

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ
Colegio de Ciencias e Ingenierías

**CALIBRACIÓN DE PINZAS ÓPTICAS
MEDIANTE EL MÉTODO DE
AUTO-CORRELACIÓN**

Alex Javier Perez Vilañez

Física

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito para la obtención
del título de Licenciado en Física

Quito, 15 de diciembre de 2021

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO
USFQ**

Colegio de Ciencias e Ingeniería

**HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE
CARRERA**

**CALIBRACIÓN DE PINZAS ÓPTICAS MEDIANTE EL
MÉTODO DE AUTO-CORRELACIÓN**

Alex Javier Perez Vilañez

Calificación:

Nombre de la profesora, Título académico: Melissa Infusino, Ph.D.

Firma de la profesora:

Quito, 15 de diciembre de 2021

© 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 el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Firma del estudiante
Nombres y apellidos:	Alex Javier Perez Vilañez
Código:	00131692
Cédula de Identidad:	1726215799
Lugar y fecha:	Quito, 15 de Diciembre de 2021

ACLARACIÓN PARA 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UNPUBLISHED DOCUMENT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>.

Dedicado a Dios, a mi padre, a mi madre y a mi hermana.

Agradecimientos

Quisiera agradecer de forma sincera a mi familia por todo su apoyo. A mi supervisora, Melissa Infusino, por su paciencia, claridad y guía a lo largo de mi carrera universitaria.

Resumen

En este trabajo se estudia el proceso de calibración de Pinzas Ópticas usando el método de auto-correlación. Las partículas de látex involucradas tienen de diámetro igual a $1 \mu m$, se encuentran en una muestra inmersa en aceite y se las atrapa mediante un láser linealmente polarizado con $\lambda_0 = 785 [nm]$ enfocado a través de un objetivo con apertura numérica de 1.3. Los datos experimentales son tomados mediante un foto-diodo de cuatro cuadrantes para 9 distintas distancias a la superficie de la muestra atrapada. Se procesan los datos medidos y se obtiene la función de auto-correlación de la posición. Se realizan ajustes de curvas experimentales a teóricas y se obtienen las constantes de rigidez de la trampa analizada en unidades del SI. Este proyecto tiene como resultados constantes de rigidez acordes, y del mismo orden de magnitud, a estudios previamente hechos y publicados, con los cuales se discute y concluye que la calibración de este proyecto es aceptable.

Palabras clave: ACF, PD, Optical Tweezers, Apertura Numérica, Atrapamiento Óptico

Abstract

In this work we study the calibration process of a single-beam optical tweezer by means of the auto-correlation method. The sample used is a water-dispersion of latex spheres with a diameter of $2 \mu\text{m}$. The trapping beam is a linearly polarized laser beam ($\lambda_0 = 785 \text{ [nm]}$) focused by an oil-immersion objective with a numerical aperture of 1.3. Due to spherical aberration the trapping efficiency depends on the distance between the trapped particle and the containing glass surface. Experimental data are acquired by using a quadrant photo-diode for 9 different distances to the sample surface. The measured data are processed and the auto-correlation function of the position is obtained. By comparing the experimental auto-correlation function with the one predicted by the Fokker-Planck theory the stiffness constants are obtained.

Keywords: ACF, PD, Optical Tweezers, Numerical Aperture, Optical Trapping

Índice general

1. Introducción	14
1.1. Optical Tweezers (Pinzas Ópticas)	14
1.2. Movimiento Browniano y el Método de Auto-correlación	17
1.3. Set up Experimental	22
1.3.1. Microscopio óptico invertido	23
1.3.2. Láser de trampa	24
1.3.3. Sistema de detección	25
1.4. Experimento de calibración	26
2. Procesamiento de Datos	29
2.1. Ajuste de Curvas mediante métodos de Programación	29
2.2. Análisis dimensional previo a la obtención de las constantes de rigidez de la Trampa Óptica	33
3. Resultados	36
3.1. Resultados del Ajuste de Curvas Exponenciales	36

	10
3.2. Obtención de las Constantes de Rigidez de la Trampa Óptica	39
Conclusiones	43
Bibliografía	45
Anexos	47

Índice de cuadros

3.1. Valores de a y b obtenidos por el fit para la componente z	37
3.2. Valores de $k_z^{(exp)}$ y $\gamma_z^{(exp)}$ obtenidos para la componente z	40
3.3. Valores de k y S obtenidos para la componente z	40
3.4. Valores de a y b obtenidos por el fit para la componente x	52
3.5. Valores de a y b obtenidos por el fit para la componente y	52
3.6. Valores de $k^{(exp)}$, $\gamma^{(exp)}$, k y S obtenidos para la componente x	52
3.7. Valores de $k^{(exp)}$, $\gamma^{(exp)}$, k y S obtenidos para la componente y	53

Índice de figuras

1.1. Esquemático del modelo de una trampa óptica en el rango de la óptica geométrica donde el rayo Gaussiano puede ser descompuesto en un conjunto de rayos ópticos. [3]	15
1.2. Fuerzas ópticas en el plano longitudinal (zx) y transversal (xy) en función de la NA en una muestra inmersa en agua [3], [8].	16
1.3. Esquemático del set-up experimental, [2].	23
1.4. Foto-diodo de cuatro cuadrantes (PD)	25
1.5. Focalización con un objetivo de inmersión en aceite (a) y con objetivo de inmersión en agua (b), [7]	26
1.6. Diferentes pattern de interferencia adquiridos por diferentes distancias de focalización, para un rayo Gaussiano focalizado a la interfaz vidrio-aire [3].	27
2.1. Archivo <i>data1-x.xlsx</i> de la ACF de la componente x correspondiente a la distancia $3.5 \mu m$ de la superficie.	31
2.2. Archivo <i>data9-x.xlsx</i> de la ACF de la componente x correspondiente a la distancia $31.5 \mu m$ de la superficie.	31
3.1. Resultado de ejecutar <i>Ajuste.mlx</i> . f1, f2 y f3 corresponden al ajuste de la ACF en x , y y z respectivamente.	36

3.2.	Gráfica resultado de ejecutar el programa <i>FitvsData.mlx</i>	38
3.3.	Gráfica resultado de ejecutar el programa <i>BarError.mlx</i>	38
3.4.	Gráfica resultado de ejecutar el programa <i>BarError.mlx</i>	39
3.5.	Gráfico que muestra la dependencia de la constante de rigidez en dirección x con la distancia a la superficie de la trampa.	41
3.6.	Gráfico que muestra la dependencia de la constante de rigidez en dirección y con la distancia a la superficie de la trampa.	41
3.7.	Gráfico que muestra la dependencia de la constante de rigidez en dirección z con la distancia a la superficie de la trampa.	42
3.8.	Gráfica resultado de ejecutar el programa <i>FitvsData.mlx</i>	54
3.9.	Gráfica resultado de ejecutar el programa <i>FitvsData.mlx</i>	54

Capítulo 1

Introducción

1.1. Optical Tweezers (Pinzas Ópticas)

Las pinzas ópticas, o trampas ópticas, son una herramienta experimental obtenida mediante el arreglo específico de componentes ópticos. Ponerlas en uso experimentalmente, y analizar su calibración es el objetivo principal de este proyecto de investigación. El análisis y calibración de esta herramienta óptica es importante debido a la utilización que se les puede dar. Son utilizadas, por ejemplo, para manipular partículas microscópicas como moléculas, átomos y nano-partículas; de una manera similar a como se manipula mediante las pinzas (traducción directa de tweezers). Además, para que las pinzas ópticas puedan ser usadas para medir fuerzas y desplazamientos, el sistema de detección necesita ser calibrado.

El origen de la fuerzas ópticas se puede entender analizando el problema de la interacción entre luz y materia a través de las ley de conservación de la cantidad de movimiento lineal. Las fuerzas ópticas están siempre presentes, pero usualmente son demasiado débiles para poder tener un efecto observable. De hecho, cuando un rayo de luz es reflejado por un espejo, el cambio de cantidad de movimiento lineal, experimentado por sus fotones, se traduce en una fuerza sobre el espejo en la dirección de propagación del rayo de luz.

Los experimentos de Artur Ashkin, centrados sobre el estudio del efecto de rayos láser sobre la dinámica de partículas, fueron los primeros en generar resultados observables: las micro-partículas eran aceleradas, desaceleradas y también atrapadas. Ashkin pudo identificar dos componentes de las fuerzas ópticas: las fuerzas de

scattering que empujan a la partícula en la dirección de propagación del rayo de luz y las fuerzas gradientes, orientadas en la dirección del gradiente espacial de la intensidad luminosa. De las dos componentes, únicamente la segunda contribuye al atrapamiento, mientras la primera tiene un efecto de desestabilización.

Una estrategia de atrapamiento/confinamiento es mantener a la partícula en equilibrio entre dos rayos de luz contra-propagantes, pues las fuerzas de scattering se cancelan. Esta configuración puede generar trampas estables también cuando los rayos forman entre ellos un ángulo un poco menor a π , pero resulta inestable cuando los rayos forman ángulos pequeños entre ellos [3]. En la configuración usada en este trabajo, las pinzas ópticas son realizadas enfocando un rayo láser a través de un objetivo caracterizado por una gran apertura numérica. La fuerza gradiente cerca del punto de enfoque del láser se vuelve muy fuerte y es capaz de producir un atrapamiento estable.

La apertura numérica (NA) de un objetivo es definida por la ecuación 1.1 [3]:

$$NA = n_m \sin(\theta_{max}) \quad (1.1)$$

donde n_m es el índice de refracción del medio de inmersión, o sea el medio que se encuentra entre la lente delantera del objetivo y la muestra; mientras θ_{max} es la mitad del máximo ángulo de aceptación del objetivo. En la figura 1.1 se muestra un esquemático, realizado según los principios de la óptica geométrica, de un sistema óptico ideal donde todos los rayos convergen hacia el mismo punto focal O :

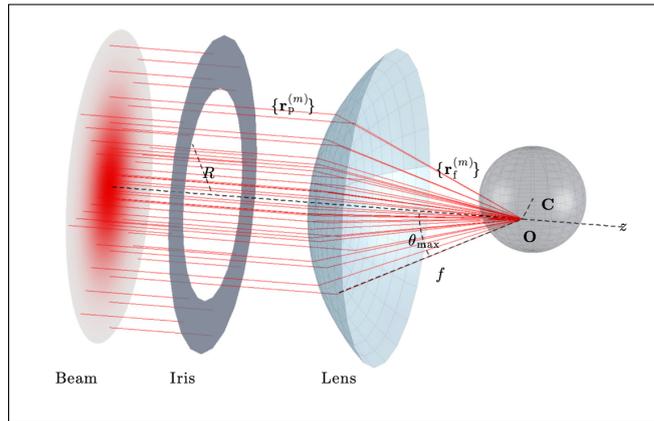


Figura 1.1: Esquemático del modelo de una trampa óptica en el rango de la óptica geométrica donde el rayo Gaussiano puede ser descompuesto en un conjunto de rayos ópticos. [3]

En situaciones reales, y como es el caso usual en este tipo de experimentos, existen aberraciones que disminuyen el efecto de enfoque deseado, producto del set-up experimental [4] [7].

En figura 1.1 se ilustra el ángulo θ_{max} usado en la definición de NA. Los rayos de mayor ángulo son los que más contribuyen a la estabilidad de la trampa, estando en acuerdo con lo que ocurre en la configuración de rayos contra-propagantes: únicamente rayos que forman ángulos grandes, próximos a π logran reducir las componentes de scattering y producir una trampa estable. La apertura numérica del objetivo usado para focalizar el rayo es por ende un parámetro determinante.

Esta relación entre el valor de apertura numérica y estabilidad de la trampa se puede visualizar en la figura 1.2:

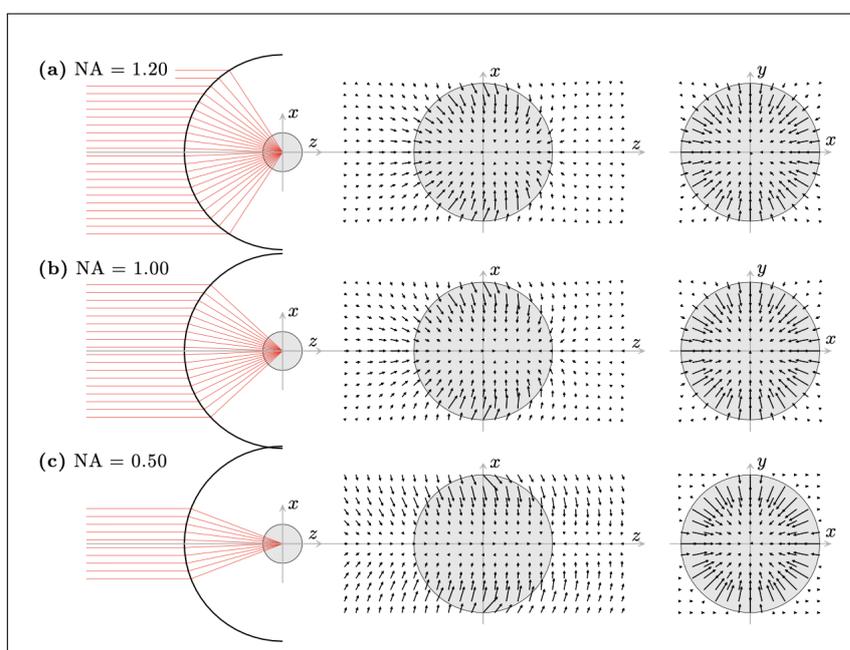


Figura 1.2: Fuerzas ópticas en el plano longitudinal (zx) y transversal (xy) en función de la NA en una muestra inmersa en agua [3], [8].

A medida que la NA decrece, la eficiencia de la trampa en el plano longitudinal también lo hace. Esto se debe a que varias fuerzas de scattering afectarán el confinamiento en este plano, pues su enfoque está lejos de ser el óptimo. Sin embargo, y a pesar de tener una apertura numérica pequeña, en el plano transversal el confinamiento es estable y debido a fuerzas gradientes, que son aquellas que atraerán

la partícula hacia el eje del rayo (z) [3], [8].

Se puede mostrar que el rayo láser enfocado actúa como un pozo de potencial atractivo para partículas con un índice de refracción mayor al del medio que las rodea. La posición de equilibrio se encuentra en correspondencia del punto de enfoque. Las fuerzas ópticas se comportan como fuerzas de restauración cada vez que la partícula se desplace. Para pequeños desplazamientos con respecto a la posición de equilibrio el efecto de la trampa en las tres direcciones espaciales se puede modelar con la ley de Hooke 1.2:

$$\begin{cases} F_x \approx -k_x(x - x_{eq}) \\ F_y \approx -k_y(y - y_{eq}) \\ F_z \approx -k_z(z - z_{eq}) \end{cases} \quad (1.2)$$

Las constantes de proporcionalidad pueden ser entendidas y analizadas de manera similar a las constantes de restauración de un resorte [3]. En el caso de este proyecto son definidas como las constantes de rigidez de la trampa, representando con cuánta fuerza la partícula es empujada de vuelta a su posición de equilibrio tras sufrir un desplazamiento producto de alguna otra fuerza.

Debido a la la fuerza de scattering la constante elástica en la dirección de propagación del rayo, es usualmente menor si se la compara con k_x y k_y . En la siguiente sección se explicará cómo la trampa óptica es afectada por el movimiento browniano de la partículas. El pozo de potencial producido, en este caso, tiene que ser lo suficientemente profundo en comparación con la energía térmica del sistema $k_B T$, donde k_B es la constante de Boltzmann y T es la temperatura.

1.2. Movimiento Browniano y el Método de Auto-correlación

La presencia del movimiento Browniano se tiene como tema importante de análisis en este proyecto, pues este siempre estará presente, y afectará a las partículas analizadas junto con las pinzas ópticas.

Para simplificar se puede decir que las partículas analizadas, es decir partículas microscópicas con órdenes de magnitud similares a 10^{-6} [m] sufren un movimiento aleatorio y perpetuo debido a que colisionan con moléculas presentes en el fluido donde la partícula analizada se encuentra inmersa. De esta forma es que el movimiento de una partícula atrapada ópticamente será resultado del movimiento browniano y de las fuerzas ópticas ya mencionadas.

Tras un período de tiempo se tiene que el movimiento de la partícula tenderá a una posición de equilibrio, aunque no completamente, sino que sigue oscilando por el movimiento browniano. Para el análisis de movimiento de estas partículas se utiliza la aproximación **Trayectorias Estocásticas**, donde el movimiento de la partícula se pretende modelar mediante ecuaciones diferenciales con términos de fuerzas estocásticas, las cuales representan la interacción de la partícula con su entorno [3].

Tal es el caso de la ecuación de Langevin, la cuál se caracteriza por agregar un término de fuerza fluctuante a la ecuación de movimiento de Newton para una partícula en un fluido viscoso:

$$m \frac{d^2}{dt^2} r(t) = -\gamma \frac{d}{dt} r(t) + \chi(t) \quad (1.3)$$

donde m es la masa de la partícula y γ es el coeficiente de fricción de la partícula, que para una partícula de radio a inmersa en un fluido de viscosidad η será:

$$\gamma = 6\pi\eta a. \quad (1.4)$$

En presencia de un potencial $U(r)$, y por consecuencia en presencia de una fuerza conservativa actuando en la partícula, la ecuación de Langevin se convierte en la ecuación 1.5:

$$m \frac{d^2}{dt^2} r(t) = -\frac{d}{dr} U(r) - \gamma \frac{d}{dt} r(t) + \chi(t). \quad (1.5)$$

El fluido que rodea la partícula amortigua su movimiento, pero el potencial actúa de manera que confina el movimiento de la partícula a una región limitada. Es importante en este punto analizar el término inercial mediante el criterio de los

números de Reynolds. Los números de Reynolds de una partícula que se mueve en un fluido representan la razón entre la fuerza inercial y la fuerza viscosa que la partícula sufre [3]. Para una partícula cuyo radio es a y se mueve a una velocidad v a través de un fluido con viscosidad η y densidad ρ , su número de Reynolds será:

$$Re = \frac{av\rho}{\eta}. \quad (1.6)$$

En el régimen bajo del número de Reynolds, es decir casos en que $Re < 100$, la fuerza viscosa dominará e influirá mucho más que la fuerza inercial. Para el caso de la partícula analizada en este proyecto, $a \approx 1$ [μm], $v \approx 30$ [$\mu m/s$], $\eta \approx 0.001$ [Pas] y $\rho = 1000$ [kg/m^3], se tiene que el número de Reynolds se encuentra en el orden de 10^{-5} , por lo que será mucho menor que 100 y, por lo tanto, se encuentra en el régimen bajo de número de Reynolds.

Hechas estas consideraciones es que se puede despreciar el término inercial de la ecuación 1.5 obteniendo así la ecuación 1.7, conocida como la ecuación de Langevin sobre-amortiguada [3]:

$$\frac{d}{dt}r(t) = -\frac{1}{\gamma} \frac{d}{dr}U(r) + \xi(t) \quad (1.7)$$

en donde $\xi(t) = \sqrt{2D}W(t)$, siendo este un término que incluye ruido blanco con intensidad $2D$, donde D es el coeficiente de difusión y es igual a:

$$D = \frac{k_B T}{\gamma}. \quad (1.8)$$

Esta igualdad es resultado del **Teorema de Disipación y Fluctuación**. Este teorema relaciona la variable D , o intensidad de fluctuaciones, con la tasa de disipación de la energía, γ , en un sistema que se encuentra en equilibrio térmico [6]. De esta forma, la igualdad mostrada relaciona la intensidad del ruido térmico con la respuesta dinámica, el movimiento, del sistema.

Una partícula browniana en una trampa óptica se encuentra en equilibrio con el ruido térmico, que intenta empujarla fuera de la trampa, y con las fuerzas ópticas, que la llevan hacia el centro de la trampa. En el caso tridimensional de una partícula que se mueve dentro de un potencial armónico, su movimiento se

describirá mediante la ecuación 1.9, en relación directa con la ecuación 1.7:

$$\begin{cases} \frac{dx(t)}{dt} = -\frac{k_x}{\gamma}x(t) + \sqrt{2D}W_x(t) \\ \frac{dy(t)}{dt} = -\frac{k_y}{\gamma}y(t) + \sqrt{2D}W_y(t) \\ \frac{dz(t)}{dt} = -\frac{k_z}{\gamma}z(t) + \sqrt{2D}W_z(t) \end{cases} \quad (1.9)$$

donde x , y representan la posición de la partícula en el plano perpendicular a la dirección de propagación del rayo, z representa la posición de la partícula a lo largo de la dirección de propagación, k_x , k_y y k_z representan la rigidez de la trampa y $W_x(t)$, $W_y(t)$ y $W_z(t)$ son ruidos blancos.

Ignorando el término de ruido blanco momentáneamente, todos los términos de la ecuación 1.9 pueden ser analizados y aproximados matemáticamente. El problema son los términos que involucran ruido blanco, $\sqrt{2D}W(t)$, que son casi en todas partes discontinuos y tienen una variación infinita. Es por eso que aproximarlos es bastante complicado.

A $W(t)$ se le considera como una variable estocástica gaussiana, [6], con valor medio dado por

$$\langle W(t) \rangle = 0,$$

y varianza dada por

$$\langle W(t)W(t') \rangle = \delta(t - t').$$

Por último, este término no está relacionado con la posición actual de la partícula en cuestión, por lo que $\langle W(t)x(t) \rangle = 0$

El análisis siguiente se enfoca en una dirección cualquiera, x por ejemplo, pero sin olvidar que se tiene en cuenta el mismo análisis para las demás direcciones sin pérdida de generalidad. De acuerdo a la descripción de la evolución temporal de la densidad de probabilidad, $P(x, t)$, la que representa la probabilidad de encontrar una partícula en la posición x al tiempo t , esta se relaciona con la ecuación de Fokker-Planck mostrada en la ecuación 1.10, [6]:

$$\frac{\partial P}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left(\frac{k}{\gamma} x P \right) + D \frac{\partial^2 P}{\partial x^2}. \quad (1.10)$$

Con las ecuaciones 1.9 (para la dirección x) y 1.10 se nota que en ausencia del potencial armónico, es decir haciendo $k = 0$, el movimiento de la partícula será simplemente el movimiento de un objeto difusor libre con constante de difusión D , es decir solo se tendrá un efecto de difusión sin el potencial.

En general, si se conoce que en el instante de tiempo $t = 0 = t_o$ la partícula tiene una posición $x = x_o$, la ecuación 1.10 admite como solución la ecuación 1.11, [1]:

$$P(x, t|x_o) = \sqrt{\frac{\tau_{ot,x}^{-1}}{2\pi D \left[1 - \exp\left(-\frac{2t}{\tau_{ot,x}}\right) \right]}} \exp \left[-\frac{\tau_{ot,x} \left[(x - x_o) \exp\left(\frac{-t}{\tau_{ot,x}}\right) \right]^2}{2D \left[1 - \exp\left(\frac{-2t}{\tau_{ot,x}}\right) \right]} \right] \quad (1.11)$$

donde se ha introducido la variable $\tau_{ot,x}$ (válida para las tres dimensiones de igual manera) que representa la escala de tiempo en la cual la fuerza de restauración está presente y está dada por la ecuación 1.12:

$$\tau_{ot,x} = \frac{\gamma}{k_x}, \quad (1.12)$$

y en donde k_x es la constante de restauración, y para el caso de las pinzas ópticas, la rigidez de la trampa.

La solución presentada en la ecuación 1.11 tiene como límite la distribución estacionaria de Boltzmann tras esperar un periodo largo de tiempo [6], comparado con τ_{ot} , que se muestra en la ecuación 1.13:

$$P_E(x) = \sqrt{\frac{k_x}{2\pi k_B T}} \exp \left(-\frac{k_x x^2}{2k_B T} \right). \quad (1.13)$$

Existen varias maneras de obtener el valor de τ_{ot} para cada dimensión de la

trampa óptica. Uno de los métodos más frecuentemente utilizados es el **Método de Autocorrelación**. Este método calcula la **Función de Autocorrelación de la Posición** denotada por:

$$C_x(t) = \langle x(t' + t)x(t') \rangle_{t'}$$

que indica el promedio sobre todos los valores de t' . Utilizando las ecuaciones 1.11 y 1.13, la función de autocorrelación posicional viene dada al hacer

$$C_x(t) = \int dx \int dx_o x x_o P(x, t | x_o) P_E(x_o)$$

para finalmente obtener:

$$C_x(t) = \frac{k_B T}{k_x} e^{-\frac{t}{\tau_{ot,x}}} \quad (1.14)$$

donde además se muestra que $1/\tau_{ot,x}$ es el factor decreciente de la exponencial. Este resultado es el que se pretende utilizar para la calibración de la trampa óptica analizada en este proyecto. De igual manera, se recuerda que la ecuación 1.14 es válida también para las componentes y , z , y que el análisis hecho en el siguiente capítulo también.

1.3. Set up Experimental

El set-up experimental de una pinza óptica de un solo rayo se compone de tres partes esenciales: el microscopio óptico invertido, el láser de trampa y la parte de detección. Todas estas partes son visibles en la figura 1.3

El microscopio óptico invertido permite observar la partícula en la trampa y facilita el procedimiento de alineación. Mientras, **el láser** de la trampa es enfocado hasta su límite de difracción, puesto que es la componente que realiza el confinamiento de la partícula. Finalmente, **la parte de detección** permite la reconstrucción de las trayectorias de la partícula atrapada, registrando los movimientos en x , y y z a través del análisis de la luz láser dispersada por las mismas.

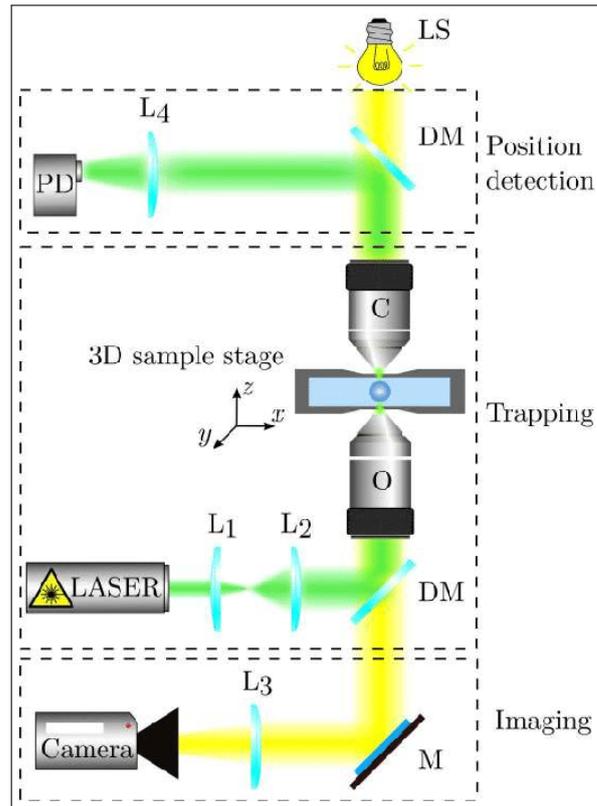


Figura 1.3: Esquemático del set-up experimental, [2].

1.3.1. Microscopio óptico invertido

El microscopio óptico invertido es realizado a través de una fuente de luz blanca (LS) que ilumina la muestra desde arriba, una lente condensadora (C), un stage para la muestra con movimientos micrométricos manuales a lo largo del eje óptico (en dirección z) y en el plano (en xy), un objetivo (O), este objetivo es el mismo que enfoca la luz láser en la muestra y sus características serán explicadas en detalles en la siguiente sección). Un lente (L3) y uno o más espejos (M) que guían la luz a una cámara CCD, donde se forma una imagen magnificada de la muestra.

1.3.2. Láser de trampa

En los experimentos realizados el láser de la trampa es un diodo láser linealmente polarizado, con longitud de onda $\lambda_0 = 785$ [nm]. Para corregir su forma elíptica se utilizó un par de prismas anamórficos, mientras que para regular la intensidad de la luz se utilizó un polarizador y una lamina de media onda. Todos estos elementos ópticos son omitidos en el esquemático para beneficiar su lectura.

Para realizar una trampa óptica estable es necesario enfocar el láser a través de un objetivo con una gran apertura numérica (NA). En el caso de este experimento se trata de un objetivo Olympus-UPLAN FLN de inmersión en aceite con valor igual a $NA = 1.3$, magnificación 100x, corrección al infinito y distancia de trabajo de 170 [μm].

Analizando la definición de apertura numérica dada en la ecuación 1.1 es evidente que para objetivos que trabajan en aire ($n_m = 1$) no es posible obtener valores de $NA > 1$ y que para realizar el propósito se vuelve necesario trabajar con objetivos a inmersión. Existen dos opciones populares: inmersión en aceite e inmersión en agua. Su diferencia está en que el primero está menos sujeto a vibraciones, dada la mayor viscosidad del liquido y que además es más económico. Sin embargo, cuando se trabaja con muestras en agua, los objetivos con inmersión en aceite llevan consigo un problema de aberraciones esféricas [7]. Estas aberraciones serán objeto de discusión en la calibración realizada en esta tesis.

Por otra parte, el telescopio formado por las lente L_1 y L_2 es de fundamental importancia ya que permite al punto láser de ser magnificado hasta permitir lo que se llama técnicamente el *overfilling* del objetivo de la trampa: el tamaño del láser tiene que coincidir perfectamente con el tamaño de la lente de ingreso del objetivo. Esto sirve para aprovechar al máximo la NA del objetivo y la potencia del láser de la trampa. Si el tamaño del láser fuera más pequeño, no se estaría aprovechando la NA del objetivo y sería equivalente a usar un objetivo con una menor NA, posiblemente impidiendo un confinamiento estable. Si el tamaño del láser fuera más grande se desperdiciaría en parte la potencia del láser, que también es una parámetro importante que influye en la constantes elásticas de la trampa.

1.3.3. Sistema de detección

La luz láser dispersada por la partícula en la trampa es recolectada en el back focal-plane del condensador, a través de un espejo dicróico (DM) y direccionada al foto-diodo de cuatro cuadrantes (PD) como se ve en la figura 1.3. El espejo dicróico permite a la luz láser ser reflejada mientras que transmite la luz blanca. La lente L_4 asegura que el tamaño del spot láser disperso sea menor al área sensible del foto-diodo (PD). El foto-diodo está conectado a una tarjeta de adquisición instalada en una computadora.

El (PD), como mostrado en la figura 1.4, está formado por cuatro segmentos separados por un gap que generan cuatro señales de corriente independientes. Las operaciones pueden ser realizadas a través de un circuito analógico antes de la adquisición, como en este caso, o después de la misma a través un algoritmo.

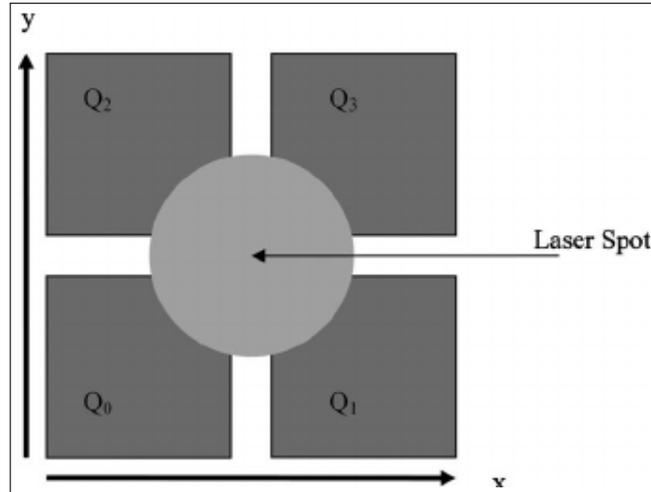


Figura 1.4: Foto-diodo de cuatro cuadrantes (PD)

Es necesario que el láser se ubique perfectamente al centro del objetivo cuando ninguna partícula se encuentre atrapada. En esta situación la señal procedente por los cuatros cuadrantes es idéntica ($Q_1 = Q_2 = Q_3 = Q_4$). Se definen los desplazamientos con respecto a la posición de equilibrio como:

$$\begin{cases} \Delta x \propto (Q_0 + Q_2) - (Q_1 + Q_3) \\ \Delta y \propto (Q_2 + Q_3) - (Q_0 + Q_1) \\ \Delta z \propto (Q_0 + Q_1 + Q_2 + Q_3) \end{cases} \quad (1.15)$$

En el procedimiento de alineación es importante poder visualizar las señales definidas en la ecuación 1.15, esto se puede fácilmente realizar a través de un programa en labview. Cuando ninguna partícula es atrapada, la señales en x y y tienen que ser llevadas a cero, mientras la señal en z tiene que ser maximizada; este último caso pasa cuando todo el rayo láser es contenido en el área sensible del foto-diodo.

1.4. Experimento de calibración

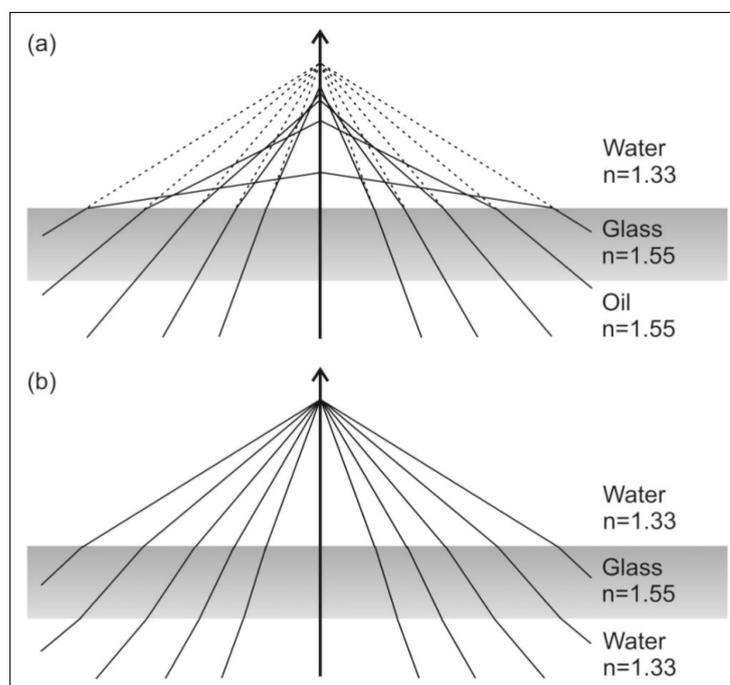


Figura 1.5: Focalización con un objetivo de inmersión en aceite (a) y con objetivo de inmersión en agua (b), [7]

Como explicado en la sección anterior, el set-up experimental en uso cuenta con un objetivo de inmersión en aceite, mientras que los experimentos de este tipo son realizados a menudo para dispersiones de micro y nano-partículas en agua. Bajo estas condiciones experimentales la focalización del rayo Gaussiano es afectada por la presencia de **aberraciones esféricas**.

Las aberraciones esféricas llevan este nombre porque se observan cuando se usan

lentes con una curvatura esférica. Este tipo de lentes son de más ágil manufactura si se las compara con lentes elípticas, pero tienen un problema de focalización: los rayos procedentes desde puntos más lejanos, con respecto al eje óptico, enfocan la luz a diferentes distancias focales.

En el sistema de nuestra consideración el mismo efecto es producido por la refracción de los rayos de luz convergentes, que salen desde el objetivo, a la interfaz vidrio-agua. En la figura 1.5 se muestra un esquemático de la aberración.

A causa de la presencia de aberraciones esféricas, la eficacia del confinamiento óptico depende de la distancia entre la partícula y la interfaz vidrio-agua. Es por esto que resulta muy importante calibrar la trampa óptica a diferentes distancias, ya que la distancia se vuelve un parámetro de calibración adicional. Se aclara que, dado el carácter perjudicial de las aberraciones, es importante conocer cuál es la distancia óptima para obtener un confinamiento estable.

Para el experimento se usó una dispersión, en agua destilada, de esferas de latex comercial, con un diámetro de 2 micrómetros y una potencia láser de 20 mW. La muestra es una pequeña cámara con un volumen de $10\mu L$ entre dos vidrios. El vidrio que está cerca del objetivo es un típico vidrio coverslip, cuyo espesor es inferior a la distancia de trabajo del objetivo.

Es importante mencionar que para cambiar la distancia partícula-interfaz se mueve la muestra en z , usando el control micrométrico manual del stage. También es importante conocer el valor de z que corresponderá a la distancia cero, es decir, cuando el láser es enfocado precisamente a la interfaz vidrio agua. Para determinarlo es suficiente observar la figura de interferencia creada entre la luz transmitida y la luz reflejada a la interfaz, como se puede ver ejemplificado en la figura 1.6:

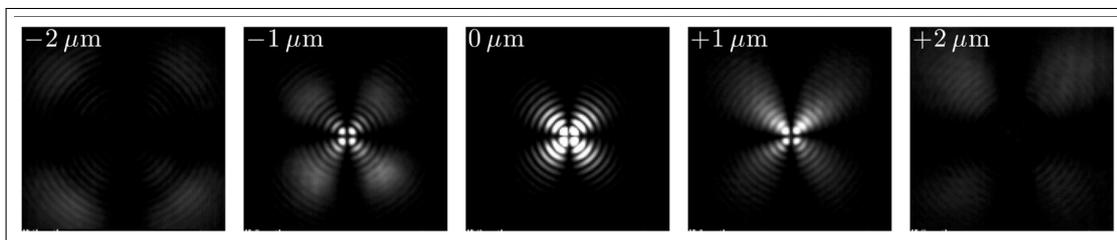


Figura 1.6: Diferentes pattern de interferencia adquiridos por diferentes distancias de focalización, para un rayo Gaussiano focalizado a la interfaz vidrio-aire [3].

Después de haber alineado el foto-diodo es posible empezar con el confinamiento de las micro-partículas. El confinamiento en la trampa creada será evidente por el cambio en la señal del foto-diodo y también por la observación directa de la imagen de la micro-partícula en la trampa.

Capítulo 2

Procesamiento de Datos

2.1. Ajuste de Curvas mediante métodos de Programación

En este capítulo se pretende obtener, basado en la teoría descrita en la sección 1.2 del Capítulo 1, un ajuste exponencial a los datos obtenidos mediante el fotodiodo y el set up experimental. Se apunta a un ajuste exponencial acorde a la forma deducida y descrita de la función de auto-correlación (ACF) que se especificó en la ecuación 1.14.

Como se mencionó en la sección 1.2, una partícula browniana confinada en una trampa óptica se encuentra en equilibrio dinámico, donde el ruido término intenta empujarla fuera de la trampa y las fuerzas ópticas, al contrario, la empujan hacia el centro de la trampa. La escala de tiempo en que la fuerza de restauración actúa sobre la partícula está dada por $\tau_{ot} = \gamma/k$. En el apartado experimental de este proyecto, se debe tener en cuenta un intervalo de tiempo Δt debe ser considerablemente menor que τ_{ot} .

Experimentalmente, con ayuda del fotodiodo de cuatro cuadrantes, es posible medir una serie de posiciones de la partícula correlacionadas a intervalos de tiempo regulares [3], es decir, posiciones $x_j = x(t_j)$, donde $j = 1, \dots, N$, y $t_j = j\Delta t$. Una vez que el fotodiodo mide los desplazamientos y los relaciona mediante la ecuación 1.15, la función de autocorrelación, abreviada ACF, puede ser calculada desde estas trayectorias a instantes de tiempo discretos $\tau_k = k\Delta t$ como:

$$C_{x,k} = \frac{1}{N-k} \sum_{j=1}^{N-k} x_{j+k} x_j. \quad (2.1)$$

donde $N = 20000$ para el caso de este proyecto [3].

Mediante la ecuación 2.1 es posible obtener la ACF experimental para las tres componentes x , y y z . Una vez hecho este proceso, se propone un código de programación que simule un ajuste exponencial, comportamiento de la ACF teórica, y este código será exactamente el mismo para cada componente, con la única diferencia de los datos utilizados, diferencia que se explica a continuación.

Mediante el set up experimental explicado en la sección 1.3 del capítulo anterior, se logró medir, utilizando el foto-diodo de cuatro cuadrantes, los desplazamientos de la partícula confinada en la trampa. Utilizando la ecuación 2.1, se obtiene la función de auto-correlación experimental (ACF) entre las distancias $3.5 \mu m$ hasta $31.5 \mu m$. Para esto, se tomaron pasos de $3.5 \mu m$, para obtener un total de 9 mediciones que representan 9 distancias, distintas, a la superficie: 3.5, 7, 10.5, 14, 17.5, 21, 24.5, 28 y $31.5 \mu m$.

Cada conjunto de datos, separados por su componente, se almacenó en un archivo .xlsx y se lo llamó *data-i.xlsx* donde i puede ser solamente x , y o z . De esta forma se tuvo, para cada distancia de la muestra a la superficie, tres archivos .xlsx que contienen 20000 datos cada uno, representando estos últimos las medidas de la función de auto-correlación calculadas por la ecuación 2.1 mediante las posiciones medidas por el foto-diodo.

Las 5 primeras mediciones, correspondientes desde $3.5 \mu m$ hasta $17.5 \mu m$, tienen 11 columnas: la primera representa el tiempo, que va desde 2×10^{-5} hasta 0.4 segundos, al que fue medida la función de auto-correlación. Las diez columnas restantes son las 10 repeticiones de mediciones a la misma distancia de la función de auto-correlación detectada por el foto-diodo. Las 4 mediciones restantes, correspondientes desde $21 \mu m$ hasta $31.5 \mu m$ que es la máxima distancia a la superficie, tienen 6 columnas: la primera representa el tiempo, y las 5 columnas restantes son 5 ACF experimentales obtenidas como ya se explicó. **Todos los archivos tienen un total de 20000 filas, es decir, 20000 pasos entre 2×10^{-5} y 0.4 segundos.**

En la figuras 2.1 y 2.2, se muestra parte de los archivos .xlsx correspondientes a los datos de la función de ACF experimental de la componente x :

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
1	Time	x1	x2	x3	x4	x5	x6	x7	x8	x9	x10
2	2,00E-05	0,000228	0,000218	0,000233	0,000233	0,000297	0,0003	0,000353	0,000387	0,000375	0,000367
19978	0,39954	-1,95E-06	-8,54E-07	-4,90E-06	-1,14E-06	-1,87E-07	-1,39E-05	-1,14E-06	9,60E-06	5,42E-06	-2,89E-06
19979	0,39956	-1,88E-06	-8,83E-07	-4,97E-06	-1,06E-06	-3,44E-08	-1,40E-05	-1,38E-06	9,53E-06	5,62E-06	-3,04E-06
19980	0,39958	-1,84E-06	-9,38E-07	-5,07E-06	-9,29E-07	1,50E-07	-1,42E-05	-1,61E-06	9,48E-06	5,77E-06	-3,23E-06
19981	0,3996	-1,82E-06	-9,23E-07	-5,06E-06	-8,14E-07	2,74E-07	-1,43E-05	-1,88E-06	9,37E-06	5,94E-06	-3,46E-06
19982	0,39962	-1,72E-06	-9,42E-07	-5,06E-06	-7,14E-07	4,88E-07	-1,44E-05	-2,08E-06	9,23E-06	6,25E-06	-3,71E-06
19983	0,39964	-1,63E-06	-8,95E-07	-5,04E-06	-6,13E-07	6,38E-07	-1,45E-05	-2,23E-06	9,05E-06	6,47E-06	-3,79E-06
19984	0,39966	-1,56E-06	-8,32E-07	-5,03E-06	-5,51E-07	7,89E-07	-1,46E-05	-2,37E-06	8,83E-06	6,73E-06	-3,96E-06
19985	0,39968	-1,53E-06	-7,06E-07	-4,96E-06	-3,56E-07	9,83E-07	-1,46E-05	-2,52E-06	8,59E-06	6,93E-06	-4,16E-06
19986	0,3997	-1,52E-06	-5,33E-07	-4,94E-06	-2,05E-07	1,14E-06	-1,46E-05	-2,69E-06	8,29E-06	6,95E-06	-4,33E-06
19987	0,39972	-1,56E-06	-3,91E-07	-4,91E-06	-8,37E-08	1,23E-06	-1,47E-05	-2,81E-06	8,03E-06	6,95E-06	-4,43E-06
19988	0,39974	-1,65E-06	-3,00E-07	-4,96E-06	-4,33E-08	1,33E-06	-1,48E-05	-2,94E-06	7,83E-06	6,94E-06	-4,47E-06
19989	0,39976	-1,72E-06	-1,78E-07	-5,01E-06	3,83E-08	1,36E-06	-1,49E-05	-2,96E-06	7,71E-06	6,89E-06	-4,51E-06
19990	0,39978	-1,73E-06	-3,69E-08	-5,11E-06	2,72E-08	1,36E-06	-1,48E-05	-3,06E-06	7,48E-06	6,98E-06	-4,47E-06
19991	0,3998	-1,74E-06	1,25E-07	-5,23E-06	2,40E-08	1,33E-06	-1,49E-05	-3,10E-06	7,34E-06	7,03E-06	-4,44E-06
19992	0,39982	-1,72E-06	2,49E-07	-5,38E-06	6,52E-08	1,37E-06	-1,49E-05	-3,11E-06	7,26E-06	7,10E-06	-4,41E-06
19993	0,39984	-1,68E-06	4,54E-07	-5,54E-06	1,16E-07	1,40E-06	-1,49E-05	-3,11E-06	7,10E-06	7,21E-06	-4,41E-06
19994	0,39986	-1,60E-06	6,46E-07	-5,69E-06	8,35E-08	1,44E-06	-1,48E-05	-3,06E-06	6,95E-06	7,40E-06	-4,40E-06
19995	0,39988	-1,58E-06	7,50E-07	-5,86E-06	1,09E-07	1,57E-06	-1,48E-05	-3,05E-06	6,80E-06	7,55E-06	-4,34E-06
19996	0,3999	-1,52E-06	8,81E-07	-6,01E-06	1,72E-07	1,60E-06	-1,47E-05	-3,02E-06	6,58E-06	7,81E-06	-4,41E-06
19997	0,39992	-1,49E-06	9,37E-07	-6,16E-06	2,62E-07	1,65E-06	-1,47E-05	-2,98E-06	6,41E-06	8,09E-06	-4,41E-06
19998	0,39994	-1,47E-06	1,01E-06	-6,29E-06	3,59E-07	1,64E-06	-1,47E-05	-2,89E-06	6,27E-06	8,38E-06	-4,47E-06
19999	0,39996	-1,47E-06	1,04E-06	-6,40E-06	4,52E-07	1,58E-06	-1,49E-05	-2,79E-06	6,22E-06	8,57E-06	-4,63E-06
20000	0,39998	-1,47E-06	1,11E-06	-6,53E-06	5,43E-07	1,56E-06	-1,49E-05	-2,78E-06	5,99E-06	8,65E-06	-4,81E-06
20001	0,4	-1,53E-06	1,24E-06	-6,68E-06	5,95E-07	1,49E-06	-1,49E-05	-2,85E-06	5,74E-06	8,74E-06	-4,87E-06
20002											

Figura 2.1: Archivo *data1-x.xlsx* de la ACF de la componente x correspondiente a la distancia $3.5 \mu m$ de la superficie.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	tiempo	x1	x2	x3	x4	x5		
2	2,00E-05	0,00654	0,006399	0,00734	0,007031	0,006161		
19980	0,39958	-3,26E-05	2,96E-05	5,12E-05	0,000146	2,46E-05		
19981	0,3996	-3,36E-05	3,13E-05	5,69E-05	0,000143	2,33E-05		
19982	0,39962	-3,57E-05	3,20E-05	6,20E-05	0,000141	2,17E-05		
19983	0,39964	-3,83E-05	3,06E-05	6,67E-05	0,000139	1,94E-05		
19984	0,39966	-4,09E-05	2,79E-05	7,19E-05	0,000137	1,67E-05		
19985	0,39968	-4,43E-05	2,61E-05	7,51E-05	0,000135	1,26E-05		
19986	0,3997	-4,63E-05	2,49E-05	7,76E-05	0,000134	8,47E-06		
19987	0,39972	-4,70E-05	2,41E-05	7,96E-05	0,000133	7,13E-06		
19988	0,39974	-4,82E-05	2,51E-05	8,14E-05	0,000136	7,26E-06		
19989	0,39976	-4,83E-05	2,64E-05	8,35E-05	0,000139	8,18E-06		
19990	0,39978	-5,00E-05	2,66E-05	8,52E-05	0,000142	8,90E-06		
19991	0,3998	-5,13E-05	2,87E-05	8,65E-05	0,000144	9,96E-06		
19992	0,39982	-5,04E-05	3,21E-05	8,93E-05	0,000145	1,36E-05		
19993	0,39984	-4,82E-05	3,69E-05	8,97E-05	0,000146	1,78E-05		
19994	0,39986	-4,45E-05	4,08E-05	8,96E-05	0,000146	2,08E-05		
19995	0,39988	-4,08E-05	4,38E-05	8,91E-05	0,000145	2,39E-05		
19996	0,3999	-3,76E-05	4,75E-05	8,88E-05	0,000146	2,61E-05		
19997	0,39992	-3,46E-05	5,24E-05	9,02E-05	0,000148	2,80E-05		
19998	0,39994	-3,04E-05	5,71E-05	9,20E-05	0,00015	3,05E-05		
19999	0,39996	-2,54E-05	6,33E-05	9,44E-05	0,000152	3,24E-05		
20000	0,39998	-2,15E-05	7,09E-05	9,57E-05	0,000154	3,44E-05		
20001	0,4	-1,73E-05	7,70E-05	9,61E-05	0,000155	3,80E-05		
20002								

Figura 2.2: Archivo *data9-x.xlsx* de la ACF de la componente x correspondiente a la distancia $31.5 \mu m$ de la superficie.

Una vez explicado el manejo de los datos medidos, se procede a explicar el ajuste de curvas exponenciales realizado. Para este proceso se implementó el programa *Ajuste.mlx* realizado en Matlab. La explicación detallada de este programa y cómo funciona se puede encontrar en la sección de **Anexos**, en el **Anexo A**.

El resultado de ejecutar el programa *Ajuste.mlx* es obtener las constantes a y b de la ecuación 2.2:

$$C_i^{(exp)}(t) = a \cdot e^{-b \cdot t} \quad (2.2)$$

donde $C_{x,exp}$ representa la ACF medida experimentalmente, en comparación directa con la ecuación 1.14 que es la ACF teórica [3]. El programa mencionado fue utilizado para las 9 distancias a las que se midió y obtuvo la ACF experimental. Es decir, que se obtuvo en total 3 constantes a y 3 constantes b por distancia y por archivo, representando las tres componentes involucradas.

Al comparar la ecuación 2.2 con la ecuación 1.14, se tiene que las constantes a y b , son igual a:

$$a = \frac{k_B T}{k_i^{(exp)}}, \quad (2.3)$$

$$b = \frac{1}{\tau_{ot,i}^{(exp)}}. \quad (2.4)$$

Una vez obtenidas estas constantes es que se procede a realizar una serie de gráficas en las cuales se presenta: la ACF experimental ($C_{i,exp}$), el fit obtenido (simulando la ACF teórica) y el margen de error entre las dos. Algunas de estas figuras se pueden encontrar en el Capítulo 3, mientras que todas las restantes se muestran en el Anexo B debido a la extensión y la cantidad de mediciones hechas.

2.2. Análisis dimensional previo a la obtención de las constantes de rigidez de la Trampa Óptica

Debido a que se utilizó un foto-diodo para medir los desplazamientos/trayectorias de la partícula atrapada, la ACF obtenida experimentalmente no se encuentra en unidades de longitud ($[m^2]$), como lo es teóricamente, sino que se encuentra en unidades de voltaje ($[V^2]$) [3]. Es por esto que se necesita determinar el factor de conversión a unidades de longitud mediante el ajuste de curvas ya mencionado y obtener el coeficiente de fricción experimental $\gamma^{(exp)}$ dado por la ecuación 2.5:

$$\gamma^{(exp)} = \tau_{ot,i} \cdot k_i^{(exp)} \quad (2.5)$$

en acorde al coeficiente de fricción teórico definido en la ecuación 1.12. Aquí se agregó la etiqueta de experimental a aquellas variables cuyos datos obtenidos no se encuentran en unidades acordes al sistema internacional (SI), sino ligadas a las unidades de voltaje resultado del set up utilizado. Por ejemplo a , al igual que $C_i^{(exp)}$ se encuentra en unidades de $[V^2]$, mientras que la variable $\tau_{ot,i}$ si se encuentra en unidades de tiempo ($[s]$).

Las variables experimentales ya descritas son analizadas dimensionalmente con objetivo de encontrar el factor de conversión a unidades acordes al SI. La constante de rigidez es detallada en la ecuación 2.6 en acuerdo con la ecuación 2.3:

$$[k_i^{(exp)}] = \frac{[k_B T]}{[a]} = \frac{[kg \cdot m^2 \cdot s^{-2}]}{[V^2]}. \quad (2.6)$$

De manera similar, las dimensiones de la constante b serán las mostradas en la ecuación 2.7:

$$[b] = \frac{1}{[\tau_{ot,i}]} = [\tau_{ot,i}]^{-1} = [s^{-1}]. \quad (2.7)$$

De esta manera, el análisis dimensional del coeficiente de fricción experimental, definido en la ecuación 2.5, será:

$$\begin{aligned}
[\gamma^{(exp)}] &= [k_i^{(exp)}] \cdot [\tau_{ot,i}] \\
[\gamma^{(exp)}] &= \frac{[kg \cdot m^2 \cdot s^{-2}]}{[V^2]} \cdot [s] = \frac{[J]}{[V^2]} \cdot [s] \\
[\gamma^{(exp)}] &= \frac{[J \cdot s]}{[V^2]} \tag{2.8}
\end{aligned}$$

Por otra parte, analizando de forma dimensional el coeficiente de fricción teórico definido en la ecuación 1.4 se tiene que:

$$\begin{aligned}
[\gamma] &= \frac{[kg]}{[m \cdot s]} [m] = \frac{[kg]}{[s]} \\
[\gamma] &= \frac{[J \cdot s]}{[m^2]}. \tag{2.9}
\end{aligned}$$

Finalmente se comparan las ecuaciones 2.8 y 2.9:

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

llegando a la definición del factor de conversión necesario, definido por la ecuación 2.10:

$$S_i^{(exp)} = \frac{\gamma^{(exp)}}{\gamma} \tag{2.10}$$

y que tendrá dimensiones:

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

De esta manera, como ya se explicó que se tenía la ACF medida experimentalmente en unidades de V^2 , bastaría con multiplicar al valor experimental de la ACF por S para obtener el valor en dimensiones de longitud de la ACF.

De forma similar, y según el análisis dimensional de la constante de rigidez obtenido en la ecuación 2.6, bastaría con dividir al valor experimental de k_i por S para obtener el valor en dimensiones del SI. Este proceso, puesto que es el de mayor interés para la calibración de las trampas ópticas, se muestra a continuación:

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

cuyas dimensiones coinciden con las esperadas por la Ley de Hook para constantes de restauración, en este caso la constante de rigidez de la trampa óptica.

Obtenidas ya las constantes a y b necesarias para obtener la constante de rigidez experimental para las tres componentes de dirección y el factor de conversión, se realiza el programa *K-exp.mlx* que da como resultado final las constantes de rigidez de la trampa óptica para cada distancia a la superficie en que fue medida la ACF. La explicación y el código de este programa se puede encontrar en la sección de Anexos, en el Anexo C. Los valores de las constantes de rigidez se pueden observar en el capítulo 3 y en la sección de Anexos.

Capítulo 3

Resultados

3.1. Resultados del Ajuste de Curvas Exponenciales

Tras ejecutar el programa *Ajuste.mlx* es que se obtienen las constantes a y b necesarias para el ajuste o fit. Uno de los resultados obtenidos se muestra en la figura 3.1 correspondiente a las distancia $3.5 \mu\text{m}$:

```

Command Window
>> f1
f1 =
    General model Exp1:
    f1(x) = a*exp(b*x)
    Coefficients (with 95% confidence bounds):
    a = 0.0003617 (0.000359, 0.0003644)
    b = -1017 (-1034, -1000)
>> f2
f2 =
    General model Exp1:
    f2(x) = a*exp(b*x)
    Coefficients (with 95% confidence bounds):
    a = 4.716e-05 (4.625e-05, 4.807e-05)
    b = -959.7 (-1003, -916.3)
>> f3
f3 =
    General model Exp1:
    f3(x) = a*exp(b*x)
    Coefficients (with 95% confidence bounds):
    a = 0.0005501 (0.0005395, 0.0005608)
    b = -1400 (-1450, -1350)
f3 >>

```

Figura 3.1: Resultado de ejecutar *Ajuste.mlx*. f1, f2 y f3 corresponden al ajuste de la ACF en x , y y z respectivamente.

Debido a que este proceso se llevó a cabo para todas las distancias y sus tres componentes de la dirección, se realizan 3 tablas o cuadros que muestren los resultados obtenidos. En el cuadro 3.1 se muestra el valor de obtenido de las constantes en la dirección z . Los cuadros correspondientes a las direcciones x y y se pueden encontrar en la sección de Anexos, en el Anexo D.

Distancia a la Superficie $[\mu m]$	a $[V^2]$	b $[s^{-1}]$
3,50E-06	5,50E-04	1,40E+03
7,00E-06	0,0094	496,2974
1,05E-05	0,0098	468,9427
1,40E-05	0,0155	370,2988
1,75E-05	0,0225	316,9703
2,10E-05	0,0325	264,6324
2,45E-05	0,0346	250,3638
2,80E-05	0,0499	166,0108
3,15E-05	0,0502	136,7716

Cuadro 3.1: Valores de a y b obtenidos por el fit para la componente z .

Una vez conocidas estas constantes, es posible realizar y visualizar el ajuste exponencial en contraposición con la ACF experimentalmente obtenida. Se hizo el programa *FitvsData.mlx* en Matlab con este motivo, programa que está explicado en la sección de Anexos, en el Anexo B.

El resultado de este programa es un gráfico en el que se analiza el fit junto a la ACF experimental en escala normal (izquierda) y en escala logarítmica para el eje del tiempo (derecha). El caso mostrado en la figura 3.2 es el fit hecho para la medición a una distancia de $31.5 \mu m$ de la superficie, donde la coordenada x es la primera fila, y la segunda y z la tercera. Como el programa fue ejecutado para todas las 9 distancias distintas, se obtuvo en total 9 gráficos como el mostrado en la figura 3.2. Debido a que son 9 gráficos, en la sección de Anexos, en el Anexo E, solamente se muestran dos figuras más para evitar alargar demasiado las páginas de este trabajo.

Con motivo de obtener un criterio de efectividad del fit comparado con la medida de la ACF, se realizó el programa *BarError.mlx* en matlab. Este programa y su funcionamiento se encuentra en la sección de Anexos, en el Anexo B.

El resultado de este programa es un gráfico, similar a la figura 3.2, pero en el que adicionalmente se observa el error del fit en comparación a la medida de la

ACF. Las figuras 3.3 y 3.4 se adjuntan, correspondiendo igualmente a la distancia $31.5 \mu m$, y son la misma figura, con la diferencia que la figura 3.4 es un vistazo más detallado al error, pues con los 20000 datos medidos no es muy apreciable.

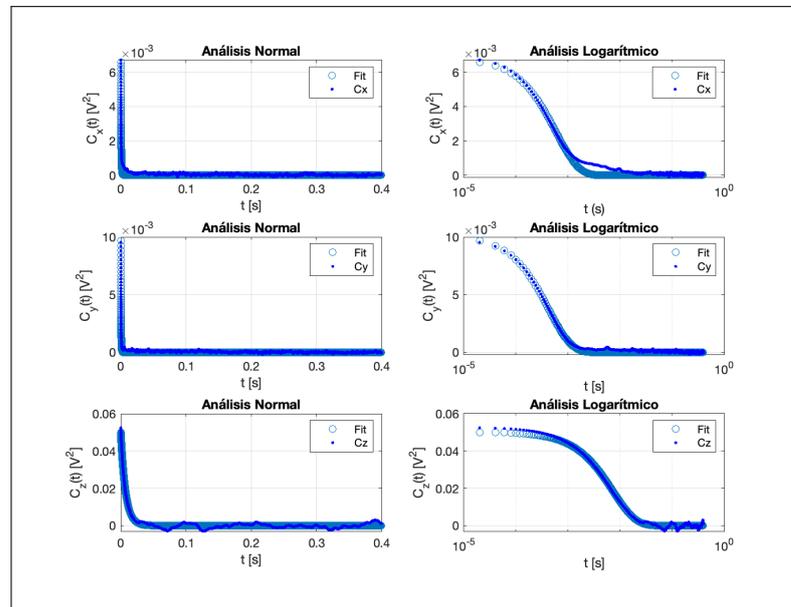


Figura 3.2: Gráfica resultado de ejecutar el programa *FitvsData.mlx*

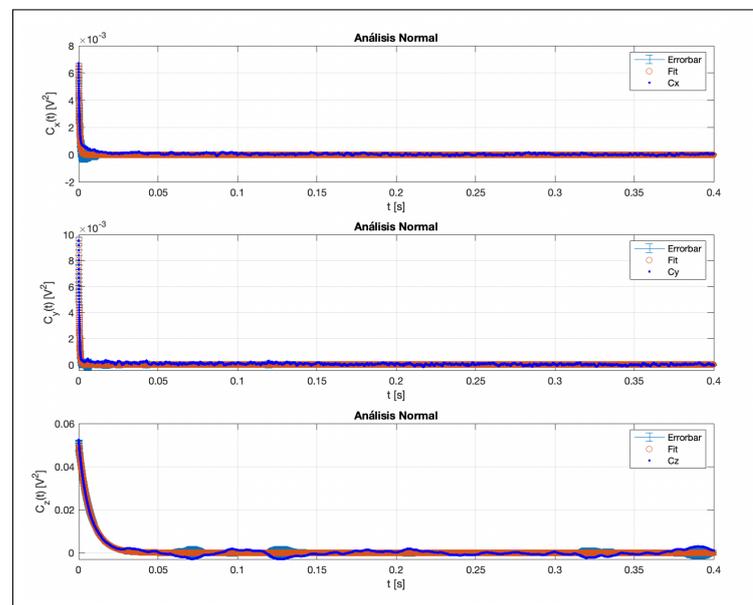


Figura 3.3: Gráfica resultado de ejecutar el programa *BarError.mlx*

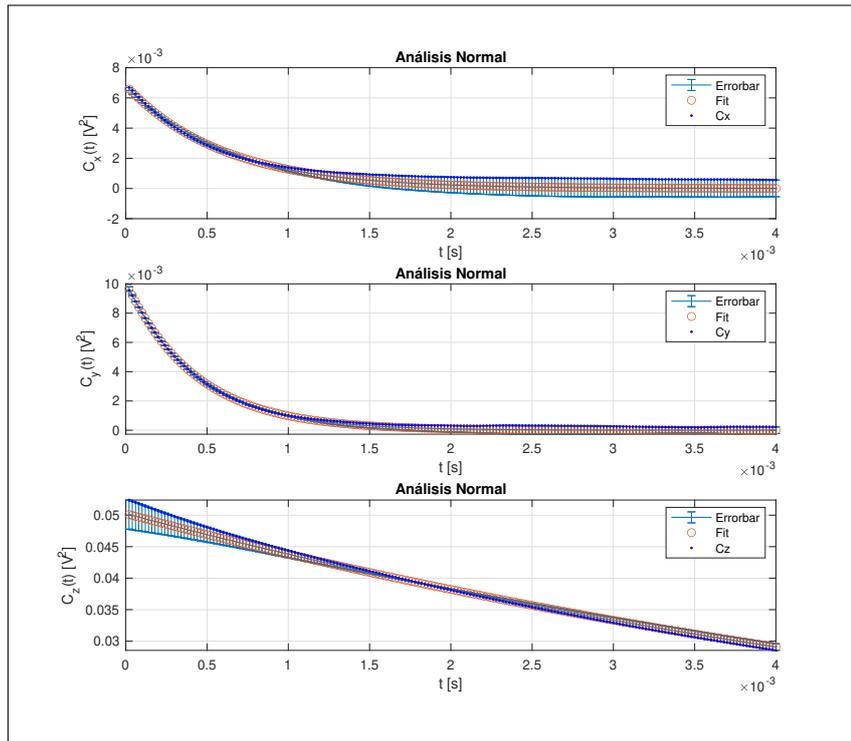


Figura 3.4: Gráfica resultado de ejecutar el programa *BarError.mlx*

3.2. Obtención de las Constantes de Rigidez de la Trampa Óptica

Como último resultado obtenido en este proyecto, se tienen a las constantes de rigidez de la trampa óptica. Por medio del ajuste exponencial y de los programas mencionados con anterioridad y explicados en la sección de Anexos, se realiza un último programa en Matlab llamado *K.mlx*. Este programa puede ser visualizado y explicado en detalle en la sección de Anexos, en el Anexo C.

Al ejecutar este programa se obtiene una serie de valores importantes para este proyecto: la constante $\gamma^{(exp)}$, la constante $k_i^{(exp)}$, el factor de conversión S y la constante de rigidez (en unidades naturales) k_i .

En el cuadro 3.2 se puede observar las constantes $k^{(exp)}$ y las constantes $\gamma^{(exp)}$ en dirección z . Los cuadros correspondientes a las direcciones x y y se puede encontrar

en la sección de Anexos, en el Anexo D.

Distancia [μm]	$k^{(exp)}$ [$kg \cdot m^2 \cdot s^{-2} \cdot V^{-2}$]	$\gamma^{(exp)}$ [$J \cdot s \cdot V^{-2}$]
3,50E-06	7,42E-18	5,30E-21
7,00E-06	4,34E-19	8,75E-22
1,05E-05	4,17E-19	8,88E-22
1,40E-05	2,63E-19	7,11E-22
1,75E-05	1,81E-19	5,72E-22
2,10E-05	1,26E-19	4,75E-22
2,45E-05	1,18E-19	4,71E-22
2,80E-05	8,18E-20	4,93E-22
3,15E-05	8,13E-20	5,95E-22

Cuadro 3.2: Valores de $k_z^{(exp)}$ y $\gamma_z^{(exp)}$ obtenidos para la componente z .

Para continuar, en el cuadro 3.2, se puede observar, además de las constantes $k^{(exp)}$, el factor de conversión S y la constante de rigidez en unidades acordes al SI k en dirección z . Los cuadros correspondientes a las direcciones x y y se pueden encontrar en la sección de Anexos, en el Anexo D.

Distancia [μm]	$k^{(exp)}$ [$kg \cdot m^2 \cdot s^{-2} \cdot V^{-2}$]	S [$m^2 \cdot V^{-2}$]	k [$N \cdot m^{-1}$]
3,50E-06	7,42E-18	5,45E-07	2,49E-05
7,00E-06	4,34E-19	2,22E-07	8,84E-06
1,05E-05	4,17E-19	2,23E-07	8,36E-06
1,40E-05	2,63E-19	2,00E-07	6,60E-06
1,75E-05	1,81E-19	1,79E-07	5,65E-06
2,10E-05	1,26E-19	1,63E-07	4,72E-06
2,45E-05	1,18E-19	1,63E-07	4,46E-06
2,80E-05	8,18E-20	1,66E-07	2,96E-06
3,15E-05	8,13E-20	1,83E-07	2,44E-06

Cuadro 3.3: Valores de k y S obtenidos para la componente z .

Finalmente se realizan 3 gráficos que presentan la dependencia de las constantes en unidades acordes al SI, en x (figura 3.5), y (figura 3.6) y z (figura 3.7) con la distancia a la superficie:

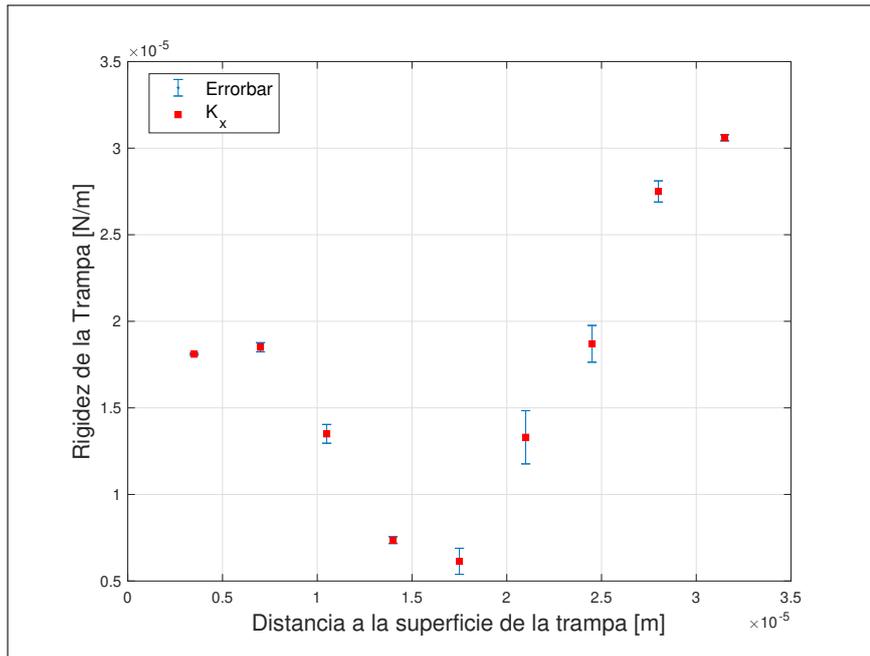


Figura 3.5: Gráfico que muestra la dependencia de la constante de rigidez en dirección x con la distancia a la superficie de la trampa.

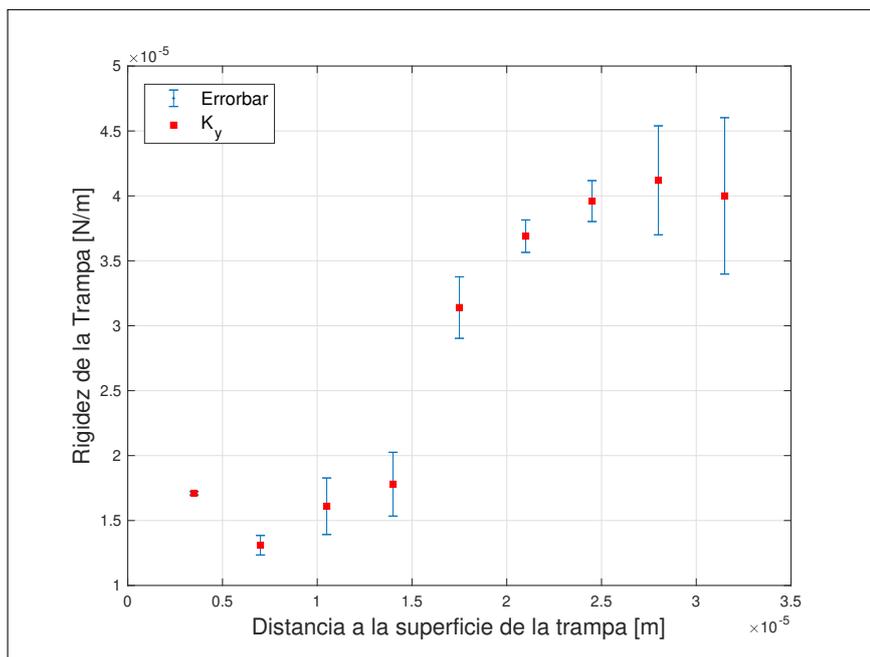


Figura 3.6: Gráfico que muestra la dependencia de la constante de rigidez en dirección y con la distancia a la superficie de la trampa.

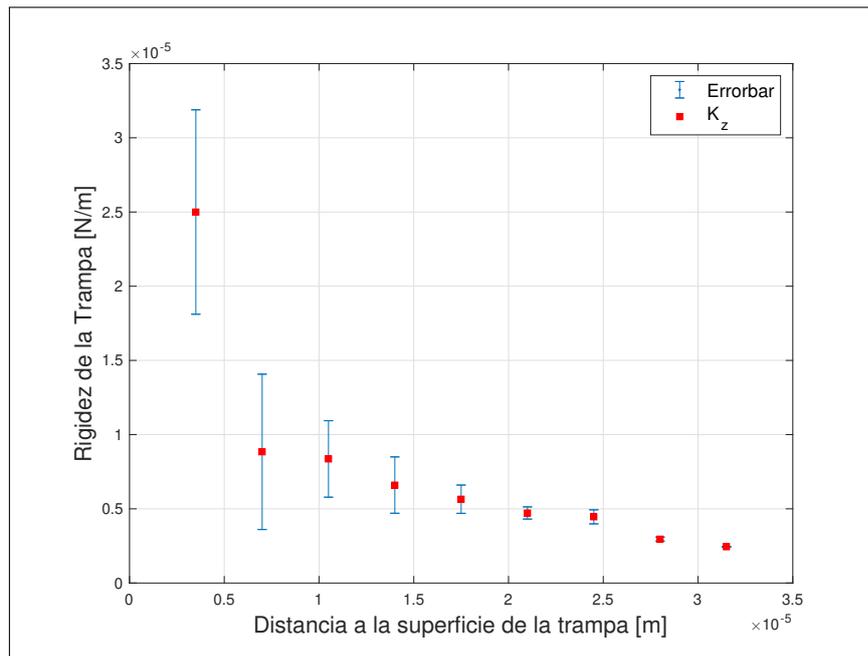


Figura 3.7: Gráfico que muestra la dependencia de la constante de rigidez en dirección z con la distancia a la superficie de la trampa.

Conclusiones

Debido a que es importante conocer las constantes de rigidez de la trampa, puesto que esto ayuda a cuantificar y conocer detalles de la fuerza que se puede ejercer con la misma, la dependencia de las constantes de la trampa con la distancia a la superficie debe ser entendida y analizada.

Como se explicó en la sección del set up experimental, rayos cuyo ángulo sea grande respecto al eje óptico y que se originen desde los extremos del objetivo de la pupila, serán enfocados más cerca al coverslip de la superficie en comparación a los rayos cuyo ángulo sea menor respecto al mismo eje. Es por esto que las aberraciones esféricas, presentes en este proyecto, ocasionan un enfoque menos exacto y que decrece conforme se aumenta la distancia a la superficie de la muestra [3]. Es por esto que la constante k de la trampa óptica también decrece conforme se aumenta la distancia a la superficie de la muestra [7].

La importancia de tener coherencia en el resultado de la componente z de la rigidez de la trampa se debe a que la eficiencia de la trampa óptica está limitada por su fuerza axial, es decir, justamente aquella en dirección z [5].

Con esto en consideración, se tiene que el resultado mostrado en la figura 3.7 está en acuerdo con la teoría y experimentación de [7] y [5]. Por otra parte, el resultado mostrado en las figuras 3.5 y 3.6 están en acuerdo con la teoría y la experimentación de [5] y [8]. Este resultado para las constantes laterales de la trampa, k_x y k_y , no tienen la misma dependencia con la distancia a la superficie que k_z debido, presumiblemente, a un problema de *misalignment* del rayo utilizado para la trampa.

Es por esto que, si se pretende utilizar esta trampa óptica en específico se recomienda atrapar partículas a una distancia no tan grande como $31,5 \mu m$, en donde la fuerza en z es pequeña, sino a una distancia más cercana a $3,5 \mu m$, donde

las fuerzas y constantes en las tres dimensiones son de tamaños comparables y los efectos adversos producidos por misalignments y aberraciones esféricas no son tan intensos como ocurre a distancias más grandes.

Se concluye de esta manera que se ha podido calibrar y describir el funcionamiento de las pinzas ópticas en muestras inmersas en aceite, a pesar de la presencia de factores adversos como los ya mencionados. Sin embargo, es posible y se recomendaría mejorar el modelo experimental, para evitar misalignments, y así no lidiar con dos efectos adversos que afecten el enfoque del rayo de la trampa al mismo tiempo.

Bibliografía

- [1] Barkai E. (2001). “Fractional Fokker-Planck equation, solution, and application.” *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys*, 63(4 Pt 2):046118, doi: 10.1103/PhysRevE.63.046118. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11308923/>
- [2] Donato et al. (2011). “Optical Trapping of porous silicon nanoparticles”. *Nanotechnology*, 22, 505704. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0957-4484/22/50/505704>
- [3] Jones, P., Maragó, O., & Volpe, G. (2015). *Optical Tweezers: Principles and Applications*. Cambridge University Press. ISBN: 9781107051164. Recuperado de <http://opticaltweezers.org>
- [4] Rohrbach, A. & Stelzer, E. (2002). “Trapping forces, force constants, and potential depths for dielectric spheres in the presence of spherical aberrations,” *Applied Optics*, 41, 2494-2507. <https://doi.org/10.1364/AO.41.002494>
- [5] Reihani, S. N. S. & Oddershede, L. B. (2007). “Improving optical trapping in the axial direction and a continuous change of the optimal trapping depth,” *Proc. SPIE 6644, Optical Trapping and Optical Micromanipulation IV*, 664421, <https://doi.org/10.1117/12.733622>
- [6] Sindoni, G. (2005). *Teoria Dell’Intrappolamento Ottico e Applicazioni Sperimentali* [Tesi di Laurea]. Università Degli Studi di Messina. Recuperado de <https://www.yumpu.com/it/document/view/15518084/teoria-dellintrappolamento-ottico-e-applicazioni-sperimentali>
- [7] Vermeulen, K., Wuite, G., Stienen, G. & Schmidt, C. (2006). “Optical trap stiffness in the presence and absence of spherical aberrations,” *Applied Optics*, 45, 1812-1819. <https://doi.org/10.1364/AO.45.001812>

- [8] Zhang, H., Li, W., Li, N. & Hu, H. (2021). “Numerical Analysis of Optical Trapping Force Affected by Lens Misalignments,” *Photonics*, 8, 548. <https://doi.org/10.3390/photonics8120548>

Anexos

El siguiente código de programación se desarrolló en el software Matlab. Este tiene como objetivos lo siguiente:

1. Realizar un programa que ajuste una curva exponencial a los datos tomados de la función de auto-correlación mediante el foto-detector.
2. Visualizar, normal, logarímicamente y con barras de error, qué tan aceptable es el ajuste/fit exponencial a los datos medidos.
3. Obtener, siguiendo las ecuaciones de la teoría mencionados en la sección 1.2, 2.1, 2.2 y 3.2, el valor de la rigidez de la trampa óptica en sus componentes, x , y y z y transformarlo a unidades en acuerdo al según lo explicado en la sección 2.2.

Se aclara que todos los programas explicados a continuación pueden ser encontrados y accedidos libremente a través del siguiente enlace a un repositorio de Github: <https://github.com/Negatix092/OpticalTweezer/branches>

Anexo A: Ajuste de curva exponencial a los datos medidos

En esta sección se pretende explicar el programa “Ajuste.mlx” que ajusta una curva exponencial aproximada a los datos medidos por el foto-diodo y almacenados en los archivos .xlsx como los mostrados en las figuras 2.1 y 2.2.

El código realizado se encuentra a continuación:

```

1 Datosx = readmatrix("data9-x.xlsx");
2 tx = Datosx(1:50,1);
3 px = Datosx(1:50,2:end);
4 ax = mean(px,2);
5
6 f1 = fit(tx, ax, 'exp1');
7
8 Datosy = readmatrix("data9-y.xlsx");
9 ty = Datosy(1:50,1);
10 py = Datosy(1:50,2:end);
11 ay = mean(py,2);
12
13 f2 = fit(ty, ay, 'exp1');
14
15 Datosz = readmatrix("data9-z.xlsx");
16 tz = Datosz(:,1);
17 pz = Datosz(:,2:end);
18 z = pz(:,1);
19 az = mean(pz,2);
20
21 f3 = fit(tz, az, 'exp1');

```

En la línea 1 del código, al igual que en las líneas 8 y 15, se almacenan los datos de la función de auto-correlación exponencial de la componente x , provenientes del archivo “data9-x.xlsx”, en una matriz. Dicha matriz se define como “Datosx” para la componente x , “Datosy” para la componente y y “Datosz” para la componente z .

Almacenar los datos de la ACF experimental en una matriz permite una mejor manipulación de los mismos. Tal es el caso de lo que se realiza a continuación, donde se manejan columnas de la matriz definida y se las identifica como los datos de tiempo (t) y posición (p). Con motivo de obtener un mejor resultado antes de hacer el fit, se realiza un promedio de las repeticiones de medición en la línea 4 del código, obteniendo finalmente dos columnas, una de tiempo y otra de la ACF experimental promedio para cierta distancia a la superficie, a las cuales se les hará el ajuste/fit.

El ajuste se lo realiza en la línea 6 del código, mediante la función “fit” de Matlab y utilizando el modelo “exp1” correspondiente a una función exponencial, como se espera sea el comportamiento teórico de la ACF. El mismo proceso se realiza para las demás componentes de la ACF experimental y para todas las 9 distancias a la superficie.

Anexo B: Visualización y Análisis del Ajuste a los Datos experimentales

En esta sección se pretende explicar el programa “FitvsData.mlx”. El código realizado se encuentra a continuación:

```

1  Datosx = readmatrix("data9-x.xlsx");
2  tx = Datosx(:,1);
3  px = Datosx(:,2:end);
4  ax = mean(px,2);
5  fx = (0.006812)*exp(-1.681e3*tx);
6
7  Datosy = readmatrix("data9-y.xlsx");
8  ty = Datosy(:,1);
9  py = Datosy(:,2:end);
10 ay = mean(py,2);
11 fy = (0.01013)*exp(-2333*ty);
12
13 Datosz = readmatrix("data9-z.xlsx");
14 tz = Datosz(:,1);
15 pz = Datosz(:,2:end);
16 az = mean(pz,2);
17 fz = (0.05023)*exp(-136.8*tz);
18
19 %plot
20 %subplot
21 subplot(3,2,1)
22 plot(tx,fx,"o");
23 hold on
24 plot(tx,ax,"b.");
25 legend('Fit','Cx');
26 xlabel('t [s]');
27 ylabel('C_x(t) [V^2]');
28 title('Análisis Normal');
29 grid on

```

El manejo de los datos experimentales es el mismo que el ya explicado en el programa “Ajust.mlx”. Como en ese programa ya se obtuvieron las constantes a y b necesarias para el fit, en las líneas 5, 11 y 17 del código se define la función que corresponde al ajuste exponencial.

Para su visualización, desde la línea 21 en adelante se utilizan los comandos subplot y plot de Matlab para graficar el ajuste y la ACF experimental promedio para las tres componentes de la dirección. Desde la línea 21 a la línea 29 se puede

ver que es el caso de la componente x . Para la componente y y z el proceso para graficar será el mismo que el escrito en las líneas 21 a 29, cambiando simplemente x por y o z y aclarando en las funciones label a qué componente se está refiriendo.

No se incluye esa parte del código en esa imagen para no alargar este trabajo, pero se recuerda que todo el código se encuentra disponible en el enlace de Github ya mencionado.

Las figuras que este programa da como resultado son como la figura 3.2.

Ahora se pretende explicar el programa “BarError.mlx”

```

1 Datosx = readmatrix("data9-x.xlsx");
2 tx = Datosx(:,1);
3 px = Datosx(:,2:end);
4 ax = mean(px,2);
5 fx = (0.006812)*exp(-1.681e3*tx);
6 er1 = fx - ax;
7
8 Datosy = readmatrix("data9-y.xlsx");
9 ty = Datosy(:,1);
10 py = Datosy(:,2:end);
11 ay = mean(py,2);
12 fy = (0.01013)*exp(-2333*ty);
13 er2 = fy - ay;
14
15 Datosz = readmatrix("data9-z.xlsx");
16 tz = Datosz(:,1);
17 pz = Datosz(:,2:end);
18 az = mean(pz,2);
19 fz = (0.05023)*exp(-136.8*tz);
20 er3 = fz - az;
21
22 %plot
23 %subplot
24 subplot(3,1,1)
25 errorbar(tx,fx,er1);
26 hold on
27 plot(tx,fx,"o");
28 hold on
29 plot(tx,ax,"b.");
30 legend('Errorbar','Fit','Cx');
31 xlabel('t [s]');
32 ylabel('C_x(t) [V^2]');
33 title('Análisis Normal');
34 grid on

```

Con motivo de analizar la coherencia del criterio utilizado para el ajuste, se agrega la línea 6 en el código y se procede a graficarla mediante la función “errorbar” como se ve en la línea 25. En lo demás, este programa es similar al programa “FitvsData.mlx”.

Anexo C: Obtención de las Constantes de Rigidez de la Trampa

En esta sección se pretende explicar el programa “K_exp.mlx”. El código realizado se encuentra a continuación:

```

1 kT = 4.0819e-21; %energía termica%
2 g = 1.7819e-8; %constante de viscosidad teorica%
3
4 A = 0.05023; %Constante obtenidas del fit%
5 B = 136.8; %Constante obtenidas del fit%
6
7 T = 1/B; %tiempo caracteristico%
8 k_exp = kT/A;
9 g_exp = T*k_exp;
10
11 s = g_exp/g; %Factor de Conversion%
12 K_real = k_exp/s; %Constante K aproximada%
```

Desde la línea 1 hasta la línea 5 simplemente se definen constantes. Se reconoce en la línea 4 y 5 las constantes a y b obtenidas mediante el programa “Ajuste.mlx”. Desde la línea 7 es que se utiliza las ecuaciones previamente discutidas en el capítulo 2.

Por ejemplo, la línea 7 es la ecuación 2.4 que definía el tiempo característico de la trampa. La línea 8 es la ecuación 2.3 que definía la constante de rigidez experimental de la trampa. La línea 9 es la ecuación 2.5 referente a γ^{exp} . La línea 11 corresponde a la ecuación 2.10 que define el factor de conversión S necesario para obtener las constantes de rigidez en unidades del SI, lo que se obtiene mediante la línea 12 del programa.

Anexo D: Cuadros de Resultados

Distancia a la Superficie [μm]	a [V^2]	b [s^{-1}]
3,50E-06	3,62E-04	1,02E+03
7,00E-06	4,52E-04	732,7423
1,05E-05	4,26E-04	757,5651
1,40E-05	5,73E-04	413,279
1,75E-05	8,60E-04	344,343
2,10E-05	1,00E-03	747,3242
2,45E-05	0,0018	1,05E+03
2,80E-05	0,0038	1,54E+03
3,15E-05	0,0069	1,72E+03

Cuadro 3.4: Valores de a y b obtenidos por el fit para la componente x

Distancia a la Superficie [μm]	a [V^2]	b [s^{-1}]
3,50E-06	4,72E-05	9,60E+02
7,00E-06	1,34E-04	735,7531
1,05E-05	1,39E-04	901,4508
1,40E-05	3,31E-04	997,4332
1,75E-05	0,0012	1,76E+03
2,10E-05	0,0024	2,07E+03
2,45E-05	0,0039	2,22E+03
2,80E-05	0,0071	2,31E+03
3,15E-05	0,01	2,24E+03

Cuadro 3.5: Valores de a y b obtenidos por el fit para la componente y

Distancia [μm]	$k^{(exp)}$ [$kg \cdot m^2 \cdot s^{-2} \cdot V^{-2}$]	$\gamma^{(exp)}$	S [$m^2 \cdot V^{-2}$]	k [$N \cdot m^{-1}$]
3,50E-06	1,13E-17	1,11E-20	7,89E-07	1,81E-05
7,00E-06	9,02E-18	1,23E-20	8,31E-07	1,85E-05
1,05E-05	9,59E-18	1,27E-20	8,43E-07	1,35E-05
1,40E-05	7,12E-18	1,72E-20	9,83E-07	7,36E-06
1,75E-05	4,75E-18	1,38E-20	8,79E-07	6,14E-06
2,10E-05	4,08E-18	5,46E-21	5,54E-07	1,33E-05
2,45E-05	2,27E-18	2,16E-21	3,48E-07	1,87E-05
2,80E-05	1,07E-18	6,96E-22	1,98E-07	2,75E-05
3,15E-05	5,92E-19	3,44E-22	1,39E-07	3,06E-05

Cuadro 3.6: Valores de $k^{(exp)}$, $\gamma^{(exp)}$, k y S obtenidos para la componente x.

Distancia [μm]	$k^{(exp)}$ [$kg \cdot m^2 \cdot s^{-2} \cdot V^{-2}$]	$\gamma^{(exp)}$ [$J \cdot s \cdot V^{-2}$]	S [$m^2 \cdot V^{-2}$]	k [$N \cdot m^{-1}$]
3,50E-06	8,65E-17	9,01E-20	2,25E-06	1,71E-05
7,00E-06	3,04E-17	4,13E-20	1,52E-06	1,31E-05
1,05E-05	2,94E-17	3,27E-20	1,35E-06	1,61E-05
1,40E-05	1,23E-17	1,24E-20	8,33E-07	1,78E-05
1,75E-05	3,40E-18	1,93E-21	3,29E-07	3,14E-05
2,10E-05	1,70E-18	8,21E-22	2,15E-07	3,69E-05
2,45E-05	1,06E-18	4,76E-22	1,63E-07	3,96E-05
2,80E-05	5,76E-19	2,50E-22	1,18E-07	4,12E-05
3,15E-05	4,10E-19	1,83E-22	1,01E-07	4,00E-05

Cuadro 3.7: Valores de $k^{(exp)}$, $\gamma^{(exp)}$, k y S obtenidos para la componente y.

Anexo E: Figuras de Resultados

En este anexo no se agregan las figuras de las 8 distancias restantes, lo que extendería varias páginas más este trabajo. Es así que solamente se agregan 2 figuras más, resultados del fit de dos distancias no mostradas: $7 \mu m$ (figura 3.8) y $21 \mu m$ (figura 3.9). Todas las figuras obtenidas se encuentran el código fuente de este proyecto.

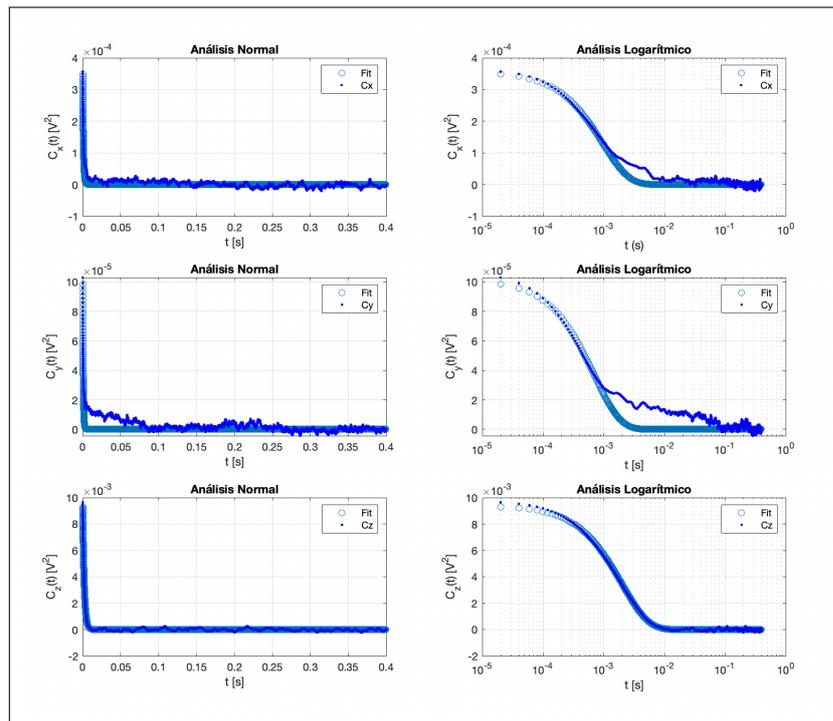


Figura 3.8: Gráfica resultado de ejecutar el programa *FitvsData.mlx*

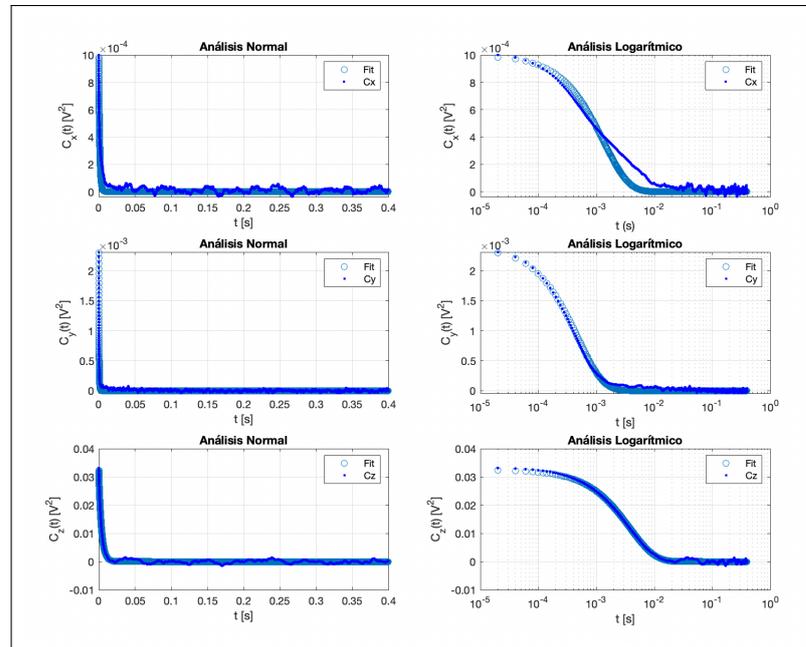


Figura 3.9: Gráfica resultado de ejecutar el programa *FitvsData.mlx*