

1694

Universidad de Sonora
División de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Física



**Pinzas Ópticas:
"Teoría y Aplicaciones"**

Tesis que para obtener el título de
Licenciado en Física
Presenta:

Alfredo Eduardo Cervantes Martínez
"EL SABER DE MIS HIJOS PARA MI GRANDEZA"

Hermosillo, Sonora

Abril de 2003

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

**“Todo lo puedo en Cristo que me fortalece”
Filipenses 4:13**

574

Dedicatorias

“Honra a tu padre y a tu madre...”
Éxodo 20:12

A mis padres: Lupita y Beto. Porque me han enseñado a ser.

“En todo tiempo ama el amigo, y es como un hermano en tiempo de angustia.”
Proverbios 17:17

A mis hermanos: Juan y Héctor. Por compartir todo conmigo.

“Las muchas aguas no podrán apagar el amor, ni lo ahogarán los ríos...”
Cantares 8:7

A mi prometida: Alba. Te amo así, con el corazón abierto.

A la familia con cariño: Gladys, Geovanna, Ariana, Nicole y Abigail.

Agradecimientos

Gracias Señor Jesucristo por darme la fortaleza para alcanzar una de mis metas, pero sobre todo gracias por darme la salvación.

Gracias Amir, por aceptar dirigir esta tesis, por los consejos y discusiones que ayudaron a dar forma a este trabajo.

Chacho y Baruk las penas con pan son buenas, pero con amigos son mejores.

A todos los maestros y compañeros de clase que ayudaron en mi formación profesional. Lupita gracias por los libros. Lupita gracias por el papeleo.

A los Drs. Heriberto Acuña, Jorge Sandoval y Felipe Ramos por las observaciones y correcciones a este trabajo.

A los amigos y hermanos en Cristo.

Se agradece el financiamiento de CONACYT a través del proyecto "Pinzas Ópticas: aplicaciones en física coloidal y Biológica" (J-32105E)

Índice

• Introducción	1
1. ¿Qué es una Pinza Óptica?	4
1.1 Antecedentes	4
1.2 Bases del atrapamiento óptico	5
1.2.1 Vector de Poynting e Irradiancia	5
1.2.2 Momento y Presión de Radiación	9
1.3 Fuerza Gradiente y Fuerza de Dispersión	12
Conclusiones	16
2. Fuerzas Ópticas	17
2.1 Modelos matemáticos	17
2.2 Modelo del campo electromagnético	18
2.3 Modelo de la óptica geométrica	20
2.3.1 Calculo de las fuerzas ópticas	20
2.3.2 Factor de atrapamiento	27
2.4 Atrapamiento con el centro de la esfera sobre el eje óptico	33
Conclusiones	37
3. Técnicas de Calibración	38
3.1 Parámetro de Calibración	38
3.2 Método de la Fuerza de Fricción	39
3.3 Método del Espectro de Potencia	46
3.4 Método de Equipartición de Energía	51
3.5 Comparación entre los diferentes métodos de calibración	52
Conclusiones	53

4. Aplicaciones	54
4.1 Elasticidad de Macromoléculas	54
4.2 Motores Moleculares	56
4.3 Partículas Coloidales	59
4.3.1 Interacciones electrostáticas	59
4.3.2 Cadenas Dipolares	61
4.4 Otras Aplicaciones	63
Conclusiones	64
• Conclusiones	65
• Apéndice A	68
• Apéndice B	70
• Apéndice C	72
• Bibliografía	75

Introducción

A lo largo del tiempo, la ciencia se ha desarrollado gracias a la necesidad de los seres humanos por explicar los fenómenos que acontecen a su alrededor y es por esta razón que se han dado los grandes descubrimientos. Uno de los fenómenos que más ha cautivado a la humanidad es el comportamiento de la luz y los efectos que esta tiene sobre nuestra vida diaria. ¿Cómo producirla?, ¿cómo utilizarla?, ¿cómo nos afecta? son solo algunas de las preguntas que surgen sobre la luz y es por ello que el ser humano ha dedicado gran parte de su historia a estudiarla. La investigación de los fenómenos ópticos llegó a uno de sus etapas más importantes con el desarrollo del láser en 1960, dispositivo que ha permitido desarrollar no solamente aplicaciones en aparatos de la vida ordinaria, sino también la concepción de nuevas técnicas experimentales que permiten conocer mejor la naturaleza.

A la par de los descubrimientos realizados por la humanidad, se han desarrollado instrumentos que permiten realizar un mejor estudio de los fenómenos que ocurren a nuestro alrededor. La inquietud de estudiar los efectos de la luz a nivel microscópico, aunado a la necesidad de mejores técnicas experimentales en diferentes disciplinas, dio lugar a las llamadas pinzas ópticas. Esta novedosa técnica ha permitido un mejor desarrollo de ciencias como la física coloidal y la biofísica proporcionando una ventaja sobre técnicas clásicas: la facilidad de estudiar las propiedades de partículas o moléculas de manera individual. De hecho, esto ha permitido que las pinzas ópticas, junto con la microscopía de fuerza atómica (AFM) y la micromanipulación con micropipetas, generen el desarrollo de un área nueva de la biofísica denominada "biofísica de moléculas individuales", cuya importancia radica en la posibilidad de entender la estructura y función de los sistemas biológicos en la escala de las moléculas que los conforman. Esto es posible porque, como veremos, las fuerzas generadas por unas pinzas ópticas son del orden de decenas de piconewtons, escala de las fuerzas biológicas y

coloidales más importantes a escala molecular.

El nombre de pinzas ópticas se debe a que esta técnica permite atrapar y manipular objetos microscópicos mediante el uso de luz láser. Su funcionamiento se basa fundamentalmente en hacer incidir el haz de luz láser en el objetivo (de alta abertura numérica) de un microscopio óptico, mismo que enfoca la luz en una región del espacio, provocando con ello que cualquier partícula colocada en dicha región quede sujeta a un potencial de atrapamiento debido a la desviación de la luz. Como mostraremos en este trabajo, la fuerza de atrapamiento proviene de la transferencia de momento de los fotones de luz refractados hacia la partícula atrapada, y es proporcional al gradiente de la intensidad luminosa. Con este principio se han desarrollado diferentes tipos de pinzas ópticas, pero todas bajo el mismo esquema básico descrito anteriormente. Las pinzas ópticas han permitido manipular, deformar y fabricar objetos que van desde los 50 *nm* hasta los 20 *μm*, de ahí los alcances obtenidos mediante esta técnica no invasiva.

Para que unas pinzas ópticas funciones adecuadamente necesitan cumplirse ciertas condiciones. En este trabajo nos proponemos describir tales condiciones así como responder preguntas como las siguientes: ¿Cuál es la física detrás del atrapamiento óptico de partículas?, ¿qué parámetros intervienen en el atrapamiento?, ¿cómo modelar este atrapamiento?, ¿de qué manera valorar la confiabilidad de los resultados?, ¿cuáles son las aplicaciones que tienen las pinzas ópticas?, etc.

Cabe decir que la presente tesis se ha desarrollado en el marco del proyecto de investigación "Pinzas ópticas: aplicaciones en física coloidal y biológica", cuya finalidad es el estudio de las propiedades mecánicas de membranas en interacción con diferentes macromoléculas. Así, el objetivo de esta tesis es servir como punto de partida para aquellos que deseen involucrarse con la técnica experimental..

Por lo anterior, el trabajo está organizado de la siguiente manera: en el capítulo 1 se describe brevemente la historia de las pinzas ópticas y se discuten algunos conceptos de

teoría electromagnética que muestran que al interaccionar la luz con la materia, aquella ejerce una presión sobre los objetos y en consecuencia una fuerza debido a la transferencia de momento. En el capítulo 1 se explica además de manera cualitativa el atrapamiento de partículas dieléctricas, definiendo la fuerza la fuerza de dispersión y la fuerza gradiente. En el capítulo 2 presentamos dos modelos existentes para calcular las fuerzas generadas por las la luz en unas pinzas ópticas. En particular desarrollamos con cierto detalle el modelo de la óptica geométrica hasta llegar a las expresiones para la fuerza gradiente y de dispersión, además de definir el factor de atrapamiento Q , mediante el cual hacemos un análisis del comportamiento de las fuerzas mencionadas para determinar los factores que intervienen en un buen atrapamiento. El capítulo 3 está dedicado a mostrar los métodos empleados para calibrar las pinzas, además de las bases matemáticas que los sustentan. Asimismo, se hace una comparación entre los diferentes métodos de calibración. Por último, en el capítulo 4 se presentan algunas investigaciones realizadas en diferentes disciplinas, en donde se puede ver el uso y la importancia de las pinzas ópticas.

1 ¿Que es una Pinza Óptica?

En este capítulo veremos brevemente como se ha desarrollado la investigación de las fuerzas producidas por la luz y analizaremos las bases físicas del atrapamiento óptico en términos de la transferencia de momento de la luz hacia partículas materiales. Después de ofrecer algunos antecedentes históricos, definiremos y comentaremos algunos conceptos de la teoría electromagnética relacionados con el transporte de energía y de momento por la luz. Asimismo analizaremos el principio físico utilizado en el atrapamiento óptico de partículas, describiendo particularmente el origen físico de las denominadas fuerza gradiente y fuerza de dispersión.

1.1 Antecedentes

Desde sus inicios, el hombre siempre ha sido cautivado por la luz, y ha dedicado buena parte de su historia al estudio de esta, dando lugar a grandes descubrimientos e inventos. Los antecedentes directos de los conceptos involucrados en el atrapamiento óptico se remontan hacia 1600, cuando Johannes Kepler propuso la hipótesis de que la cola de un cometa se alejaba del sol debido a que la luz emitida por este ejercía una presión que la empujaba en esa dirección. En 1873, la teoría electromagnética de Maxwell permitió demostrar que la luz ejerce una fuerza óptica sobre los objetos; la confirmación experimental de este fenómeno fue realizada por Lebedev en 1901 [Hecht, 2002]. Cabe mencionar que debido a que la presión ejercida por la luz es muy tenue, es más factible ver su efecto en fenómenos astronómicos pues las intensidades luminosas son relativamente grandes. En física de materiales, el estudio de los efectos de la presión de radiación sobre partículas, es decir, el estudio de la fuerza ejercida por la luz sobre estas, comenzó con el desarrollo del láser en la década de los sesenta.

Uno de los pioneros en estas investigaciones es Art Ashkin, quien demostró que pequeñas esferas de poliestireno confinadas podían ser desplazadas y levantadas

haciendo uso de la presión de radiación que ejercía la luz sobre ellas [Ashkin, 1970]. Para ello utilizó un láser y una lente convergente, misma que servía para enfocar la luz. Así, Ashkin observó que cuando una esfera se encontraba cerca del eje óptico, era halada hacia el eje y empujada en la dirección de propagación de la luz. Como veremos en este trabajo, los elementos que utilizó Ashkin en sus primeras investigaciones son aún la base del funcionamiento de las pinzas ópticas: un haz de luz láser incide sobre el objetivo de un microscopio, mismo que enfoca la luz en una región del espacio, de tal modo que cualquier partícula dieléctrica situada en esta región refracta la luz, provocando con ello una fuerza de atrapamiento sobre la partícula. El origen físico de dicha fuerza será analizado posteriormente en este capítulo.

Las trampas ópticas emplean un objetivo de microscopio sobre el cual incide luz láser. Al pasar por el objetivo, la luz es enfocada provocando con ello el atrapamiento de cualquier partícula que se encuentre cerca de la región focal. El término "pinzas ópticas" fue utilizado para describir este sencillo esquema de atrapamiento. Las pinzas ópticas permiten atrapar y manipular un gran número de partículas de diferentes tamaños, aproximadamente desde los 50 nanómetros hasta las 20 micras. También es posible manipular entes biológicos, minimizando el daño óptico mediante el uso de una longitud de onda adecuada, generalmente situada en el infrarrojo cercano, lo cual evita la fuerte absorción que presentan los sistemas biológicos en el visible, así como la absorción del agua en longitudes de onda más grandes. Las fuerzas involucradas en las pinzas ópticas son pequeñas desde el punto de vista macroscópico, sin embargo, desde el punto de vista microscópico son significativas. Una fuerza de 10 pN, puede desplazar a una bacteria a través de un volumen de agua; esta fuerza es también capaz de deformar una macromolécula (como el DNA), el citoesqueleto de la célula o microfilamentos de actina. Por esta razón, las pinzas ópticas son una herramienta muy utilizada en el estudio de las propiedades mecánicas y dinámicas de las células y sus componentes [Svoboda, 1994]. En el capítulo 4 describiremos algunas de las aplicaciones de las pinzas ópticas. A

continuación definiremos algunos conceptos físicos necesarios para comprender el atrapamiento óptico y, por lo tanto, el funcionamiento de las pinzas ópticas

1.2 Bases del atrapamiento óptico

El atrapamiento de micropartículas por medio de la luz, obedece básicamente a la ley de conservación del momento al interaccionar la luz con la materia. Para explicar como es que la luz puede atrapar partículas microscópicas, en esta sección describiremos algunos conceptos físicos involucrados en el atrapamiento. Primeramente abordaremos los conceptos relacionados con la energía de un haz luminoso, lo cual nos permitirá definir el vector de Poynting y la irradiancia. En la segunda parte de la sección analizaremos el momento asociado a la luz, así como el concepto de presión de radiación.

1.2.1 Vector de Poynting e Irradiancia

Una propiedad importante de la luz es que transporta energía. A la energía por unidad de volumen se le llama densidad de energía u , a esta densidad de energía contribuyen tanto el campo eléctrico como el magnético. En el vacío, las contribuciones de cada campo están dadas por [Hecht, 2002]:

$$u_E = \frac{\epsilon_0 E^2}{2} \quad (1.1)$$

$$u_B = \frac{B^2}{2\mu_0} \quad (1.2)$$

donde, u_E es la componente debida al campo eléctrico E y u_B es la componente debida al campo magnético B . ϵ_0 y μ_0 son la permitividad del vacío y la permeabilidad magnética del vacío respectivamente. Se puede observar que ambas componentes de la densidad de energía son proporcionales al cuadrado de la magnitud del campo

correspondiente. Entonces, tenemos que la densidad de energía u es:

$$u = u_E + u_B = \frac{1}{2}(\epsilon_0 E^2 + \frac{B^2}{\mu_0}) \quad (1.3)$$

Si consideramos una onda plana propagándose en el vacío, los campos eléctrico y magnético están dados por [Klein, 1986]:

$$\vec{E} = \text{Re} \vec{E}_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)} \quad (1.4)$$

$$\vec{B} = \text{Re} \vec{B}_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)} \quad (1.5)$$

donde \vec{E}_0 y \vec{B}_0 son las amplitudes del campo eléctrico y magnético respectivamente, \vec{k} es el vector de onda de la luz. Los vectores \vec{k} , \vec{E} y \vec{B} , forman una terna ortogonal derecha, y la relación entre las magnitudes de \vec{E} y \vec{B} es (apéndice A):

$$E = cB \quad (1.6)$$

donde c es la velocidad de la luz. Sustituyendo esta relación en la ecuación (1.1) o (1.2) y utilizando el hecho de que $c = \frac{1}{\sqrt{\mu_0 \epsilon_0}}$, tenemos entonces que ambas componentes son iguales, y así, la densidad de energía se puede escribir en términos del campo eléctrico o magnético solamente:

$$u = \epsilon_0 E^2 = \frac{B^2}{\mu_0} \quad (1.8)$$

Considerando una región del espacio por la cual pasa la luz, entonces la energía que esta transporta por unidad de tiempo y por unidad de área es [Hecht, 2002]:

$$S = uc \quad (1.9)$$

si hacemos uso de las ecuaciones (1.6) y (1.8), S se puede expresar como:

$$S = c^2 \epsilon_0 E B \quad (1.10)$$

Esta expresión se puede escribir en forma vectorial de la siguiente manera [Hecht, 2002]:

$$\vec{S} = c^2 \epsilon_0 \vec{E} \times \vec{B} \quad (1.11)$$

El vector \vec{S} indica la dirección del flujo de energía. Dado que los campos eléctrico y magnético son ortogonales, podemos ver que la energía es transportada en la dirección de propagación de la luz. Al vector \vec{S} se le conoce como el vector de Poynting y al promedio temporal de su magnitud se le conoce como irradiancia:

$$I \equiv \langle S \rangle = c^2 \epsilon_0 \langle | \vec{E} \times \vec{B} | \rangle \quad (1.12)$$

Recordando el significado de la magnitud del vector de Poynting (ecuación 1.9), la irradiancia representa entonces el promedio temporal del flujo de energía luminosa por unidad de tiempo y unidad de área. Anteriormente, la irradiancia recibía el nombre de "intensidad" de la luz.

Si ahora sustituimos las ecuaciones (1.4) y (1.5) en (1.12) obtenemos:

$$I = c^2 \epsilon_0 | \vec{E} \times \vec{B} | \langle \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t) \rangle \quad (1.13)$$

como $\langle \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t) \rangle = \frac{1}{2}$ (apéndice B), entonces la ecuación anterior se reduce a:

$$I = \frac{c \epsilon_0}{2} E_0^2 \quad (1.14)$$

de donde podemos observar que la irradiancia es proporcional al cuadrado de la

amplitud del campo eléctrico. En la siguiente sección, veremos que la luz transporta también momento lineal, lo cual da lugar a la denominada presión de radiación.

1.2.2 Momento y Presión de Radiación

Como hemos dicho, la luz es portadora de energía. Además, cuando la luz interacciona con la materia ejerce una fuerza sobre las moléculas que la conforman debido al intercambio de momento. Este proceso se puede analizar desde dos puntos de vista: considerando a la luz como un fenómeno ondulatorio o considerando la naturaleza corpuscular de la luz. En esta sección describiremos el tratamiento clásico que lleva a la definición del tensor de presión de Maxwell, dejando para la siguiente un análisis en términos del comportamiento corpuscular de la luz.

Cuando la luz interacciona con una partícula cargada en movimiento con velocidad \vec{v} (Fig. 1.1), sobre esta actúa la fuerza de Lorentz debida al campo electromagnético [Jackson, 1998]:

$$\vec{F} = q(\vec{E} + \vec{v} \times \vec{B}) \quad (1.15)$$

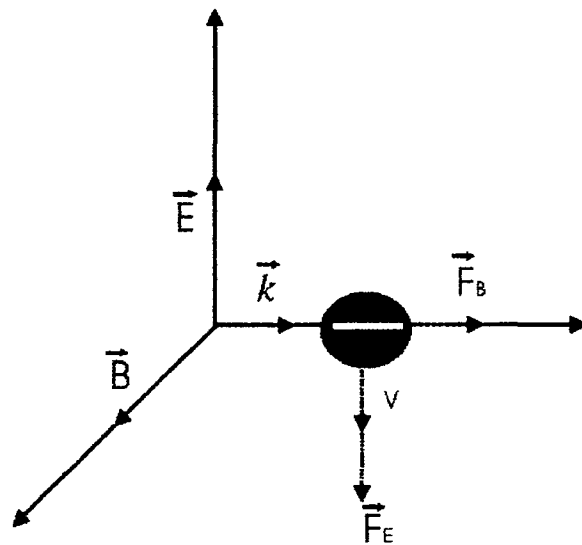


Figura 1.1 Un haz de luz interactuando con una partícula cargada negativamente que se mueve con velocidad v . E y B son los campos eléctrico y magnético respectivamente, k el vector de onda de la luz.

entonces, por la segunda ley de Newton, esto implica una razón de cambio en el momento de la partícula:

$$\frac{d\vec{p}}{dt} = q(\vec{E} + \vec{v} \times \vec{B}) \quad (1.16)$$

Ahora bien, si consideramos una distribución discreta de cargas contenidas en un volumen V dado, la ecuación (1.16) puede escribirse como [Jackson, 1998]:

$$\frac{d\vec{P}}{dt} = \int_V (\rho \vec{E} + \vec{J} \times \vec{B}) d^3x \quad (1.17)$$

donde \vec{P} es la suma del momento lineal de todas la partículas. Por conveniencia matemática, la sumatoria de las fuerzas de Lorentz sobre todas las partículas se ha escrito como una integral sobre una densidad de carga ρ y una densidad de corriente \vec{J} [Jackson, 1998]. Si se desarrolla el lado derecho de la ecuación (1.17) haciendo uso de las ecuaciones de Maxwell $\rho = \epsilon_0 \vec{\nabla} \cdot \vec{E}$ y $J = \frac{1}{\mu_0} \vec{\nabla} \times \vec{B} - \epsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t}$ tenemos [Jackson, 1998]:

$$\rho \vec{E} + \vec{J} \times \vec{B} = \epsilon_0 [\vec{E}(\vec{\nabla} \cdot \vec{E}) - \vec{E} \times (\vec{\nabla} \times \vec{E}) + c^2 \vec{B}(\vec{\nabla} \cdot \vec{B}) - \vec{B} \times (\vec{\nabla} \times \vec{B}) - \epsilon_0 \frac{\partial}{\partial t} (\vec{E} \times \vec{B})] \quad (1.18)$$

Sustituyendo esta ecuación en (1.17) tenemos [Jackson, 1998]:

$$\frac{d\vec{P}}{dt} + \frac{d}{dt} \int_V \epsilon_0 (\vec{E} \times \vec{B}) d^3x = \int_V \epsilon_0 [\vec{E}(\vec{\nabla} \cdot \vec{E}) - \vec{E} \times (\vec{\nabla} \times \vec{E}) + c^2 \vec{B}(\vec{\nabla} \cdot \vec{B}) - \vec{B} \times (\vec{\nabla} \times \vec{B})] d^3x \quad (1.19)$$

En esta ecuación, la integral del lado izquierdo corresponde al momento total del campo electromagnético en un volumen V . De hecho, la expresión 1.19 se conoce como la ecuación de conservación del momento lineal total (considerando partículas más campo electromagnético) y puede simplificarse definiendo el llamado tensor de presión

de Maxwell T [Jackson, 1998]:

$$T_{\alpha\beta} = \epsilon_0[E_\alpha E_\beta + c^2 B_\alpha B_\beta - \frac{1}{2}(E^2 + c^2 B^2)\delta_{\alpha\beta}] \quad (1.21)$$

donde en coordenadas cartesianas α y β van desde 1 hasta 3. Así, la ecuación de conservación de momento se puede escribir como [Jackson, 1998]:

$$\frac{d}{dt}(\vec{P}_t + \vec{P}_{EM})_\alpha = \sum_\beta \int_V \frac{\partial}{\partial x_\beta} T_{\alpha\beta} d^3x \quad (1.22)$$

aplicando el teorema de la divergencia a la integral de volumen, podemos escribir la ecuación anterior como:

$$\frac{d}{dt}(\vec{P}_t + \vec{P}_{EM})_\alpha = \oint_S \sum_\beta T_{\alpha\beta} n_\beta da \quad (1.23)$$

Podemos ver que T está relacionado con el flujo de momento lineal debido al campo electromagnético. De hecho, el término $\sum_\beta T_{\alpha\beta} n_\beta$ representa la componente α del flujo de momento lineal por unidad de área a través de una superficie S hacia un volumen V , o dicho de otra forma, $\sum_\beta T_{\alpha\beta} n_\beta$ representa la fuerza por unidad de área aplicada a través de la superficie S , y que actúa sobre el sistema contenido en V . De ahí la denominación de tensor de presión dada a T . La ecuación (1.23) puede usarse entonces para calcular las fuerzas sobre cualquier objeto debidas a campos electromagnéticos. El procedimiento requiere encerrar al objeto en una superficie S y calcular el lado derecho de la ecuación mencionada, lo cual no es necesariamente sencillo de realizar para cualquier sistema [Jackson, 1998].

Como hemos dicho, el hecho de que la luz ejerza presión sobre los objetos y por ende genere fuerzas que actúan sobre ellos, fue utilizado para el desarrollo de las pinzas ópticas. En la sección siguiente, daremos una explicación cualitativa de la forma como

se atrapan los objetos, pero en términos de la naturaleza corpuscular de la luz, es decir, del momento transferido por los fotones que la conforman. Esta manera de abordar el problema es bastante más sencilla en la mayoría de los casos que la aplicación directa del formalismo del tensor de presión de Maxwell.

1.3 Fuerza Gradiente y Fuerza de Dispersión

En las secciones anteriores vimos que la presión de radiación está relacionada con la conservación del momento total. La fuerza provocada por un haz luminoso que incide sobre una partícula también se puede calcular en base a la transferencia de momento debida a la desviación de los fotones que componen la luz. Esta manera de abordar el problema es posible porque según la dualidad onda-corpúsculo de la luz, cada fotón de esta puede verse como una partícula con un momento lineal asociado dado por [de la Peña, 1991]:

$$\vec{p} = \hbar \vec{k} \quad (1.23)$$

donde \vec{k} es el vector de onda de la luz y $\hbar \equiv \frac{h}{2\pi}$, con h la constante de Planck. De esta forma, de acuerdo a la ley de conservación del momento lineal y a la segunda ley de Newton, cada fotón de un haz de luz que incide sobre un objeto puede contribuir a la fuerza total ejercida sobre el mismo si su momento cambia de magnitud y/o de dirección por efectos de la reflexión, refracción o absorción de la luz.

Para describir cualitativamente el atrapamiento de partículas consideremos el siguiente esquema en el cual un haz de luz (de intensidad constante en su sección transversal) es enfocado mediante una lente; cerca del foco de la lente se encuentra una esfera dieléctrica homogénea que refracta la luz que llega a su superficie (fig. 1.2). Consideraremos que el índice de refracción de la esfera es mayor que el índice de refracción del medio que la rodea.

integrando para considerar todos los rayos que lo conforman.

Ahora consideraremos que el haz que incide sobre la esfera no tiene una distribución constante de su intensidad en su sección transversal. En particular, consideraremos una distribución gaussiana. Como se muestra en la figura 1.3, el haz incide sobre una esfera localizada cerca del eje óptico y de índice de refracción mayor al medio que la rodea. Tomemos un par de rayos a y b que inciden simétricamente sobre la esfera (Fig. 1.3).

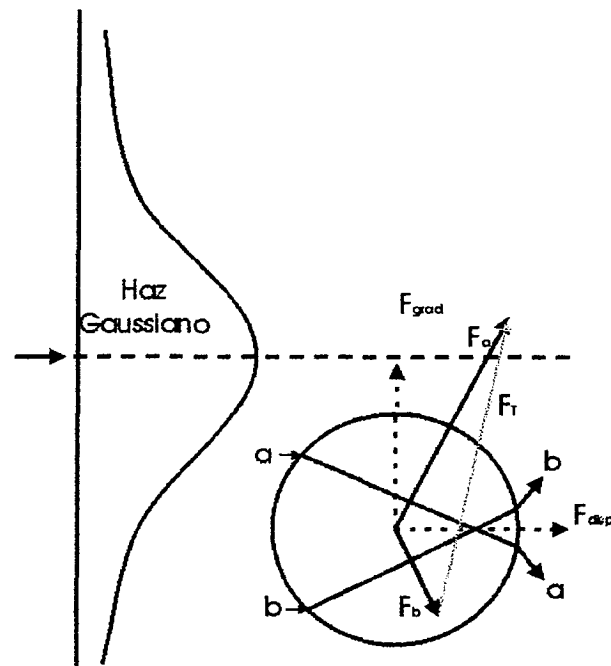


Figura 1.3 Esfera localizada cerca del eje óptico de un haz gaussiano.
 a y b representan un par de rayos contenidos en el haz.

Puesto que el rayo a es de mayor intensidad que el rayo b , la fuerza F_a debida a su desviación, será mayor que F_b , la fuerza debida a la desviación del segundo rayo. La suma de F_a y F_b resulta en una fuerza que tiene dos componentes [Ashkin, 1970]: una fuerza que actúa en la dirección de propagación de la luz y cuya magnitud es proporcional a la intensidad de la luz incidente, la cual se conoce como "fuerza de dispersión"; y otra fuerza que actúa en la dirección de mayor intensidad de la luz, siendo su magnitud proporcional al gradiente espacial de la intensidad de la luz, la cual se conoce como "fuerza de gradiente". La fuerza de dispersión tiende a empujar a la partícula

en la dirección de propagación de la luz, mientras que la fuerza gradiente hala a la partícula hacia el eje óptico (región de mayor intensidad).

Si ahora consideramos un sistema que combine los casos esquematizados en las figuras 1.2 y 1.3, es decir, si ahora tenemos un haz gaussiano que es enfocado mediante una lente convergente, tendremos dos gradientes de intensidad luminosa: uno axial, a lo largo del eje óptico, cuyo máximo está situado en el punto focal, y otro radial o transversal, debido a la distribución gaussiana de la luz, cuyo máximo está situado sobre el eje óptico. En este caso, la fuerza gradiente no solamente hala a la partícula hacia el eje óptico, sino que también la hala hacia el punto focal puesto que existen gradientes en ambas direcciones. De esta forma, la fuerza gradiente es efectivamente una fuerza de atrapamiento dirigida hacia el foco, pues es donde se sitúa el máximo de intensidad luminosa, considerando ambos gradientes. El único requisito para obtener el atrapamiento es que la componente axial o longitudinal de la fuerza gradiente F_g domine sobre la fuerza de dispersión F_d , la cual, como dijimos, empuja a la partícula en la dirección de propagación de la luz. Una forma de asegurar experimentalmente el atrapamiento óptico de partículas es generando altos gradientes de intensidad mediante el uso de microscopios con objetivos de abertura numérica alta.

Conclusiones

En este capítulo analizamos, a partir de conceptos de la teoría electromagnética y de la dualidad onda-corpúsculo de la luz, como pueden explicarse teóricamente las fuerzas que ejerce la luz sobre un objeto sobre el cual incide. Así mismo, vimos como este hecho fue utilizado para crear las llamadas pinzas ópticas y mostramos de manera cualitativa que la conservación del momento lineal es lo que permite el atrapamiento óptico. Además, vimos que para obtener un buen atrapamiento es necesario generar gradientes de intensidad luminosa suficientemente grandes para que la fuerza gradiente domine sobre la fuerza de dispersión. En el capítulo siguiente analizaremos modelos que permiten calcular ambas fuerzas.

2 Fuerzas ópticas

El conocimiento de las fuerzas involucradas en las trampas ópticas es de gran importancia ya que permite diseñar montajes experimentales que satisfagan las necesidades de los estudios a realizar. El modelar estas fuerzas no es tarea fácil debido a que muchos de los objetos atrapados tienen formas geométricas irregulares, además de que no son homogéneos. Sin embargo, como primera aproximación, la mayoría de los reportes teóricos de la literatura analizan el caso de esferas dieléctricas homogéneas atrapadas por las pinzas ópticas. Existen dos modelos para calcular las fuerzas de atrapamiento. El primero de ellos utiliza la teoría electromagnética para determinar la fuerza producida por un haz de luz, mientras que el segundo hace uso de la óptica geométrica. Este último caso es válido para describir el atrapamiento de partículas cuyo tamaño sea mucho mayor que la longitud de onda de la luz. En este capítulo, después de una breve mención de los principales resultados del modelo electromagnético, describiremos y analizaremos con cierto detalle cálculos de la fuerza de atrapamiento de partículas dieléctricas esféricas que se han realizado en base al formalismo de la óptica geométrica.

2.1 Modelos matemáticos

Como hemos dicho, para calcular las fuerzas producidas en unas pinzas ópticas, existen dos formas de modelar la luz, mismas que se aplican dependiendo del tamaño de los objetos. Cuando el tamaño del objeto es menor o igual que la longitud de onda utilizada ($r \leq \lambda$), nos encontramos en el régimen de Rayleigh, aplicándose entonces el Modelo del Campo Electromagnético. r es el radio de la partícula a atrapar y λ es la longitud de onda de la luz. Si el tamaño del objeto es mucho mayor que la longitud de onda de la luz ($r \geq 10\lambda$), entonces se está en el régimen de Mie, requiriéndose el Modelo de la Óptica Geométrica. Por simplicidad, la mayoría de los cálculos hechos con ambos

modelos consideran que las partículas a atrapar tienen forma esférica, son dieléctricas y homogéneas y que no absorben energía.

En la siguiente sección comentaremos brevemente algunos de los resultados más importantes del modelo del campo electromagnético, mientras que el modelo de la óptica geométrica se desarrollará en la 2.3.

2.2 Modelo del campo electromagnético

En el modelo del campo electromagnético, la luz es modelada como una onda electromagnética. Para encontrar las expresiones que permiten calcular las fuerzas producidas por la luz en las pinzas ópticas se hace uso de la teoría electromagnética. En principio, tal cálculo es posible en términos del formalismo del tensor de presión de Maxwell descrito en la sección 1.2.2. aunque en la práctica este procedimiento resulta generalmente complicado y los cálculos se realizan de manera diferente. Sin embargo, debido a que este capítulo está enfocado principalmente al desarrollo del modelo de la óptica geométrica, en esta sección mostraremos solamente las expresiones para las fuerzas de dispersión y gradiente obtenidas mediante la teoría electromagnética, sin detallar el procedimiento empleado para calcularlas, el cual podrá ser encontrado en la literatura [Visscher, 1992].

En el modelo del campo electromagnético, dado que las esferas a atrapar son pequeñas o comparables a la longitud de onda de la luz, se les considera dipolos puntuales. En dicho caso, la expresión para calcular la fuerza de dispersión es [Visscher, 1992]:

$$\vec{F}_d = n_m \frac{\langle \vec{S} \rangle \cdot \sigma}{c} \quad (2.1)$$

donde $\langle \vec{S} \rangle$ es el promedio temporal del vector de Poynting definido en el capítulo 1, n_m es el índice de refracción del medio que rodea al objeto y σ es la sección eficaz de una

esfera, dada por [Jackson, 1998] :

$$\sigma = \frac{8}{3} \pi k^4 r^6 \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2 \quad (2.2)$$

siendo r el radio de la esfera, m es el índice de refracción relativo de la esfera respecto al medio que la rodea y k es el número de onda de la luz. En la expresión (2.1) podemos notar que la fuerza de dispersión actúa en la dirección de propagación de la luz (dirección del vector de Poynting) y que su magnitud es proporcional a la intensidad de la luz incidente (promedio del vector de Poynting) como se comentó en el capítulo 1.

De igual forma, la fuerza gradiente en el modelo del campo electromagnético se expresa como [Visscher, 1992]:

$$\vec{F}_g = \frac{\alpha}{2} \vec{\nabla} \langle E^2 \rangle \quad (2.3)$$

donde α es la polarizabilidad del material que forma a la esfera dieléctrica, la cual a su vez está dada por [Jackson, 1998]:

$$\alpha = n_m^2 r^3 \left(\frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right) \quad (2.4)$$

En la expresión (2.3) vemos que la fuerza gradiente resulta del gradiente en la densidad de energía del campo electromagnético, la cual, según vimos en el capítulo 1, es proporcional al cuadrado de la magnitud del campo eléctrico. La magnitud de esta fuerza es proporcional al gradiente de intensidad de la luz y actúa en la dirección del mismo. Recordemos que en unas pinzas ópticas el gradiente de intensidad procede de dos factores: la convergencia de la luz debida al objetivo del microscopio, así como la distribución de intensidad luminosa en la sección transversal del haz. Estos dos factores hacen que la fuerza gradiente sea una fuerza de atrapamiento.

2.3 Modelo de la óptica geométrica

Este modelo como ya se ha dicho, se aplica cuando el radio de la partícula es mucho mayor que la longitud de onda del haz incidente. En este caso, los efectos debidos a la naturaleza ondulatoria de la luz (interferencia y difracción) son despreciables y un haz de luz puede ser modelado como un conjunto de rayos perpendiculares en cada punto a los frentes de onda. Este es el dominio de la óptica geométrica. En este modelo, también llamado de trazado de rayos, se supone que cada rayo de luz tiene dirección, momento y polarización definidos, los cuales pueden cambiar cuando se reflejen y/o refracten en una superficie.

A continuación desarrollaremos este modelo para encontrar las expresiones que permitan calcular las fuerzas producidas por la luz.

2.3.1 Cálculo de las fuerzas ópticas

Para encontrar las expresiones que permitan calcular la fuerza gradiente y de dispersión, consideremos primeramente un rayo de potencia P , incidiendo sobre una esfera dieléctrica. El momento asociado al rayo es transportado por fotones, cada uno de los cuales tiene un momento dado por [de la Peña, 1991]:

$$p = \frac{E}{v} \quad (2.5)$$

donde E es la energía del fotón y v es la velocidad de la luz en el medio. La potencia del rayo es la energía por unidad de tiempo que transporta. De esta manera, si la cantidad de fotones por unidad de tiempo que pasan por un punto del rayo es N , la potencia del rayo es $P = NE$. Asimismo, el flujo de momento por unidad de tiempo asociado al rayo es $\frac{dp}{dt} = Np$. Usando estas dos expresiones junto con la ecuación (2.5), el flujo de momento asociado al rayo se puede escribir como:

$$\frac{dp}{dt} = \frac{1}{v}P \quad (2.6)$$

Considerando que la velocidad de la luz v en un medio con índice de refracción n_1 está dada por $v = \frac{c}{n_1}$, la ecuación anterior puede escribirse como:

$$\frac{dp}{dt} = \frac{n_1 P}{c} \quad (2.7)$$

$\frac{dp}{dt}$ es el flujo de momento asociado al rayo debido a los fotones que lo conforman. Dicho momento puede ser transferido al interaccionar la luz con alguna superficie, lo cual, por la segunda ley de Newton se traduce en una fuerza aplicada sobre la superficie. De esta forma, según la ecuación (2.7), la magnitud de la fuerza máxima que un rayo de potencia P puede transferir a un objeto es:

$$F = \frac{n_1 P}{c} \quad (2.8)$$

En general, transferir la totalidad de esta fuerza implica una absorción total de la luz por la superficie que la recibe, lo cual no es considerado en este modelo. Por lo tanto, la fuerza óptica que un rayo de luz podrá aplicar a una superficie será siempre una fracción de $\frac{n_1 P}{c}$.

Para encontrar la expresión de las fuerzas generadas por el rayo que incide sobre una esfera dieléctrica (figura 2.1), analizaremos las reflexiones y refracciones que sufre al encontrar sucesivamente la superficie de la esfera, para determinar el cambio de momento total experimentado por la luz por unidad de tiempo $\frac{dp_{luz}}{dt}$. Dada la ley de conservación del momento, la esfera experimentará un cambio de momento por unidad de tiempo igual pero en dirección contraria $\frac{dp_{esf}}{dt} = -\frac{dp_{luz}}{dt}$, lo cual, por la segunda ley de Newton, se traduce como una fuerza sobre la esfera. Dado que el flujo de momento es proporcional a la potencia del rayo [ecuación (2.7)], en lo subsiguiente haremos nuestro

análisis en términos de potencia y utilizaremos el equivalente de la ecuación (2.8) para expresar la fuerza.

En la figura 2.1 podemos observar que al llegar el rayo de potencia P con un ángulo θ respecto a la normal en el punto de incidencia, una parte de la luz es reflejada y otra es refractada. Los rayos refractado y reflejado transportan una fracción de la potencia original del rayo. La potencia transmitida está dada por PT y la reflejada por PR , donde T y R son la transmitancia y reflectancia de Fresnel respectivamente. Estos coeficientes dependen del estado de polarización del rayo y están dados por [Hetch, 2002].

$$R_{\perp} = \frac{\tan^2(\theta - r)}{\tan^2(\theta + r)} \quad R_{\parallel} = \frac{\sin^2(\theta - r)}{\sin^2(\theta + r)} \quad (2.9)$$

$$T_{\perp} = \frac{n_2 \cos r}{n_1 \cos \theta} \frac{2 \sin r \cos \theta}{\sin(\theta + r)} ; \quad T_{\parallel} = \frac{n_2 \cos r}{n_1 \cos \theta} \frac{2 \sin r \cos \theta}{\sin(\theta + r) \cos(\theta - r)} \quad (2.10)$$

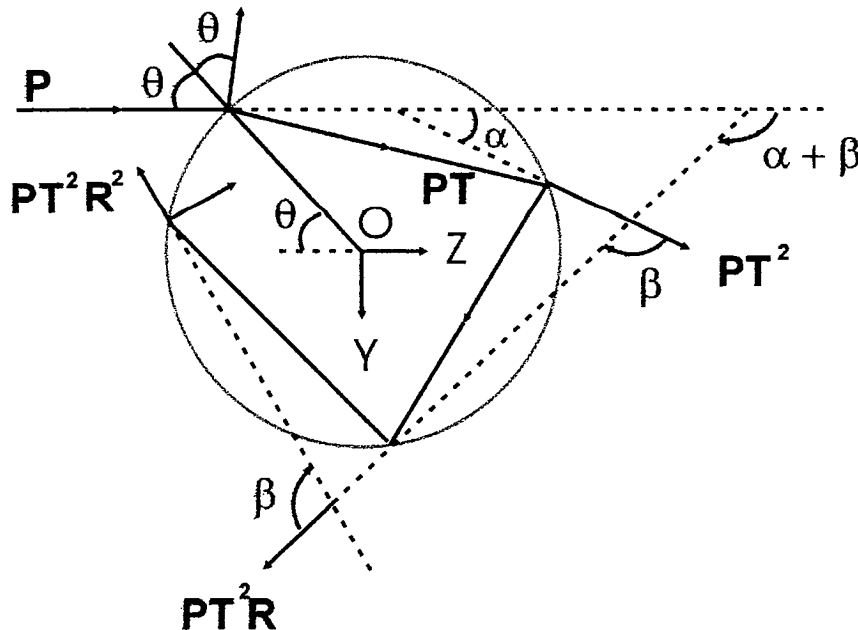


Figura 2.1 Geometría utilizada para el cálculo de las fuerzas generadas por un rayo de potencia P que incide sobre una esfera dieléctrica. T y R son la transmitancia y reflectancia de Fresnel [Ashkin, 1992].

Como apreciamos en la figura 2.1, el rayo transmitido dentro de la esfera vuelve a encontrar la superficie de esta, y de nueva cuenta una parte de la luz se refracta al salir y otra se refleja al interior de la esfera. De nuevo los haces pierden algo de potencia. La potencia del rayo que sale de la esfera es $P T^2$, mientras que la del rayo reflejado es $P T R$. Si se repite este proceso, vemos que existe un número infinito de rayos reflejados y refractados, con potencias decrecientes.

Para calcular la fuerza total ejercida por la luz sobre la esfera, necesitamos considerar el cambio total del momento de la luz por unidad de tiempo $\frac{d\vec{p}_{\text{luz}}}{dt}$. Este cambio total es el momento transportado por los rayos que salen de la esfera más el momento transportado por el primer rayo reflejado menos el momento transportado por el rayo incidente (todos ellos por unidad de tiempo): $\frac{d\vec{p}_{\text{luz}}}{dt} = \frac{n_1 \vec{P}_r}{c} + \frac{n_1 \vec{P}_1}{c} + \frac{n_1 \vec{P}_2}{c} + \frac{n_1 \vec{P}_3}{c} + \dots \frac{n_1 \vec{P}_i}{c} + -\frac{n_1 \vec{P}}{c}$, donde hemos usado la ecuación (2.7). En esta expresión \vec{P}_r es la potencia del primer haz reflejado y \vec{P}_i es la potencia del i-ésimo haz que sale de la esfera. La notación vectorial obedece al hecho de que, dado que el momento y la fuerza son vectores, debe considerarse la dirección de cada rayo.

Así, haciendo un análisis basado en la figura 2.1 y considerando el ángulo que forman los rayos emergentes con el rayo incidente (positivo en la dirección de la manecillas del reloj) podemos descomponer las contribuciones al momento inicial y final (por unidad de tiempo) de cada rayo a lo largo de los ejes z y y de la figura [Ashkin, 1992]. A continuación mostraremos como aparecen los primeros términos de la fuerza en dirección \hat{z} . Debe entenderse que cada contribución al momento que escribamos es por unidad de tiempo aunque no se diga explícitamente (ecuación 2.7). Las componentes z de los momentos de los primeros rayos a considerar son: rayo incidente: $\frac{n_1 P}{c}$; primer rayo reflejado: $\frac{n_1 P}{c} R \cos(\pi + 2\theta)$; primer rayo emergente después de atravesar la esfera: $\frac{n_1 P}{c} T^2 \cos(\alpha)$; segundo rayo emergente: $\frac{n_1 P}{c} T^2 R \cos(\alpha + \beta)$; tercer rayo emergente: $\frac{n_1 P}{c} T^2 R^2 \cos(\alpha + 2\beta)$; i-ésimo rayo emergente: $\frac{n_1 P}{c} T^2 R^{i-1} \cos[\alpha + (i-1)\beta]$.

De esta manera, al considerar el cambio de momento de la luz (por unidad de tiempo) en la dirección \hat{z} y recordando que por conservación del momento el cambio de momento en la partícula ocurre en dirección contraria al de la luz, obtenemos la expresión para la fuerza en esta dirección [Ashkin, 1992]:

$$\vec{\mathbf{F}}_d = \frac{n_1 P}{c} \left\{ 1 - \left[R \cos(\pi + 2\theta) + \sum_{n=0}^{\infty} T^2 R^n \cos(\alpha + n\beta) \right] \right\} \hat{z} \quad (2.11)$$

Si el análisis se hace en la dirección perpendicular \hat{y} , se obtiene la siguiente expresión:

$$\vec{\mathbf{F}}_g = \frac{n_1 P}{c} \left[R \sin(\pi + 2\theta) + \sum_{n=0}^{\infty} T^2 R^n \sin(\alpha + n\beta) \right] \hat{y} \quad (2.12)$$

donde \hat{z} y \hat{y} son vectores unitarios y ortogonales entre sí.

Las expresiones anteriores toman en consideración todos los términos que contribuyen a las fuerzas en las direcciones \hat{y} y \hat{z} . Por otra parte, es conveniente redefinir las fuerzas de dispersión y gradiente, de tal manera que concuerden con las fuerzas calculadas [Ashkin, 1992]. Por ello los subíndices de las ecuaciones (2.11) y (2.12). Así, para un haz de luz (compuesto por un infinito de rayos) con forma y distribución de intensidades cualquiera, las fuerzas de dispersión y gradiente son las sumas vectoriales de las contribuciones de cada rayo calculadas según (2.11) y (2.12).

Para simplificar las ecuaciones (2.11) y (2.12) tomamos su suma vectorial para expresar la fuerza total producida por un solo rayo:

$$\vec{\mathbf{F}} = \frac{n_1 P}{c} \left\{ 1 - \left[R \cos(\pi + 2\theta) + \sum_{n=0}^{\infty} T^2 R^n \cos(\alpha + n\beta) \right] \right\} \hat{\mathbf{z}} + \frac{n_1 P}{c} \left[R \sin(\pi + 2\theta) + \sum_{n=0}^{\infty} T^2 R^n \sin(\alpha + n\beta) \right] \hat{\mathbf{y}} \quad (2.13)$$

Pasando a un plano complejo, donde la componente $\hat{\mathbf{z}}$ (F_d) sea la parte real y la componente $\hat{\mathbf{y}}$ (F_g) la parte imaginaria tenemos:

$$\vec{\mathbf{F}} = \frac{n_1 P}{c} (1 + R \cos 2\theta + iR \sin 2\theta) - \frac{n_1 P}{c} T^2 \sum_{n=0}^{\infty} R^n [\cos(\alpha + n\beta) + i \sin(\alpha + n\beta)] \quad (2.14)$$

haciendo uso de la identidad $e^{ix} = \cos x + i \sin x$, entonces la ecuación anterior queda:

$$F = \frac{n_1 P}{c} [1 + R e^{i(2\theta)}] - \frac{n_1 P}{c} T^2 \sum_{n=0}^{\infty} R^n e^{i(\alpha + n\beta)} \quad (2.15)$$

Ahora, la sumatoria $\sum_{n=0}^{\infty} R^n e^{in\beta}$ es una serie geométrica cuyo valor es $\frac{1}{1 - R e^{i\beta}}$, y por lo tanto la ecuación anterior se puede escribir como:

$$F = \frac{n_1 P}{c} [1 + R e^{i(2\theta)}] - \frac{n_1 P}{c} T^2 e^{i\alpha} \left(\frac{1}{1 - R e^{i\beta}} \right) \quad (2.16)$$

Expresando las exponenciales como senos y cosenos tenemos:

$$F = \frac{n_1 P}{c} (1 + R \cos 2\theta + iR \sin 2\theta) - \frac{n_1 P}{c} T^2 \left[\frac{\cos \alpha + i \sin \alpha}{1 - R(\cos \beta + i \sin \beta)} \right] \quad (2.17)$$

y reagrupando los terminos reales y complejos en el numerador:

$$\vec{\mathbf{F}} = \frac{n_1 P}{c} \left[1 + R \cos 2\theta - T^2 \left(\frac{\cos \alpha}{1 - R \cos \beta - i R \sin \beta} \right) \right] + i \frac{n_1 P}{c} \left[R \sin 2\theta - T^2 \left(\frac{\sin \alpha}{1 - R \cos \beta - i R \sin \beta} \right) \right] \quad (2.18)$$

Por otra parte, puede demostrarse geoméricamente que $\alpha = (2\theta - 2r)$ y $\beta = (\pi - 2r)$, siendo θ y r los ángulos de incidencia y refracción respectivamente. Con estos valores, la ecuación anterior se escribe:

$$F = \frac{n_1 P}{c} \left\{ \left[1 + R \cos 2\theta - T^2 \left(\frac{\cos(2\theta - 2r) + R \cos 2\theta}{1 + R^2 + 2R \cos 2r} \right) \right] + i \left[R \sin 2\theta - T^2 \left(\frac{\sin(2\theta - 2r) + R \sin 2\theta}{1 + R^2 + 2R \cos 2r} \right) \right] \right\} \quad (2.19)$$

Recordando que al pasar al plano complejo definimos a F_d y F_g como la parte real e imaginaria de la fuerza respectivamente, entonces de la ecuación anterior tenemos que estas fuerzas pueden expresarse como:

$$\vec{\mathbf{F}}_d = \frac{n_1 P}{c} \left[1 + R \cos 2\theta - T^2 \left(\frac{\cos(2\theta - 2r) + R \cos 2\theta}{1 + R^2 + 2R \cos 2r} \right) \right] \hat{\mathbf{z}} \quad (2.20)$$

y

$$\vec{\mathbf{F}}_g = \frac{n_1 P}{c} \left[R \sin 2\theta - T^2 \left(\frac{\sin(2\theta - 2r) + R \sin 2\theta}{1 + R^2 + 2R \cos 2r} \right) \right] \hat{\mathbf{y}} \quad (2.21)$$

Las cuales son expresiones que permiten calcular las fuerzas de dispersión y gradiente de manera simple en términos de los ángulos de incidencia θ y de refracción r del rayo original. Tales expresiones dependen implícitamente de la polarización del rayo puesto que los coeficientes de Fresnel R y T son diferentes para rayos polarizados perpendicular o paralelamente al plano de incidencia. Además, es posible demostrar que F_g es conservativa puesto que se puede expresar solamente como una función de la posición del centro de la esfera respecto al rayo incidente [Ashkin, 1992]. No es el mismo caso para F_d [Ashkin, 1996]. A continuación analizaremos estas fuerzas en

términos del denominado factor de atrapamiento.

2.3.2 Factor de atrapamiento

Dado que el momento, y por lo tanto la fuerza, total que puede transferir el rayo incidente de la figura 2.1 es $\frac{n_1 P}{c}$ [ecuación (2.7)], vemos que en las ecuaciones (2.20) y (2.21) los términos entre corchetes representan la fracción de momento transferido por el rayo a la partícula en las direcciones \hat{z} y \hat{y} respectivamente. Definimos estas fracciones como los factores de atrapamiento Q_d y Q_g :

$$Q_d = 1 + R \cos 2\theta - T^2 \left(\frac{\cos(2\theta - 2r) + R \cos 2\theta}{1 + R^2 + 2R \cos 2r} \right) \quad (2.22)$$

y

$$Q_g = R \sin 2\theta - T^2 \left(\frac{\sin(2\theta - 2r) + R \sin 2\theta}{1 + R^2 + 2R \cos 2r} \right) \quad (2.23)$$

Notemos que Q_d y Q_g son parámetros adimensionales que expresan la eficiencia en la transferencia de momento del haz original hacia la esfera en las direcciones \hat{z} y \hat{y} . Así, la fuerza total ejercida por un rayo se puede expresar como:

$$\vec{F} = \frac{n_1 P}{c} (Q_d \hat{z} + Q_g \hat{y}) \quad (2.24)$$

siendo su magnitud:

$$F = \frac{n_1 P}{c} Q \quad (2.25)$$

donde $Q = \sqrt{Q_d^2 + Q_g^2}$ es el factor de atrapamiento total.

Vemos entonces que la fuerza ejercida por un rayo sobre una esfera dieléctrica depende de tres parámetros n_1 , P o Q , de los cuales el más fácilmente modificable es el factor de atrapamiento Q , teniendo una dependencia del ángulo de incidencia θ , así como

del índice de refracción de la esfera y de la polarización del rayo incidente, dependencia implícita en los coeficientes de Fresnel T y R definidos en las ecuaciones (2.9) y (2.10). El índice de refracción n_1 es difícil de variar, puesto que en la mayoría de los casos de interés los objetos que se desean atrapar pueden sumergirse solamente en soluciones acuosas. Por otra parte, la variación en la potencia del láser P está limitada debido al riesgo que se corre de dañar térmicamente a las muestras por absorción. En suma, el factor de atrapamiento Q caracteriza a la fuerza de atrapamiento y por ello recibe una gran atención en la literatura. A continuación, presentaremos cálculos que muestran la variación de Q en términos de variables de interés experimental.

Mediante un programa de computadora (apéndice c) calculamos la variación de los factores de atrapamiento Q_g , de dispersión y total en función del ángulo de incidencia θ para rayos polarizados perpendicular y paralelo al plano de incidencia. Los cálculos se hicieron en base a las ecuaciones (2.22) y (2.23) considerando los coeficientes de Fresnel R y T adecuados a la polarización del rayo. Los resultados se muestran en las figuras 2.2 (polarización paralela) y 2.3 (polarización perpendicular), donde se muestran los valores absolutos de los factores de atrapamiento. En las figuras 2.2 y 2.3 podemos apreciar que los máximos de Q_d y Q_g no ocurren para el mismo ángulo. Esto es importante pues permite determinar condiciones experimentales donde el atrapamiento debido a la fuerza gradiente domine sobre el efecto de la fuerza de dispersión, la cual, como hemos dicho al final de la sección 1.3, tiende a empujar a la partícula atrapada en la dirección de propagación de la luz incidente. Tomando en cuenta esto, de los resultados podemos concluir que para el caso considerado el atrapamiento ocurrirá para ángulos de incidencia $\theta \leq 72^\circ$. El valor exacto depende del tipo de polarización del rayo incidente.

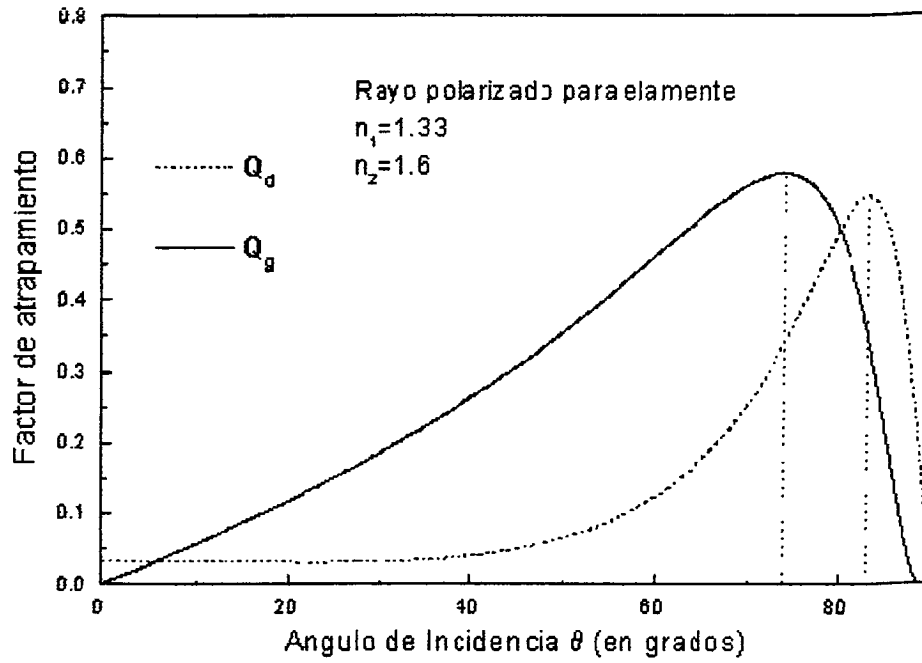


Figura 2.2 Comparación de los factores de atrapamiento Q_d (línea punteada), Q_g (línea continua) para un rayo de polarización paralela al plano de incidencia.

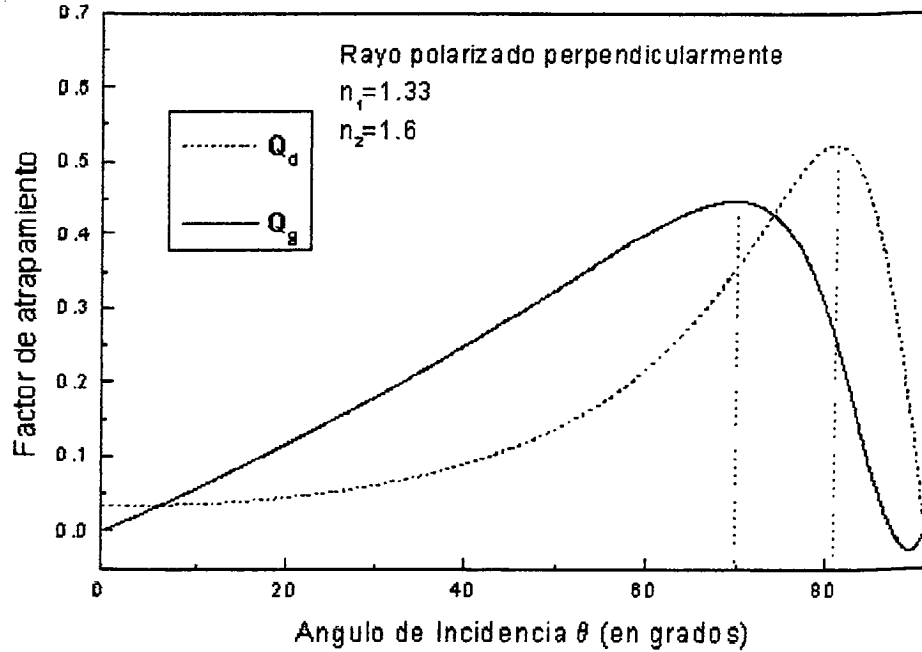


Figura 2.3 Comparación de los factores de atrapamiento Q_d (línea punteada), Q_g (línea continua) para un rayo de polarización perpendicular al plano de incidencia.

En las mismas gráficas podemos observar que para los dos tipos de polarización

Q_{dmax} ocurre aproximadamente en el mismo ángulo de incidencia $\theta \sim 80^\circ$ y su valor muy semejante ~ 0.53 . De la misma manera, el ángulo de incidencia en el cual ocurre Q_{gmax} es $\theta \sim 72^\circ$ para ambas polarizaciones. Sin embargo, el valor de Q_{gmax} varía notoriamente, siendo mayor para la polarización paralela que para la perpendicular. En la tabla 2.1 se muestran los valores máximos de Q_d y Q_g para cada polarización, además del ángulo de incidencia en el que ocurren.

Tabla 2.1 Valores máximos de Q_d , Q_g y ángulo en el que ocurren, en función de la polarización del rayo incidente.

	<i>Max.</i>	θ_{max}
$Q_{d\parallel}$	0.54	83°
$Q_{g\parallel}$	0.58	74°
$Q_{d\perp}$	0.52	80°
$Q_{g\perp}$	0.44	70°

Si consideramos ahora un rayo polarizado circularmente, entonces el factor de atrapamiento gradiente y de dispersión se puede expresar como el promedio de los factores para polarización paralela y perpendicular [Ashkin, 1992]:

$$Q_{cg} = \frac{Q_{g\parallel} + Q_{g\perp}}{2} \quad (2.26)$$

$$Q_{cd} = \frac{Q_{d\parallel} + Q_{d\perp}}{2} \quad (2.27)$$

Utilizando las ecuaciones 2.20 y 2.21, obtenemos numéricamente la gráfica mostrada en la figura 2.4 donde se grafican de nueva cuenta los valores absolutos de los factores de atrapamiento.

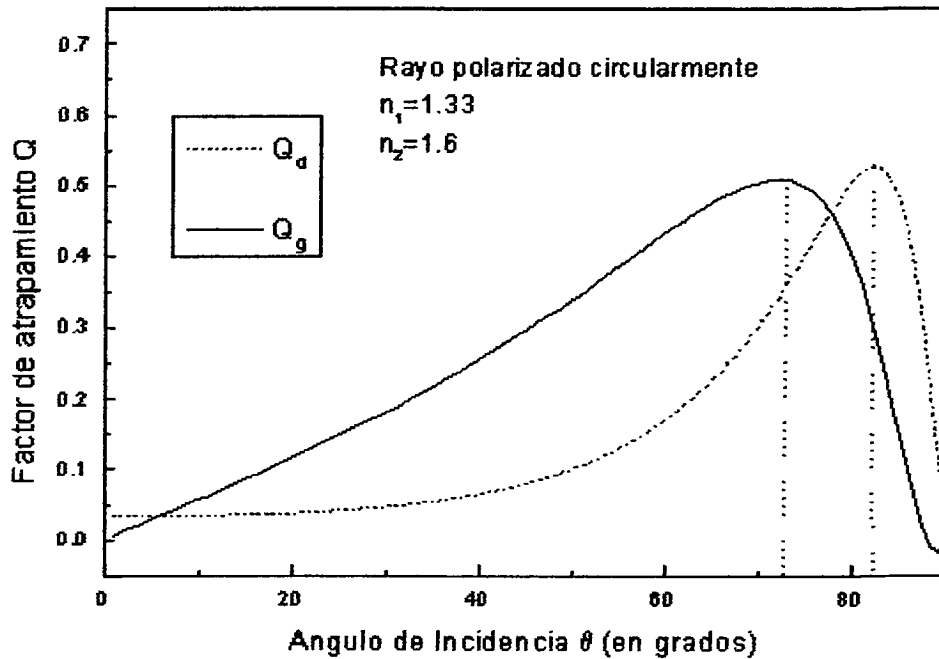


Figura 2.4 Comparación de los factores de atrapamiento Q_d (línea punteada), Q_g (línea continua) para un rayo de polarización perpendicular al plano de incidencia.

De nueva cuenta podemos observar que los valores máximos de Q_d y Q_g no ocurren para el mismo ángulo de incidencia: 71° para el factor de atrapamiento de la fuerza gradiente y 82° para el factor de atrapamiento de la fuerza de dispersión. Esto sugiere que se tendrá un buen atrapamiento para ángulos de incidencia $\theta \leq 71^\circ$. En cuanto a los valores de los factores de atrapamiento, se tiene que $Q_{d\max} \approx 0.50$ y $Q_{g\max} \approx 0.52$.

Por otro lado, en la figura 2.5 se muestra la variación de los factores de atrapamiento en términos del índice de refracción de la esfera atrapada para un rayo polarizado circularmente. Las línea continua representa el valor máximo del factor de atrapamiento gradiente $Q_{g\max}$. Para efectos de comparación, también se muestra el valor de Q_d calculado para el ángulo en el que ocurre el máximo de Q_g (línea discontinua). Se puede ver que $Q_{g\max}$ es mayor que Q_d para índices de refracción menores que 2.2. Dado que, como vimos en la sección 1.3, la condición necesaria para que exista un buen atrapamiento es $Q_{g\max} > Q_d$, esferas con $n_2 < 2$ se pueden atrapar fácilmente, debido a

que se cumple esta condición. Sin embargo, para esferas con $n_2 > 2.2$ el atrapamiento no existe ya que $Q_{g\max} < Q_d$.

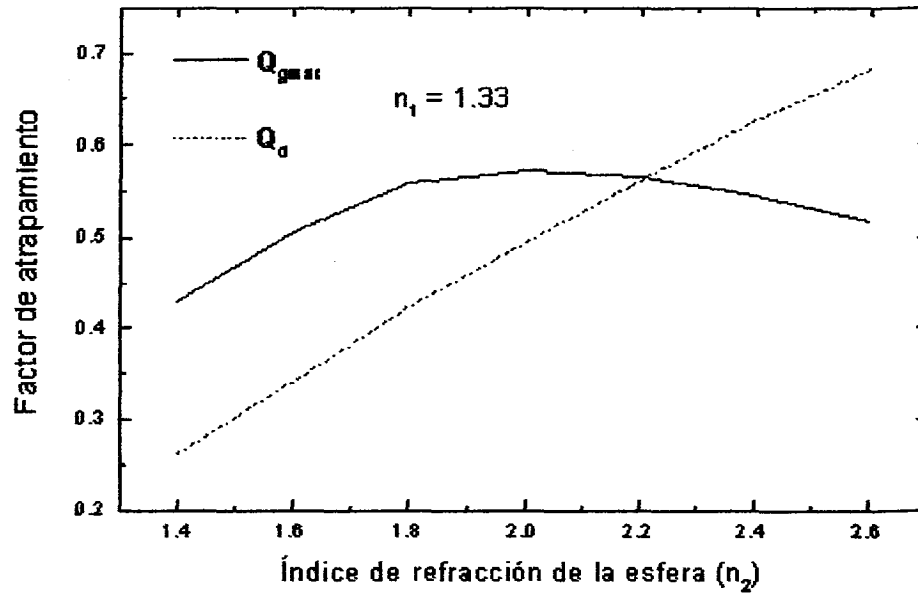


Figura 2.5 Variación de $Q_{g\max}$ (línea continua) y Q_d (línea punteada), respecto al índice de refracción de la esfera n_2 .

Por otra parte, en la región donde $Q_{g\max} > Q_d$, el ángulo varía entre $61^\circ < \theta < 79^\circ$, es decir, para tener las mejores condiciones de atrapamiento, el ángulo de incidencia debe ser relativamente alto. Esto significa que el ángulo de convergencia del haz incidente debe ser lo más grande posible (figura 2.6), lo cual se traduce experimentalmente en la necesidad de utilizar microscopios con objetivos de apertura numérica alta.

La apertura numérica (AN) de un microscopio nos proporciona el máximo ángulo de convergencia de la luz ϕ_{\max} :

$$AN = n_1 \sin \phi_{\max} \quad (2.28)$$

donde n_1 es el índice de refracción del medio en el que está inmersa la lente del objetivo.

Usando los valores del ángulo de atrapamiento en que $Q_{g\max} > Q_d$, es decir

$61^\circ < \theta < 79^\circ$, y la ecuación (2.28) tenemos que se requiere una abertura numérica entre 1.15 y 1.3 para garantizar el atrapamiento de una partícula, suponiendo que el objetivo está inmerso en agua. En la práctica, objetivos con esta abertura numérica se obtienen cuando el medio de inmersión es aceite. De lo anterior podemos deducir también, que los rayos que están en las orillas del haz contribuyen más a la fuerza de atrapamiento, ya que estos son los que tienen mayor ángulo de convergencia y por lo tanto mayor ángulo de incidencia, entonces otra condición para un atrapamiento óptimo, es que el haz que entra en el objetivo del microscopio tenga el mismo ancho que el de la lente del objetivo. Es decir llene por completo la entrada del objetivo.

Hasta aquí, hemos obtenido y analizado las expresiones para la fuerza gradiente y de dispersión, sin considerar la posición de la esfera respecto al punto focal. Este problema será abordado en la siguiente sección, en particular para el caso en que el centro de la esfera esté en el eje óptico por arriba o por debajo del punto focal.

2.4 Atrapamiento con el centro de la esfera sobre el eje óptico

Consideremos que un haz de luz incide sobre un objetivo de microscopio a lo largo del eje óptico (eje z) como se muestra en la figura 2.6 donde está dibujado solamente un rayo del haz. Supongamos además que el centro de la esfera dieléctrica que se desea atrapar está situado sobre el eje óptico a una distancia S del punto focal.

Para calcular las fuerzas de atrapamiento, o equivalentemente los factores de atrapamiento asociados, notemos que por simetría la componente y de la fuerza debida a cualquier rayo será anulada por la debida a otro rayo situado simétricamente respecto al eje óptico. Por lo tanto, la fuerza total sobre la esfera es axial (a lo largo del eje óptico). Además, dado que F_g apunta en la dirección del gradiente de intensidad, la fuerza total siempre apuntará hacia el punto focal cuando $F_g > F_d$, es decir, cuando $Q_g > Q_d$.

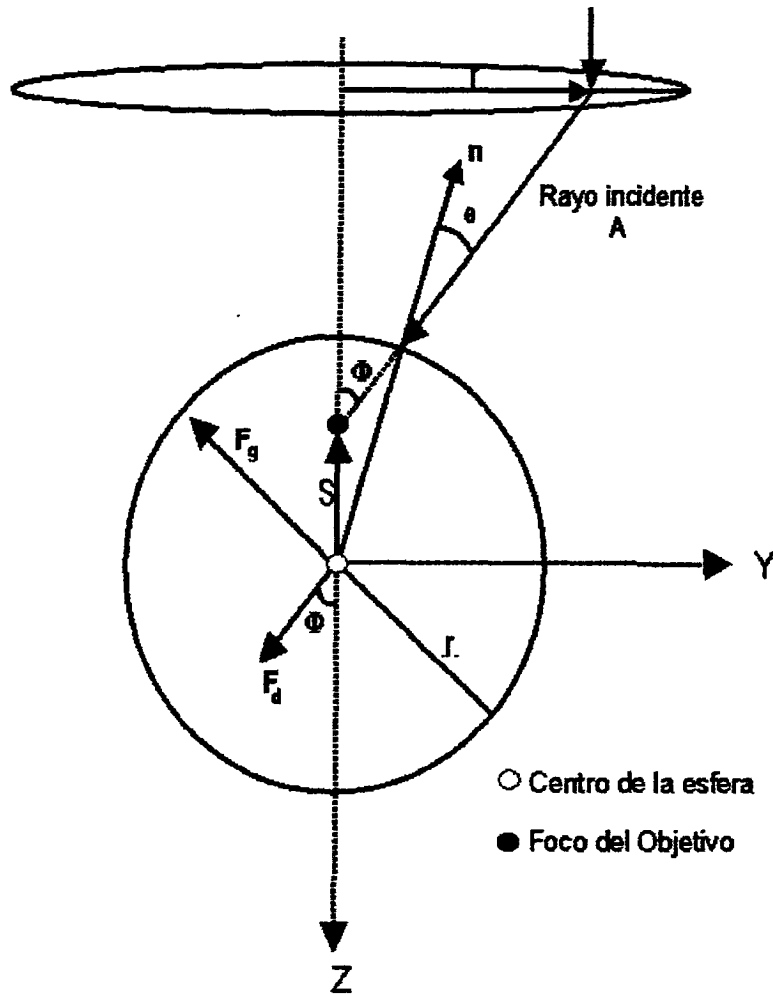


Figura 2.6 Geometría utilizada para calcular la fuerza de atrapamiento cuando el centro de la esfera está sobre el eje óptico

De esta manera, dado que la fuerza de dispersión tiene la misma dirección que el rayo incidente, mientras la fuerza gradiente es perpendicular a él (sección 2.3.1), cuando el centro de la esfera está por arriba del punto focal la contribución del rayo considerado a la fuerza es:

$$F_{dz} = F_d \cos \phi \quad (2.29)$$

$$F_{gz} = -F_g \sin \phi \quad (2.30)$$

Mientras que cuando el centro de la esfera esta por debajo del punto focal tenemos:

$$F_{dz} = F_d \cos \phi \quad (2.31)$$

$$F_{gz} = F_g \sin \phi \quad (2.32)$$

En las ecuaciones anteriores, ϕ es el ángulo de convergencia de la luz que sale del objetivo (figura 2.6), el cual se puede demostrar geoméricamente que está relacionado con el ángulo de incidencia θ :

$$R \sin \theta = S \sin \phi \quad (2.33)$$

donde R el radio de la esfera y S la distancia entre el foco y el centro de la esfera.

La dependencia de las fuerzas F_g , F_d y F (fuerza total) en términos de la posición del centro de la esfera respecto al punto focal S , se puede calcular mediante los factores de atrapamiento definidos en la sección 2.3.2, donde se trabajó con un rayo individual. Para extender el cálculo a un haz real, formado por una colección infinita de rayos, se debe integrar para sumar todas las contribuciones individuales. En la figura 2.7 se muestra la variación de Q_d , Q_g y Q con respecto de S calculada según este principio [Ashkin, 1992]. Se puede observar que los máximos para las fuerzas es alcanzado para $S \sim \pm 1$, este comportamiento se debe a la dependencia del ángulo de incidencia θ respecto a S .

Así mismo, podemos ver que Q_d siempre es positiva y simétrica respecto al punto focal, lo que nos indica que la fuerza de dispersión siempre empuja a la partícula en la dirección de propagación de la luz (dirección positiva de z). Por otra parte, podemos ver que Q_g es antisimétrica, siendo positiva cuando $S < 0$ (centro de la partícula por arriba del foco), y negativa cuando $S > 0$ (centro de la partícula debajo del foco). Este comportamiento nos indica que la fuerza gradiente F_g siempre lleva a la partícula hacia el punto focal.

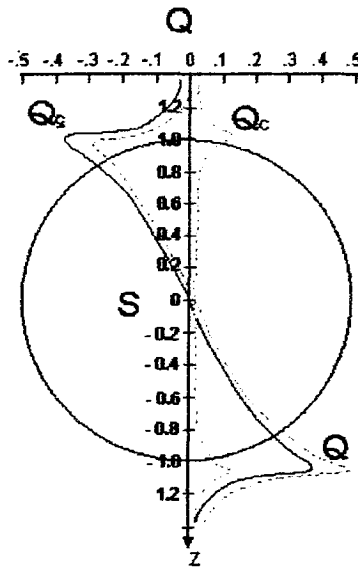


Figura 2.7 Valores de los factores de atrapamiento para un haz en función de la posición del centro de la esfera S . Se puede observar Q_g y Q_c son antisimétricas, mientras que Q_d es simétrica [Ashkin, 1996].

Este mismo comportamiento se presenta independientemente de la posición del centro de la esfera con respecto al punto focal [Ashkin, 1992]. Los resultados obtenidos mediante este modelo para el factor de atrapamiento total [Ashkin, 1992], son muy próximos a los obtenidos experimentalmente para esferas cuyo tamaño es mucho mayor al de la longitud de onda del láser [Grange, 2002].

De esta manera, podemos decir que la esfera se encuentra sujeta a un potencial de atrapamiento. Este hecho es utilizado para calibrar los montajes experimentales de pinzas ópticas: dado que la partícula se encuentra en un mínimo de potencial, este se puede aproximar por el de un oscilador armónico, al menos para desplazamientos pequeños de la esfera respecto al punto de equilibrio. Por lo tanto, la fuerza que actúa sobre la esfera es proporcional al desplazamiento respecto a su posición de equilibrio, $F = -kx$, comportamiento apreciable en la figura 2.7. Los métodos de calibración experimentales buscan encontrar precisamente el parámetro k también llamado rigidez de la trampa.

Conclusiones

En este capítulo hemos visto las expresiones para calcular las fuerzas de atrapamiento producidas por unas pinzas ópticas, modelando la luz de dos maneras diferentes. En particular, se desarrolló con cierto detalle el modelo de la óptica geométrica para calcular la fuerza de atrapamiento sobre partículas esféricas. Así mismo, vimos que es posible caracterizar las fuerzas mediante el factor de atrapamiento, el cual depende del índice de refracción del objeto atrapado, del ángulo de incidencia, así como de la polarización de la luz. Según los cálculos podemos afirmar que para esferas sumergidas en agua, un buen atrapamiento se obtiene cuando el índice de refracción de las mismas es $n_2 < 2$ y cuando el ángulo de incidencia es $\theta \simeq 70^\circ$.

Una vez visto como se calculan las fuerzas de atrapamiento, en el capítulo siguiente veremos algunos métodos de calibración de los montajes experimentales de pinzas ópticas.

3 Técnicas Calibración

La confiabilidad de los resultados obtenidos al hacer uso de las pinzas ópticas, depende de la reproducibilidad de los mismos, así como de la capacidad del montaje experimental para realizar mediciones precisas. Es por ello que la calibración de unas pinzas ópticas es un paso importante antes de comenzar el trabajo con ellas. Debido a que no se cuenta con un instrumento que pueda medir directamente las fuerzas, lo que se busca al calibrar un montaje de pinzas ópticas es obtener la fuerza de atrapamiento en función de algún parámetro del sistema que se pueda medir fácilmente. Normalmente este parámetro es la posición de la partícula atrapada. Puesto que las pinzas mantienen a la partícula en un mínimo de potencial, la relación fuerza-posición es lineal, al menos para pequeños desplazamientos alrededor del centro de la trampa.

En este capítulo veremos algunas de las diferentes técnicas de calibración reportadas en la literatura, así como la ventaja o desventaja que pudiera tener el utilizar alguna de ellas.

3.1 Parámetro de Calibración

Sobre una partícula atrapada por la luz en unas pinzas ópticas actúan, además de la fuerza atrapamiento, otras fuerzas debidas al medio en el que se encuentra la partícula, de manera que su ecuación de movimiento es:

$$m \frac{d^2 \vec{r}}{dt^2} = \vec{F}_{PO}(\vec{r}) + \vec{F}_{vis}(\vec{v}) + \vec{F}_A(t) \quad (3.1)$$

donde \vec{r} es la posición de la partícula (medida respecto al centro de la trampa, por ejemplo) y m es la masa de la partícula. El primer término del lado derecho representa la fuerza de atrapamiento, mientras que el segundo es la fuerza de fricción debida al medio viscoso que rodea al objeto atrapado (dependiente de su velocidad), y el tercer término es

la fuerza debida a las fluctuaciones térmicas aleatorias del solvente.

Como se dijo anteriormente, el objetivo de la calibración es determinar la fuerza de atrapamiento en función de otro parámetro, por ejemplo, en función de la posición del objeto atrapado respecto al foco. Como se mencionó en la sección 2.3, la partícula al estar atrapada se encuentra en un mínimo de potencial. Dado que cualquier potencial puede ser aproximado por el de un oscilador armónico al menos en la vecindad del mínimo, la fuerza de atrapamiento en esta aproximación es lineal con la posición:

$$F_{PO}(\vec{r}) = -k\vec{r} \quad (3.2)$$

ecuación que es válida para pequeñas oscilaciones de la partícula atrapada. El signo negativo obedece al hecho de que se trata de una fuerza restitutiva, es decir, que se opone al desplazamiento de la posición de equilibrio. De esta manera, vemos que para poder calibrar un montaje de pinzas ópticas, es necesario conocer el valor de k del sistema. Dicho parámetro se conoce como rigidez de la trampa ya que nos indica que tan fuerte o debil es la fuerza de atrapamiento para un desplazamiento dado. En las siguientes secciones, veremos cómo determinar el valor de k mediante diferentes métodos.

3.2 Método de la Fuerza de Fricción

En la mayoría de los casos de interés al atrapar una partícula, esta se encuentra inmersa en un medio viscoso, lo cual permite calibrar las pinzas ópticas haciendo uso de la ley de Stokes. Esta ley nos dice que, para números de Reynolds bajos, una esfera que se mueve a velocidad constante en un medio viscoso siente una fuerza de fricción proporcional a su velocidad [Reif, 1965]:

$$F_{vis}(\vec{v}) = -6\pi a\eta\vec{v} \quad (3.3)$$

Donde η es la viscosidad del medio, a es el radio de la esfera y \vec{v} es la velocidad relativa

de la partícula respecto al fluido. El signo negativo indica que la fuerza se opone al movimiento.

La ecuación (3.3) es válida solamente cuando la partícula se encuentra suficientemente lejos de paredes y/o obstáculos, de tal forma que el perfil de velocidades del fluido a su alrededor es uniforme. Para reducir los efectos de borde debidos al confinamiento, los experimentos se realizan de manera que los objetos atrapados se encuentren lo suficientemente alejados de las paredes, lo cual en la mayoría de los casos de interés práctico se traducen en distancias del orden de 20 a 30 μm . En estas condiciones, las correcciones debidas a los efectos de borde son menores de 2%. Si los objetos atrapados se encuentren cerca de las paredes la ecuación (3.3) debe ser modificada para tomar en cuenta el confinamiento. Existen diferentes modelos en la literatura que describen esta situación; uno de los más utilizados analiza la modificación a la ecuación (3.3) cuando la partícula considerada se encuentra cerca de una pared. En este caso se tiene:

$$F_{vis}(\vec{v}) = \frac{6\pi a \eta \vec{v}}{\left[1 - \frac{9}{16} \frac{a}{h} + \frac{9}{16} \left(\frac{a}{h}\right)^3 - \frac{45}{256} \left(\frac{a}{h}\right)^4 - \frac{1}{16} \left(\frac{a}{h}\right)^5 \right]} \quad (3.4)$$

donde h es la distancia entre el objeto y la pared [Svoboda, 1994].

Por otro lado, en la mayoría de las situaciones experimentales se trabaja en el régimen sobreamortiguado, es decir, el término viscoso predomina sobre el término inercial [lado izquierdo de la ecuación (3.1)]. De esta manera, es posible despreciar los términos inerciales y térmicos (este último es pequeño por tratarse de fluctuaciones debidas al solvente) en la ecuación (3.1), la cual se reduce entonces a:

$$\vec{F}_{PO}(\vec{r}) = -\vec{F}_{vis}(\vec{v}) \quad (3.5)$$

Esta expresión es la base del método de calibración que utiliza la fuerza de fricción: dado

que la fuerza viscosa es igual en magnitud a la fuerza de atrapamiento, podemos obtener esta última determinando $\vec{F}_{vis}(\vec{v})$ a partir de la velocidad con la que se mueve la esfera relativamente al fluido (parámetro fácil de controlar experimentalmente). Si esto se complementa con la determinación de la posición de la partícula atrapada respecto al centro de la trampa, es posible usar la ecuación 3.2 para encontrar la rigidez de la trampa k .

Para el proceso de calibración, algunos montajes experimentales hacen uso de un fotodetector, el cual determina la posición de la esfera recibiendo ya sea una imagen de la esfera atrapada, o la luz dispersada por la misma (que depende de la posición de la esfera) o el haz de atrapamiento (cuya desviación respecto a la dirección original es una indicación de la posición de la esfera) [Bartlett, 2002]. Un montaje típico de pinzas ópticas en el que se hace uso de un fotodiodo es mostrado en la figura 3.1, el fotodiodo recolecta la imagen o luz transmitida al pasar por la esfera atrapada.

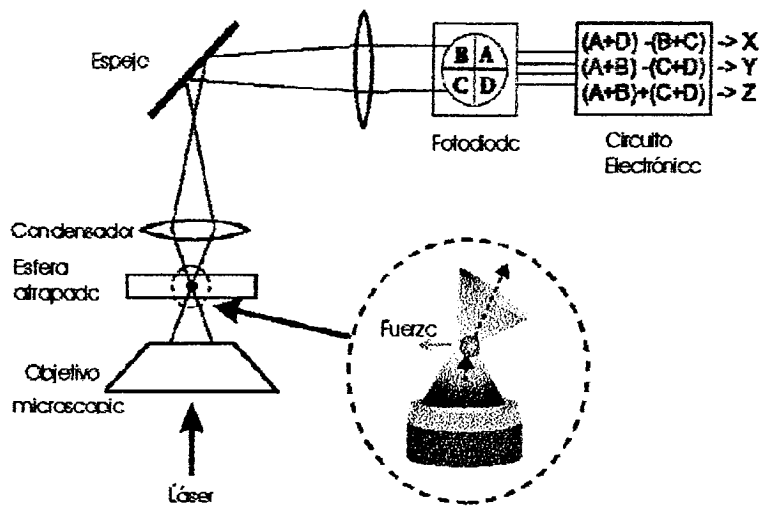


Figura 3.1 Montaje típico de pinzas ópticas donde se utiliza un fotodetector para determinar la posición de una esfera atrapada. El fotodetector recolecta la luz transmitida y el voltaje detectado se envía a un circuito electrónico que permite determinar la posición de la esfera. [Bartlett, 2002].

En este caso, el primer paso en la calibración consiste en determinar la respuesta del fotodetector (su voltaje de salida) en función de la posición de la esfera. Para ello, la

esfera a atrapar es adherida a un cubreobjetos de microscopio (lo cual se puede realizar por métodos químicos o simplemente dejando sedimentar una esfera de poliestireno, la cual se pega al substrato de vidrio). Enseguida se desplaza la platina del microscopio, (y por lo tanto la esfera), a velocidad constante y controlada, determinando el voltaje de salida en el fotodetector a medida que la esfera recorre la trampa de un lado a otro. De esta manera se obtiene la curva de respuesta del fotodetector en función de la posición de la esfera en la trampa. En una situación experimental típica [Capitiano, 2002] esta relación es lineal, al menos para desplazamientos pequeños, del orden de ± 250 nm (Fig. 3.2).

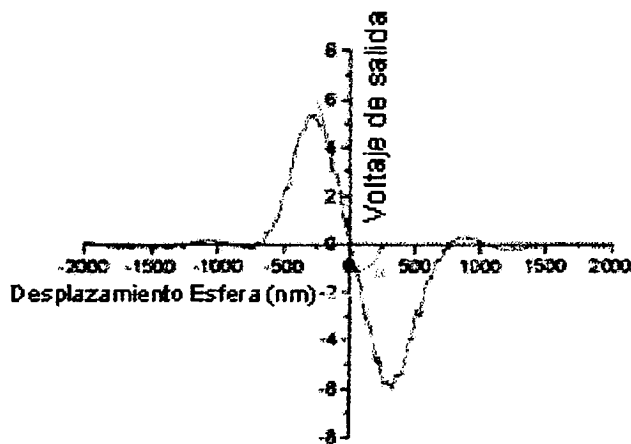


Figura 3.2 Gráfica de la posición del detector en función de la posición de la esfera. Se observa que en el intervalo ± 250 nm la respuesta es lineal [Capitiano, 2002].

Una vez que ha sido calibrado el detector, el segundo paso es determinar la fuerza de atrapamiento en función del desplazamiento de la esfera. Para ello, una esfera suspendida en el solvente es atrapada por las pinzas ópticas, y la platina del microscopio es movida a velocidad controlada (por simplicidad se considera movimiento en una dirección). De esta forma, se crea un flujo de solvente alrededor de la esfera provocando un desplazamiento de la misma en la trampa debido a la fuerza de arrastre viscoso (dicho desplazamiento se determina conociendo el voltaje de salida en el fotodiodo, como se

explicó en el párrafo precedente). Utilizando la ecuación (3.3) [o la ecuación (3.4) si se requiere tomar en cuenta los efectos de borde], se puede calcular la fuerza de fricción generada por el movimiento del solvente, lo cual permite, utilizando la ecuación 3.5, determinar la fuerza de atrapamiento de las pinzas ópticas. De esta manera, se tiene la fuerza de atrapamiento y el desplazamiento de la esfera para la velocidad de arrastre escogida. Variando esta última, se pueden determinar una curva de desplazamiento contra fuerza, como la que se muestra en la figura 3.3. Estos resultados fueron obtenidos para esferas de poliestireno de $1\mu m$ en una solución acuosa, con una potencia en el láser de $3 mW$ [Capitanio, 2002].

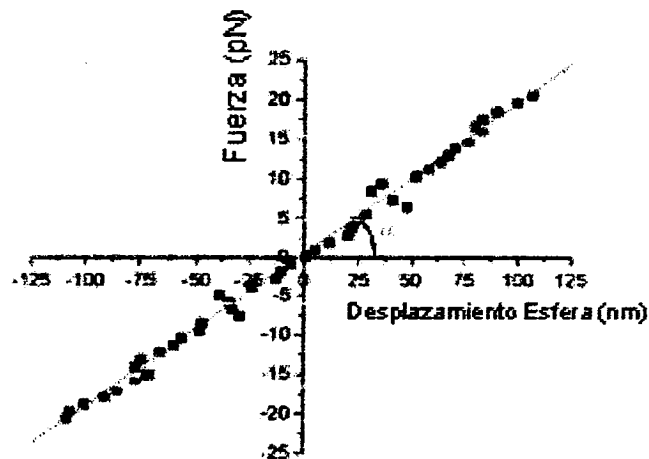


Figura 3.3 Grafica de la Fuerza aplicada por las PO en función del desplazamiento de la esfera. La pendiente proporciona la rigidez de la trampa [Capitanio, 2002].

Podemos observar que para desplazamientos pequeños ($120 \mu m$), la fuerza es proporcional al desplazamiento de la esfera, lo que confirma que la trampa coloca a la partícula en un mínimo de potencial, tal como se discutió en las secciones 2.3 y 3.1. Por último, para determinar la rigidez de la trampa k , se ajustan los datos experimentales a una línea recta, cuya pendiente es k [ecuación (3.2)]. Para el caso mostrado en la figura 3.3 el valor de k es $20 \pm 0.5 pN/\mu m$.

Un factor importante en la calibración, es la determinación de la dependencia de la

rigidez de la trampa k respecto a la potencia del laser P . La mayoría de los experimentos demuestra que el valor de k es proporcional P [Capitanio, 2002. Singer, 2000]. En la figura 3.4 se muestra la variación de k con respecto a la potencia del láser para un sistema experimental particular [Capitanio, 2002]; se puede observar que existe una relación lineal entre k y P .

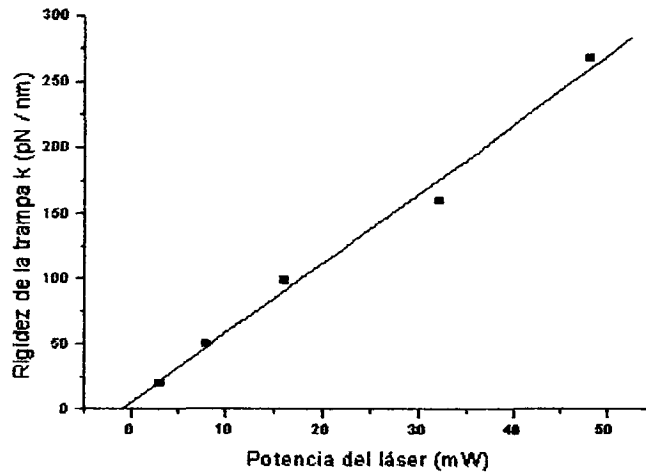


Figura 3.4 Variación de la rigidez de la trampa k en función de la potencia del laser. Se puede observar una dependencia lineal en la rigidez de la trampa respecto a la potencia del laser [Capitanio, 2000].

Una variante del método de calibración que utiliza la fuerza viscosa consiste en atrapar una esfera para después hacer oscilar la platina del microscopio con frecuencia y amplitud constantes. A diferencia del caso anterior, esto creará un flujo oscilante y en consecuencia un movimiento oscilatorio de la partícula. Esto permite obtener la rigidez de la trampa k midiendo la amplitud de oscilación de la esfera (determinada mediante un fotodetector como en la variante descrita al iniciar esta sección) en función de la frecuencia de oscilación de la platina del microscopio, como mostraremos a continuación [Williams, 2002].

En esta variante del método de calibración, la platina oscila con una frecuencia ω y su posición s puede ser descrita por una función sinusoidal:

$$s = s_0 \sin(\omega t) \quad (3.6)$$

Donde s_0 es la amplitud de oscilación de la platina. Entonces, la velocidad de la platina y, por consiguiente, la velocidad del líquido en el que está inmersa la esfera atrapada es:

$$v = s_0 \omega \cos(\omega t) \quad (3.7)$$

Recordando que la fuerza de arrastre viscoso es proporcional a la velocidad relativa del fluido respecto a la esfera suspendida [ecuación (3.3)], tenemos entonces que esta fuerza depende de la frecuencia de oscilación de la platina:

$$F_{vis} = 6\pi\eta r s_0 \omega \cos(\omega t) \quad (3.8)$$

Recordemos que, dado que se trabaja en el régimen sobreamortiguado, la magnitud de esta fuerza es igual a la magnitud de la fuerza de atrapamiento [ecuación (3.5)], por lo cual usaremos esta última expresión para la fuerza de atrapamiento.

Por otra parte, lo que nos interesa es obtener la fuerza de atrapamiento en función de la posición de la esfera en la trampa. Recordando que la fuerza de atrapamiento depende linealmente de la posición x de la esfera atrapada [ecuación 3.2)], la forma de la ecuación 3.8 sugiere que x es proporcional a $\omega \cos(\omega t)$ [Williams, 2002]:

$$x = A \omega \cos(\omega t) \quad (3.9)$$

$A\omega$ es la amplitud de la señal medida en el fotodiodo calibrado según lo descrito al inicio de esta sección. La figura 3.5 muestra la variación de dicha amplitud cuando es incrementada la frecuencia de oscilación para un sistema particular. Tal variación concuerda con la ecuación (3.9). Despejando $\omega \cos(\omega t)$ de esta ecuación y sustituyéndolo en la ecuación (3.8) tenemos que la magnitud de la fuerza de atrapamiento es:

$$F_{PO} = \frac{6\pi\eta r s_0}{A} x \quad (3.10)$$

expresión que proporciona la fuerza de atrapamiento en función de la posición de la

esfera. Según la ecuación (3.2), la rigidez de la trampa k es la constante de proporcionalidad en esta última ecuación: $k = \frac{6\pi\eta r s_0}{A}$. Así, para obtener el valor de k y, por tanto calibrar las pinzas ópticas, es necesario determinar A , suponiendo se conoce η , r y s_0 . Para ello, se realiza el experimento haciendo oscilar la platina a diferentes frecuencias de oscilación ω y se mide la correspondiente amplitud de oscilación de la señal de salida del fotodetector $A\omega$ [ecuación (3.9)]. Una gráfica de la amplitud $A\omega$ en función de la frecuencia ω es lineal; su ajuste permite calcular la pendiente A , la cual a su vez permite calcular la rigidez de la trampa k según hemos descrito.

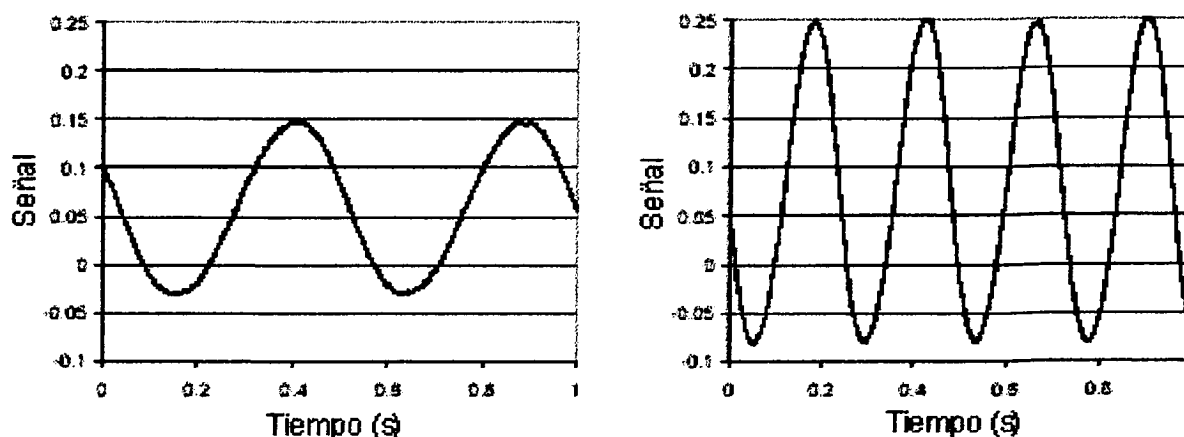


Figura 3.5 Variación de la amplitud de la señal del fotodiodo en función de la frecuencia de oscilación de la platina ω . En las gráficas se aprecia el incremento en la amplitud cuando la frecuencia aumenta. La relación entre ambas variables es lineal según lo expresa la ecuación (3.9) [Williams, 2002]

Con esto damos por concluida esta sección, donde hemos visto descrito como se puede utilizar la ley de Stokes para calibrar las pinzas ópticas. A continuación veremos otros métodos de calibración.

3.3 Método del espectro de potencia

En el método anterior hemos despreciado la fuerza aleatoria debida a la agitación térmica del solvente $\vec{F}_A(t)$. Esto es posible porque las fluctuaciones que esta fuerza ocasiona son pequeñas en comparación con los desplazamientos o velocidades impuestos al desplazar la platina del microscopio, en los cuales se basó lo descrito anteriormente.

De hecho, las fluctuaciones mencionadas se suman al ruido en resultados como el representando en la figura 3.3.

Sin embargo, aún cuando no exista movimiento de la platina del microscopio, es decir, aún cuando no haya flujo macroscópico de solvente, el movimiento Browniano debido a la agitación térmica ocasiona que las esferas atrapadas por las pinzas ópticas experimenten fluctuaciones en su posición alrededor de su punto de equilibrio. Estas fluctuaciones se deben a la fuerza de agitación térmica debida al solvente: $\vec{F}_A(t)$ en la ecuación (3.1). El análisis de dichas fluctuaciones puede aprovecharse para calibrar las pinzas ópticas, puesto que el movimiento browniano de una partícula coloidal depende del tipo de potencial al que esté sometido la partícula. En esta sección mostraremos de que manera esto es posible si se trabaja en el espacio de frecuencias de las fluctuaciones.

Como hemos dicho anteriormente, el término inercial de la ecuación de movimiento puede ser despreciado puesto que se trabaja en el régimen sobreamortiguado. Con esto, la ecuación de movimiento en una dimensión para una partícula esférica atrapada en las pinzas ópticas se escribe:

$$F_{vis}(v) + F_{PO}(x) + F_A(t) = -\gamma \frac{dx}{dt} - kx + F_A(t) = 0 \quad (3.11)$$

donde $\gamma = 6\pi\eta a$ es el coeficiente de fricción, a es el radio de la esfera y k es la rigidez de las pinzas ópticas.

Es conveniente convertir esta ecuación, donde la variable independiente es el tiempo, en una equivalente donde la variable independiente sea la frecuencia. Este procedimiento, usual en el tratamiento estadístico del movimiento Browniano [Reif, 1965], se realiza tomando la transformada de Fourier de la ecuación de movimiento (3.11), la cual se escribe entonces como:

$$2\pi\gamma\left(\frac{k}{2\pi\gamma} - if\right)X(f) = F(f) \quad (3.12)$$

donde $X(f)$ y $F(f)$ son las transformadas de Fourier de la posición y de la fuerza aleatoria, respectivamente, y f es la frecuencia (variable conjugada del tiempo que aparece en la transformada de Fourier).

Las transformadas de Fourier permiten expresar las variables originales en términos de sus "componentes" en frecuencia, por ejemplo, para la fuerza aleatoria debida al solvente tenemos:

$$F_A(t) = \int F(f)e^{-2\pi ft} df \quad (3.13)$$

Así, $F(f)$ es de la contribución de frecuencia f a la fuerza aleatoria $F_A(t)$. Es plausible suponer que ésta última tiene contribuciones iguales de cada frecuencia, es decir, que se trata de un ruido blanco. Esto se expresa en términos del denominado espectro de potencia o densidad espectral [Reif, 1965]:

$$| F(f) |^2 = 4\gamma k_B T \quad (3.14)$$

donde k_B es la constante de Boltzman y T es la temperatura. Vemos que el espectro de potencia de $F_A(t)$ es constante, lo cual refleja el hecho de que se trata de un ruido blanco.

Por otra parte, si bien la posición x de la partícula coloidal está influenciada por la fuerza aleatoria $F_A(t)$, la cual provoca sus fluctuaciones, el espectro de potencia de x , $| X(f) |^2$, es también afectado por el hecho de que la partícula está sometida al potencial armónico de las pinzas ópticas y a la fuerza viscosa debida al solvente. Esto hace suponer que dicho espectro de potencia no es constante. De hecho, se espera que $| X(f) |^2$ tenga contribuciones principalmente de bajas frecuencias debido al sobreamortiguamiento viscoso. Esto se demuestra tomando el módulo de la ecuación (3.12), introduciendo el resultado en la ecuación (3.14) y despejando:

$$| X(f) |^2 = \frac{k_B T}{\gamma \pi^2 (f_c^2 + f^2)} \quad (3.15)$$

donde la frecuencia crítica se ha definido como:

$$f_c = \frac{k}{2\pi\gamma} \quad (3.16)$$

La ecuación (3.15) representa el espectro de potencia de la posición de la esfera. La figura 3.6 muestra su gráfica en función de la frecuencia [Williams, 2002]. El punto de inflexión ocurre a la frecuencia crítica f_c . Este comportamiento ha sido verificado experimentalmente, según se muestra en la figura 3.7.

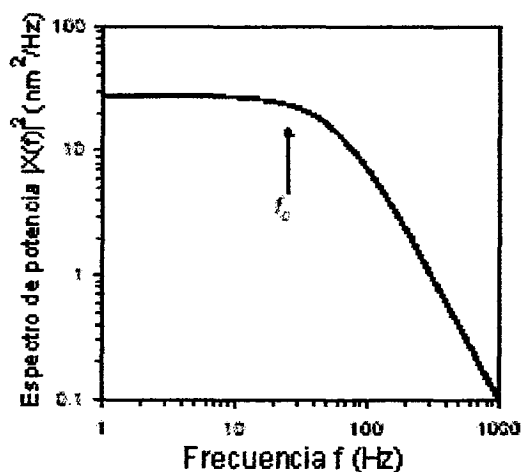


Figura 3.6 Espectro de potencia teórico de un oscilador armónico sobreamortiguado [Williams, 2002].

Estos conceptos sugieren un método de calibrar las pinzas ópticas: si se registra la posición de la partícula atrapada con un fotodiodo durante un cierto periodo de tiempo, se puede calcular numéricamente su transformada de Fourier y su espectro de potencia. Este a su vez se puede ajustar con la ecuación 3.15 para obtener la frecuencia crítica f_c , de la cual se puede deducir la rigidez de la trampa k , conociendo el coeficiente de fricción γ mediante la ley de Stokes: $k = 2\pi\gamma f_c$.

De la ecuación (3.15) podemos ver que cuando $f \ll f_c$, el espectro de potencia es aproximadamente constante, teniendo un comportamiento de la forma:

$$|X(f)|^2 = \frac{k_B T}{\gamma \pi^2 f_c^2} \quad (3.17)$$

Por otro lado, cuando $f \gg f_c$, los cambios son significativos debido al amortiguamiento viscoso, teniendo un decaimiento inversamente proporcional al cuadrado de la frecuencia:

$$|X(f)|^2 = \frac{k_B T}{\gamma \pi^2 f^2} \propto \frac{1}{f^2} \quad (3.18)$$

Este comportamiento permite obtener el valor de f_c , y por lo tanto de k : si se grafica el espectro de potencia experimental en una escala log-log, los comportamientos límites [ecuaciones (3.16) y (3.17)] serán líneas rectas de pendiente cero y dos, respectivamente. Se puede demostrar que el punto donde se intersectan ambas rectas, ocurre en la frecuencia crítica f_c , con lo cual se puede obtener su valor y el de la rigidez de la trampa k . En la figura 3.7 se ilustra este procedimiento para datos experimentales [Capitiano, 2002].

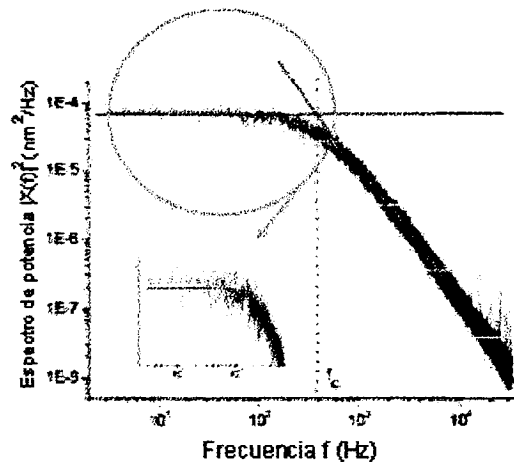


Figura 3.5 Espectro de potencia para una esfera de poliestireno ($1 \mu m$ de diámetro) sumergida en agua. Potencia del láser de $3.2 mW$ [Capitiano, 2002]

La ventaja del método que utiliza el espectro de potencia radica en que toma en cuenta además de las fuerzas viscosa y de atrapamiento, la fuerza debida a las

fluctuaciones térmicas, proporcionando con ello una mayor precisión en el valor de la rigidez de la trampa k [Capitania, 2002]. Asimismo, en este método no es necesaria la calibración absoluta del fotodetector puesto que solamente se requiere determinar la frecuencia crítica f_c , lo cual representa una ventaja adicional [Svoboda, 1994]. A continuación presentaremos un método en el cual también se hace uso de un análisis del movimiento Browniano de la partícula atrapada, pero en términos de su desplazamiento cuadrático medio.

3.4 Método de Equipartición de Energía

Este método hace uso del teorema de equipartición de la energía, el cual establece que el valor promedio de la energía asociada a cualquier coordenada generalizada que aparezca cuadráticamente en el Hamiltoniano del sistema es igual a $\frac{1}{2}k_B T$ [Reif, 1965]. Entonces, recordando que la partícula atrapada está sujeta a un potencial que para pequeños desplazamientos puede ser aproximado por el de un oscilador armónico, $U_{po} = \frac{1}{2}kx^2$, el valor medio asociado a esta energía puede ser obtenido mediante el teorema de equipartición :

$$\langle U_{po} \rangle = \frac{1}{2}k \langle x^2 \rangle = \frac{1}{2}k_B T \quad (3.19)$$

donde k es la rigidez de la trampa, k_B es la constante de Boltzman y T es la temperatura absoluta. Así, despejando k de la ecuación anterior tenemos:

$$k = \frac{k_B T}{\langle x^2 \rangle} \quad (3.20)$$

Entonces, es posible calibrar las pinzas ópticas, es decir, medir la rigidez de la trampa k , determinando el desplazamiento cuadrático medio $\langle x^2 \rangle$ de la partícula atrapada. Esto puede hacerse grabando durante un cierto periodo de tiempo la señal del fotodiodo y tomando directamente el promedio temporal de x^2 para sustituirlo en la

ecuación (3.20). Para ello, es necesario hacer una calibración del fotodiodo. Cabe decir que el promedio $\langle x^2 \rangle$ que aparece en el teorema de equipartición es un promedio sobre un ensemble de partículas, mientras que el promedio $\langle x^2 \rangle$ que se usa en la calibración experimental es un promedio temporal. La hipótesis ergódica asegura que ambos promedios son iguales y que se pueden usar indistintamente.

Con esto damos por concluida nuestra discusión sobre los métodos de calibración de las pinzas ópticas. En la sección siguiente comentaremos brevemente algunas de las ventajas y desventajas de cada uno de ellos.

3.5 Comparación entre los diferentes métodos de calibración

De los métodos de calibración anteriormente descritos, podemos decir que todos ellos proporcionan una buena estimación de la rigidez de la trampa k . Sin embargo, cada uno de ellos presenta ventajas e inconvenientes.

El método de la fuerza de fricción es relativamente sencillo de implementar experimentalmente. Sin embargo, la calibración requiere más tiempo puesto que se tienen que hacer varias mediciones para obtener el valor de k .

Los métodos basados en el espectro de potencia y en el teorema de equipartición de la energía son más rápidos puesto que el valor de k puede ser obtenido con una medición relativamente corta y su respectiva manipulación numérica para obtener su transformada de Fourier o el desplazamiento cuadrático medio. Además, estos dos métodos proporcionan una mejor estimación del valor de k que el método basado en la fuerza de fricción [Svoboda, 1994]. Sin embargo, como hemos dicho, el método del espectro de potencia no requiere una calibración precisa del detector, mientras que el del teorema de equipartición sí. Esto hace que este último resulte más preciso.

Así, podemos decir que el método de equipartición de la energía es el que mejores

resultados puede dar, ya que toma en cuenta todas las fuerzas involucradas en el atrapamiento de partículas coloidales por las pinzas ópticas, proporcionando además una mejor estimación de k [Svoboda, 1994]

Conclusiones

En este capítulo se presentaron los principios utilizados en cada uno de los diferentes métodos de calibración de las pinzas ópticas, así como las ventajas y desventajas de cada uno de ellos. Es interesante que existan diversas posibilidades de calibración, puesto que esto permite realizar experimentos utilizando el método que más se adapte a las necesidades de la investigación realizada.

En el siguiente capítulo describiremos algunas aplicaciones de las pinzas ópticas en biología y en sistemas coloidales.

4 Aplicaciones

Desde la fabricación de las primeras pinzas ópticas [Ashkin, 1986] el desarrollo de esta técnica ha sido notable. Durante ese tiempo, esta técnica experimental ha servido para realizar diversas investigaciones en áreas como la biología, la medicina, la ciencia de materiales, etc. De hecho, la aplicación de las pinzas ópticas (junto con otras técnicas recientes como la microscopía de fuerza atómica, y la micromanipulación con micropipetas) a sistemas biológicos ha dado lugar a un área nueva denominada "biofísica de moléculas individuales", en la cual es posible estudiar las propiedades físicas de una macromolécula a la vez, en contraste con los experimentos tradicionales donde se obtienen valores promedio sobre una gran cantidad de moléculas. Debido a la importancia de estas aplicaciones, en este capítulo daremos algunos ejemplos del tipo de estudios que se pueden hacer con la ayuda de las pinzas ópticas, sin pretender ofrecer una revisión exhaustiva de los resultados encontrados en la literatura. Dado que nuestra intención es meramente ilustrativa, se omitirá profundizar en los detalles experimentales y en la motivación de cada sistema estudiado. El lector interesado podrá consultar las referencias específicas o bien artículos de revisión sobre la aplicación de pinzas ópticas a sistemas biológicos [Svoboda, 1994. Williams, 2002] o coloidales [Grier, 1997].

4.1 Elasticidad de macromoléculas

El estudio de las propiedades mecánicas del ADN es importante ya que, debido a su función de código de la información genética, esta molécula se encuentra involucrada en muchos procesos que ocurren dentro de la célula, tales como el copiado de secuencias por el ARN, la replicación del ADN o la mitosis o división celular. En cada uno de estos procesos el ADN se deforma de una manera no completamente entendida.

El uso de las pinzas ópticas ha sido de gran utilidad, ya que ha permitido, por ejemplo, el estudio de las fuerzas requeridas para estirar y torcer una molécula de ADN

[Williams, 2002]. En este trabajo, se han fijado mediante métodos químicos, esferas de poliestireno en cada extremo de una molécula de ADN (Fig.4.1).

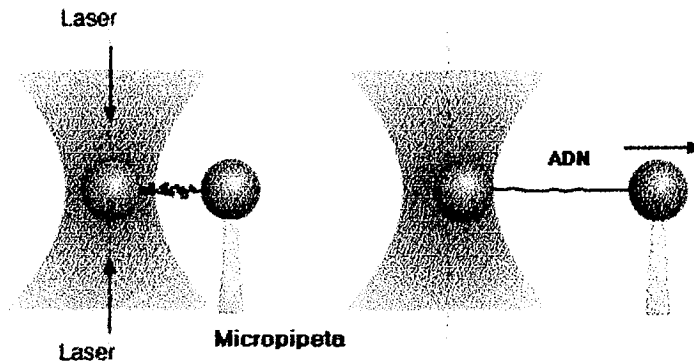


Figura 4.1: Esquema de un montaje utilizado para medir la elasticidad del ADN [Williams, 2002]

Así, manipulando las esferas se puede manipular la molécula de ADN. De hecho, una esfera es sostenida con una micropipeta, mientras que la otra es atrapada con unas pinzas ópticas. Los investigadores observaron que al estirar mas allá de su longitud normal (0.34 nm) a una molécula de ADN de hebra-doble (ADNhd), esta experimentó una transición de sobre-estiramiento alrededor de los 65 pN de fuerza, llegando a estirarse aproximadamente hasta los 0.58 nm. A partir de esta longitud, solo se necesitó un pequeño incremento en la fuerza para observar una transición conformacional de la molécula, la cual pasa de ADNhd a ADN de hebra-sencilla (ADNhs). Finalmente, la molécula se rompe cuando la fuerza aplicada llega a 85 pN. En la figura 4.2 se muestran los resultados experimentales comparados con cálculos teóricos.

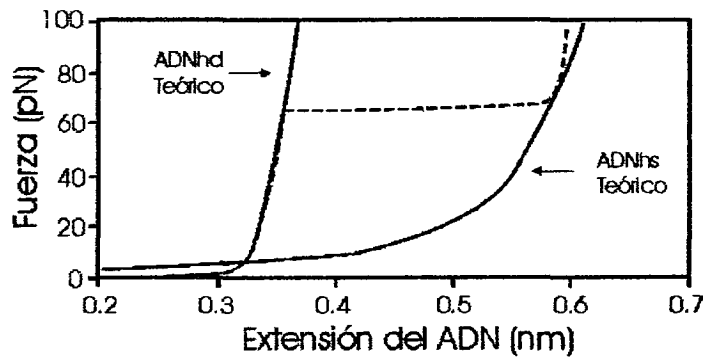


Figura 4.2 Fuerza vs extensión para una molécula de ADNhd. Las líneas negras representan el comportamiento teórico para el ADNhd y ADNhs. La línea punteada es el comportamiento experimental [Williams, 2002]

Este tipo de estudios ha permitido conocer el orden de magnitud de las fuerzas involucradas en la deformación del ADN. Así mismo, el uso de las pinzas ópticas ha permitido continuar con las investigaciones sobre las implicaciones en el ADN de las fuerzas de estiramiento y torsión ejercidas sobre la molécula.

4.2 Motores moleculares

La polimerasa del ARN es una enzima cuya función es copiar una secuencia de ADN para crear un mensajero de ARN (mARN). En este sentido, existe un gran interés en estudiar el efecto que tiene sobre el proceso de copiado la aplicación de una fuerza sobre la polimerasa del ARN. Así, las pinzas ópticas han sido de gran utilidad en las investigaciones realizadas al respecto. En estos estudios [Davenport,2000] se utilizan dos esferas de poliestireno, a una de ellas se le incorpora químicamente la polimerasa de ARN mientras que a la otra el ADN, como se muestra en la figura 4.3.. La primer esfera es sujeta con una micropipeta mientras que la segunda es atrapada con las pinzas ópticas. Así, se mueve la esfera que tiene al ARN hasta que entre en contacto con la que tiene el ADN permitiendo el inicio del proceso de transcripción del ADN. Una vez iniciado este proceso, se desplaza la esfera atrapada con las pinzas para estirar el ADN y determinar la fuerza que se aplica en la transcripción o la velocidad de esta en función de la fuerza aplicada.

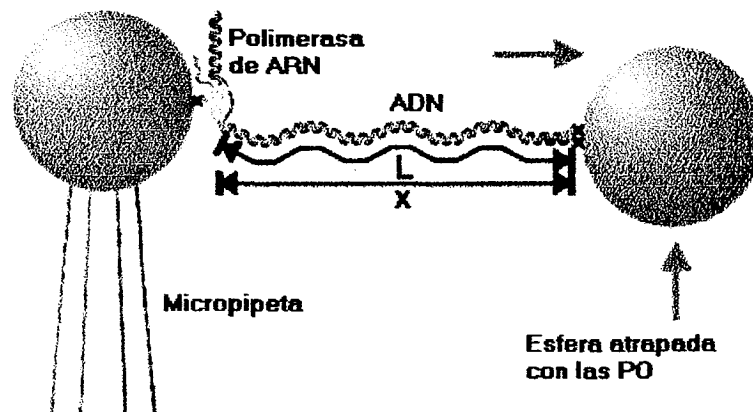


Figura 4.3 Esquema de un montaje experimental para medir las fuerzas de transcripción. [Davenport, 2000]

Mediante estos experimentos los investigadores observaron que la velocidad de polimerización por la polimerasa de ARN es independiente de la tensión aplicada como se ilustra en la figura 4.4. Así mismo, determinaron que este motor molecular es capaz de generar fuerzas de hasta 25 pN durante la transcripción [Davenport, 2000].

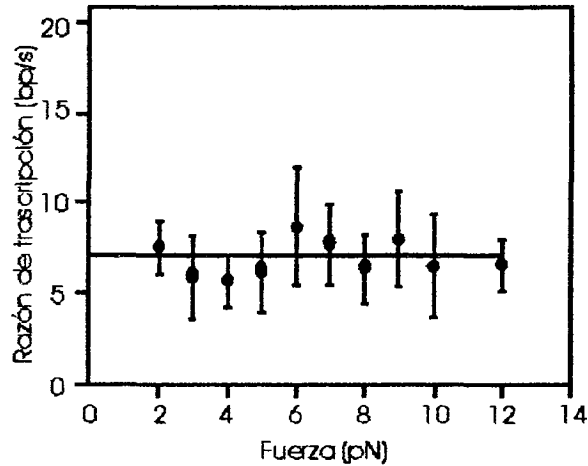


Figura 4.4 Razón de transcripción debida a la polimerasa de ARN en función de la fuerza aplicada. Se puede observar que la velocidad de transcripción es independiente de la fuerza aplicada. [Davenport, 2000]

Otros estudios en los que se han utilizado las pinzas ópticas, han servido para investigar el comportamiento de polimerasas de ADN [Wuite, 2000]. Al igual que en los experimentos con polimerasa de ARN, se utilizan dos esferas de poliestireno (Fig. 4.5).

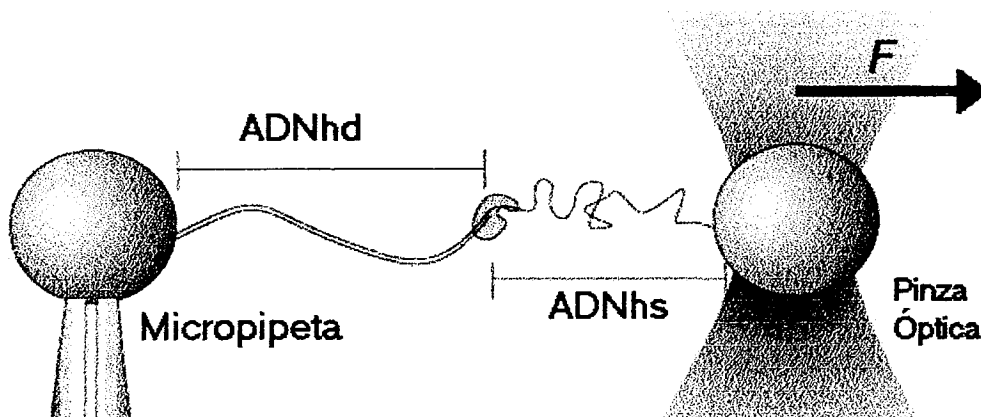


Figura 4.5: Esquema de un montaje con PO, para estudiar la velocidad de polimerización hecha por la polimerasa T7 de ADN [Wuite, 2000]

En una esfera se adhirió mediante métodos químicos una molécula de ADNhd, y en

la otra esfera se adhirió una molécula de ADNhs. Ambas moléculas se unieron mediante una polimerasa (T7) de ADN. En estos experimentos, se ejerció una fuerza sobre el sistema, para observar el efecto que tenía en la capacidad de la polimerasa para convertir una molécula de ADNhd en una de ADNhs. Los resultados se ilustran en la figura 4.6.

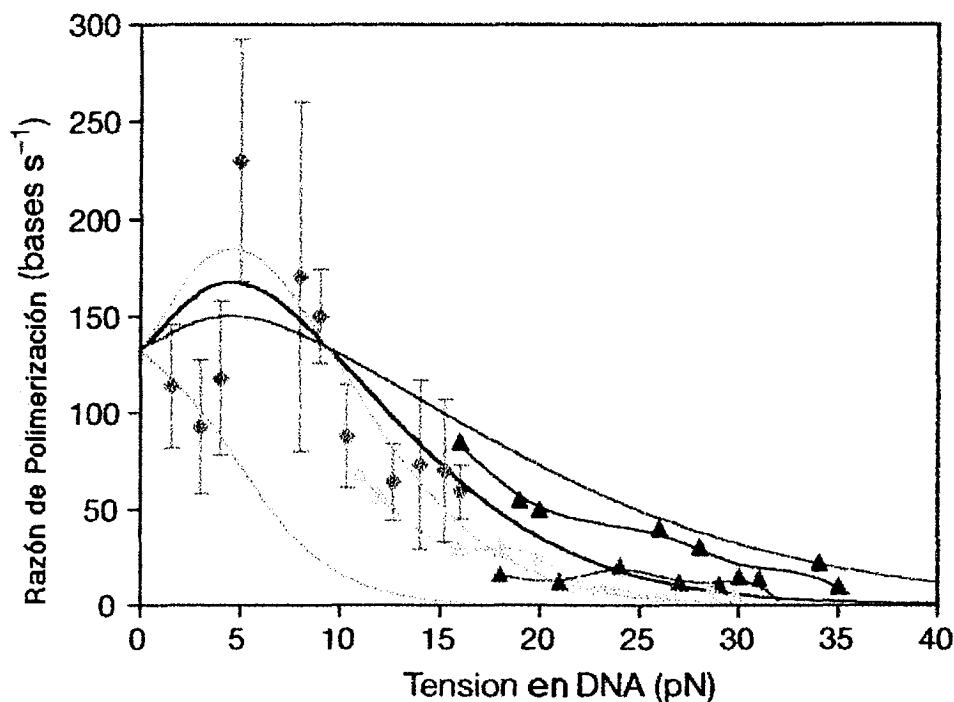


Figura 4.6 Razón de conversión de ADNhd en ADNhs en función de la fuerza aplicada. Se observa que a mayor tensión aplicada, la razón de conversión disminuye [Wuite, 2000]

Las mediciones obtenidas permitieron a los investigadores concluir que, a diferencia de la polimerasa de ARN, la polimerasa de ADN tiene una fuerte dependencia en la razón de polimerización al aplicar una tensión sobre ella. Además, se mostró que el proceso se detiene cuando se aplica una fuerza de 37 pN.

4.3 Partículas Coloidales

Las pinzas ópticas son una herramienta que permite estudiar la mecánica de interacción entre partículas coloidales. Los coloides están en todas partes puesto que son sistemas donde un medio está disperso en forma de partículas o agregados en otro considerado como continuo. La leche, el vino, el barro, las pinturas, la tinta y algunos productos farmacéuticos son buenos ejemplos de sistemas coloidales. Las propiedades físicas de estos sistemas, se ven afectadas por la interacción entre las partículas suspendidas, por lo cual el estudio de dichas interacciones es muy importante. Las pinzas ópticas han sido de gran utilidad ya que se ha podido estudiar estas interacciones individualmente.

4.3.1 Interacciones electrostáticas

La teoría de Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek (DLVO) proporciona una explicación del porqué algunas suspensiones coloidales se aglomeran y otras no. En la teoría DLVO, se toman en cuenta tanto la fuerza de repulsión electrostática como las fuerzas de atracción tipo van der Waals. De acuerdo con esta teoría, dos partículas aisladas y altamente cargadas, experimentan un potencial de apantallamiento coulombiano de largo alcance, meramente repulsivo [Derjaguin, 1941]. Sin embargo, algunas investigaciones revelaron que, cuando dos esferas coloidales están confinadas en un plano por paredes cargadas, las interacciones entre ellas son fuertemente atractivas y de largo alcance [Kepler, 1996, Carbajal, 1996]. Para estudiar el efecto que tiene la geometría de confinamiento sobre las interacciones coloidales se hizo uso de las pinzas ópticas [Crocker, 1996].

Un par de pinzas ópticas fué utilizado para manipular microesferas coloidales individualmente, de manera que las microesferas podían ser situadas entre sí a una distancia fija [Crocker, 1996]. Para estudiar las interacciones entre las microesferas, una trampa era apagada y prendida a intervalos regulares, grabando el movimiento de la

partícula cuando la trampa era apagada. Para obtener el conjunto de datos, se utilizaron entre cuatro y cinco pares diferentes de esferas idénticas, localizadas en diferentes partes de la solución. Las esferas utilizadas en las diferentes mediciones eran de sulfato de poliestireno, estaban dispersas en agua y tenían diámetros de aproximadamente $0.652 \mu\text{m}$, $0.966 \mu\text{m}$ y $1.53 \mu\text{m}$. La celda utilizada estaba hecha de cobre objetos de microscopio.

La figura 4.7 muestra el potencial de interacción obtenido experimentalmente para cada par de microesferas de diferente diámetro. Las mediciones fueron hechas de manera que las microesferas estaban alejadas de la pared más cercana, es decir, se trata de un sistema no confinado.

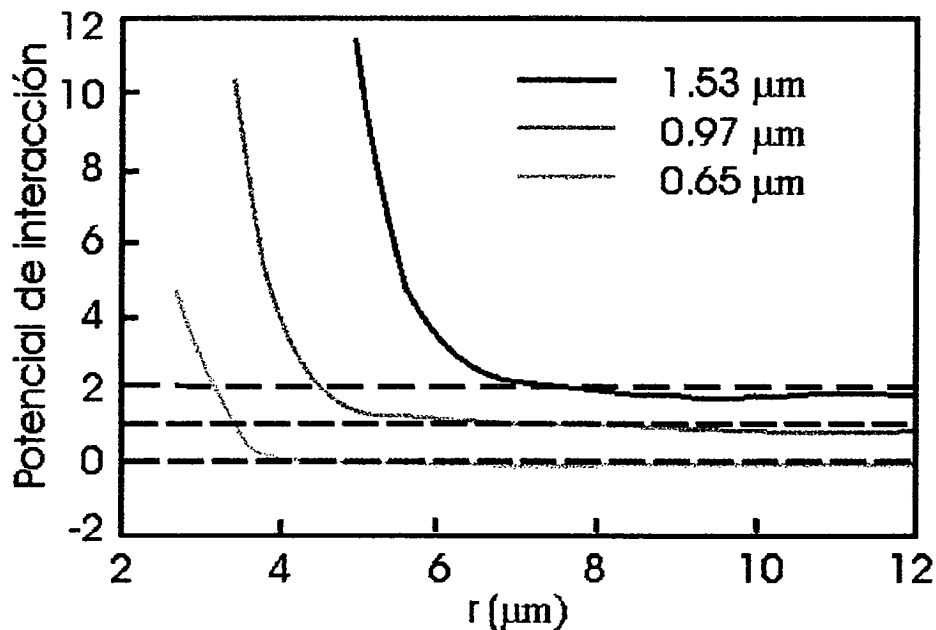


Figura 4.7 Potenciales de interacción para diferentes pares de microesferas. Las curvas han sido desplazadas para observarlas mejor [Crocker, 1996].

Los datos de la figura 4.7 representan las interacciones cuando no hay confinamiento de las microesferas, y se ajustan bien a las predicciones hechas por la teoría DLVO. Sin embargo, cuando un par microesferas fue confinado entre paredes de vidrio separadas una distancia d , se encontró que en algunos casos existe un potencial atractivo. En la figura 4.8 se observan tales resultados, donde se aprecia un potencial atractivo cuando la

separación de las paredes es de $4.0 \mu\text{m}$ y $3.5 \mu\text{m}$. Sin embargo al tener una separación de $2.6 \mu\text{m}$, las partículas experimentan un potencial meramente repulsivo. Estas investigaciones revelaron que el potencial atractivo es mayor y de más largo alcance cuando el tamaño de las microesferas aumenta.

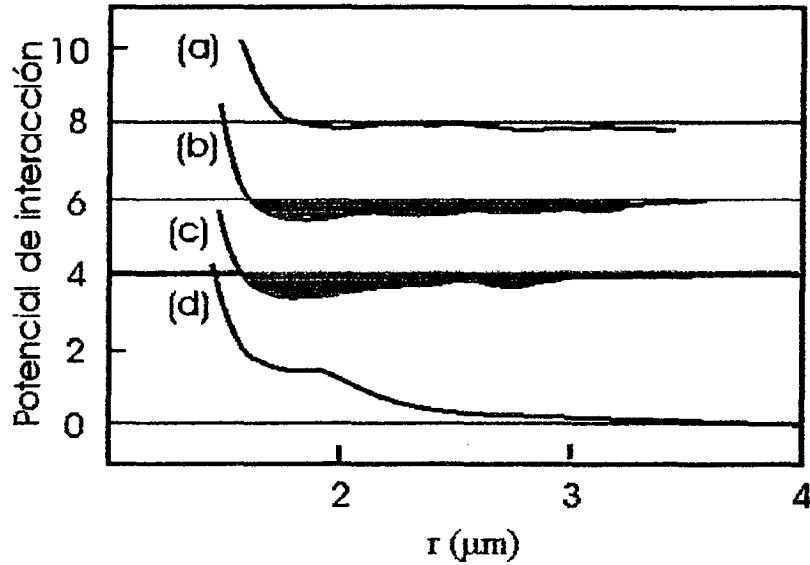


Figura 4.8 Potencial de interacción (desplazado) para un par de microesferas de $0.97 \mu\text{m}$ diámetro. Las microesferas estaban confinadas por paredes separadas una distancia: (a) $6.5 \mu\text{m}$, (b) $4.0 \mu\text{m}$, (c) $3.5 \mu\text{m}$ y (d) $2.6 \mu\text{m}$ [Crocker, 1996].

4.3.2 Cadenas Dipolares

Cuando una suspensión de partículas superparamagnéticas dispersas en un fluido no magnético, se somete a campo magnético externo \vec{H} , las partículas adquieren un momento dipolar magnético. Si el campo es lo suficientemente intenso para dominar sobre la energía térmica, las partículas se alinean en la dirección del campo, formando cadenas dipolares. Algunos investigadores se han dedicado al estudio de las propiedades mecánicas de estas cadenas dipolares inducidas. En este contexto, se ha hecho uso de las pinzas ópticas para estudiar las propiedades mecánicas de cadenas y columnas coloidales dipolares inducidas [Furst, 1999]. Para ello, los investigadores hicieron uso de un par de

pinzas ópticas con las cuales se consiguieron deformar linealmente las cadenas. Para formar la cadenas dipolares, se utilizaron microesferas de poliestireno de diámetro $0.85 \mu m$ incrustadas con partículas de óxido de hierro. Estas microesferas superparamagnéticas se dispersaron en una solución de un surfactante (SDS) y el líquido se colocó en medio de unas bobinas de Helmholtz. El hecho de que las esferas estuvieran incrustadas con óxido de hierro, impidió que pudieran ser atrapadas con las pinzas ópticas, por lo cual fue necesario sujetar algunas esferas magnéticas adhiriéndolas a esferas de poliestireno convencionales de diámetro $= 3.5 \mu m$. Para ello, estas últimas fueron revestidas de estreptavidina, proteína que tiene una interacción atractiva específica muy fuerte con otra proteína llamada biotina. Algunas esferas magnéticas fueron recubiertas con esta última biomolécula. Así, la biotina y la estreptavidina fueron usadas como amarres entre la cadena dipolar y las esferas convencionales de poliestireno según se muestra en la figura 4.9.

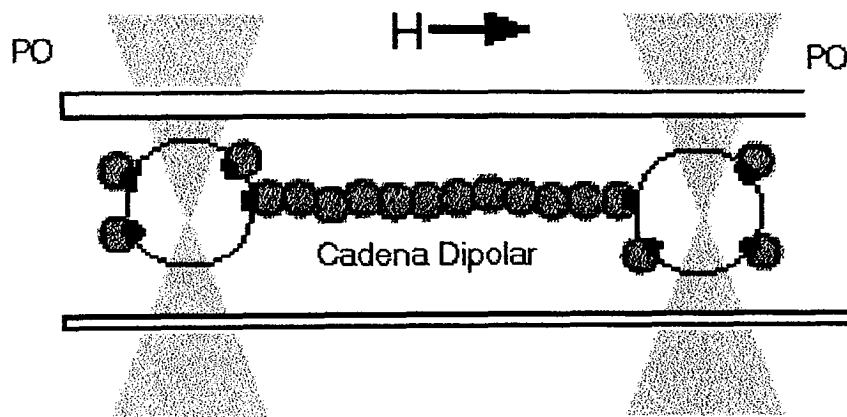


Figura 4.9 Sistema utilizado para estudiar las propiedades mecánicas de cadenas dipolares inducidas. Los círculos grandes representan las esferas de poliestireno utilizadas para poder manipular las cadenas dipolares [Furst, 1999]

Este arreglo experimental permitió entender las propiedades mecánicas de las cadenas de partículas coloidales magnéticas [Furst, 1999].

4.4 Otras aplicaciones

El uso de las pinzas ópticas se ha extendido gracias a la capacidad de la técnica para manipular objetos microscópicos. Además de los ejemplos mostrados anteriormente, las pinzas ópticas también han sido utilizadas para realizar estudios en células con el objetivo de investigar las propiedades mecánicas del citoplasma así como las propiedades viscoelásticas de los filamentos que lo conforman; lo interesante de estos trabajos es que se pueden realizar sin necesidad de abrir la célula [Ashkin, 1989]. Esta técnica también ha sido utilizada para estudiar propiedades mecánicas de bacterias [Block, 1989], así como para comprender mejor la mecánica del empaquetamiento del ADN durante el ciclo de una infección viral [Smith, 2001]. Con las pinzas ópticas también se ha podido manipular cromosomas con el objetivo de tener una mejor comprensión del papel que juegan en la mitosis y la división celular [Berns, 1989]. La capacidad de las pinzas ópticas de manipulación individual ha permitido el estudio del comportamiento inmunológico de la célula al entrar en contacto con una célula cancerosa [Seeger, 1991].

Las pinzas ópticas también han sido utilizadas en conjunto con otras técnicas, como el escalpelo láser (luz láser que sirve para cortar) permitiendo con ello la realización de microcirugías para realizar estudios de genética molecular [Liang, 1993]. Combinando la pinzas ópticas con técnicas químicas de ensamble se han fabricado diferentes microestructuras [Castelino].

Conclusiones

En este capítulo hemos podido ver algunos de los estudios que se pueden realizar con las pinzas ópticas, y cómo estas han ayudado a obtener un mejor conocimiento de fenómenos que hasta antes de su existencia eran difíciles de estudiar. Hemos podido ver como el aporte de esta técnica ha sido ofrecer la posibilidad de pasar de estudios sobre un conjunto de partículas al estudio individual de las mismas, así como ofrecer la posibilidad de manipular no invasivamente de los objetos atrapados. Ello ha permitido realizar estudios relacionados con las propiedades mecánicas de macromoléculas, así como con los mecanismos de interacción en partículas coloidales. Esta técnica en complemento con otras ha permitido que disciplinas como la medicina, la biología, la física de coloides e incluso la física de materiales se estén desarrollando más rápidamente.

Conclusiones

En el presente trabajo hemos realizado un estudio de las bases teóricas que permiten el funcionamiento de las pinzas ópticas. Hemos mostrado que la luz ejerce una fuerza sobre los objetos con los que interacciona. Así mismo, utilizamos este hecho para mostrar que bajo ciertas condiciones, el uso de un láser y un microscopio, genera una fuerza capaz de atrapar y manipular partículas dieléctricas microscópicas. Cualitativamente podemos decir que el principio de operación de las pinzas ópticas obedece a uno de los principios más básicos de la mecánica, la conservación del momento. También hemos mostrado cómo es posible expresar la fuerza producida por la luz como la contribución de dos componentes: la fuerza de dispersión, que empuja a la partícula en la dirección de propagación de la luz, y la fuerza gradiente, proporcional al gradiente de intensidad luminosa y responsable del atrapamiento óptico.

En el trabajo también hemos descrito cómo es posible expresar las fuerzas provocadas por la luz, en el marco de las dos aproximaciones más usuales: la de la teoría electromagnética, válida cuando el tamaño de los objetos es comparable a la longitud de onda de la luz λ , y la de la óptica geométrica, válida cuando los objetos son muy grandes comparadas λ . Los modelos teóricos descritos nos permiten obtener una buena aproximación de las fuerzas aplicadas por las pinzas ópticas. En particular, hemos desarrollado con más detalle el modelo de la óptica geométrica, el cual permite establecer bajo qué condiciones es posible obtener un buen atrapamiento. Las condiciones más importantes en este sentido son:

- 1) es posible atrapar solamente partículas dieléctricas puesto que el mecanismo de atrapamiento se basa en la refracción de la luz.

- 2) dado que la eficiencia de atrapamiento es mejor para grandes ángulos de incidencia, se requiere que el objetivo de microscopio con el que se trabaje sea de alta abertura numérica, y

3) para partículas suspendidas en agua, su índice de refracción debe ser $n < 2$ para que la fuerza gradiente domine sobre la fuerza de dispersión.

Si se cumplen estos requisitos, el montaje experimental asegura el atrapamiento de las partículas, hecho que ha sido ampliamente confirmado experimentalmente. Sin embargo, el modelo de la óptica geométrica desarrollado en este trabajo es válido como una primera aproximación ya que solamente consideramos partículas dieléctricas, homogéneas y esféricas. Este es el caso por ejemplo de las esferas coloidales de poliestireno, pero no de la mayoría de los sistemas biológicos (células, organelos, etc). Actualmente algunos investigadores se encuentran trabajando en el desarrollo de modelos más generales que permitan incorporar formas diferentes de partículas, así como diferentes grados de heterogeneidad en su índice de refracción.

Una vez analizadas las condiciones teóricas para el atrapamiento óptico de partículas dieléctricas, hemos visto que para calibrar un montaje experimental de pinzas ópticas es posible utilizar diferentes métodos, mismos que proporcionarían una buena estimación de las fuerzas aplicadas por el montaje. El método de calibración más utilizado es el que se basa en la fuerza de viscosidad, debido a la facilidad con que se puede implementar. Sin embargo, cada uno de los métodos descritos tiene sus ventajas y desventajas, quedando a consideración del investigador emplear el método que más le convenga.

Aunque la realización experimental del atrapamiento óptico es relativamente reciente, los alcances que ha tenido son significativos, ya que ha permitido a la comunidad científica trabajar y manipular objetos cuyo tamaño varía desde 50 nanómetros hasta 20 micras. Así, por ejemplo, se han podido realizar estudios sobre las propiedades elásticas de entes biológicos como el ADN o sobre los procesos que se llevan a cabo durante la transcripción del mismo por parte del ARN. Además, se han podido ver los efectos producidos en la actividad de la polimerasa del ADN al ser sometida a tensiones. Igualmente se ha estudiado el trabajo que realizan los motores

moleculares, cuantificándose las fuerzas aplicadas durante el empaquetamiento de proteínas. Esta técnica también se ha empleado para entender mejor las interacciones entre partículas coloidales. Para un recuento detallado de las aplicaciones de las pinzas ópticas se puede consultar la literatura.

El futuro de esta técnica es prometedor ya que se puede emplear en complemento con otras, permitiendo el estudio e incluso el desarrollo de materiales biomoleculares. De esta manera podemos concluir, que las pinzas ópticas han tenido un gran alcance científico y tecnológico. Uno de los puntos más relevantes de su utilización consiste en que han permitido pasar de la obtención de resultados promedio sobre un conjunto grande de partículas, al análisis de las propiedades de partículas individuales, así como la manipulación de los objetos de forma no invasiva, reduciendo el daño que esto pudiera generar.

Finalmente, esperamos que esta tesis sea de utilidad para proporcionar los conocimientos básicos para comprender el funcionamiento y las aplicaciones de las pinzas ópticas, y sirva como punto de partida para aquellos investigadores, estudiantes o personas que estén interesados en el uso de esta técnica.

Apéndice A Derivación de la ecuación (1.6)

Partamos de las ecuaciones de una onda plana:

$$\vec{E} = \vec{E}_0 \cos(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t) = \text{Re} \vec{E}_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)} \quad (\text{A1})$$

$$\vec{B} = \vec{B}_0 \cos(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t) = \text{Re} \vec{B}_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)} \quad (\text{A2})$$

Consideremos ahora que la propagación de la luz ocurre en el vacío donde no hay fuentes ni sumideros, con lo cual las ecuaciones de Maxwell de la siguiente manera:

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{E} = 0 \quad (\text{A3})$$

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0 \quad (\text{A4})$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad (\text{A5})$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{B} = -\mu_0 \epsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \quad (\text{A6})$$

entonces al sustituir A1 en A3 tenemos:

$$\vec{\nabla} \cdot [\vec{E}_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)}] = \frac{\partial}{\partial x} [\vec{E}_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)}] \hat{x} + \frac{\partial}{\partial y} [\vec{E}_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)}] \hat{y} + \frac{\partial}{\partial z} [\vec{E}_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)}] \hat{z}$$

pero como \vec{E}_0 es un vector constante y el producto $\vec{k} \cdot \vec{r} = k_x x + k_y y + k_z z$, entonces tenemos que:

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{E} = i(k_x \hat{x} + k_y \hat{y} + k_z \hat{z}) \cdot \vec{E}_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)}$$

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{E} = i\vec{k} \cdot \vec{E} = 0 \quad (\text{A7})$$

obteniendo un resultado similar para A4:

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = i\vec{k} \cdot \vec{B} = 0 \quad (\text{A8})$$

de lo anterior, podemos deducir que tanto \vec{E} como \vec{B} son perpediculares a \vec{k} . Por otro lado, podemos ver de las ecuaciones A7 y A8 que el operador $\vec{\nabla} \equiv i\vec{k}$. Utilizando este hecho y desarrollando la ecuación A5, obtenemos:

$$i\vec{k} \times \vec{B} = -\mu_0\epsilon_0\vec{E}_0 \frac{\partial}{\partial t} e^{i(\vec{k}\cdot\vec{r}-\omega t)} = i\mu_0\epsilon_0\omega\vec{E}$$

recordando que $c = \frac{1}{\sqrt{\mu_0\epsilon_0}}$ y que $\omega = ck$, entonces la ecuación anterior se puede rescribir como:

$$\vec{k} \times \vec{B} = \frac{1}{c^2} ck\vec{E} = \frac{k}{c}\vec{E} \quad (\text{A9})$$

reacomodando términos tenemos:

$$c\hat{k} \times \vec{B} = \vec{E} \quad (\text{A10})$$

donde $\hat{k} = \frac{\vec{k}}{k}$ es el vector unitario paralelo a la propagación de la luz. La ecuación anterior muestra que \vec{B} y \vec{E} son perpendiculares, y ademas, recordando que \vec{B} es perpendicular a \vec{k} y por lo tanto a \hat{k} , cuya magnitud es uno. Entonces la relación entre las magnitudes de \vec{B} y \vec{E} es:

$$cB = E \quad (\text{A11})$$

Apéndice B Demostración de

$$\langle \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t) \rangle = \frac{1}{2}$$

El promedio temporal sobre un periodo de cualquier función esta dado por:

$$\langle f(t) \rangle = \frac{1}{T} \int_t^{t+T} f(t) dt \quad (B1)$$

entonces, si consideramos la función $f(t) = \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t')$ (donde $\omega = 2\pi\nu$) al promediarla en el tiempo tenemos:

$$\langle \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t') \rangle = \frac{1}{T} \int_t^{t+T} \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t') dt' \quad (B2)$$

haciendo el cambio de variable $u = (\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t') \Rightarrow dt' = -\frac{du}{\omega}$ y utilizando la relación geométrica:

$\cos^2(u) = \frac{1}{2}[1 + \cos 2u]$ la ecuación anterior se puede escribir como:

$$\langle \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t') \rangle = -\frac{1}{2\omega T} \int [1 + \cos 2u] du \quad (B3)$$

$$\langle \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t') \rangle = -\frac{1}{2\omega T} \left[u + \frac{1}{2} \sin 2u \right]_{(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t')}^{(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega(t'+T))} \quad (B4)$$

evaluando en los limites de integración obtenemos:

$$\langle \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t') \rangle = -\frac{1}{2\omega T} \left\{ \begin{array}{l} k \cdot \vec{r} - \omega t - \omega T + \frac{1}{2} \sin 2[k \cdot \vec{r} - \omega(t+T)] \\ -k \cdot \vec{r} + \omega t - \frac{1}{2} \sin 2(k \cdot \vec{r} - \omega t) \end{array} \right\}$$

$$\langle \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t') \rangle = \frac{1}{2} - \frac{1}{4\omega T} \left\{ \sin 2[k \cdot \vec{r} - \omega(t+T)] - \sin 2(k \cdot \vec{r} - \omega t) \right\} \quad (B5)$$

si $T = \frac{1}{v}$ entonces al sustituir en la ecuación (B5) y recordando que $\omega = 2\pi v$ tenemos:

$$\langle \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t') \rangle = \frac{1}{2} - \frac{1}{8\pi} \left[\sin 2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t - 2\pi) - \sin 2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t) \right] \quad (\text{B6})$$

puesto que $\sin 2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t - 2\pi) = \sin 2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)$, entonces el segundo término del lado derecho de la ecuación anterior se hace cero por lo tanto tenemos:

$$\langle \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t') \rangle = \frac{1}{2} \quad (\text{B7})$$

por otra parte, si $T \gg \frac{1}{v}$ entonces de nueva cuenta el segundo termino en la ecuación (B6) se hace cero y nuevamente obtenemos:

$$\langle \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t') \rangle = \frac{1}{2} \quad (\text{B7})$$

Apéndice C Programa utilizado para calcular el factor de atrapamiento

```
***** Este programa permite calcular el factor de atrapamiento *****
***** dispersión y gradiente en un plano *****

*****
***** Vamos a calcular el máximo ángulo de incidencia a partir de la abertura
*****
***** numérica del objetivo y del índice de refracción del medio *****

real na, ni, nt, at, d, a, ai
character*2 y, p *8

open(unit=5,file='prog2.dat')

10 write(*,*)'Cual es la Apertura Numérica del objetivo?'

read(*,*) na

write(*,*)'Cual es el índice de refracción del medio?'

read(*,*) ni

ai = asin(na/ni)

write(*,*)'El máximo ángulo de incidencia es:'

write(*,*)ai,'radianes'

read(*,*)

write(*,*)'cuántos ángulos deseas obtener?'

read(*,*) m

d= ai/m

a1 = ai/m

print *,'Cuál es el índice de refracción de la partícula?'

read(*,*) nt

cccc Esta parte calcula el factor de atrapamiento de dispersión y gradiente con
```

polarización paralela

cccc y perpendicular para cada rayo generado

$$\text{angi}=0$$

$$\text{angt}=0$$

$$q=0$$

do 5 i=1,m+1

$$\text{at} = \text{asin}(\text{ni}*\text{sin}(\text{angi})/\text{nt})$$

ccccccc Polarización Paralela ccc

$$r = (\text{tan}(\text{angi}-\text{at})) / (\text{tan}(\text{angi}+\text{at}))$$

$$t = 2*(\text{sin}(\text{at})*\text{cos}(\text{angi})) / ((\text{sin}(\text{angi}+\text{at}))*(\text{cos}(\text{angi}-\text{at})))$$

$$\text{Rpa} = (r**2)$$

$$\text{Tpa} = (\text{nt}/\text{ni})*(\text{cos}(\text{at})/\text{cos}(\text{angi}))*(t**2)$$

$$A = (\text{Tpa}**2)*(\text{cos}(2*(\text{angi}-\text{at})) + \text{Rpa}*\text{Cos}(2*\text{angi}))$$

$$C = (\text{Tpa}**2)*(\text{sin}(2*(\text{angi}-\text{at})) + \text{Rpa}*\text{sin}(2*\text{angi}))$$

$$B = 1 + (\text{Rpa}**2) + (2*\text{Rpa}*(\text{cos}(2*\text{at})))$$

$$\text{Fd} = (1 + (\text{Rpa}*(\text{Cos}(2*\text{angi}))) - (A/B))$$

$$F = (\text{Rpa}*(\text{sin}(2*\text{angi})) - (C/B))$$

ccccccc Polarización Perpendicular ccc

$$r1 = \text{sin}(\text{at}-\text{angi})/\text{sin}(\text{angi}+\text{at})$$

$$t1 = 2*\text{sin}(\text{at})*\text{cos}(\text{angi})/\text{sin}(\text{angi}+\text{at})$$

$$\text{R1} = (r1**2)$$

$$\text{T1} = (\text{nt}/\text{ni})*(\text{cos}(\text{at})/\text{cos}(\text{angi}))*(t1**2)$$

$$A = (\text{T1}**2)*(\text{cos}(2*(\text{angi}-\text{at})) + \text{R1}*\text{cos}(2*\text{angi}))$$

$$C = (T1^{**2}) * (\sin(2 * (\text{angi-at})) + R1 * \sin(2 * \text{angi}))$$

$$B = 1 + (R1^{**2}) + (2 * R1 * (\cos(2 * \text{at})))$$

$$E = (1 + (R1 * (\cos(2 * \text{angi}))) - (A/B))$$

$$G = (R1 * (\sin(2 * \text{angi})) - (C/B))$$

cccccc Esta parte manda los datos generados a un archivo ccccccccccccccccccccccc

```
write(5, *) angi, Fd, F, E, G
```

```
angi=angi+a1
```

```
q=q+d
```

```
5 continue
```

```
write(*, *) 'Deseas hacer otra corrida?'
```

```
read(*, *) y
```

```
if (y .eq. 'si') goto 10
```

```
end
```


Bibliografía

- A. Ashkin. *Acceleration and trapping of particles by radiation pressure*. Phys. Rev. Lett., 24:156-159, (1970). *Forces of a single-beam gradient laser trap on a dielectric sphere in the ray optics regime*. Biophys. J. 61: 569-582 (1992). *Optical trapping and manipulation of neutral particles using lasers*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 4853-4860, 1997.
- A. Ashkin. and J. M. Dziedzic. *Observation of Radiation-Pressure Trapping of Particles by Alternating Light Beams*. Phys. Rev. Lett. 54:1245-1248 (1985). *Internal cell manipulation using infrared laser traps*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:7914-7918 (1989).
- A. Ashkin. Phys. Rev. Lett. 40: 729-32. 1978.
- Nicholas Everts Alford West. *Characterization of Optical Tweezers Potential using Scattering Techniques*. Tesis de licenciatura, Colegio William and Mary (2001).
- P. Bartlett and S. Henderson. *Three-dimensional force calibration of a single-beam optical gradient trap*. J. Phys.: Condens. Matter 14: 7757-7768 (2002).
- J. Bechhoefer and S Wilson. *Faster, cheaper, safer optical tweezers for the undergraduate laboratory*. Am. J. Phys. 70: 393-400 (2002).
- S.M. Block, D. F. Blair, and H. C. Berg. *Compliance of bacterial flagella measured with optical tweezers*. Nature 338: 514-518 (1989).
- M. Capitano, G. Romano, R. Ballerini, M. Giuntini and F. S. Pavonea. *Calibration of optical tweezers with differential interference contrast signals*. Rev. Sci. Instrum. 73: 1687-1696 (2002).
- K. Castelino and Srinath Satyanarayana. *Fabrication of two and three-dimensional microstructures using optical tweezers and chemical assembly*. IEEE Conf. on Robotics and Automation. (2002)

- Crocker JC, Grier DG. *When like charges attract. The effects of geometrical confinement on long-range colloidal interactions.* Phys Rev Lett 77:1897-1900 (1996).
- Carbajal-Tinoco MD, Castro-Román F, Arauz-Lara JL. *Static properties of confined colloidal suspensions.* Phys Rev E 53:3745-3749 (1996).
- Crocker JC, Grier DG. *Microscopic measurement of the pair interaction potential of charge-stabilized colloid.* Phys Rev Lett. 73:352-355 (1994).
- J.R. Davenport, G.J. Wuite, R Landick, Bustamante C.. *Single-molecule study of transcriptional pausing and arrest by E. coli RNA polymerase.* Science 287: 2497-2500 (2000).
- L. de la Peña. *Introducción a la mecánica cuántica.* Ed. Fondo de Cultura Económica. (1991)
- Eric M. Furst and Alice P. Gast. *Micromechanics of Dipolar Chains Using Optical Tweezers.* Phys. Rev. Lett. 82: 4130-4133 (1999).
- W. Grange, S. Husale, H. Güntherodt and M. Hegner. *Optical tweezers system measuring the change in light momentum flux.* Rev. Sci. Inst. 73: 2308-2316 (2002).
- S.C. Grover, R. C. Gauthier and A. G. Skirtach. *Analysis of the behaviour of erythrocytes in an optical trapping system.* Opt. Exp. 7: 533-539 (2000).
- J. P. Gordon, *Radiation Forces and Momentum in Dielectric Media.* Phys. Rev. A., 8:14-21, 1973.
- Jeremy R. Hui. *Optical Tweezers Using the Texas Instruments Digital Micromirror Device™.* Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Massachusetts (2001)
- E. Hecht. *Optics.* Ed. Addison Wesley (2002).
- Jackson JD. *Classical Electrodynamics.* Ed. Wiley (1998)
- Kepler GM, Fraden S. *Attractive potential between confined colloids at low ionic*

strength. Phys Rev Lett 73:356-359 (1994).

- Paul Lloyd Larsen. *LASER TWEEZERS*. Tesis de licenciatura, Colegio William and Mary (1999).

- F. Léger, G. Romano, A. Sarkar, J. Robert, L. Bourdieu, D. Chatenay and J. F. Marko. *Structural Transitions of a Twisted and Stretched DNA Molecule*. Phys. Rev. Lett. 83: 1066-1069 (1999).

- H. Liang, W. H. Wright, S. Cheng, W. He, and M. W. Berns. *Micromanipulation of chromosomes in PTK-2 cells using laser microsurgery (optical scalpel) in combination with laser-induced optical force (optical tweezers)*. Exp. Cell Res. 204: 110-120 (1993).

- R. Lugowski, B. aw Kolodziejczyk and Y. Kawata. *Application of laser-trapping technique for measuring 3 the three-dimensional distribution of viscosity*. Optics Communications. En impresión (2001).

- A. Papoulis. *Probability, Random Variables, And Stochastic Processes*. Ed. McGraw-Hill (1984)

- F. Reif. *Fundamentals of statistical and thermal physics*. Ed. McGraw-Hill. (1965).

- G. V. Soni, Feroz Meeran Hameed, T. Roopa and G. V. Shivashankar. *Development of an optical tweezer combined with micromanipulation for DNA and protein nanobioscience*. CURRENT SCIENCE 83: 1964-1970 (2002).

- S. Seeger, S. Manojembashi, K. J. Hutter, G. Futterman, J. Wolfrum, and K. O. Greulich. *Application of laser optical tweezers in immunology and molecular genetics*. Cytometry 12: 497-504 (1991).

- W. Singer, S. Bernet, N. Hecker and M. Ritsch-Marte. *Three-dimensional force calibration of optical tweezers*. J. Mod. Opt 47: 2921-2931 (2000).

- Svoboda K, Block SM. *Biological applications of optical forces*. Ann Rev Biophys Biomol Struct. 23:247-285 (1994).

- Smith D, Tans S, Smith S, Grimes S, Anderson D, Bustamante C. *The bacteriophage phi29 portal motor can package DNA against a large internal force.* Nature 413:748-752 (2001).
- Tsvi Tlusty, Amit Meller and Roy Bar-Ziv. *Optical Gradient Forces of Strongly Localized Fields.* Phys. Rev. Lett., 81:1738-1741 (1998).
- K Visscher. and G. J. Brakenhoff. *Theoretical study of optically induced forces on spherical particles in a single beam trap I: Rayleigh scatterers.* Optik 89: 174-180 (1992).
- K Visscher. and G. J. Brakenhoff. *Theoretical study of optically induced forces on spherical particles in a single beam trap II: Mie scatterers.* Optik 90: 57-60 (1992).
- K. Visscher, S. P. Gross, and S. M. Block. *Construction of Multiple-Beam Optical Traps with Nanometer-Resolution Position Sensing.* IEEE J. Selec. Topics in Quan. Elect. 2: 1066-1076 (1996).
- M. C. Williams. *Optical tweezers: Measuring Piconewton Forces.* Libro en linea de la Biophysical Society <http://www.biophysics.org/btol>. (2002)
- Wuite GJ, Smith SB, Young M, Keller D, Bustamante C.. *Single molecule studies of the effect of template tension on T7 DNA polymerase activity.* Nature 404:103-106 (2000).
- Williams MC, Rouzina I, Bloomfield VA.. *Thermodynamics of DNA Interactions from Single Molecule Stretching Experiments.* Acc. Chem. Res. 35: 159-166 (2002).