la ecuación A.1 en A.2, se halla la intensidad del campo dispersado

$$|\mathbf{S}_s| = \frac{c p^2 \sin^2 \phi}{2 \lambda^4 r^2 \epsilon_0} \quad (\text{A.3})$$

Sin embargo, es conveniente expresar tal intensidad en términos de la intensidad del campo entrante por lo que se consideran el momento dipolar con la constante de polarizabilidad α .

$$\mathbf{p} = \alpha \mathbf{E}_i \quad (\text{A.4})$$

Y, además se tiene:

$$|\mathbf{S}_i| = \frac{\epsilon_0 c |\mathbf{E}_i|^2}{2} \quad (\text{A.5})$$

Sustituyendo la ecuación A.4 en A.5 y posteriormente en A.3 se calcula la intensidad de dispersión de un átomo el cual viene dado por:

$$|\mathbf{S}_s| = \frac{\pi^2 \alpha^2 \sin^2 \phi}{\lambda^4 \epsilon_0^2} \frac{1}{r^2} |\mathbf{S}_i| \quad (\text{A.6})$$

En este punto se define la sección transversal de dispersión diferencial de la forma siguiente

$$|\mathcal{S}_s| = \frac{\partial \sigma_{ss}}{\partial \Omega} \frac{1}{r^2} |\mathcal{S}_i| \quad (\text{A.7})$$

Al comparar las ecuaciones A.6 y A.7 se tiene la siguiente equivalencia:

$$\frac{\partial \sigma_s}{\partial \Omega} = \frac{\pi^2 \alpha^2 \sin^2 \phi}{\lambda^4 \epsilon_0^2} \quad (\text{A.8})$$

y al integrar la ecuación A.8 considerando la ecuación 2.14 se obtiene la sección transversal de dispersión:

$$\sigma_s = \frac{8 \pi^3 \alpha^2}{3 \lambda^4 \epsilon_0^2} \quad (\text{A.9})$$

En cuanto a la potencia total dispersada, se utiliza la ecuación 2.15 posteriormente se integra dicha expresión, además, la ecuación 2.17 refleja que la sección transversal σ_s es el resultado de la relación entre la potencia dispersada y la intensidad de la onda incidente y esta ocasión viene dada por (Miles et. al, 2001):

$$\frac{P_s}{|\mathcal{S}_i|} = \frac{8 \pi^3 \alpha^2}{3 \lambda^4 \epsilon_0^2} = \sigma_s \quad (\text{A.10})$$

Para relacionar una cantidad microscópica y una cantidad macroscópica se utiliza ley de Lorenz-Lorentz, dichas cantidades son la polarizabilidad α y el índice de refracción n , esta conexión se muestra en la ecuación A.11, donde N es la densidad numérica de un gas (moléculas m^{-3}), esto se incluye precisamente porque que el índice de refracción de un cuerpo transparente está relacionado con su densidad (Kragh, H., 2018). La ecuación A.9 puede ser descrita en función de la ecuación A.11. Y a su vez $m = n_p/n_m$ implica la relación entre el índice de refracción de la partícula y el índice de refracción del medio, en el cual está inmersa.

$$\alpha = \frac{3 \epsilon_0}{N} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right) \quad (\text{A.11})$$

Al considerar una esfera con cierto volumen V y su índice de refracción relativo m , con una superficie circular bastante pequeña comparada con la longitud de onda de la luz como onda electromagnética, la polarizabilidad queda expresada como:

$$\alpha = 3\epsilon_0 V \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right) \quad (\text{A.12})$$

La ecuación A.12 se puede introducir en la ecuación A.9 para obtener la intensidad de la luz dispersada por la esfera. En términos de una sección transversal diferencial, la dispersión de partículas se escribe como:

$$\frac{\partial \sigma}{\partial \Omega} = \frac{9\pi^2 V^2}{\lambda^4} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2 \sin^2 \phi \quad (\text{A.13})$$

Si se considera que $V = 4/3\pi a^3$ entonces la sección transversal es equivalente a (Miles et. al, 2001):

$$\sigma = \frac{128}{3} \frac{\pi^5 a^6}{\lambda^4} \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2 \quad (\text{A.14})$$



epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 21 / 07 / 2023

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: Viviana Patricia Vargas Sánchez Adriana Mishell Parra Cajias
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias
Carrera: Física
Título a optar: Física
f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo

1314-DBRA-UPT-2023