

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingeniería

Armado y Calibración de Pinzas Ópticas de un Solo Rayo

Karla Solange Proaño Tipantasi

Física

Trabajo de titulación presentado como requisito
para la obtención del título de

Licenciado en Física

24 de mayo de 2023

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias e Ingeniería

HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE
CARRERA

Armado y Calibración de Pinzas Ópticas
de un Solo Rayo

Karla Solange Proaño Tipantasi

Nombre del profesor, Título académico: Melissa Infusino, PhD

24 de mayo de 2023

© Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Karla Solange Proaño Tipantasi

Código: 00202485

Cédula de Identidad: 1751987668

Lugar y fecha: 24 de mayo de 2023

ACLARACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETheses>

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETheses>

Agradecimientos

A mis amigos y familia, por siempre estar.

Resumen

En este trabajo de tesis se aborda desde una perspectiva experimental el funcionamiento de un sistema de pinzas ópticas de un solo rayo. En la primera parte se explica en detalle la configuración experimental utilizada para el confinamiento de micropartículas de silica de $2 \mu m$. En la segunda parte, se utiliza un conjunto de datos correspondiente al atrapamiento de micropartículas de silica usando un láser de $785 nm$ con potencia de incidencia de $20 mW$, para llevar a cabo la calibración de la trampa óptica utilizando tres métodos diferentes: función de autocorrelación, desplazamiento cuadrático medio y densidad espectral de potencia. Estos métodos se utilizaron para calcular las constantes de rigidez de la trampa κ y el coeficiente de fricción γ en unidades del SI, mediante el ajuste de las curvas experimentales a las teóricas correspondientes a cada método. Finalmente, se compararon los resultados de κ_x , κ_y y κ_z obtenidas por los tres métodos mencionados.

Palabras clave: *Pinzas Ópticas, Movimiento Browniano, Fuerzas Ópticas, ACF, MSD, PSD*

Abstract

This thesis work addresses, from an experimental perspective, the operation of a single-beam optical trapping system. In the first part, the experimental setup used for the confinement of 2 μm silica microparticles is explained in detail. In the second part, a dataset corresponding to the trapping of silica microparticles using a 785 nm laser with an incident power of 20 mW is used to calibrate the optical trap using three different methods: autocorrelation function, mean square displacement, and power spectral density. These methods were used to calculate the stiffness constants of the trap κ and the friction coefficient γ in SI units, by fitting the experimental curves to the theoretical curves corresponding to each method. Finally, the results of κ_x , κ_y , and κ_z obtained by the three mentioned methods were compared.

Keywords: *Optical Tweezers, Brownian Motion, Optical Forces, ACF, MSD, PSD*

Índice general

1. Introducción	12
1.1. Movimiento Browniano	16
1.1.1. Ecuación de Langevin	17
1.2. Set-up Experimental	23
2. Métodos	24
2.1. Armado Experimental	24
2.1.1. Microscopio invertido	24
2.1.2. Láser de confinamiento	25
2.1.3. Sistema de detección	28
2.1.4. Preparación de la Muestra	29
2.2. Análisis de Datos y Calibración	31
2.2.1. Función de Autocorrelación	31
2.2.2. Desplazamiento Cuadrático Medio	35
2.2.3. Densidad Espectral de Potencia	38
2.2.4. Factor de Conversión	42

	8
3. Resultados	45
3.1. Demostración Experimental	45
3.2. Resultados del Ajuste de Curvas	47
3.3. Gráficas de los Ajustes de Curvas y Comparación entre métodos . .	48
4. Conclusiones	54
Bibliografía	55

Índice de cuadros

3.1. Parámetros a y b en dirección x	48
3.2. Parámetros a y b en dirección y	48
3.3. Parámetros a y b en dirección z	49
3.4. Constantes de rigidez empleando ACF, MSD y PSD, usando las unidades de medición.	49
3.5. Constantes de rigidez en unidades físicas de fuerza por longitud. . .	49

Índice de figuras

1.1. Dispersión de un haz sobre una esfera .[1]	15
1.2. Diagrama de fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula coloidal.[2]	16
1.3. Trayectorias brownianas de una muestra de esferas de silica con radios de entre 1.55 y 3.16 μ m medidas en un intervalo de 2.5 s. . .	18
1.4. Configuración básica de pinzas óptica que consta del microscopio invertido, el láser de confinamiento y el sistema de detección.[3] . .	23
2.1. Diagrama del armado del microscopio invertido	25
2.2. Diagrama de la configuración del láser de confinamiento	27
2.3. Patrones de interferencia adquiridos a diferentes distancias de focalización de un láser He-Ne de 655 nm en la interfaz vidrio-aire. . . .	27
2.4. Diagrama de la configuración del sistema de detección	29
2.5. Kit de preparación de muestras OTKBTK	30
3.1. Láser He-Ne de 633 nm incidiendo sobre la muestra de silica. . . .	46
3.2. Láser He-Ne de 633 nm incidiendo sobre una partícula de silica . .	46

3.3. Fotogramas del video que muestran el confinamiento y la manipulación de una partícula de silica (círculo amarillo) de $2 \mu m \text{ } \emptyset$	47
3.4. Resultados del ajuste de curvas con el método de función de autocorrelación.	50
3.5. Resultados del ajuste de curvas con el método de desplazamiento cuadrático medio.	51
3.6. Resultados del ajuste de curvas con el método de densidad espectral de potencia.	52
3.7. Comparación de los resultados hallados con los tres métodos usando dos distancias a la superficie.	53

Capítulo 1

Introducción

Las pinzas ópticas, o en este caso, trampa de gradiente de un solo haz, es una herramienta ampliamente utilizada en muchos campos de investigación como la bioingeniería y la ciencia de materiales [4]. Además de permitir atrapar y manipular partículas microscópicas, incluidas células vivas e incluso orgánulos dentro de células [5], la capacidad medir de fuerzas en el rango de femtonewtons y piconewtons ha permitido analizar las propiedades mecánicas de las células, la cinética y las propiedades de moléculas biológicas [4]. Las fuerzas ópticas responsables del confinamiento en las pinzas ópticas resultan de la transferencia de momento procedente de los fotones incidentes dispersados hacia la partícula [4]. La fuerza óptica resultante ha sido tradicionalmente descompuesta en dos componentes: (1) una fuerza de dispersión, en la dirección de la propagación de la luz y (2) una fuerza de gradiente, en la dirección del gradiente espacial de intensidad de la luz [6], [3]. Una de las primeras especulaciones de las que se tiene constancia sobre la posibilidad

de que la luz ejerza fuerzas mecánicas sobre las partículas fue la observación de Kepler de las colas de los cometas[4]. Más tarde, en el siglo XVIII, continuando con el interés por esta idea, John Mitchell intentó medir cuantitativamente la presión de la radiación óptica, y consiguió demostrar que la luz solar puede concentrarse lo suficiente como para destruir el aparato experimental [4].

Sin embargo, las fuerzas resultantes de la presión de radiación óptica o electromagnética son pequeñas, dependen de la potencia luminosa, y son insuficientes para superar las fuerzas gravitacionales o de fricción en la mayoría de las circunstancias[4][1]. En años recientes, gracias a la invención del láser, ha sido posible concentrar la potencia óptica necesaria en un área reducida como para afectar significativamente el movimiento de partículas microscópicas, llevando así a la invención de las pinzas ópticas. El concepto de pinzas ópticas fue propuesto por primera vez en 1970 por Arthur Ashkin, cuando demostró que las partículas en escala micrométrica sumergidas en medios como agua o gas pueden ser confinadas únicamente debido a la presión de radiación producida por barreras ópticas potenciales estables[7].

Una trampa óptica puede ser descrita desde un punto de vista teórico trabajando en tres regímenes, dependiendo de la dimensión de la partícula (a) en comparación con la longitud de onda (λ): el régimen de la óptica geométrica, cuando $a \gg \lambda$; el régimen de dipolo, cuando $a \ll \lambda$ y el régimen electromagnético cuando a y λ son comparables. Los primeros dos regímenes son aproximaciones donde la luz es modelada como rayos ópticos (régimen de la óptica geométrica) o donde la partícula que interactúa con el campo óptico se considera como un dipolo oscilante (régimen de dipolo). Estas aproximaciones hacen predicciones válidas, cuando aplicadas en el respectivo régimen de validez y permiten de entender de forma clara

los aspectos esenciales de la fenomenología de las pinzas ópticas. La situación experimental descrita en esta tesis toma en cuenta un láser de trampa de 633 nm y unas partículas de aproximadamente $2 \mu m$ de diámetro. En este caso un modelo electromagnético exacto es lo adecuado para poder predecir con exactitud la magnitud fuerzas ópticas involucradas. Sin embargo, dada la naturaleza puramente experimental del trabajo y el objetivo puramente pedagógico de este párrafo introductorio ilustramos el mecanismo de base de las pinzas ópticas en el régimen de la óptica geométrica.

El modelo básico de confinamiento consta de un haz de luz r_i con potencia P_i que incide con un ángulo θ_i sobre una esfera dieléctrica. Tan pronto como r_i incide sobre la esfera, una fracción de la potencia se desvía hacia el rayo reflejado $r_{r,0}$, mientras que la gran parte de la potencia es llevado por el haz transmitido $r_{t,0}$ [1]. El haz $r_{t,0}$ atraviesa la esfera hasta que alcanza la superficie opuesta, donde, de nuevo, se transmitirá en gran medida fuera de la esfera en el haz $r_{t,1}$ y similarmente una pequeña cantidad se reflejará dentro de la esfera en el rayo r_r . El haz $r_{r,1}$ experimenta otro proceso de dispersión tan pronto como alcanza el borde la esfera, y el proceso continúa hasta que toda la luz haya escapado de la esfera [1].

Así, la fuerza total que actúa en la esfera está dada por

$$\mathbf{F}_{\text{ray}} = \frac{n_i P_i}{c} \hat{\mathbf{r}}_i - \frac{n_i P_r}{c} \hat{\mathbf{r}}_{r,0} - \sum_{n=1}^{+\infty} \frac{n_i P_{t,n}}{c} \hat{\mathbf{r}}_{t,n}, \quad (1.1)$$

Donde $\hat{\mathbf{r}}_i$, $\hat{\mathbf{r}}_{r,n}$ y $\hat{\mathbf{r}}_{t,n}$ son los vectores unitarios que representan la dirección del haz incidente y el n-ésimo haz reflejado y transmitido, respectivamente. Es posible descomponer \mathbf{F}_{ray} en fuerza óptica de dispersión $\mathbf{F}_{\text{ray,d}}$ que empuja la partícula en

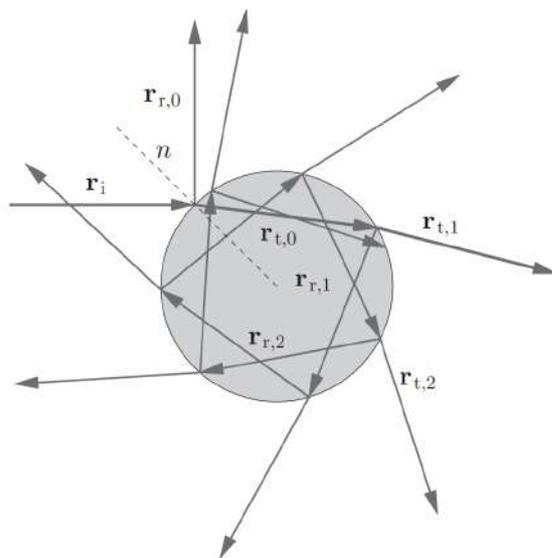


Figura 1.1: Dispersión de un haz sobre una esfera .[1]

la dirección de la rayo incidente ($\hat{\mathbf{r}}_i$), y fuerza óptica de gradiente $\mathbf{F}_{\text{ray},g}$ que tira de la partícula en una dirección perpendicular a la del rayo incidente ($\hat{\mathbf{r}}_\perp$); es decir,

$$\mathbf{F}_{\text{ray}} = \mathbf{F}_{\text{ray},d} + \mathbf{F}_{\text{ray},g} = F_{\text{ray},d}\hat{\mathbf{r}}_i + F_{\text{ray},g}\hat{\mathbf{r}}_\perp$$

Las fuerzas óptica que actúan sobre una partícula confinada son la fuerza de gradiente y de scattering. En el experimento objeto de este trabajo de tesis, la muestra consiste en una dispersión de micropartículas en un medio líquido. Cuando una micropartícula es atrapada por el láser de trampa, a causa de las continuas colisiones con las moléculas del líquido, esta produce un movimiento aleatorio, conocido en literatura como movimiento Browniano [1]. Este movimiento es caracterizado por la temperatura de la muestra, la viscosidad del medio, el tamaño de la partícula y por el potencial producido por el láser de trampa. Por esta razón el estudio del movimiento Browniano a través de herramientas

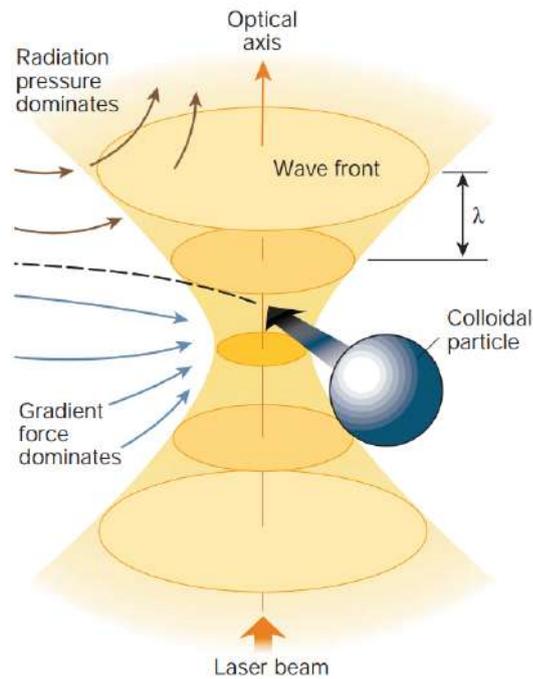


Figura 1.2: Diagrama de fuerzas ópticas que actúan sobre una partícula coloidal.[2]

estadísticas que serán presentadas en la siguiente sección, una vez que se conocen los demás parámetros, constituye en una estrategia para determinar las fuerzas ópticas aplicadas sobre la partícula.

1.1. Movimiento Browniano

El movimiento browniano es el movimiento aleatorio y perpetuo de partículas microscópicas suspendidas en un fluido. El movimiento es causado por las colisiones aleatorias de las partículas con las moléculas del fluido, las mismas que entran en estado de movimiento debido a su energía térmica [1]. Eventualmente, la partícula se establece cerca de una posición de equilibrio en el campo de fuerza óptica,

aunque nunca completamente, debido a la presencia de este fenómeno.

El movimiento browniano es un fenómeno que ocurre en equilibrio termodinámico y que no es debido a perturbaciones externas. A medida que el tamaño de la partícula se reduce, el movimiento browniano se incrementa, como resultado de la disminución de la viscosidad del fluido y el incremento de la temperatura. El movimiento está compuesto por rotaciones y traslaciones, esto hace que la trayectoria de las partículas sea muy irregular y su velocidad no esté bien definida. Además, el movimiento de una partícula en un instante es independiente del movimiento de la misma partícula en cualquier otro instante. En otras palabras, el movimiento de una partícula ópticamente confinada es el resultado de la interacción entre este movimiento aleatorio y las fuerzas ópticas de gradiente y scattering.

1.1.1. Ecuación de Langevin

Uno de los enfoques de la mecánica estadística fuera del equilibrio es el de extraer las propiedades estadísticas de un subsistema de interés a partir de sus ecuaciones de movimiento. Este enfoque es el de la ecuación Langevin. Para llevarlo a cabo primero se escribe una ecuación de movimiento adecuada para un subsistema, en la que su interacción con los demás grados de libertad del sistema se modela en términos de una "fuerza estocástica o aleatoria con propiedades estadísticas adecuadas. El problema se centra en describir el movimiento difusivo de una sola partícula (partícula marcada) inmersa en un fluido.

Se asume que la componente en x de la velocidad de la partícula marcada en algún

Trayectorias Brownianas

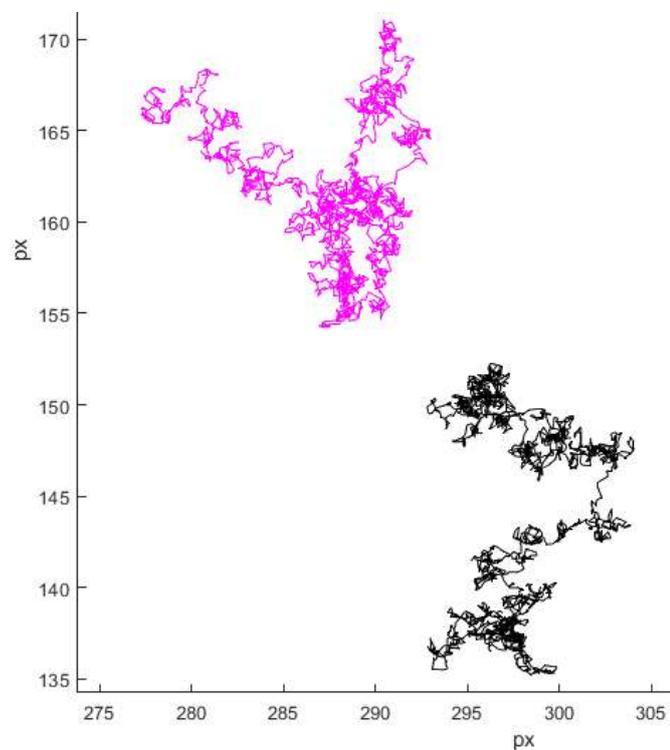


Figura 1.3: Trayectorias brownianas de una muestra de esferas de sílica con radios de entre 1.55 y $3.16 \mu\text{m}$ medidas en un intervalo de 2.5 s.

instante t_0 es v_0 . La partícula marcada representa el subsistema. . Está en equilibrio térmico con las moléculas del fluido (el baño de calor en el que está inmerso el subsistema)[8]. Las moléculas del fluido, mediante colisiones, causan cambios rápidos o fluctuaciones muy pequeñas en la velocidad de la partícula marcada y esto es esencialmente un proceso aleatorio. Por consiguiente, v es una variable aleatoria, de la que se puede estudiar sus propiedades estadísticas. En particular, su función de distribución de probabilidad para cualquier instante de tiempo $t > t_0$. Dado que el sistema está en equilibrio térmico, las propiedades estadísticas de la velocidad no sufren ningún cambio sistemático en el tiempo, es decir, la velocidad es una variable aleatoria estacionaria [8]. Esto quiere decir que la función

de densidad de probabilidad $p(v, t|v_0, t_0)$ depende del tiempo transcurrido $(t - t_0)$. Así, si se establece $t_0 = 0$ y se escribe $p(v, t|v_0)$ para la función de distribución de probabilidad condicional. La condición inicial en esta función, es por definición, la función delta de Dirac [8],

$$p(v, 0 | v_0) = \delta(v - v_0) \quad (1.2)$$

Cuando $t \rightarrow \text{inf}$, se espera que la variable v alcance su valor de equilibrio 0, sin importar cual haya sido el valor de v_0 . De hecho, se espera que la función de distribución condicional $p(v, t|v_0)$ pierda su dependencia en v_0 a medida que t crece. En otras palabras, cuando $t \rightarrow \text{inf}$ tiende al equilibrio [8],

$$\lim_{t \rightarrow \infty} p(v, t | v_0) = p^{\text{eq}}(v) = p^{\text{eq}}(v) = \left(\frac{m}{2\pi k_B T} \right)^{\frac{1}{2}} \exp \left(-\frac{mv^2}{2k_B T} \right)$$

Para describir el movimiento de la partícula marcada, se inicia con las ecuaciones de movimiento de Newton,

$$m\dot{v}(t) = F(t), \quad (1.3)$$

Donde $F(t)$ es la fuerza total sobre la partícula. Para observar la relación entre las propiedades de equilibrio y no equilibrio, se añade en $F(t)$ un término de fuerza externa, es decir,

$$F(t) = F_{\text{int}}(t) + F_{\text{ext}}(t) \quad (1.4)$$

Aquí, $F_{\text{ext}}(t)$ es la resultante de todas las fuerza externas aplicadas, mientras que $F_{\text{int}}(t)$ es la fuerza que surge de las colisiones de las moléculas en el fluido. La naturaleza aleatoria de la variable $v(t)$ aparece al considerar sólo el subsistema que

contiene a la partícula marcada, en lugar de la evolución temporal de la velocidad de cada de las partículas en el fluido. Por consistencia, $F_{int}(t)$ se puede escribir como,

$$F_{int}(t) = \eta(t) + F_{sist}(t) \quad (1.5)$$

Donde $\eta(t)$ es ruido, cuyo valor medio es 0, y es independiente del estado de movimiento de la partícula marcada. Por otro lado, $F_{sist}(t)$ es una fuerza aleatoria "sistemática" que depende del estado de movimiento de la partícula marcada. Por ejemplo, debería evitar que se acumulen fluctuaciones de velocidad muy grandes. Por esta razón, la $F_{sist}(t)$ es proporcional a la velocidad instantánea de la partícula cargada en dirección opuesta a la misma. Es decir,

$$F_{sist}(t) = -\gamma v(t) \quad (1.6)$$

Donde γ (constante positiva) es el coeficiente de fricción, dado por

$$\gamma = 6\pi\eta a \quad (1.7)$$

Donde η es la viscosidad del fluido y a es el radio de la partícula. Reemplazando las ecuaciones 1.4, 1.5 y 1.6 en 1.3 se obtiene la ecuación de movimiento de Newton para una partícula de masa m , radio a inmersa en un fluido viscoso a la que se suma un término de fuerza fluctuante.

$$m\dot{v}(t) = -\gamma v(t) + \eta(t) + F_{ext}(t) \quad (1.8)$$

Esta es la ecuación de Langevin. Es una ecuación diferencial lineal estocástica para

la velocidad de la partícula marcada. La solución de 1.8, considerando la condición inicial $v(0) = v_0$ es

$$v(t) = v_0 e^{-\gamma t} + \frac{1}{m} \int_0^t dt_1 e^{-\gamma(t-t_1)} [\eta(t_1) + F_{\text{ext}}(t_1)] \quad (1.9)$$

En presencia de un potencial tal que $F_{\text{ext}}(r) = -\frac{d}{dr}V(r)$ actuando sobre la partícula la ecuación de Langevin se puede reescribir como [1],

$$m\dot{v}(t) + \gamma v(t) = -V'(x) + \eta(t) \quad (1.10)$$

El fluido amortigua el movimiento de la partícula coloidal, pero el potencial de confinamiento limita el desplazamiento de la partícula a una región acotada [1]. En general, la mayor parte de experimentos de manipulación óptica ocurren en el régimen de números de Reynold bajos, con excepción de los experimentos realizados en fluidos con muy baja viscosidad como el aire a presión baja o al vacío [1]. En el régimen de números de Reynold bajos, la fuerza viscosa es considerablemente mayor a la fuerza inercial, por lo tanto es posible despreciar el término inercial de la ecuación 1.10 y obtener la expresión,

$$\frac{d}{dt}r(t) = -\frac{1}{\gamma} \frac{d}{dr}V(r) + \eta(t) \quad (1.11)$$

1.11 es conocida como ecuación de Langevin sobreamortiguada, donde $\eta(t) = \sqrt{2D}W(t)$, $W(t)$ es el término de ruido blanco gaussiano con intensidad $2D$, donde

D es el coeficiente de difusión dado por,

$$D = \frac{k_B T}{\gamma} \quad (1.12)$$

Para trampa óptica tridimensional, se puede expandir la ecuación 1.11 para obtener un set de tres ecuaciones de Langevin sobreamortiguadas, con una fuerza de restauración armónica. Es decir, con $F_{ext} = -\frac{d}{dr}V(r) = -\kappa_r r(t)$.

$$\begin{aligned} \frac{dx(t)}{dt} &= -\frac{\kappa_x}{\gamma}x(t) + \sqrt{2D}W_x(t), \\ \frac{dy(t)}{dt} &= -\frac{\kappa_y}{\gamma}y(t) + \sqrt{2D}W_y(t), \\ \frac{dz(t)}{dt} &= -\frac{\kappa_z}{\gamma}z(t) + \sqrt{2D}W_z(t), \end{aligned} \quad (1.13)$$

Similarmente, es posible definir el sistema de ecuaciones de diferencia finita.

$$\begin{aligned} x_i &= x_{i-1} - \frac{\kappa_x}{\gamma}x_{i-1}\Delta t + \sqrt{2D\Delta t}w_{x,i}, \\ y_i &= y_{i-1} - \frac{\kappa_y}{\gamma}y_{i-1}\Delta t + \sqrt{2D\Delta t}w_{y,i}, \\ z_i &= z_{i-1} - \frac{\kappa_z}{\gamma}z_{i-1}\Delta t + \sqrt{2D\Delta t}w_{z,i}, \end{aligned} \quad (1.14)$$

Donde x_i , y_i y z_i representan la posición de la partícula en el tiempo t_i , y $w_{i,x}$, $w_{i,y}$ y $w_{i,z}$ son números aleatorios gaussianos independientes con media cero y varianza unitaria.

1.2. Set-up Experimental

En este proyecto se usará la configuración fundamental de pinzas ópticas. El montaje experimental consta de tres sistemas principales: microscopio invertido, el láser de confinamiento y el sistema de detección. Generalmente, las pinzas ópticas requieren una potencia óptica relativamente pequeña, en el orden de los miliwatts, tal que el riesgo de afectar algunos tipos de especímenes biológicos sea bajo [9].

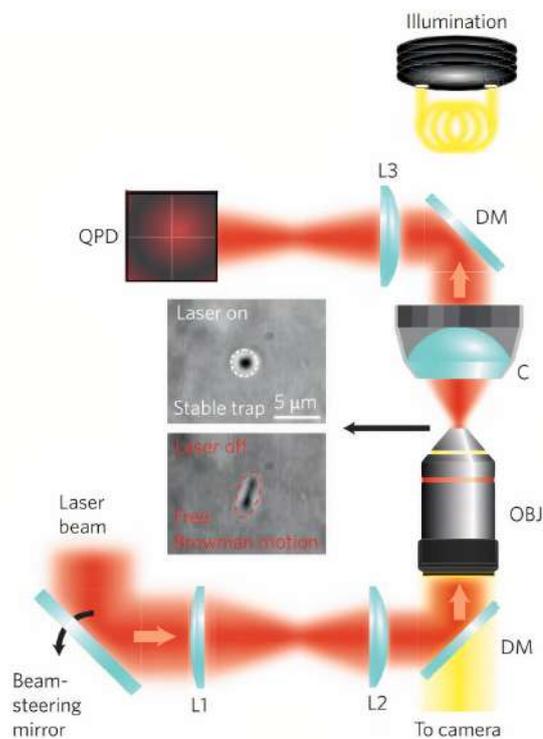


Figura 1.4: Configuración básica de pinzas óptica que consta del microscopio invertido, el láser de confinamiento y el sistema de detección.[3]

Capítulo 2

Métodos

2.1. Armado Experimental

El set-up se construyó sobre una mesa óptica térmicamente aislada de dimensiones 1.22 x 4.22 m. La mesa está construida con un patrón de celdas hexagonales ininterrumpido que proporciona la rigidez necesaria para resistir el arqueamiento de la superficie debido a las cargas aplicadas. Los soportes de la mesa son ajustables y cuentan con pernos de nivelación. Además, para prevenir el efecto de vibraciones externas, dos de los soportes cuentan con un sistema de aislación neumática, conectados a un compresor de aire.

2.1.1. Microscopio invertido

El sistema de confinamiento se construye alrededor de un microscopio óptico invertido. Se elige esta configuración debido a su estabilidad y facilidad de incorporar

múltiples haces de confinamiento[10]. El microscopio invertido se construye en varios niveles. El primer nivel se ancla a la mesa óptica y se usa para ubicar un espejo de 45° $M4$, cuyo propósito es reflejar el haz del láser hacia la apertura posterior del objetivo para formar la trampa óptica; y reflejar la luz led hacia el conjunto de lentes biconvexas $L4$ y $L5$ con distancias focales de 220 y 100 mm respectivamente, para enfocar la imagen de la muestra en la cámara. En el segundo nivel se ubican los soportes para sostener y manipular vertical y horizontalmente la muestra, también sostenido por un soporte vertical. Finalmente, en el tercer nivel se instala una fuente iluminación LED y un soporte de traslación vertical para el condensador.

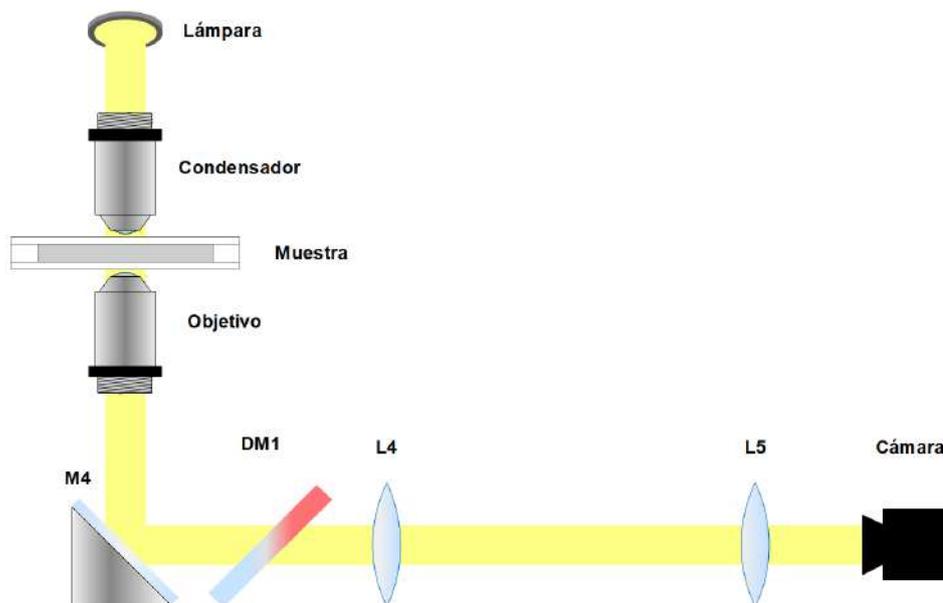


Figura 2.1: Diagrama del armado del microscopio invertido

2.1.2. Láser de confinamiento

El láser se enfoca en un punto de difracción limitada usando un objetivo de alta apertura numérica (NA). Este objetivo servirá el propósito de enfocar la luz de

confinamiento y además de formar la imagen del objeto confinado. Las muestras a menudo se colocan en pequeñas cámaras microfluídicas, sostenidas en una plataforma de microscopio mecánica con resolución de posición nanométrica. Este subsistema consta de dos elementos ópticos: el telescopio y el espejo dicróico. El telescopio formado por dos lentes biconvexas $L1$ y $L2$ con distancias focales de 50 y 300 mm respectivamente, mostrados en la figura 2.2, se añade para incrementar por un factor de 6x el diámetro del haz del láser y sobrellenar la apertura posterior del objetivo. El sobrellenado es fundamental al armar el *set-up* porque aumenta el rendimiento de la trampa al maximizar la cantidad de luz capturada por el objetivo, que a su vez incrementa la fuerza óptica que puede ser aplicada a la partícula confinada [2]. La mayoría de experimentos se han hecho con objetivos de inmersión en aceite con apertura numérica (NA) $\simeq 1.2-1.3$ y magnificación de 60-100x. En este caso se usó un objetivo OLYMPUS UPlanFL N 100x/ N.A 1.30 de inmersión en aceite con corrección al infinito. Sin embargo, la desventaja de los objetivos de inmersión en aceite es que disminuye significativamente el rendimiento de la trampa cuando el objeto confinado es manipulado lejos de la interfase cubreobjetos-agua[9]. Esto es debido al incremento de las aberraciones esféricas a causa de la discrepancia del índice de refracción en la interfase. Sin embargo, usar un objetivo de fluorita permite una corrección óptica de aberraciones cromáticas para la luz roja y azul y esféricas para dos o tres colores [1]. Esto puede ser parcialmente compensado al seleccionar un aceite de inmersión con un índice de refracción apropiado, para este proyecto, el índice de refracción del aceite usado es de 1.514 a una longitud de onda de 656.3 nm. El espejo dicróico $DM1$ se usa para reflejar luz de una longitud de onda específica, mientras que transmite la luz de longitudes de onda restantes. El láser de confinamiento usado en el proyecto

es un láser de Helio-Neón de 633 nm y potencia máxima de 35 mW. Debido a las pérdidas en el camino óptico, la potencia máxima en el plano de la muestra es de ~ 6 mW.

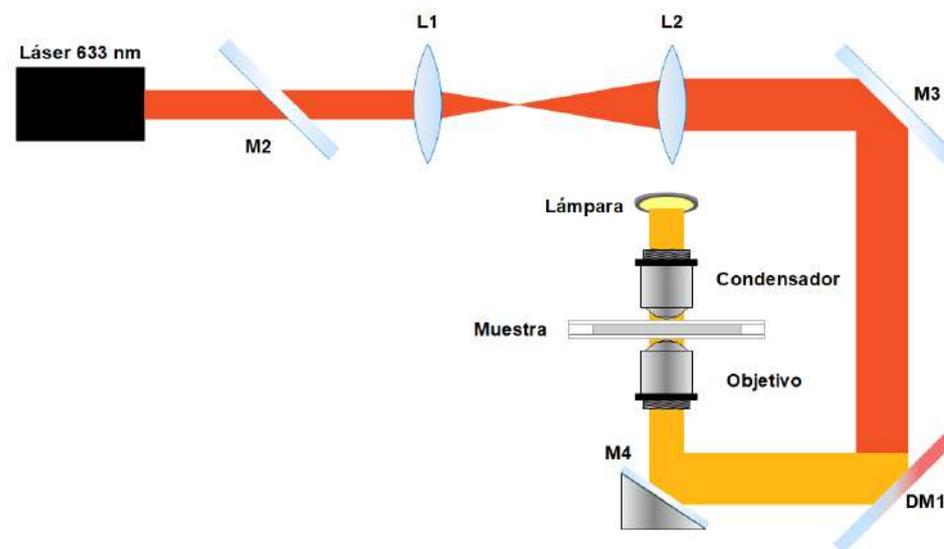


Figura 2.2: Diagrama de la configuración del láser de confinamiento



Figura 2.3: Patrones de interferencia adquiridos a diferentes distancias de focalización de un láser He-Ne de 655 nm en la interfaz vidrio-aire.

Una vez el láser ha sido enfocado es posible observar imágenes similares a 2.3 en las que se pueden observar anillos alrededor del centro del láser que representan los diferentes elementos de polarización.

2.1.3. Sistema de detección

El sistema de detección se acopla al segundo y tercer nivel de la configuración del microscopio invertido. El componente principal del sistema de detección es el fotodiodo de cuatro cuadrantes QPD. Para usarlo, el plano de la imagen del condensador debe ser el mismo que el del objetivo, es decir, deben formar un telescopio [11]. Además, un segundo espejo dicróico se ubica en el tercer nivel del microscopio invertido, bajo la fuente de iluminación LED, ver fig. 2.4. La parte sensible del QPD debe ser tan perpendicular al láser como sea posible. El output del QPD se conecta al alineador de posición del haz KPA101. El cabezal del detector de cuatro cuadrantes emite señales que detectan la posición y la intensidad del haz de luz que incide sobre la matriz del fotodetector, mientras que el modelo KPA101 permite el monitoreo de estas señales y da una indicación visual de la posición del haz, tanto a través de la pantalla del panel superior como del software Graphical User Interface (GUI). En este proyecto se empleó el detector de cuadrante segmentado y de posicionamiento de silicio PDQ80A de Thorlabs. El dispositivo es capaz de alinear precisamente la trayectoria de la luz en el rango de 400 a 1050 nm, siempre que los haces de luz tengan un diámetro de entre 1 a 3.9 μm . El sistema de detección es completamente funcional al emparejar el detector con un controlador, en este caso se utiliza el controlador KPA 101. El input del controlador es el fotodiodo de cuatro cuadrantes y el output son: las señales en X y Y y sus diferencias en un rango de voltajes de -10 a 10 V, y la suma de las señales en un intervalo de 0 a 10 V.

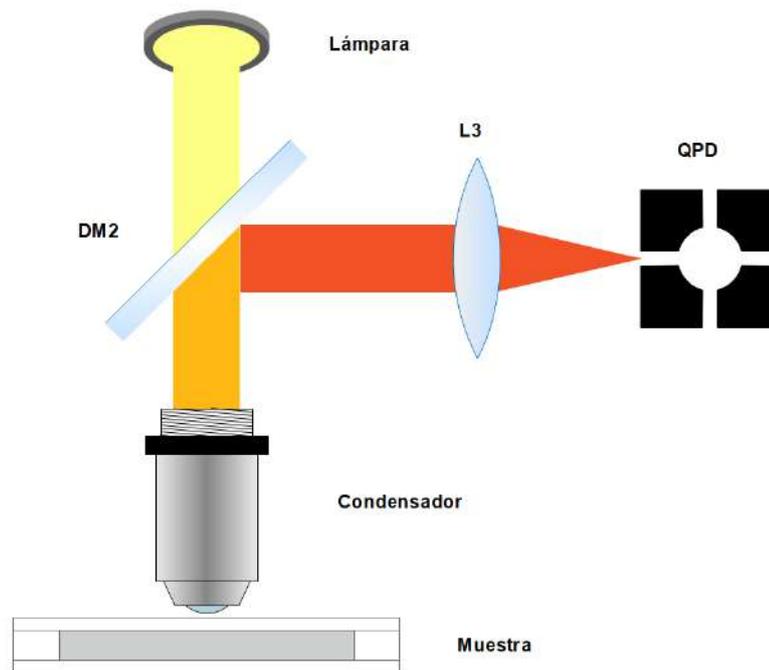


Figura 2.4: Diagrama de la configuración del sistema de detección

2.1.4. Preparación de la Muestra

Una vez alineados los tres sistemas descritos anteriormente se preparó una muestra con partículas atrapables. En este proyecto se usaron micropartículas sintéticas en solución acuosa incluidas en el kit OTKBTK de Thorlabs. El kit usado incluye micropartículas de silica no funcionalizadas en agua desionizada, $\text{Ø}2.06 \mu\text{m}$, 2 g/mL , índice de refracción 1.42-1.46 y concentración de 0.1 % (W/W); 5 portaobjetos de vidrio para microscopio con pozos de reacción con una profundidad de $20 \mu\text{m}$ y un diámetro de 10 mm ; 100 piezas de cubreobjetos con dimensiones de $18 \times 18 \text{ mm}$ y un espesor de 1.5.

La preparación de la muestra comienza suspendiendo las micropartículas en una solución acuosa a una concentración apropiada. La densidad de la solución inicial es usualmente demasiado alta como para ser capaces de atrapar, manipular y ex-

2.2. Análisis de Datos y Calibración

Una vez la trayectoria de una partícula Browniana ha sido medida usando los métodos del sistema de detección descritos en la sección 2.1.3, es posible usarla para estudiar cuantitativamente el potencial óptico. Al calibrar una trampa óptica, el principal objetivo es determinar las constantes de rigidez κ_i de la trampa a lo largo de cada dirección. El segundo objetivo es hallar el factor de conversión S_i para transformar las unidades de medición, en este caso voltios, a unidades físicas de longitud. El conocimiento de estos dos parámetros permite medir la fuerza externa aplicada a la partícula atrapada al medir solamente el desplazamiento de la partícula desde su posición de equilibrio. Los métodos más comunes usados para este fin son: función de autocorrelación (ACF), desplazamiento cuadrático medio (MSD) y distribución espectral de potencia (PSD).

En esta subsección se describen todos los métodos mencionados, tanto desde un enfoque teórico como mediante el código implementado en Python para cada uno de ellos.

2.2.1. Función de Autocorrelación

El haz del láser enfocado actúa como un pozo de potencial atractivo para una partícula cuyo índice de refracción es superior al del medio que la rodea[1]. La posición de equilibrio de la partícula atrapada se encuentra cerca del foco. Cuando el objeto se desplaza de esta posición de equilibrio, experimenta una fuerza de atracción de vuelta hacia ella. Esta fuerza de retorno es, en una primera aproximación proporcional al desplazamiento. Esto significa que, a lo largo de cada dirección, las fuerzas ópticas asociadas a una pinza óptica pueden describirse mediante la ley de

Hooke

$$\begin{cases} F_x \approx -\kappa_x (x - x_{\text{eq}}) \\ F_y \approx -\kappa_y (y - y_{\text{eq}}) \\ F_z \approx -\kappa_z (z - z_{\text{eq}}) \end{cases}$$

Donde $[x, y, z]$ es la posición de las partículas, $[x_{\text{eq}}, y_{\text{eq}}, z_{\text{eq}}]$ es la posición de equilibrio, y κ_x, κ_y y κ_z son las constantes de restauración de una trampa óptica a lo largo de las direcciones x, y y z , usualmente referidas como rigidez de la trampa. Por lo tanto, las pinzas ópticas crean una barrera potencial tridimensional que puede ser aproximada con tres osciladores armónicos independientes, uno para cada dirección[9],[1]. Si el sistema óptico está bien alineado, entonces para micropartículas esféricas, comúnmente usadas en trampas ópticas, κ_x y κ_y son aproximadamente iguales, mientras que κ_z es típicamente menor por un factor de entre 2 y 10[1].

Este sistema puede ser modelado usando varios métodos. Uno de los más fiables es el análisis de autocorrelación de la posición de la partícula o ACF por sus siglas en inglés. La función de autocorrelación de la posición proporciona una medida del tiempo que tarda la partícula en 'olvidar' su posición inicial [1], permitiendo determinar la rigidez de la trampa a partir de las fluctuaciones de la posición de la partícula, conociendo únicamente la temperatura y la viscosidad del medio. La función de autocorrelación está dada por [1]

$$C_r(\tau) = \frac{k_B T}{\kappa_r} e^{-\frac{|\tau||}{\tau_{\text{ot},r}}}, \quad (2.2)$$

La escala de tiempo $\tau_{\text{ot},r}$ caracteriza cómo una partícula es atraída a la trampa: a medida que la rigidez incrementa, la partícula experimenta una fuerza de restau-

ración más fuerte y $\tau_{ot,r}$ decrece. Donde κ_r es la rigidez de la trampa y $\tau_{ot,r} = \gamma/\kappa_r$ es el tiempo característico de la trampa óptica. La forma experimental de la ACF se puede calcular como

$$C_{r,k} = \frac{1}{N-k} \sum_{j=1}^{N-k} r_{j+k} r_j \quad (2.3)$$

Cabe mencionar que r representa el eje espacial de movimiento sobre el que se realizan los cálculos. Es decir, $r = x, y, z$.

Se utiliza el siguiente código para llevar a cabo la calibración de la trampa óptica.

```

[]: # FUNCION PARA LEER EL ARCHIVO
def read_dat_file(file_path, b,N,start_col,end_col):
    datas = np.loadtxt(file_path)
    data_NT = datas[:N, :]
    data_N = datas[:N, start_col:end_col]
    data_N = np.array(data_N)
    time = data_NT[:,b, 0:1]
    data = data_N[:,b, :]
    if data.shape[1] == 1:
        return datas, time.flatten(), data.flatten()
    else:
        return datas, time.flatten(), data

# FUNCION PARA CALCULAR LA FUNCION DE AUTOCORRELACION
def ACF(data, b):
    if len(data.shape) == 1:
        data = data.reshape((-1, 1))
    means = np.mean(data, axis=0)
    acorrs = []
    for i in range(data.shape[1]):
        acorr = np.correlate(data[:, i] - means[i], data[:, i] -
↪means[i], 'full')[len(data[:,i])-1:]
        acorr /= len(data[:,i])-b
        acorrs.append(acorr)
    acorrs = np.array(acorrs)
    mean_acorr = np.mean(acorrs, axis=0)
    return mean_acorr

```

```

#FUNCION PARA AJUSTAR LA FUNCION TEORICA DE AUTOCORRELACION
def fit(xdata, ydata):
    def func(x, a, b):
        return a * np.exp(-b * x)

    p0 = [1, 1]
    popt, pcov = curve_fit(func, xdata, ydata, p0=p0)
    a_fit, b_fit = popt
    a_err, b_err = np.sqrt(np.diag(pcov))

    fit_params = {
        'a': a_fit,
        'a_err': a_err,
        'b': b_fit,
        'b_err': b_err,
    }

    plt.errorbar(xdata, ydata, yerr=fit-ydata, linestyle='',
↳marker='o', c = 'steelblue', linewidth=0.3 ,markersize=2,
↳label='data')
    plt.plot(xdata, func(xdata, *popt), 'r-', linewidth=2,
↳label='fit')
    plt.legend()
    return fit_params

```

En la implementación del código se observan tres funciones principales. La primera, `read_dat_file(file_path, b,N,start_col,end_col)`, lee un archivo .DAT del directorio especificado usando el argumento de entrada `file_path`; determina el tiempo de retardo inicial y el número de datos para el análisis con los argumentos `b` y `N`, respectivamente; y finalmente `start_col` y `end_col` para especificar el rango de columnas a considerar para la calibración. `read_dat_file` retorna la matriz columna de tiempos de retardo y la matriz de señales de posición. Esta función es usada con la misma implementación en los dos métodos siguientes y por lo tanto no será descrita en las siguientes secciones. La segunda función `ACFdata`,

`b` usa el método `correlate` de la librería NumPy para calcular la correlación de cada columna consigo misma, al final retorna el promedio de la ACF calculada por filas. La última función `fit(xdata, ydata)` toma como argumento los tiempos de retardo y la ACF promedio y retorna los parámetros a y b con sus errores a_err y b_err del ajuste realizado.

En la función `fit` se observa que la curva a la que se ajustan los datos experimentales está dada por

$$\text{ACF}_r^{(exp)}(\tau) = ae^{-b|\tau|} \quad (2.4)$$

Comparando 2.4 y 2.2 es claro que

$$\begin{aligned} a &= \frac{k_B T}{\kappa_r^{(exp)}} = [V^2] \\ b &= \frac{1}{\tau_{ot,r}^{(exp)}} = [s^{-1}] \end{aligned} \quad (2.5)$$

2.2.2. Desplazamiento Cuadrático Medio

También es posible caracterizar la trampa óptica a partir del desplazamiento cuadrático medio, MSD por sus siglas en inglés, de la partícula atrapada. El MSD cuantifica cómo se mueve una partícula desde su posición inicial. El MSD de una partícula ópticamente atrapada está dado por

$$\text{MSD}_r(\tau) = \overline{[r(t+\tau) - r(t)]^2} = 2 \frac{k_B T}{\kappa_r} \left[1 - e^{-\frac{|\tau|}{\tau_{ot,r}}} \right] \quad (2.6)$$

Donde κ_r es la rigidez de la trampa y $\tau_{ot,r} = \gamma/\kappa_r$ es el tiempo característico. $\text{MSD}_r(\tau)$ presenta una transición desde un comportamiento de crecimiento lineal

en escalas de tiempo cortas ($\tau \ll \tau_{ot,r}$) a una nivelación debido al confinamiento en escalas de tiempo largas $S(\tau \gg \tau_{ot,r})$.

Experimentalmente, se necesita adquirir una serie temporal de posiciones de partículas correlacionadas a intervalos regulares de tiempo. Así, se obtienen las posiciones $r_j = r(t_j)$, donde $j = 1, \dots, N$, para tiempos de muestreo $t_j = j\Delta t$. El MSD experimental de una trayectoria con tiempos de retraso discretos $\tau_k = k\Delta t$ se calcula como

$$\text{MSD}_{r,k} = \frac{1}{N-k} \sum_{j=1}^{N-k} [r_{j+k} - r_j]^2 \quad (2.7)$$

Los valores experimentales de la rigidez de la trampa κ_r y el coeficiente de fricción γ_r se determinan ajustando la curva teórica dada por 2.6 a la curva experimental 2.7. Con este objetivo se implementó el siguiente código.

```
[4]: def MSD(data, ks):
    if len(data.shape) == 1:
        data = data.reshape((-1, 1))
    msd_array = []
    for col in range(data.shape[1]):
        data_col = data[:, col] if data.shape[1] > 1 else data
        msd_col = []
        for k in ks:
            data_diff = data_col[k:] - data_col[:-k]
            msd = np.mean(data_diff**2)
            msd_col.append(msd)
        msd_array.append(msd_col)
    msd_array = np.array(msd_array)
    mean_msd = np.mean(msd_array, axis=0)
    return mean_msd

def fit(xdata, ydata):
    def func(x, a, b):
        return 2* a * (1-np.exp(- b * x))
```

```

p0 = [1, 1]

popt, pcov = curve_fit(func, xdata, ydata, p0=p0)
a_fit, b_fit = popl
a_err, b_err = np.sqrt(np.diag(pcov))
fit = 2* a_fit * (1-np.exp(- b_fit * xdata))

fit_params = {'a': a_fit, 'a_err': a_err, 'b': b_fit, 'b_err':
↳b_err, }
plt.plot(xdata, func(xdata, *popt), 'r-', label='fit')
plt.errorbar(xdata, ydata, yerr=func(xdata, *popt)-ydata,
↳linestyle='', marker='o', c = 'steelblue', linewidth=0.3
↳,markersize=0.5, label='data')
plt.legend()
return fit_params

```

El código contiene dos funciones: la función `MSD(data, ks)` calcula los desplazamientos cuadráticos medios de las trayectoria dadas y retorna un arreglo del promedio por filas para cada columna de datos; y `fit(xdata, ydata)` usa el método `curve_fit` de la librería `SciPy` para realizar un ajuste usando el método de mínimos cuadrados. `MSD` toma dos argumentos: `data` es una matriz cuyas columnas contienen las señales en x , y o z de la posición de la partícula; y `ks` es un arreglo de longitud $N - 1$ que representa el tiempo de retardo discreto para el cálculo de los desplazamientos. Similarmente, `fit` toma los argumentos `xdata` y `ydata`, que corresponden a los tiempos de retardo y el valor medio del MSD experimental y retorna los parámetros a y b con los errores a_err y b_err del ajuste realizado. En la función `fit` se observa que la curva a la que se ajustan los datos experimentales está dada por

$$\text{MSD}_r^{(exp)}(\tau) = 2a [1 - e^{-b|\tau|}] \quad (2.8)$$

Comparando 2.8 y 2.6 es claro que

$$\begin{aligned} a &= \frac{k_B T}{\kappa_r^{(exp)}} = [V^2] \\ b &= \frac{1}{\tau_{ot,r}^{(exp)}} = [s^{-1}] \end{aligned} \quad (2.9)$$

2.2.3. Densidad Espectral de Potencia

El último método de calibración empleado en este proyecto es el análisis de la potencia espectral de a trayectoria de una partícula confinada o PSD por sus siglas en inglés. Es conocido por ser unos de los métodos más confiables para partículas esféricas. Para comenzar, se considera la ecuación de Langevin sobreamortiguada 1.11

$$\frac{d}{dt}r(t) = -\frac{1}{\gamma} \frac{d}{dr}V(r) + \eta(t)$$

La misma que se puede reescribir como

$$\frac{d}{dt}r(t) + 2\pi f_{c,r}r(t) = \sqrt{2D}W_r(t) \quad (2.10)$$

Donde $f_{c,r}$ es la frecuencia de corte, que representa la frecuencia más allá de la cual el movimiento es puramente difusivo.

$$f_{c,r} = \frac{\kappa_r}{2\pi\gamma} \quad (2.11)$$

Ahora, considerando la transformada de Fourier de 2.10 se obtiene

$$2\pi (f_{c,x} - if) \check{X}(f) = \sqrt{2D}\check{W}_x(f) \quad (2.12)$$

Donde $\check{R}(f)$ y $\check{W}_r(f)$ son las transformadas de Fourier de $r(t)$ y $W_r(t)$, respectivamente. El módulo cuadrado de ambos lados de la ecuación anterior da como resultado la densidad espectral de potencia del movimiento de la partícula

$$P_r(f) = |\check{R}(f)|^2 = \frac{D/(2\pi^2)}{f_{c,r}^2 + f^2}, \quad (2.13)$$

Aquí se usó la propiedad de que $|\check{W}_{k,x}|^2 = 1$ porque el ruido blanco no es correlacionado en el tiempo y tiene potencia unitaria.

Experimentalmente, la trayectoria $r(t)$ es muestreada con una frecuencia f_s por un tiempo de T_s . Así, se obtienen las muestras $r_j = x(t_j)$, donde $j = 1, \dots, N$ a tiempos de muestreo $t_j = j\Delta t$ donde $\Delta t = 1/f_s$ son los pasos de tiempo del muestreo. La ecuación 1.14 se puede escribir como

$$r_{j+1} = (1 - 2\pi f_{c,r} \Delta t) r_j + \sqrt{2D\Delta t} w_{j,r} \quad (2.14)$$

A partir de esta serie de datos se calcula la transformada discreta de Fourier

$$\check{R}_k = \Delta t \sum_{j=1}^N e^{i2\pi f_k t_j} r_j = \Delta t \sum_{j=1}^N e^{i2\pi j k/N} r_j, \quad (2.15)$$

Donde $f_k = k/T_s$ y usualmente $k = -N/2 + 1, \dots, N/2$. Esta transformación discreta de Fourier es una buena aproximación con respecto a la continua siempre que $|f_k| \ll f_s$,¹³ es decir, para frecuencias menores que la frecuencia de Nyquist $f_{Nyq} = f_s/2$. Ahora, tomando la transformación discreta de Fourier de 2.14 se obtiene

$$e^{i2\pi k/N} \check{R}_k = (1 - 2\pi f_{c,r} \Delta t) \check{R}_k + \sqrt{2D\Delta t} \check{W}_k \quad (2.16)$$

La ecuación anterior puede ser simplificada usando $e^{i2\pi k/N} \approx 1 + i2\pi k/N$ y notando que $k/N = f_k \Delta t$. De aquí que la densidad de potencia espectral experimental esté dada por

$$P_k = \frac{|\check{R}_k|^2}{T_s} = \frac{D / (2\pi^2 \Delta T_s)}{f_{c,r}^2 + f_k^2} |\check{W}_{k,r}|^2 \quad (2.17)$$

Se utiliza el procedimiento descrito anteriormente para implementar un código en python que permita realizar el análisis de la potencia espectral. El código se muestra a continuación.

```
[4]: def discrete_fourier_transform(x, fs):
    if len(x.shape) == 1:
        x = x.reshape((-1, 1))
    N = len(x)
    dt = 1 / fs
    T = dt * N
    frequencies = np.fft.fftfreq(N, dt)
    frequencies = np.fft.fftshift(frequencies)
    psd = np.zeros((N, x.shape[1]))
    for i in range(x.shape[1]):
        dft = np.fft.fft(x[:, i]) * dt
        dft = np.fft.fftshift(dft)
        psd[:, i] = (np.abs(dft)**2) / T
    mean_psd = np.mean(psd, axis=1)
    return frequencies, mean_psd

def fit(xdata, ydata):
    def func(x, a, b):
        return (a) / ((2*(np.pi**2))*(b**2 + x**2))
    p0 = [1, 1]
    popt, pcov = curve_fit(func, xdata, ydata, p0=p0)
    a_fit, b_fit = popt
    a_err, b_err = np.sqrt(np.diag(pcov))

    fit_params = {'a': a_fit, 'a_err': a_err, 'b': b_fit, 'b_err':
    ↪ b_err, }

    plt.plot(xdata, func(xdata, *popt), 'r-', label='fit')
```

```

plt.errorbar(xdata, ydata, yerr=func(xdata, *popt)-ydata,
↳linestyle='', marker='o', c = 'steelblue', linewidth=0.3
↳,markersize=0.5, label='data')
plt.legend()
return fit_params

```

En este código se definen 2 funciones: `discrete_fourier_transform(x, fs)` calcula la densidad espectral de potencia usando la transformada rápida de Fourier unidimensional empleando el método `fft` de la librería NumPy. Además se usan los métodos `fftfreq` y `fftshift` para retornar las frecuencias de muestreo en acordeancia con f_k y para desplazar los términos de frecuencia cero hacia el centro del arreglo, respectivamente; `fit(xdata, ydata)` calcula la curva de mejor ajuste. La función `discrete_fourier_transform` toma dos argumentos: `x` corresponde a una matriz, formada por columnas de señales en x , y o z y `fs` que es la frecuencia de muestreo original. El cálculo de la PSD se realiza por columnas y al final se retorna `frecuencias` y el promedio por filas `mean_psd`. La función `fit` toma los argumentos `xdata` y `ydata` que corresponden a las frecuencias y a la densidades de potencia espectrales. Cabe recalcar que para el análisis realizado solo se consideran las frecuencias positivas, es decir, para ambos arreglos se consideran $N/2$ filas.

En la función `fit` se observa que la curva a la que se ajustan los datos experimentales está dada por

$$\text{PSD}_r^{(exp)}(f) = \frac{a/2\pi^2}{b^2 + f^2} \quad (2.18)$$

Comparando 2.18 y 2.13, notamos que

$$\begin{aligned} a &= D^{(exp)} = \frac{k_B T}{\gamma^{(exp)}} \\ b &= f_{c,r} = \frac{\kappa_r^{(exp)}}{2\pi\gamma^{(exp)}} \end{aligned} \quad (2.19)$$

2.2.4. Factor de Conversión

En la subsección 2.1.3 se mencionó que los datos obtenidos por el controlador KPA 101 son señales de voltaje. Por lo tanto, la unidad resultante al calcular la función de autocorrelación y el desplazamiento cuadrático medio para mediciones experimentales es $[V^2]$. El factor de conversión S_i se determina de tal forma que sea posible pasar de $[V^2]$ a $[m^2]$. De la ecuación 2.2 se observa que

$$\gamma^{(exp)} = \tau_{ot,i} \cdot \kappa_i^{(exp)} \quad (2.20)$$

Es necesario hacer la distinción $^{(exp)}$ en γ y κ_i porque sus unidades están determinadas por el sistema de detección y no por el sistema internacional (SI).

Así, partiendo de las ecuaciones para los parámetros a y b de 2.5 y 2.9, es posible determinar las unidades de $\kappa_i^{(exp)}$

$$[\kappa_i^{(exp)}] = \frac{[k_B T]}{[a]} = \frac{[kg \cdot m^2 \cdot s^{-2}]}{[V^2]} \quad (2.21)$$

Con esta información, es posible hallar las unidades de $\gamma^{(exp)}$ reemplazando 2.21 en 2.20

$$\begin{aligned} [\gamma^{(exp)}] &= [\kappa_i^{(exp)}] \cdot [\tau_{ot,i}] \\ [\gamma^{(exp)}] &= \frac{[kg \cdot m^2 \cdot s^{-2}]}{[V^2]} \cdot [s] = \frac{[J]}{[V^2]} \cdot [s] \\ [\gamma^{(exp)}] &= \frac{[J \cdot s]}{[V^2]} \end{aligned} \quad (2.22)$$

Además, realizando el análisis dimensional de γ , descrito en 1.7, se obtiene

$$\begin{aligned} [\gamma] &= [Pa \cdot s] \cdot [m] = \frac{[kg]}{[m \cdot s^2]} \cdot [s] \cdot [m] = \frac{[kg]}{[m \cdot s]} [m] = \frac{[kg]}{[s]} \\ &[\gamma] = \frac{[J \cdot s]}{[m^2]}. \end{aligned} \quad (2.23)$$

Comparando 2.22 y 2.23

$$\frac{[\gamma]}{[\gamma^{(exp)}]} = \frac{[J \cdot s \cdot m^{-2}]}{[J \cdot s \cdot V^{-2}]} = \frac{[V^2]}{[m^2]} \quad (2.24)$$

De esta forma, se llega a la definición de $S_i^{(exp)}$, dada por

$$S_i^{(exp)} = \frac{\gamma}{\gamma^{(exp)}} \quad (2.25)$$

Consecuentemente, sus unidades serían

$$\left[S_i^{(exp)} \right] = \frac{[V^2]}{[m^2]} \quad (2.26)$$

Finalmente, basta multiplicar $[\gamma^{(exp)}]$ por $\left[S_i^{(exp)} \right]$ para transformar de las unidades experimentales a las unidades del sistema internacional (SI).

$$[k_i] = \left[k_i^{(exp)} \right] \cdot \left[S_i^{(exp)} \right] = \frac{[kg \cdot m^2]}{[s^2 \cdot V^2]} \cdot \frac{[V^2]}{[m^2]} = [kg \cdot s^{-2}] = [N \cdot m^{-1}] \quad (2.27)$$

Cabe recalcar que el factor de conversión en 2.25 es válido para corregir las unidades obtenidas al calcular $\kappa_i^{(exp)}$ usando los métodos de función de autocorrelación y desplazamiento cuadrático medio.

Similarmente, para determinar el factor de conversión $\left[S_i^{(exp)} \right]$ para el método

de densidad espectral de potencia, es necesario analizar el coeficiente de difusión teórico y experimental.

Usando la ecuación 1.12, notamos que

$$\begin{aligned} [D^{(teo)}] &= \frac{[k_B T]}{[\gamma^{(teo)}]} = \frac{[J]}{[Pa \cdot s \cdot m]} \\ &= \frac{[J]}{[J \cdot m^{-3} \cdot s \cdot m]} \\ [D^{teo}] &= \frac{[m^2]}{[s]} \end{aligned} \quad (2.28)$$

De la misma forma, $D^{(exp)}$ sería

$$[D^{(exp)}] = \frac{[k_B T]}{[\gamma^{exp}]} \quad (2.29)$$

Considerando el análisis dimensional de γ^{exp} en 2.22, se puede escribir que

$$\begin{aligned} [D^{(exp)}] &= [J] \left(\frac{[J \cdot s]}{[V^2]} \right)^{-1} \\ [D^{(exp)}] &= \frac{[V^2]}{[s]} \end{aligned} \quad (2.30)$$

Finalmente se comparan las ecuaciones 2.30 y 2.28

$$\frac{[D^{(exp)}]}{[D]} = \frac{[V^2 \cdot s^{-1}]}{[m^2 \cdot s^{-1}]} \quad (2.31)$$

Por lo tanto, el factor de conversión S_r^{exp} válido para el análisis de la densidad espectral de potencia es

$$[S_i^{(exp)}] = \frac{[V^2]}{[m^2]} \quad (2.32)$$

Capítulo 3

Resultados

3.1. Demostración Experimental

Después de haber alineado el sistema de pinzas ópticas y probado el funcionamiento de cada uno de los sistemas mencionados en la sección anterior de manera individual, es el momento de llevar a cabo una prueba de su funcionamiento de manera acoplada. En primer lugar, se coloca la muestra en el soporte portaobjetos y ajustar la posición del objetivo y del soporte para poder visualizar el plano justo por encima de la interfaz vidrio-solución. Después, se hace incidir el láser sobre la muestra, buscando la altura en la que tanto las partículas como el láser estén enfocados. La siguiente figura muestra la imagen capturada por la cámara CCD.

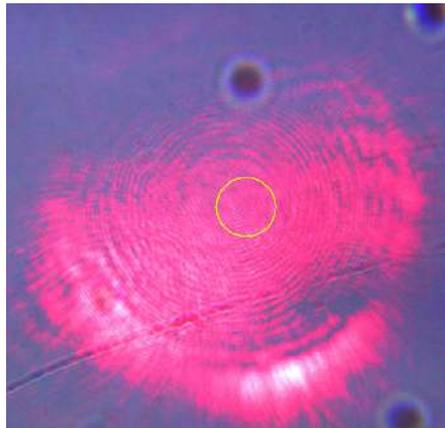


Figura 3.1: Láser He-Ne de 633 nm incidiendo sobre la muestra de silica.

En la fig. 3.1 se puede observar el patrón de interferencia debido a la luz incidente del láser y a la luz reflejada por la interfaz del cubreobjetos. Posteriormente, se manipula horizontalmente el soporte portaobjetos hasta incidir sobre una partícula individual. Inmediatamente se observa como la partícula "salta" hacia el láser y es confinada ópticamente.

En la fig. 3.2 se puede observar como el patrón de interferencia es cambiante. Esto

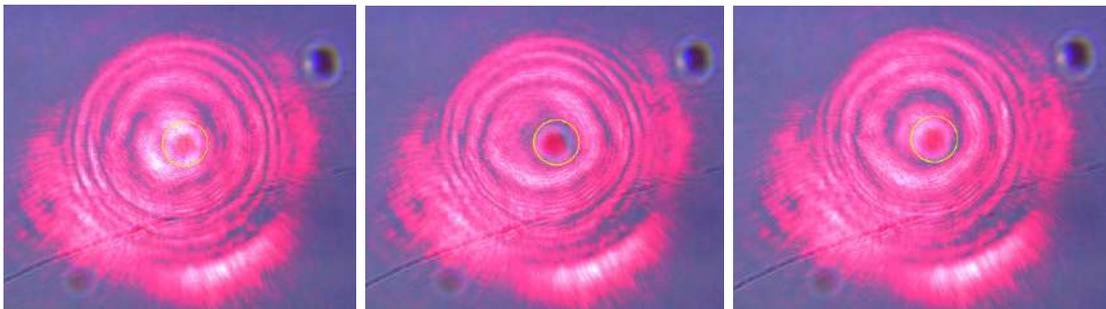


Figura 3.2: Láser He-Ne de 633 nm incidiendo sobre una partícula de silica

se debe a que la partícula está sujeta a la fuerza que ejerce un rayo gaussiano y por lo tanto esta restringida a moverse en el volumen de un elipsoide. Es decir, la partícula tiene un mayor rango de movimiento en z que en cualquier otra di-

rección, esto implica que en diferentes instantes de tiempo la partícula interactúa con distintos frentes de onda del rayo. En resumen, la luz difusa por la partícula depende de la luz incidente que a su vez está influenciado por la interacción de la partícula con el frente onda del rayo gaussiano. En este punto sólo hace falta



Figura 3.3: Fotogramas del video que muestran el confinamiento y la manipulación de una partícula de silica (círculo amarillo) de $2 \mu\text{m}$ \varnothing .

mover horizontalmente el soporte portaobjetos; como se muestra en la Fig. 3.3, la imagen de la partícula atrapada ópticamente permanece en el mismo punto dentro de la imagen capturada por la cámara, mientras que las partículas de fondo sedimentadas en el portaobjetos parecen estar desplazadas.

3.2. Resultados del Ajuste de Curvas

Las condiciones experimentales de los datos a analizar son: el láser usado es de , la potencia usada de 20 mW; la frecuencia de muestreo de 50 kHz y la longitud de los datos de 100000. El láser incide con polarización lineal sobre partículas de silica con $2.06 \mu\text{m}$ de diámetro. Además, la mediciones se realizaron a usando dos distancias hacia la superficie: para $3.5 \mu\text{m}$ existen 4 mediciones y para $4.2 \mu\text{m}$ existen 7 mediciones.

Para iniciar con la obtención de las constantes de la trampa óptica se obtienen los valores de los parámetros a y b para cada uno de los métodos descritos en la

sección anterior.

Posteriormente, usando a en cada dirección y en concordancia con 2.5, 2.9 y 2.19 se calcularon las constantes de rigidez de la trampa para los métodos ACF, MSD y PSD, respectivamente. Estos resultados se muestran en el cuadro 3.4. Estos resultados son previos a multiplicar por el factor de conversión S_i^{exp} .

	$a_x [V^2]$	$err_{ax} [V^2]$	$b_x [s^{-1}]$	$err_{bx} [s^{-1}]$
ACF				
3.5	0.0101	3.19E-05	1239.688015	5.479153
4.2	0.0036	1.07E-05	164.1234126	0.701128
MSD				
3.5	0.0134	1.28E-06	2347.928317	30.69402
4.2	0.0091	1.46E-06	576.5002428	6.294086
PSD				
3.5	12.068	1.23E-01	196.6227825	1.265507
4.2	0.6009	5.93E-03	27.01682994	0.16798

Cuadro 3.1: Parámetros a y b en dirección x

	$a_y [V^2]$	$err_{ay} [V^2]$	$b_y [s^{-1}]$	$err_{by} [s^{-1}]$
ACF				
3.5	0.0141	3.43E-05	2303.75	7.730147
4.2	0.011	2.16E-05	2414.562	6.55061
MSD				
3.5	0.0134	1.28E-06	2347.928	30.69402
4.2	0.0099	7.31E-07	2327.605	23.32064
PSD				
3.5	31.159	2.35E-01	367.7847	1.756691
4.2	25.459	1.62E-01	385.4754	1.551092

Cuadro 3.2: Parámetros a y b en dirección y

3.3. Gráficas de los Ajustes de Curvas y Comparación entre métodos

	$a_z [V^2]$	$err_{az} [V^2]$	$b_z [s^{-1}]$	$err_{bz} [s^{-1}]$
ACF				
35	0.0709	0.000152	63.98286	0.193239
42	0.0561	9.02E-05	102.0988	0.231854
MSD				
35	2.60E-05	63.36109	0.458768	30.69402
42	1.71E-05	118.7592	1.074633	23.32064
PSD				
35	0.03603	11.07704	0.050343	1.756691
42	3.44E-02	16.93642	0.061403	1.551092

Cuadro 3.3: Parámetros a y b en dirección z

μm	$\kappa_x^{(exp)} [N \cdot m/V^2]$	$\kappa_y^{(exp)} [N \cdot m/V^2]$	$\kappa_z^{exp} [N \cdot m/V^2]$
			ACF
3.5	4.11E-19	2.94E-19	5.84E-20
4.2	1.17E-18	3.76E-19	7.38E-20
			MSD
3.5	3.09E-19	3.09E-19	5.15E-20
4.2	4.57E-19	4.16E-19	7.13E-20
			PSD
3.5	4.24E-19	3.07E-19	2.60E-20
4.2	1.17E-18	3.94E-19	2.60E-20

Cuadro 3.4: Constantes de rigidez empleando ACF, MSD y PSD, usando las unidades de medición.

μm	$\kappa_x^{(exp)} [N/m]$	$\kappa_y^{(exp)} [N/m]$	$\kappa_z^{(exp)} [N/m]$
			ACF
3.5	2.41E-05	4.48E-05	1.24E-06
4.2	3.19E-06	4.70E-05	1.99E-06
			MSD
3.5	4.57E-05	4.57E-05	1.23E-06
4.2	1.12E-05	4.53E-05	2.31E-06
			PSD
3.5	2.40E-05	4.49E-05	1.78E-06
4.2	3.30E-06	4.71E-05	2.36E-06

Cuadro 3.5: Constantes de rigidez en unidades físicas de fuerza por longitud.

Función de Autocorrelación

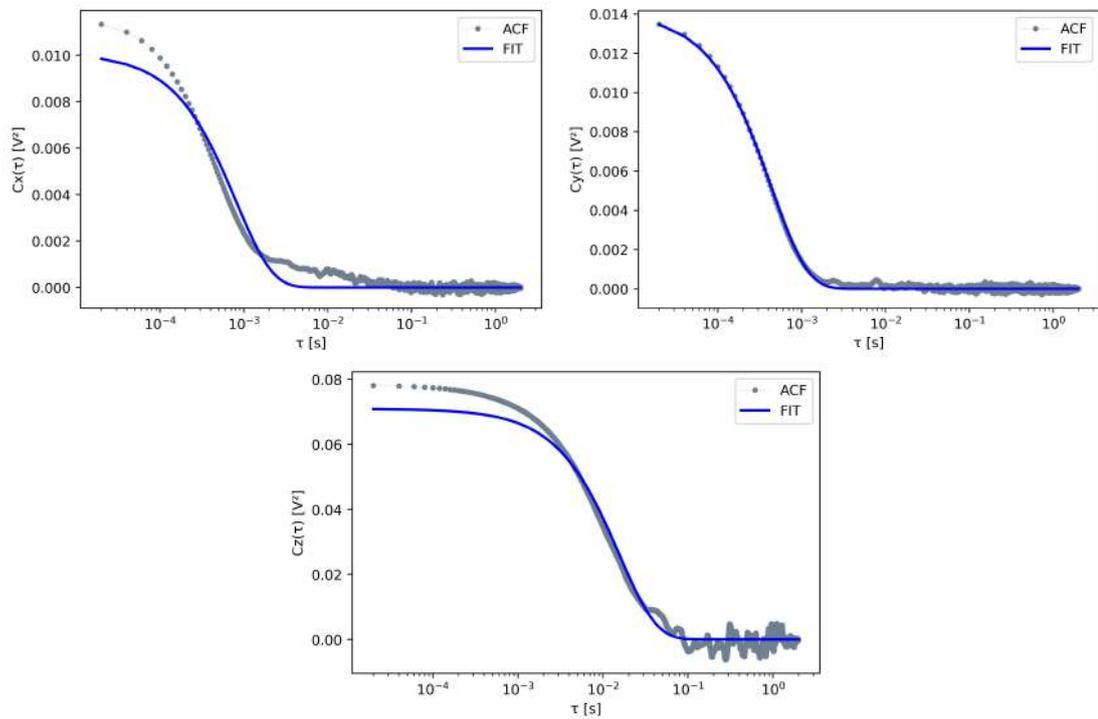
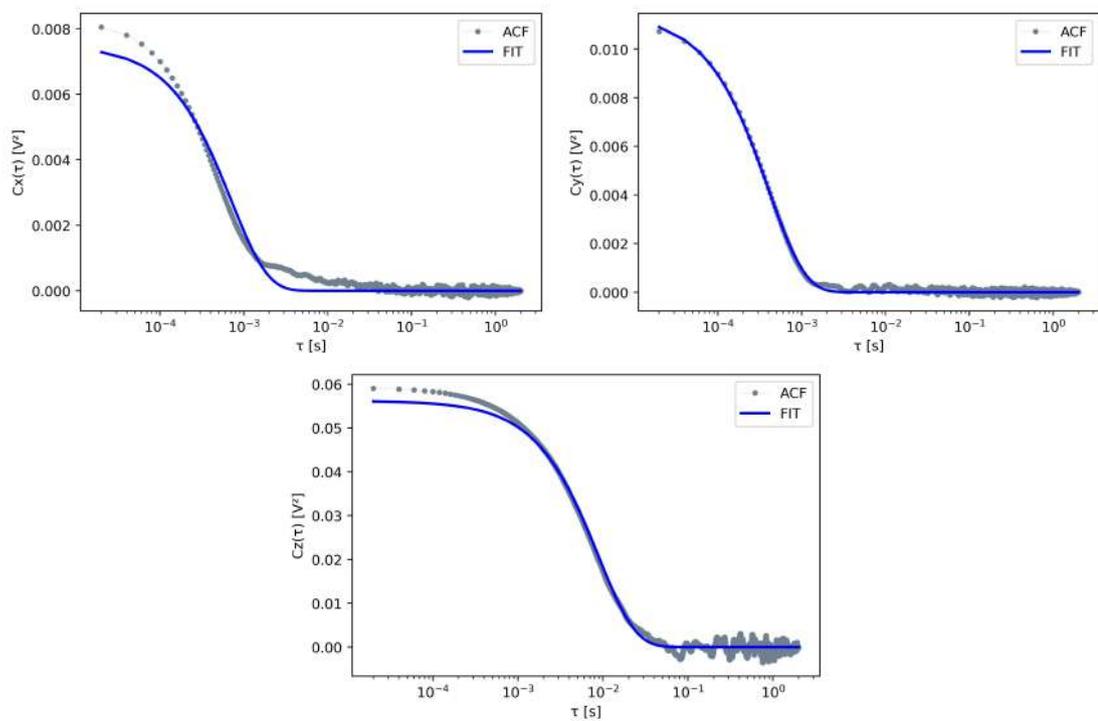
 $3.5 \mu m$  $4.2 \mu m$ 

Figura 3.4: Resultados del ajuste de curvas con el método de función de autocorrelación.

Desplazamiento Cuadrático Medio

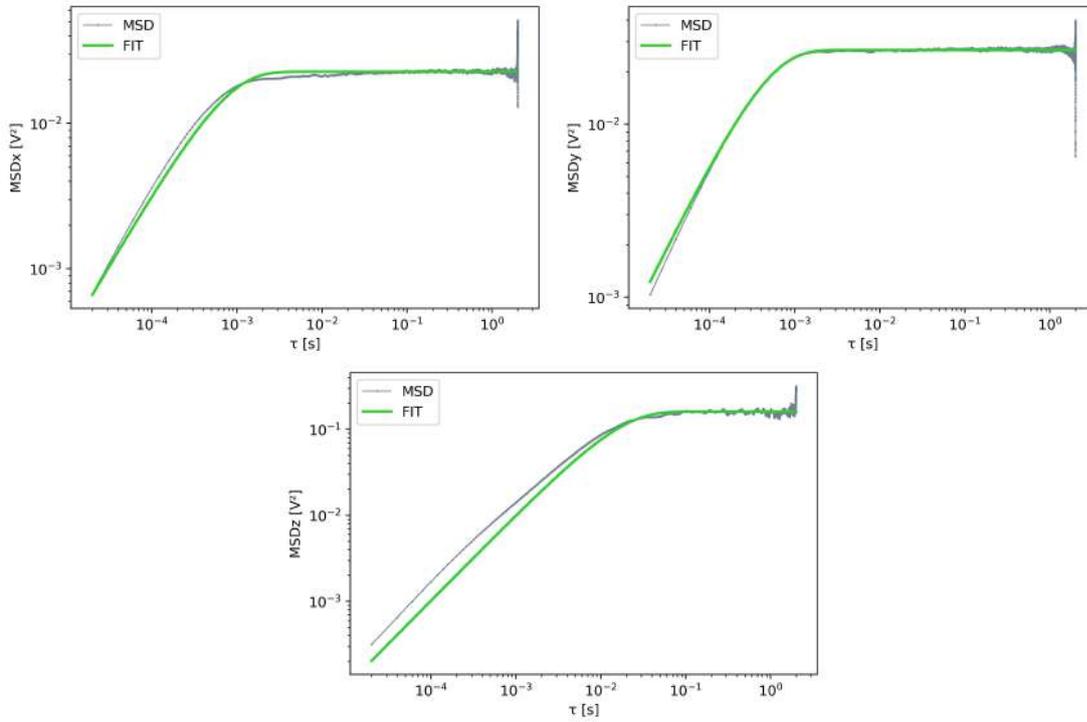
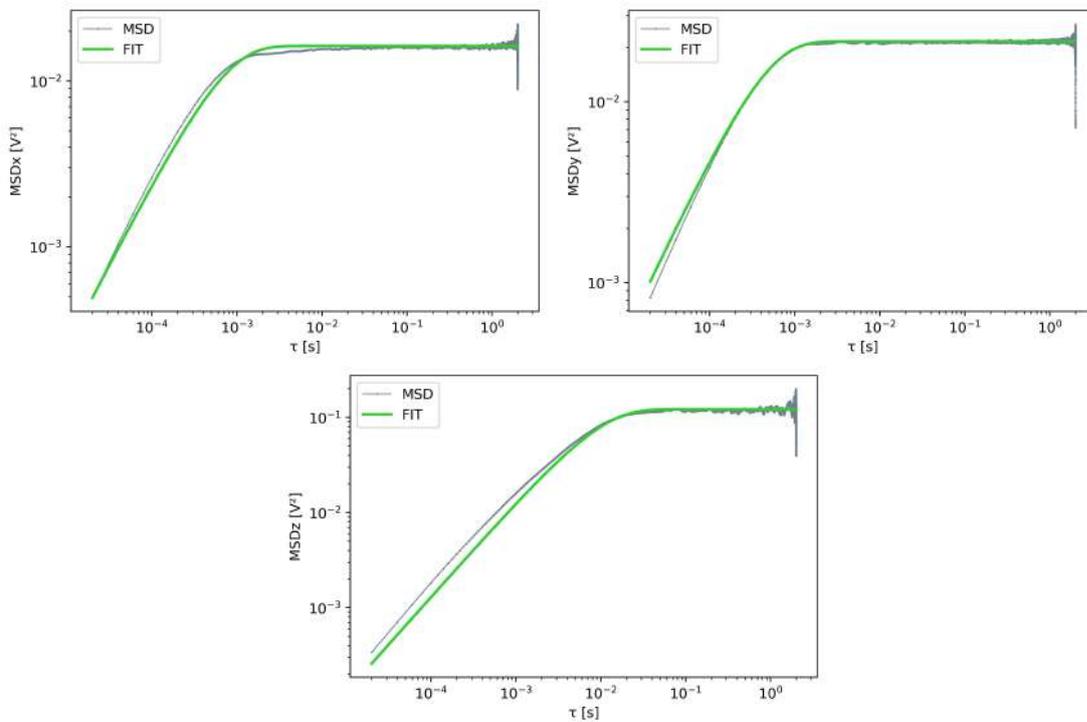
 $3.5 \mu m$  $4.2 \mu m$ 

Figura 3.5: Resultados del ajuste de curvas con el método de desplazamiento cuadrático medio.

Densidad Espectral de Potencia

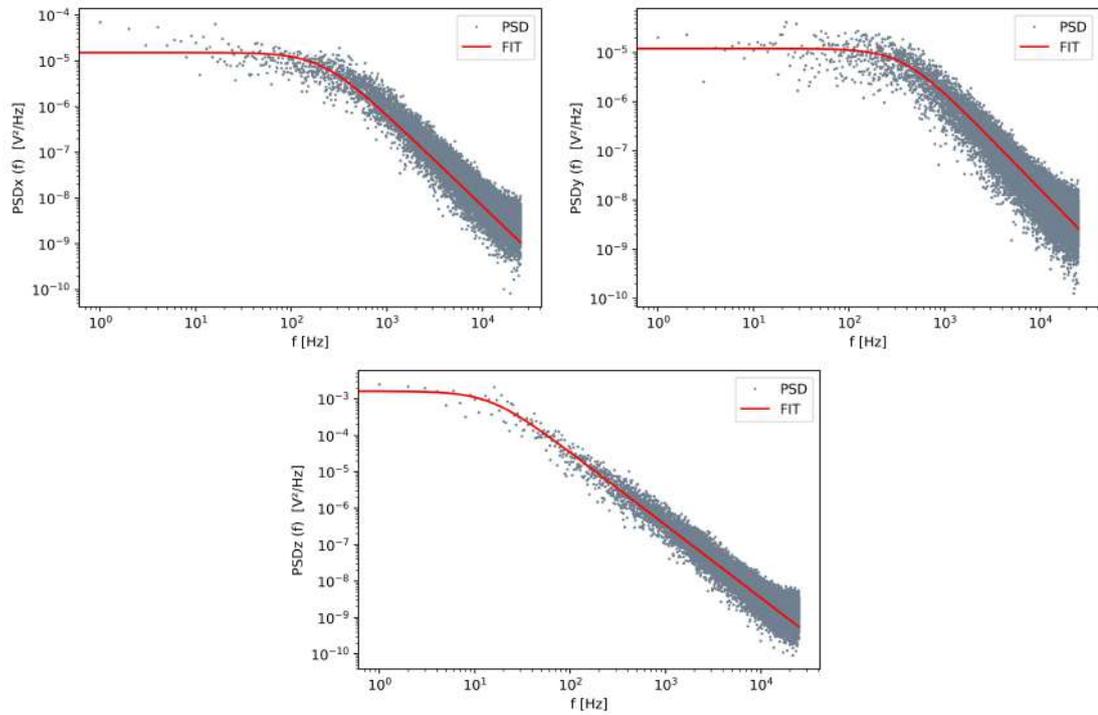
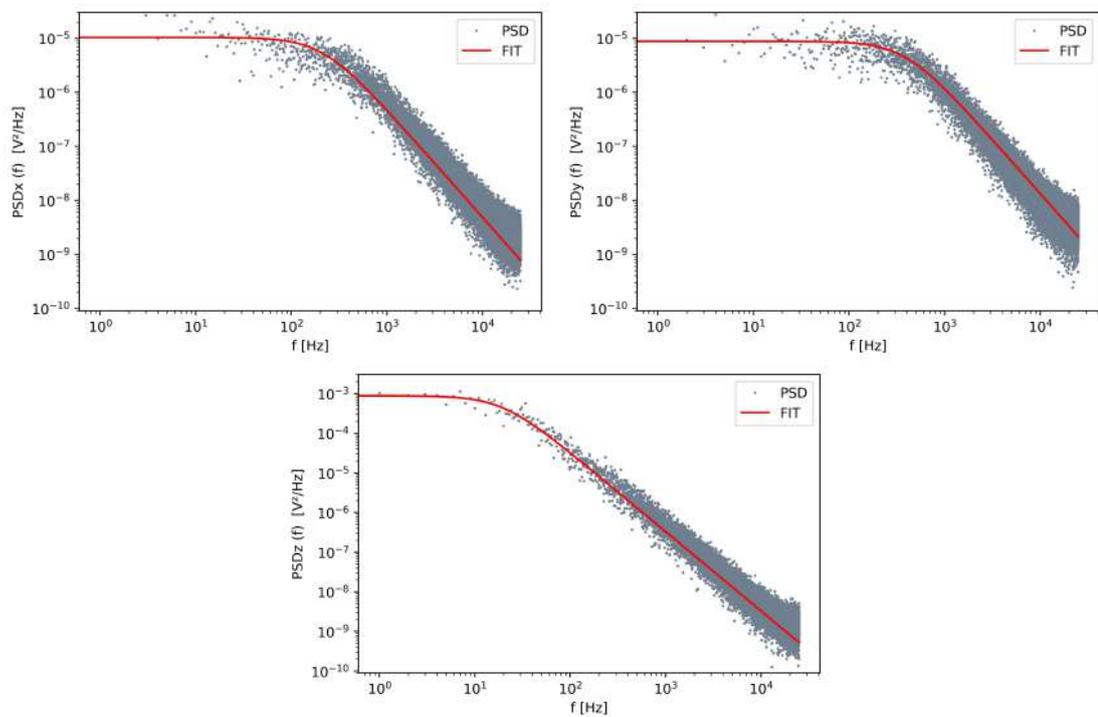
 $3.5 \mu m$  $4.2 \mu m$ 

Figura 3.6: Resultados del ajuste de curvas con el método de densidad espectral de potencia.

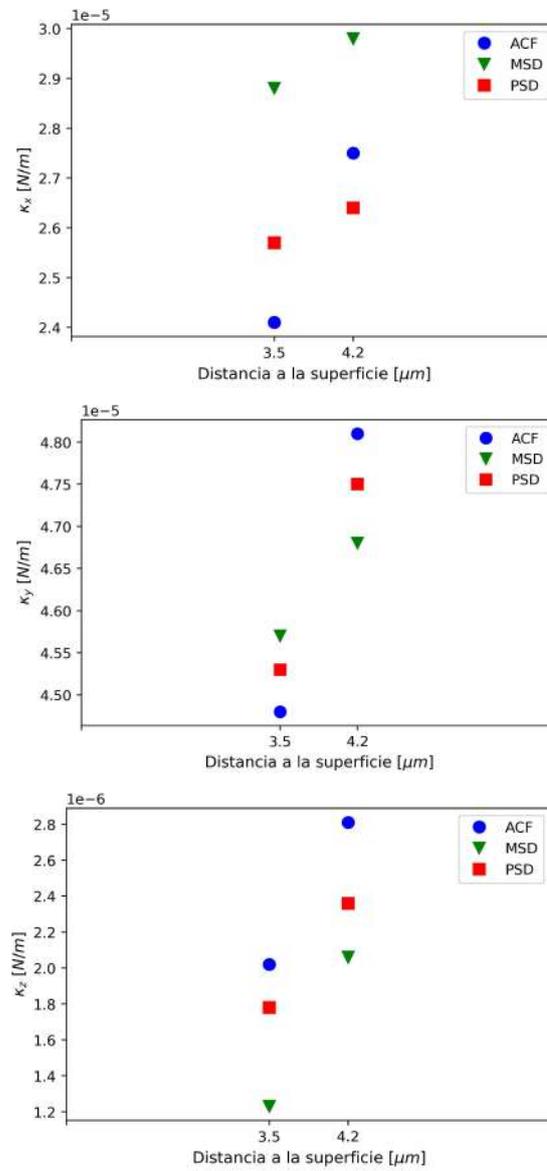


Figura 3.7: Comparación de los resultados hallados con los tres métodos usando dos distancias a la superficie.

Capítulo 4

Conclusiones

En este proyecto de tesis se ha realizado experimentalmente un set-up de pinzas ópticas de un solo rayo, donde un láser enfocado hasta su límite de difracción a través de un objetivo de gran apertura numérica se ha acoplado a un microscopio óptico invertido. Es importante recalcar que todo el set-up, incluida la parte del microscopio se ha llevado a cabo desde cero.

A través del set-up realizado se consiguió el atrapamiento de micropartículas de sílica con diámetro de $2 \mu m$, esto es prueba de su correcta alineación y funcionamiento.

Además en la segunda parte del proyecto se estudian los principales métodos usados en la literatura para analizar una señal típica, técnicamente conocida como traza, mostrando cómo los diferentes análisis permiten hallar las constantes elásticas κ a lo largo de x , y , z y el coeficiente de fricción de la trampa óptica y medir, gracias

a oportunos factores de conversión, las fuerzas ópticas en unidades del sistema internacional. Se observó que los resultados de κ_x , κ_y en relación con κ_z difieren por un orden de magnitud en los tres métodos considerados, este comportamiento es consistente con la naturaleza de la distribución de intensidad gaussiana del rayo usado para el atrapamiento y con estudios previos de pinzas ópticas que utilizan luz polarizada linealmente.

Bibliografía

- [1] Giovanni Volpe Philip H. Jones, Onofrio M. Maragò. *Optical Tweezers: Principles and Applications*. Cambridge UK, (2015).
- [2] D. G. Grier. A revolution in optical manipulation,. *Nature* 424, pages 810–816, (2003).
- [3] O. M. Marago, P. H. Jones, P. G. Gucciardi, and G. Volpe & A. C. Ferrari. Optical trapping and manipulation of nanostructures. *Nat.Nanotechnol.* 8, pages 807–819, (2013).
- [4] Anni Lehmuskero, Robin Ogier, Tina Gschneidtner, Peter Johansson, and Mikael Kall. Ultrafast spinning of gold nanoparticles in water using circularly polarized light. *Nano Letters*, pages 3129–3134, (2013).
- [5] Timo A. Nieminen, Norman R. Heckenberg Gregor Knöner, and Halina Rubinsztein-Dunlopä. Physics of optical tweezers. *Methods Cell Biology.*, pages 207–236, (2007).
- [6] K. Neuman & S. M. Block. Optical trapping,. *Rev. Sci. Instrum.* 75, pages

2787–2809, (2004).

- [7] A. Ashkin. Acceleration and trapping of particles by radiation pressure. *Physics Review*, pages 156–159, (1970).
- [8] V. Balakrishnan. *Elements of Nonequilibrium Statistical Mechanics*. Springer, (2021).
- [9] A. Jonás & P. Zemánek. Light at work: the use of optical forces for particle manipulation, sorting, and analysis. *Electrophoresis 29*, pages 4813–4851, (2008).
- [10] D. C. Appleyard, K. Y. Vandermeulen, and M. J. Lang H. Lee. Optical trapping for undergraduates,. *American Journal of Physics 75*, pages 5–14, (2007).
- [11] Giuseppe Pesce, Giorgio Volpe, Onofrio M. Maragó, Philip H. Jones, Sylvain Gigan, and Antonio Sasso & Giovanni Volpe. Step-by-step guide to the realization of advanced optical tweezers. *Journal of the Optical Society of America B*, pages 84–98, (2015).