



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA FÍSICA**

**ESTUDIO DE RADIACIÓN LÁSER DE MICROORGANISMOS EN  
SISTEMAS BIOMOLECULARES MEDIANTE LA TÉCNICA DE  
PINZA ÓPTICA EN EL LABORATORIO DE LA FACULTAD DE  
CIENCIAS – ESPOCH**

**Trabajo de Integración Curricular**

Tipo: Proyecto Integrador

Presentado para optar el grado académico de:

**FÍSICA**

**AUTORA:** ANDREA MICHELLE FLORES SÁNCHEZ

**DIRECTORA:** Biof. MARÍA FERNANDA HEREDIA MOYANO MSc.

Riobamba-Ecuador

2022

**©2022, Andrea Michelle Flores Sánchez**

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

Yo, ANDREA MICHELLE FLORES SÁNCHEZ, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 13 de abril de 2022

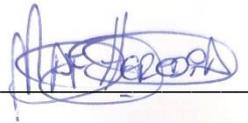
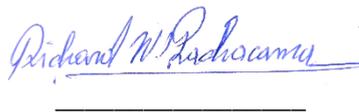


**Andrea Michelle Flores Sánchez**

**1600532871**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**CARRERA FÍSICA**

El Tribunal de Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Proyecto Integrador, **ESTUDIO DE RADIACIÓN LÁSER DE MICROORGANISMOS EN SISTEMAS BIOMOLECULARES MEDIANTE LA TÉCNICA DE PINZA ÓPTICA EN EL LABORATORIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS – ESPOCH**, realizado por la señorita: **ANDREA MICHELLE FLORES SÁNCHEZ**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Mat. Luis Marcelo Cortez Bonilla, Mgs. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2022-04-13
Biof. María Fernanda Heredia Moyano, MSc. <b>DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>		2022-04-13
Dr. Richard Willians Pachacama Choca, MSc. <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>		2022-04-13

## **DEDICATORIA**

El presente Proyecto Integrador está dedicado a mis padres Jorge y Magali, quienes, con su paciencia, apoyo, y esfuerzo me han ayudado a cumplir hoy una meta más, gracias por enseñarme a nunca rendirme, de no temer a cualquier adversidad que se venga, también quiero dedicar este trabajo a mi novio Alex, quien ha estado para mi desde inicios de la carrera dándome su apoyo incondicional a cada paso que daba y nunca dejándome caer a pesar de los problemas que se presentaban. Gracias, muchas gracias los amo muchísimo.

*Andrea*

## AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo quien me ha permitido forjarme como una profesional en una carrera innovadora de la ciencia, a todos los docentes que me supieron guiar a lo largo de este camino, especialmente agradezco a Fernanda Heredia tutora de mi Proyecto Integrador, quien, con su ayuda, grandes conocimientos y su tiempo me ha permitido culminar con éxito este trabajo que, desde un principio fue hecho con cariño. A Gabriela Ureña, Técnica Docente del Laboratorio de Óptica gracias a su inmensa paciencia y sabiduría me ayudo a llegar a donde estoy ahora. También quiero agradecer a Andrés Mancheno, docente de la Facultad de Zootecnia, me facilitó implementos necesarios para la realización de este trabajo.

Finalmente quiero agradecer de manera especial a mi madre Glendita, quien me ha ayudado a sobrellevar toda la carrera, y a Dios, quien ha guiado mi camino y me ha dado fuerza para seguir adelante.

*Andrea*

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xiii
RESUMEN.....	xv
SUMARY/ ABSTRACT.....	xvi
INTRODUCCIÓN.....	1

## CAPÍTULO I

<b>1. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>7</b>
<b>1.1. Teoría de las pinzas ópticas.....</b>	<b>7</b>
<b>1.1.1. Estructura básica de la pinza óptica.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1.1.1. Charged Couple Device (CCD).....</b>	<b>10</b>
<b>1.1.2. Utilidad de las pinzas ópticas.....</b>	<b>13</b>
<b>1.1.2.1. Motores moleculares.....</b>	<b>14</b>
<b>1.1.2.2. Escalpelo óptico y clasificación celular.....</b>	<b>15</b>
<b>1.1.2.3. Estiramiento de una molécula de Ácido Desoxirribonucleico (ADN).....</b>	<b>15</b>
<b>1.1.2.4. Optomecánica de cavidades.....</b>	<b>16</b>
<b>1.1.2.5. Estudio de las propiedades mecánicas en glóbulos rojos.....</b>	<b>17</b>
<b>1.1.3. Teoría del atrapamiento óptico.....</b>	<b>17</b>
<b>1.1.4. Fuerzas que actúan sobre la partícula.....</b>	<b>18</b>
<b>1.1.4.1. Fuerzas ópticas.....</b>	<b>19</b>
<b>1.1.4.2. Fuerza scattering.....</b>	<b>20</b>
<b>1.1.4.3. Fuerza gradiente.....</b>	<b>21</b>
<b>1.1.5. Modelos de captura óptica.....</b>	<b>21</b>
<b>1.1.5.1. Régimen de rayos ópticos <math>D \gg \lambda</math>.....</b>	<b>22</b>
<b>1.1.5.2. Régimen de Rayleigh <math>D \ll \lambda</math>.....</b>	<b>24</b>
<b>1.1.5.3. Régimen generalizado de Lorenz- Mie <math>D \approx \lambda</math>.....</b>	<b>25</b>
<b>1.2. Haz.....</b>	<b>25</b>
<b>1.2.1. Breve introducción al haz gaussiano.....</b>	<b>25</b>
<b>1.3. Infrarrojo.....</b>	<b>27</b>
<b>1.3.1. Introducción, origen y fuentes.....</b>	<b>27</b>
<b>1.3.2. Interacción con la materia.....</b>	<b>28</b>

1.3.3.	<i>Demostración teórica interacción radiación materia</i> .....	28
1.4.	<b>Partículas de Sílica</b> .....	32
1.4.1.	<i>Introducción, rasgos e importancia para el estudio en pinzas ópticas</i> .....	32
1.5.	<b>Microorganismos presentes en la orina</b> .....	32
1.5.1.	<i>Introducción, rasgos e importancia para el estudio en pinzas ópticas</i> .....	32
1.5.1.1.	<i>Microorganismos presentes en la orina</i> .....	32
1.5.1.2.	<i>Bacterias</i> .....	34
1.5.1.3.	<i>Hongos</i> .....	35
1.5.1.4.	<i>Parásitos</i> .....	35
1.6.	<b>Gameto bovino</b> .....	36
1.6.1.	<i>Introducción, rasgos e importancia para el estudio en pinzas ópticas</i> .....	36
1.7.	<b>Ovocito bovino</b> .....	37
1.7.1.	<i>Introducción, rasgos e importancia para el estudio en pinzas ópticas</i> .....	37

## CAPÍTULO II

2.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	39
2.1.	<b>Montaje de la pinza óptica</b> .....	39
2.2.	<b>Componentes de la pinza óptica</b> .....	40
2.2.1.	<i>Luz fría blanca y haz láser</i> .....	40
2.2.2.	<i>Régimen de posicionamiento de la muestra</i> .....	41
2.2.3.	<i>Microscopio</i> .....	42
2.2.4.	<i>Algunos componentes adicionales</i> .....	45
2.2.5.	<i>Kit de preparación de muestras para trampa óptica (OTKGTK)</i> .....	46
2.3.	<b>Montaje de la pinza óptica</b> .....	47
2.3.1.	<i>Sección de enfoque y observación</i> .....	50
2.4.	<b>Calibración del haz láser</b> .....	51
2.5.	<b>Preparación de las muestras</b> .....	53
2.5.1.	<i>Preparación de gel de sílica</i> .....	53
2.5.2.	<i>Preparación de microorganismos en sistemas biomoleculares</i> .....	54
2.5.2.1.	<i>Muestra de orina</i> .....	54
2.5.2.2.	<i>Muestra de gameto bovino</i> .....	55
2.6.	<b>Enfoque de las muestras</b> .....	56
2.7.	<b>Manejo de la cámara CCD</b> .....	57

## CAPÍTULO III

<b>3.</b>	<b>MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....</b>	<b>61</b>
<b>3.1.</b>	<b>Interpretación de resultados generales del sistema de pinza óptica .....</b>	<b>61</b>
<b>3.1.1.</b>	<b><i>Primer enfoque de las micropartículas de sílica .....</i></b>	<b>61</b>
<b>3.1.2.</b>	<b><i>Interacción de la pinza óptica con las micropartículas de sílica .....</i></b>	<b>63</b>
<b>3.1.2.1.</b>	<b><i>Láser de <math>\lambda=632,8 \text{ nm}</math> y <math>P= &lt; 1 \text{ mW}</math> .....</i></b>	<b>63</b>
<b>3.1.2.2.</b>	<b><i>Láser de <math>\lambda=650 \text{ nm}</math> y <math>P= 200 \text{ mW}</math> .....</i></b>	<b>65</b>
<b>3.1.3.</b>	<b><i>Atrapamiento óptico sistemas biomoleculares .....</i></b>	<b>66</b>
<b>3.1.3.1.</b>	<b><i>Láser de <math>\lambda=632,8 \text{ nm}</math> y <math>P= &lt; 1 \text{ mW}</math> .....</i></b>	<b>66</b>
<b>3.1.3.2.</b>	<b><i>Láser de <math>\lambda=650 \text{ nm}</math> y <math>P= 200 \text{ mW}</math> .....</i></b>	<b>68</b>
	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>72</b>
	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>73</b>
	<b>GLOSARIO</b>	
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
	<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-2:</b>	Luz fría blanca y haz láser .....	40
<b>Tabla 2-2:</b>	Sistema de Posicionamiento de la Muestra .....	41
<b>Tabla 3-2:</b>	Microscopio .....	42
<b>Tabla 4-2:</b>	Componentes adicionales.....	45
<b>Tabla 5-2:</b>	Contenido del kit de preparación de muestras para trampa óptica .....	47

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b>	Ilustración de pozo de potencial creado por la acción de dos láseres.....	7
<b>Figura 2-1:</b>	Arreglo básico de pinzas ópticas .....	8
<b>Figura 3-1:</b>	Regímenes diferentes para rayos ópticos.....	9
<b>Figura 4-1:</b>	Figura Arreglo estándar de pinza óptica .....	10
<b>Figura 5-1:</b>	CCD para imagen ultravioleta .....	11
<b>Figura 6-1:</b>	Detección y procesamiento de imágenes en un CCD .....	11
<b>Figura 7-1:</b>	Cámara CCD de la pinza óptica.....	13
<b>Figura 8-1:</b>	(a) Esquema de la estructura para la kinesina. (b) Experimento típico con la pinza óptica .....	15
<b>Figura 9-1:</b>	Fuerzas sobre una partícula .....	21
<b>Figura 10-1:</b>	Origen de la fuerza gradiente lateral.....	23
<b>Figura 11-1:</b>	Fuerza de gradiente axial.....	23
<b>Fuerza 12-1:</b>	Fuerza neta resultante .....	24
<b>Figura 13-1:</b>	Propagación de un haz Gaussiano .....	26
<b>Figura 14-1:</b>	Escherichia Coli .....	33
<b>Figura 15-1:</b>	Enterococcus .....	33
<b>Figura 16-1:</b>	Hongo Cándida.....	35
<b>Figura 17-1:</b>	Gameto bovino .....	37
<b>Figura 18-1:</b>	Ovocitos viables .....	38
<b>Figura 19-2:</b>	Contenido del kit de preparación de muestras .....	46
<b>Figura 20-2:</b>	Esquema básico de la pinza óptica utilizada en el Laboratorio de Óptica de la ESPOCH.....	48
<b>Figura 21-2:</b>	Pinza óptica armada en el Laboratorio de Óptica .....	49
<b>Figura 22-2:</b>	Pinza Óptica con láser de 650 nm .....	49
<b>Figura 23-2:</b>	Linterna de luz fría blanca adaptada a la pinza óptica .....	51
<b>Figura 24-2:</b>	Revestimiento SM1CP2 .....	52
<b>Figura 25-2:</b>	Monitoreo de la potencia del haz láser .....	53
<b>Figura 26-2:</b>	Muestra de gel de sílica .....	54
<b>Figura 27-2:</b>	Muestras de orina .....	55
<b>Figura 28-2:</b>	Colocación de la muestra de gameto bovino .....	56
<b>Figura 29-2:</b>	Manipulación de los tornillos .....	57
<b>Figura 30-2:</b>	Interfaz gráfica de ThorCam.....	58
<b>Figura 31-2:</b>	AutoScale de la imagen, ausencia de luz, láser y luz blanca.....	59
<b>Figura 32-2:</b>	Consideraciones de imagen para el software ThorCam .....	59

<b>Figura 33-2:</b>	Enfoque de microesferas de sílica con el haz láser de 633 nm y 650nm .....	60
<b>Figura 34-3:</b>	Primer enfoque de sílica .....	62
<b>Figura 35-3:</b>	Observación de las micropartículas de Sílica .....	62
<b>Figura 36-3:</b>	Enfoque de micropartículas de sílica .....	63
<b>Figura 37-3:</b>	Interacción del láser con las micropartículas de sílica .....	64
<b>Figura 38-3:</b>	Atrapamiento Óptico de las micropartículas de sílica.....	65
<b>Figura 39-3:</b>	Láser de 650 nm con micropartículas de sílica .....	66
<b>Figura 40-3:</b>	Avistamiento de <i>Escherichia coli</i> .....	67
<b>Figura 41-3:</b>	Interacción del láser respecto a microorganismos en orina.....	67
<b>Figura 42-3:</b>	Interacción del láser con gameto bovino .....	68
<b>Figura 43-3:</b>	Interacción del láser con microorganismos en orina .....	69
<b>Figura 44-3:</b>	Atrapamiento de escherichia coli.....	69
<b>Figura 45-3:</b>	Interacción gameto bovino .....	70
<b>Figura 46-3:</b>	Atrapamiento óptico gameto bovino .....	70
<b>Figura 47-3:</b>	Captura óptica de microbacteria de agua estancada.....	71
<b>Figura 48-3:</b>	Captura óptica de gameto humano .....	71

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

**ANEXO A:** MANIPULACIÓN DE LA PINZA ÓPTICA

**ANEXO B:** LÁSER IMPORTADO DE ESTADOS UNIDOS

**ANEXO C:** MUESTRAS Y DESCONGELACIÓN DE GAMETO BOVINO

**ANEXO D:** MONTAJES DE LA PINZA ÓPTICA EN EL LABORATORIO DE ÓPTICA

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

$e^-$	Electrón
$E_{bandgap}$	Energía de la Banda Prohibida
$\epsilon_r$	Constante dieléctrica
$\lambda_{cutoff}$	Longitud de Onda Umbral
$\nabla$	Gradiente
$^{\circ}\text{C}$	Grados Centígrados
<b>ADN</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>ATP</b>	Adenosín Trifosfato
<b>c</b>	Velocidad de la luz en el vacío
<b>CCD</b>	Dispositivo de Carga Acoplada
<b>cm</b>	Centímetro
<b>E</b>	Campo Eléctrico
<b>EPN</b>	Escuela Politécnica Nacional
<b>f</b>	Punto focal
<b>GHz</b>	Giga Hertz
<b>h</b>	Constante de Planck
<b>HCIO</b>	Ácido Oxoclórico (I)
<b>HeNe</b>	Helio Neón
<b>I</b>	Intensidad óptica
<b>IC</b>	Circuito Integrado
<b>INAOE</b>	Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica
<b>IR</b>	Infrarrojo
<b>LMT</b>	Teoría de Lorenz- Mie
<b>m</b>	Metro
<b>mg/mL</b>	Miligramo por mililitro
<b>min</b>	Minuto
<b>mm</b>	Milímetro
<b>MOS</b>	Semiconductor de Óxido Metálico
<b>mW</b>	Mili Watt
<b>N</b>	Newton
<b>P</b>	Potencia
<b>p</b>	Momento
<b>pN</b>	Pico Newton

<b>RDT</b>	Teoría Dipolar de Rayleigh
<b>ROT</b>	Teoría de los Rayos Ópticos
<b>rpm</b>	Revoluciones por minuto
<b>SiO<sub>2</sub></b>	Dióxido de Silicio
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>W</b>	Watt
<b>nm</b>	Nanómetro
<b>μL</b>	Micro Litro
<b>μm</b>	Micrómetro
<b>σ</b>	Constante de Stefan – Boltzmann

## RESUMEN

El objetivo del presente Proyecto Integrador fue estudiar el efecto de la radiación láser de microorganismos en sistemas biomoleculares haciendo uso de la técnica de la pinza óptica en el Laboratorio de Óptica de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Para ello se procedió a realizar el montaje de la pinza óptica reconociendo y describiendo los diferentes elementos que lo conformaban, haciendo hincapié en la sección de enfoque y observación. Se usó láseres de 633 y 650 nanómetros ubicados en el Infrarrojo cercano para no perturbar a la muestra. Cuando el sistema de la pinza óptica se encontraba calibrado correctamente, se procedió a estudiar el uso del software ThorCam que se encontraba conectado a la cámara CCD (Dispositivo de Carga Acoplada). Se procedió a realizar la toma de muestras de sistemas biomoleculares como la orina y el gameto bovino, además, se identificó el Régimen de los Rayos Ópticos para realizar la captura óptica en las diferentes muestras. Como resultado, se obtuvo un atrapamiento débil para el láser de 633 nanómetros para las microesferas de sílica y los diferentes sistemas biomoléculas, y con el láser de 650 nanómetros se obtuvo un atrapamiento mucho más estable en todos los sistemas dado a su potencial, que, en la salida del objetivo era mayor en comparación con el primer láser. Se concluye que la captura óptica de microorganismos es un sistema viable que se lo puede desarrollar en los laboratorios de la institución, haciendo uso de un láser adecuado. Se recomienda utilizar un láser con una potencia mayor a 100 miliwatts para obtener resultados favorables.

**Palabras clave:** <FÍSICA>, <PINZA ÓPTICA>, <MICROORGANISMOS>, <INTERACCIÓN RADIACIÓN MATERIA>, <SISTEMAS BIOMOLECULARES>, <LÁSER>, <RADIACIÓN LÁSER>, <HAZ GAUSSIANO>.



## ABSTRACT

The objective of the present Integrator Project was to study the effect of laser radiation from microorganisms on biomolecular systems using the optical tweezers technique in the Optics Laboratory of the Faculty of Science of the Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. To this end, we proceeded to assemble the optical tweezers, recognising, and describing the different elements that make it up, with emphasis on the focusing and observation section. We used 633 and 650 nanometre lasers located in the near infrared so as not to disturb the sample. When the optical tweezer system was correctly calibrated, we proceeded to study the use of the ThorCam software connected to the CCD (Charge Coupled Device) camera. Samples of biomolecular systems such as urine and bovine gamete were taken, and the Optical Ray Regime was identified to perform the optical capture in the different samples. As a result, weak trapping was obtained for the 633-nanometre laser for silica microspheres and the different biomolecular systems, and with the 650-nanometre laser a much more stable trapping was obtained in all systems due to its potential, which, at the target output, was higher compared to the first laser. It is concluded that the optical trapping of microorganisms is a viable system that can be developed in the laboratories of the institution, making use of a suitable laser. It is recommended to use a laser with a power greater than 100 milliwatts to obtain favourable results.

**Keywords:** <PHYSICS>, <OPTICAL PINCE>, <MICROORGANISMS>, <INTERACTION RADIATION MATTER>, <BIOMOLECULAR SYSTEMS>, <LASER>, <RADIATION LASER>, <GAUSSIAN BEAM>.



## INTRODUCCIÓN

En el año de 1970, Arthur Ashkin había desarrollado un experimento que le permitió medir la presión de radiación que es ejercida por un haz láser, gracias a sus estudios se constató que dicha presión era capaz de dar aceleración a las partículas en la dirección del haz, además, Ashkin fue capaz de observar que hacia el centro del haz eran atraídas las partículas en dirección transversal. El descubrimiento de Ashkin marcó el comienzo del atrapamiento óptico, tiempo después se desarrolló una trampa óptica mucho más estable la cual permitía atrapar partículas en tres dimensiones espaciales haciendo uso de un solo haz láser, este tipo de trampa se lo denominó “Pinza Óptica”, la pinza consta de un haz láser enfocado que permite atrapar y manipular micropartículas dieléctricas que se encuentran en un medio.

El Laboratorio de Óptica situado en la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo cuenta con la Pinza Óptica, sin embargo, gracias a la mínima aplicabilidad que se le puede dar a la óptica y en especial a este aparato, se requiere un amplio conocimiento para poder ajustar una metodología que sea adecuada para el atrapamiento óptico o micro manipulación. Aun así, gracias a un estudio previo sobre las micropartículas de sílica y microbacterias, y con la revisión extensa de bibliografías se presenta un estudio basado en sistemas biomoleculares como microorganismos presentes en orina y gameto bovino, con el fin de estudiar y caracterizar su comportamiento con la pinza óptica.

La pinza óptica o también conocida como trampa óptica ha abierto un gran campo de investigación en diferentes áreas donde se puede destacar la física relacionada con la biología, la microbiología, biofísica, biotecnología, medicina reproductiva y biología celular y molecular. Además, se usa en investigaciones básicas en la óptica para poder determinar propiedades físicas de diferentes tipos de haces, estudios de coloides y sistemas complejos (Padilla, 2009, p. 2).

Se sabe que la luz transporta energía y momento. Sin embargo, cuando la luz golpea cierto objeto, esta colisión da origen a una fuerza sobre el objeto. Esta fuerza se la conoce como “Presión de Radiación”, se podría decir que es la fuerza mecánica que ejerce la luz cuando esta interactúa con un medio o material ya sea vivo o inerte, esto permite ejercer cierta presión en objetos o partículas muy pequeñas, es por ello que la pinza óptica utiliza este principio de la presión de radiación.

Al ser un proceso físico – óptico es muy importante conocer las condiciones bajo las cuales se puede almacenar las muestras que se va a estudiar. El presente Proyecto Integrador colaborará con valiosos conocimientos haciendo uso de la metodología que se empleó de manera correcta al momento de usar y calibrar la trampa óptica ubicada en el Laboratorio de Óptica, aun habiendo un proyecto previo es necesario seguir con una continuidad del uso de este equipo ya que aún se pueden hacer investigaciones sobre propiedades de células, estudios en física óptica para la caracterización de un haz láser.

Con el estudio de la pinza óptica se pretende estudiar y comprender el principio físico de la interacción radiación materia, caracterizar a los sistemas biomoleculares para poder estudiarlos de mejor manera y además poder revisar el comportamiento físico del láser a través del estudio de la ecuación del haz gaussiano.

Para el Capítulo I, Marco Teórico, abarca la teoría de las pinzas ópticas, su estructura utilizada y la más común, la utilidad o aplicaciones que se puede encontrar con las pinzas, teoría del atrapamiento óptico, las fuerzas que actúan sobre la partícula para poder realizar la captura óptica, además una breve descripción del haz gaussiano y el infrarrojo para poder enfatizar la demostración de la interacción radiación materia, y los diferentes sistemas biomoleculares utilizados en este proyecto como la orina y el gameto bovino.

En el Capítulo II, Marco Metodológico, consta de la descripción de cómo se va a llevar a cabo este proyecto, indicando los procedimientos para la calibración y montaje de la pinza óptica, además se detallan los materiales y elementos utilizados, la preparación y enfoque de las diferentes muestras y el uso del software Thorlabs para procesar los datos y la información obtenida en la pantalla.

Finalmente se tiene el Capítulo III, Marco de análisis e interpretación de resultados, aquí se va a observar los efectos que tiene el haz láser sobre las diferentes muestras en sistemas biomoleculares, observando con la cámara CCD y proyectada en la pantalla de un computador.

## ANTECEDENTES

De acuerdo con Malacara (2015, p. 24), uno de los contactos más importantes que se ha tenido con el mundo exterior se logra mediante el sentido de la vista; quizá esto podría explicar la razón de que la óptica ha sido una de las ramas más antiguas de la ciencia. Mucho antes de que existieran algunos estudios de fenómenos ópticos ya se comenzaron a realizar espejos y lentes para el uso cotidiano de las personas, como el de maximizar la visión, usado también por mujeres para observar su rostro desde la época egipcia (1900 a. C.), esto se comprobó al encontrar un espejo cerca de la pirámide de Jajeperra Senusert. La primera evocación al fenómeno de la refracción se encuentra en libros hechos por Platón República. Para el año 300 a. C. Euclides en su libro titulado *Catóptrica* estableció por primera vez la conocida ley de reflexión y, además, algunas propiedades de los espejos esféricos.

Durante la Edad Media, la óptica, tuvo un decaimiento de avances. Fue durante el Renacimiento que se pudo observar que la óptica tuvo un gran progreso con uno de los primeros telescopios que presuntamente fue construido por Zacharias Jansen (1588-1638) en Países Bajos en 1604, cinco años después Galileo Galilei (1564-1642) construye el primer telescopio con una calidad bastante buena, el cual tenían una amplificación aproximadamente de treinta. Para 1672 sir Isaac Newton (1642-1727) publica un documento científico en el cual se describe sus experimentos con el fenómeno de dispersión cromática de la luz en los prismas, además, comprobó que se puede obtener luz blanca mediante la superposición de todos los demás colores. Es aquí donde Newton pensó que la luz estaba formada por corpúsculos con diferentes velocidades y tamaños, las cuales podían inducir vibraciones en el éter. Max Planck (1858-1947) supone que la energía del cuerpo negro podía emitirse solo de manera discreta, es decir, en pequeños paquetes de energía. Posterior al descubrimiento de las leyes de radiación del cuerpo negro y el efecto fotoeléctrico se considera a la luz como corpúsculo, para el año 1905 Albert Einstein introduce el concepto de luz o de fotón, al explicar el efecto fotoeléctrico de la luz (Malacara, 2015, pp. 25-26).

Las diferentes teorías sobre la naturaleza de la luz en esa época fueron bastante conflictivas dado que algunos científicos consideraban a la luz como una onda y otros lo consideraban como corpúsculos. En 1924 el conocido Louis de Broglie (1892-1986) explicó que las ondas y los corpúsculos eran en realidad dos puntos diferentes de vista de una misma cosa, entonces, si fotones aparecían algunas veces como ondas y otras veces como corpúsculos, haciendo una analogía, los electrones también se comportarían de esa manera, bajo ciertas circunstancias. Veinticuatro años después Dennis Gabor (1900-1981) en Inglaterra inventa los conocidos hologramas, que más tarde, al inventarse el láser, fueron mejorados por Emmett Leith y Juris Upatnieks. Para el año de 1950 se descubren los principios físicos fundamentales para el láser de rubí. Es aquí donde nos damos cuenta que el láser ha ampliado de manera repentina y enormemente los horizontes que tiene la rama de la óptica (Malacara, 2016, p. 28).

Una de las primeras observaciones sobre trampas ópticas surgió para el año de 1970 en los laboratorios Bell, cuando Arthur Ashkin planteó la posibilidad de atrapar micropartículas de forma estable haciendo uso de la presión de radiación. Los experimentos los había realizado con un láser de Helio- Neón con una potencia de décimas de mili watts y con un microscopio de potencia baja para observar el confinamiento de las partículas de látex que estaban diluidas en agua que se encontraban comprendidas en una celda de vidrio. Cuando enfoco el láser sobre las partículas, estas comenzaron a moverse a diferentes velocidades dadas por la Ley de Stokes, posteriormente, reemplazó el microscopio por un segundo haz y enfocó una dirección de manera contrapuesta al primer haz de luz, de esta manera pudo trasladar la partícula a otro punto, generando así una fuerza restauradora que retornó a la partícula al punto de equilibrio, de esta manera pudo hacer una captura en 3 dimensiones y se dio origen a las Pinzas Ópticas (Ashkin, 1970, p. 156).

En la actualidad los láseres son usados en todas partes, por ejemplo, en lectura de videodiscos, en cortes del acero en las fábricas, la lectura de las etiquetas en los supermercados y en diferentes quirófanos de hospitales. Miles y millones de sistemas ópticos para visualización de relojes, calculadoras y computadoras resplandecen en todo el mundo. El uso constante en los últimos cien años, de señales eléctricas para diferentes tratamientos y transmisión de datos ha dado paso de manera rápida a técnicas ópticas mucho más eficaces. Los diferentes conceptos profundos surgen con bastante lentitud, se podría decir que es muy poco lo que se ha logrado en tres mil años en el estudio de la óptica a pesar de que, con las nuevas tecnologías, esto se acelera cada vez más. Se podría decir que con el pasar de años, hay una pregunta que no está del todo respondida aun, ¿qué es la luz?

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Uno de los principales problemas que hay en la carrera de física es la mínima aplicabilidad que se le puede dar a una de las líneas de investigación en esta rama, la cual es la óptica aplicada. Mediante las diferentes aplicaciones en esta área se pretende hacer un Proyecto Integrador mediante el uso de la pinza óptica, que, en estos últimos años ha tenido un gran auge en la ciencia, donde ha permitido hacer nuevas investigaciones y avances científicos en la biología, química, y en especial la física. Como es un instrumento novedoso, sus aplicaciones aún están por descubrirse y en un futuro no muy lejano se puede decir que ayudará de mejor manera a revelar aspectos importantes de sistemas biomoleculares y conocer su comportamiento, gracias a la naturaleza no invasiva de las Pinzas Ópticas y su propiedad de confinamiento en donde se focaliza el láser, permite transportar y manipular elementos de tamaño nanométrico, siendo el primero una de las propiedades más importantes de este tipo de estudios, permitiendo así desarrollar los procesos de manera natural.

Este tipo de Proyecto Integrador abarca varias complejidades como es la calibración y el ensamble de la Pinza Óptica que se encuentra en el Laboratorio de Óptica de la ESPOCH, se hizo un primer estudio a nivel local, y existe una falta de recursos bibliográficos necesarios para este proyecto, sin embargo se tiene algunas referencias de estudios desarrollados en Ecuador en la Escuela Politécnica Nacional (EPN) y también información a nivel Internacional, en específico del Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica de México (INAOE), con ayuda de dichos estudios se genera una gran oportunidad para poder desarrollar el Proyecto Integrador que se quiere fomentar en la Institución como ayuda a futuros físicos.

El laboratorio de Óptica que se encuentra en la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo cuenta con una Pinza Óptica que ha sido utilizada para realizar prácticas sobre la interacción radiación- materia, el interés sobre estudios en óptica se verán luego aplicados en varios campos de la ciencia como ya se reportan en diferentes artículos científicos. Se ha desarrollado un primer trabajo experimental usando la técnica de pinza óptica en micropartículas de sílica y microbacterias en el cual se ha obtenido resultados favorables, con este tema de Trabajo de Integración Curricular se pretende explorar los microorganismos en sistemas biomoleculares que también se ha explorado en investigaciones ya publicadas y de esta manera se pretende explorar en este nuevo campo que aporte a la óptica.

## **FORMULACIÓN**

¿La técnica de pinza óptica del laboratorio de óptica de la Facultad de Ciencias ESPOCH es útil para estudiar con radiación láser los microorganismos en sistemas biomoleculares?

## **JUSTIFICACIÓN**

La Pinza Óptica es un instrumento que con la ayuda de un haz láser altamente enfocado puede capturar y manipular objetos micrométricos y submicrométricos. Desde la primera observación de captura con presión de radiación, se abrió un nuevo campo de investigación en diferentes áreas, en donde se pueden destacar la física relacionada con la biología y la microbiología. También conocida como Trampa Óptica, ha sido utilizada en una variedad de campos interdisciplinarios y su uso se está expandiendo de manera feroz (Ashkin, 1970, p. 156).

Este Proyecto Integrador se desarrolló en el laboratorio de óptica de la Facultad de Ciencias, permitió estudiar microorganismos presentes en sistemas biomoleculares como orina y gameto bovino, donde se pudo visualizar el movimiento de los microorganismos presentes en estos sistemas y caracterizarlos. Además, con la técnica de pinza óptica se pudo capturar, manipular e interaccionar microorganismos.

El atrapamiento óptico, consiste en la captura y manipulación de micropartículas a través de un haz láser (o haces) a pesar de la aparente simplicidad de la pinza óptica, es muy utilizada en amplios campos de la ciencia, estimaciones exactas de las fuerzas que actúan sobre la partícula localizada en algún tipo de haz (como el haz Gaussiano) son meramente difíciles. La dificultad se hace mayor ya que al usarse micropartículas, se hace más complicado crear una teoría general que pueda explicar cómo operan. Esto se ha vuelto de gran interés debido a su relevancia en áreas como física, química, procesos biológicos. (Ricardez, 2007, p. 16).

Una vez realizado el primer trabajo con la pinza óptica se continuó con el uso y el análisis de microorganismos luego de contar ya con los análisis preliminares en micropartículas de sílica y microbacterias de agua sucia, por ello se enfocó el estudio en sistemas biomoleculares. Al ser este un proceso físico-óptico fue importante conocer las condiciones bajo las cuales se puede almacenar las muestras estudiadas, de esta manera se presentó un procedimiento estandarizado para que pueda ser aplicado satisfactoriamente en el Laboratorio de Óptica.

El presente Proyecto Integrador se consideró viable mediante la selección de fuentes bibliográficas específicas y especializadas, además utilizando el Laboratorio de la Facultad de Ciencias juntamente con la pinza óptica. El resultado de este estudio benefició a la Facultad de Ciencias y a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por ser un tema de interés como estudiante de la Carrera de Física para lo cual se abordaron los objetivos de manera eficiente y eficaz.

## **OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **OBJETIVO GENERAL**

- Estudiar la radiación láser de microorganismos en sistemas biomoleculares mediante la técnica de pinza óptica en el laboratorio de la Facultad de Ciencias – ESPOCH.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Estudiar y comprender el principio físico de la interacción radiación materia a través de la demostración matemática de la ecuación física.
- Revisar el comportamiento físico del láser a través del estudio de la ecuación del haz gaussiano.
- Estudiar orina como sistema biomolecular utilizando la pinza óptica para determinar la presencia de microorganismos.
- Estudiar el gameto bovino a través del láser de la pinza óptica para caracterizarlo.

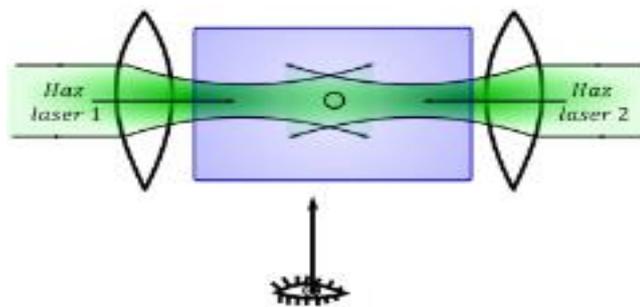
## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1. Teoría de las Pinzas Ópticas

En el área de la física atómica, Arthur Ashkin en sus primeros trabajos abre la posibilidad de utilizar la presión de radiación en átomos neutros, donde además propone una forma de frenado; dicha técnica consistía en dos láseres, uno frente al otro como se observa la Figura 1-1, para el año de 1997 Steven Chu y algunos colaboradores obtienen el premio nobel de física por su trabajo en el enfriamiento de átomos haciendo uso de luz láser, siendo este el primer confinamiento estable de átomos en 3D (Páez, 2015, p.4). Por lo que en la actualidad se conoce como pinzas ópticas, trampas ópticas o trampas de gradiente de un solo haz, la pinza óptica utiliza un láser focalizado que suministra una fuerza en pN donde se puede atrapar y mover de tal manera a los objetos microscópicos que, posteriormente se los transporta hacia el foco del láser (Ricardez, 2007, p. 15).

La pinza óptica es muy sensible capaz de detectar movimientos en partículas dieléctricas a graduaciones subnanométricas, además se puede adaptar a la pinza óptica como una herramienta capaz de medir fuerzas, distancias, bajo la consideración de que la fuerza producida por una pinza óptica va a depender del cambio de momento del haz, mientras mayor sea este cambio, más fuerza tendrá la trampa. En la actualidad se ha expandido la técnica de captura óptica para poder manipular varias partículas micrométricas simultáneamente (Páez, 2015, p.4).

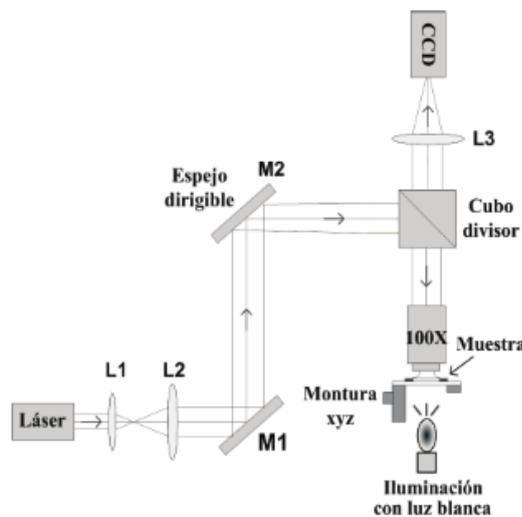


**Figura 1-1.** Ilustración de pozo de potencial creado por la acción de dos láseres

Fuente: Páez, 2015, p.3.

A pesar de que todavía no se tiene una idea clara de todo lo que puede englobar la pinza óptica, esta se basa en la utilización de la fuerza que se debe a la presión de radiación la cual ejerce un haz de luz que se encuentra enfocado con cierta fuerza donde confina a las partículas micrométricas. Dicho confinamiento se logra haciendo uso de un objetivo de microscopio. Una vez que la partícula es atrapada, se puede manipular su ubicación dentro de la muestra haciendo

ciertos cambios en la forma por la cual ingresa el haz láser al objetivo, o también moviendo la muestra del centro del haz. En la Figura 2-1 se describe el arreglo básico de las pinzas ópticas con un solo haz. Según Butt et al. (2018, p. 26), menciona que las trampas ópticas están basadas en la propuesta de que una partícula que se coloca en el foco del láser colimador va a sentir distintas fuerzas: Fuerza de dispersión y fuerza gradiente. La fuerza de dispersión habla sobre la dirección de propagación de la luz y que es proporcional a la intensidad de la luz. Cuando se menciona la fuerza gradiente, para una partícula dieléctrica que tiene índices de refracción diferentes, la fuerza se dirige hacia la parte que contenga la mayor intensidad de luz (punto focal) y, además, es directamente proporcional al gradiente de la intensidad. De esta manera, la partícula quedara atrapada cerca del punto focal si es que la fuerza del gradiente es lo suficientemente grande (Ulloa y Llano, 2021: p. 9).



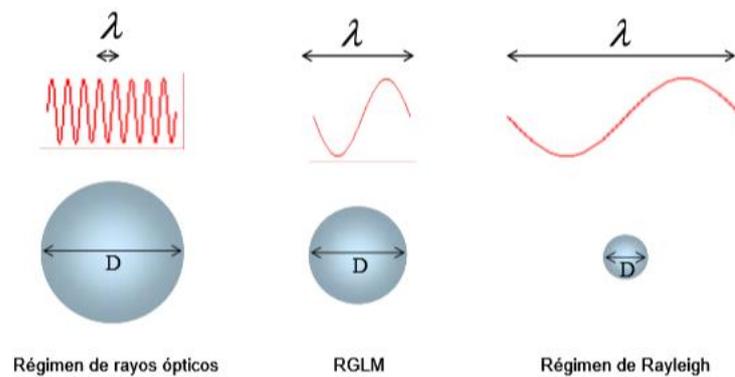
**Figura 2-1.** Arreglo básico de pinzas ópticas

Fuente: Ricardez et al., 2008: p.28.

Es muy importante tomar en cuenta la correcta elección de la longitud de onda con la que se va a generar una trampa óptica. Cuando se utilizan longitudes de onda en el infrarrojo (IR) de 800 a 1200  $\eta\text{m}$  se puede minimizar la absorción de la muestra, de esta manera se produce menos daño y proporciona el aumento del tiempo de estudio de la muestra (Ramírez, 2018, p. 6).

Como la pinza óptica hace uso de las fuerzas de presión de radiación y que no es más que la fuerza que ejerce la radiación electromagnética sobre una superficie, se puede modelar el comportamiento de las fuerzas ópticas mediante tres clases de métodos; el primero denominado “Métodos Aproximados” requieren suposiciones y aproximaciones que pueden llegar a simplificar los cálculos de las fuerzas, pero validos bajo ciertas condiciones, aquí se hace mención a la “Teoría Dipolar de Rayleigh (RDT)”, se usa cuando las extensiones de la partícula son mucho menores que la longitud de onda del haz láser, este método acerca el comportamiento de la esfera

y la luz de captura al de un dipolo puntual en un campo electromagnético o también llamado Régimen de Rayleigh. El segundo método “Teoría de los Rayos Ópticos (ROT)” usado cuando las dimensiones de las partículas son mucho más grandes que la longitud de onda del haz láser, también es conocido como Régimen de Mie. Otro de los métodos es “Aproximaciones Computacionales”, las cuales usan herramientas computacionales para realizar los cálculos y usan aproximaciones para el cálculo de fuerzas, por ejemplo, la “Teoría de Lorenz- Mie (LMT)”, define la interacción entre esfera y una onda plana, sin embargo, es incapaz de describir la presión de radiación que ejercen los diferentes haces. Una extensión de la última teoría es la Teoría Generalizada de Lorenz- Mie (Figura 3-1) al usar las ecuaciones de Maxwell provee una solución completa sobre la superficie de la partícula, para el cálculo fuerzas ópticas (Páez, 2015, pp. 6-7).



**Figura 3-1.** Regímenes diferentes para rayos ópticos

Fuente: Ricardez, 2007, p. 17.

En general, se puede escribir la fuerza gradiente,  $F_G$  para una partícula de radio  $r_p$  como muestra la ecuación 1.1:

$$F_G = \frac{2\pi n_m r_p^3}{c} \cdot \left[ \frac{(n_p/n_m)^2 - 1}{(n_p/n_m)^2 + 1} \right] \nabla I \tag{1.1}$$

donde  $n_p$  es el índice de refracción de la partícula y  $n_m$  es el índice de refracción del medio.

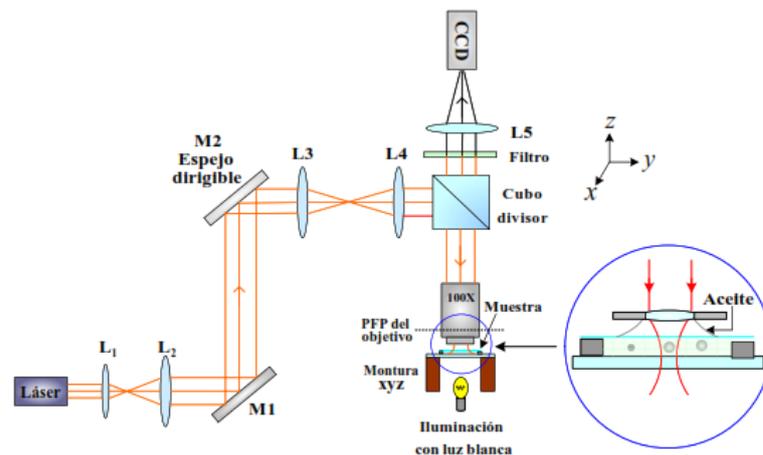
La fuerza de dispersión,  $F_S$ , como:

$$F_S = \frac{128\pi^5 n_m r_p^6}{3c\lambda^4} \cdot \left[ \frac{(n_p/n_m)^2 - 1}{(n_p/n_m)^2 + 2} \right]^2 \mathbf{I} \tag{2.1}$$

donde  $I$  es la intensidad óptica del haz incidente y  $c$  es la velocidad de la luz.

### 1.1.1. Estructura básica de la pinza óptica

La estructura típica para el confinamiento y la manipulación de micropartículas se puede ver esquematizada en la Figura 4-1. Los elementos con más relevancia en una pinza óptica básica son: Láser de color rojo (633-640 nm), espejos móviles, lentes focalizadores, filtro pasa alto (depende de la longitud de onda del haz láser), cubo divisor, cámara CCD, linterna de luz fría blanca, objetivos de microscopio de 65 o 40X, aceite de inmersión, cubre o porta objetos, y la muestra sintética o microbacteriana.



**Figura 4-1.** Figura Arreglo estándar de pinza óptica

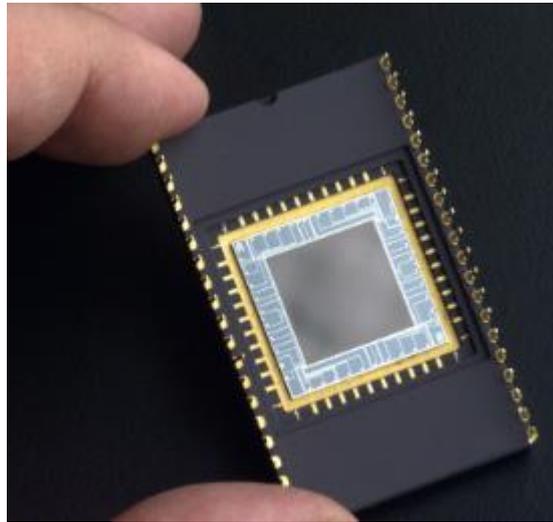
Fuente: Ricardez, 2007, p.40.

El par de espejos M1 y M2 ayudan a controlar la dirección del haz, el cual consecutivamente es desviado hacia el objeto de microscopio de 100X (de inmersión en aceite) mediante el cubo divisor. Mediante esto se puede lograr tener un haz fuertemente enfocado sobre la muestra, la misma que reposa en una montura con desplazamiento en xyz. La observación del confinamiento óptico se lo realiza mediante una cámara CCD cuando la muestra es iluminada con una lámpara convencional de luz blanca. El filtro que se encuentra sobre el cubo divisor sirve para bloquear la luz láser reflejada por dicho cubo ya que este satura la cámara. La lente L5 nos permite enfocar la imagen de la escena a la CCD. La muestra es llevada al centro de la trampa con un desplazamiento en dirección z, de esta manera se atrapan a las microesferas en 3D como menciona la teoría (Ricardez et al., 2008: pp. 27-28).

#### 1.1.1.1. Charged Couple Device (CCD)

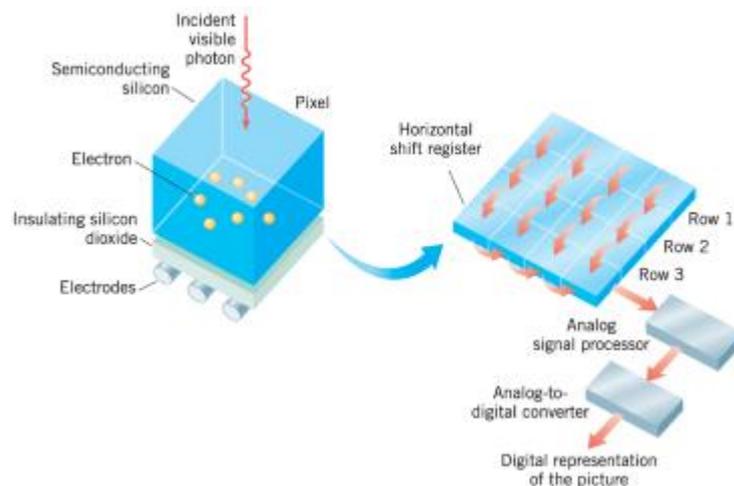
Los CCD (Dispositivos Acoplados de carga) son un tipo de detector semiconductor multipixel, fue inventado en el año de 1969 en los laboratorios AT&T Bell por Willard Boyle y George E. Smith, es una matriz plana de condensadores de semiconductores de óxido de metal que están

grabados en una superficie semiconductor (típicamente de silicio), formando así un circuito integrado (IC) con elementos de luz sensible, con cada elemento que es representado como un componente de imagen o un píxel. La Figura 5-1 muestra un CCD desarrollado para aplicaciones de imágenes de luz ultravioleta (UV). La Figura 6-1 demuestra cómo se detectan y procesan los cuantos de luz en un CCD, donde las cargas generadas se transforman en energía eléctrica, representada por voltajes, un pixel tras otro a medida que se reciben un registro de desplazamiento horizontal (Alfaraj, 2017, p. 1).



**Figura 5-1.** CCD para imagen ultravioleta

Fuente: Alfaraj, 2017, p. 1.



**Figura 6-1.** Detección y procesamiento de imágenes en un CCD

Fuente: Alfaraj, 2017, p. 2.

Para poder observar las imágenes, las cámaras CCD tienen cierta estructura para la detección de fotones, los detectores de silicio son sensibles a los fotones de longitudes de onda en las que se pueden crear electrones a través del efecto fotoeléctrico. Este fenómeno ocurre cuando la energía

que lleva el fotón  $E_\lambda$  de la  $\lambda_{cutoff}$  es mayor que la banda prohibida del silicio, donde es posible excitar un electrón desde la banda de valencia hasta la de conducción (Ulloa y Llano, 2021: p. 12).

$$E_\lambda = \frac{hc}{\lambda} > E_{bandgap}$$

3.1

En la ecuación 3.1  $h$  es la constante de Planck y  $c$  es la velocidad de la luz en el vacío. Para el silicio la  $E_{bandgap} = 1.1 eV$ , y  $\lambda_{cutoff} = \frac{hc}{1.1eV} = 1.12\mu m$ . Los detectores de silicio, por tanto, son excelentes detectores para casi todas las longitudes de onda que están por debajo de  $\approx 1\mu m$  en la región del infrarrojo cercano (IR) (Durini, 2019, pp. 75-76).

Los CCDs al comienzo fueron creados como dispositivos de memoria en la cual la cantidad que expresaba un bit de información era la carga en cada uno de los pixeles. Cada uno de los pixeles tenía un comportamiento igual al de un capacitor MOS (Metal Oxide Semiconductor) en la región de vaciamiento se almacenada el paquete de carga. Además, los capacitores son construidos cerca unos de otros de tal forma que posibilitan el movimiento de carga entre sí, por ende, permite leer la información secuencialmente mediante un punto de lectura.

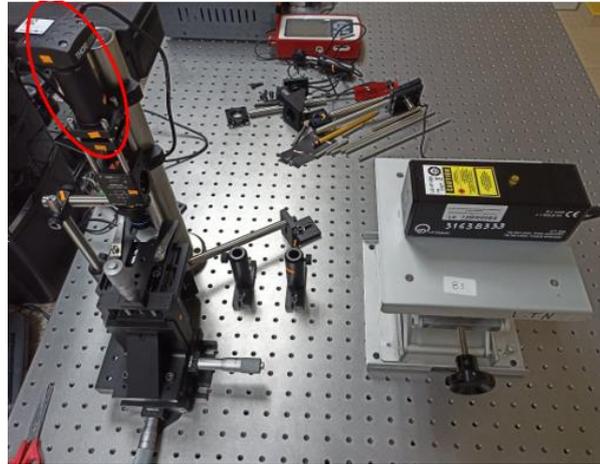
La tecnología de los Dispositivos Acoplados de Carga tiene características de funcionamiento que hoy en día aun permiten que sea el dispositivo líder en toma de imágenes con una baja distorsión dentro del espectro de luz visible. Se pueden destacar características como que pueden resaltar el bajo umbral en la detección de señales muy débiles y en el proceso de medición el bajo nivel de ruido que es adicionado a este. Todo esto se debe a una menor incidencia de las mayores fuentes de error como corriente oscura, alto rendimiento de transferencia de carga y bajo error en la lectura. Además, el gran uso que se le da al silicio como material semiconductor en estas últimas décadas ha permitido disponer de procesos de fabricación y calidad de los CCD de un alto rendimiento (Fernández, 2015, pp.5-7).

El CCD detecta imágenes que constan de una matriz contenida de pixeles los cuales producen pozos de potencial mediante ciertas señales digitales que se utilizan para almacenar y transportar bultos de carga, los paquetes de carga estarían formados de electrones que son generados por la energía fotoeléctrica de fotones que inciden o también de señal oscura. La electrónica que contiene una computadora puede convertir la secuencia de salida de voltaje en imágenes digitales bidimensionales en 2-dimensiones. (Ulloa y Llano, 2021: p. 13).

Se tienen arreglos básicos de CCD de dos, tres y cuatro fases, y también hay dispositivos monofásicos, por ejemplo, un dispositivo trifásico necesita de tres conexiones eléctricas diferentes para cambiar en cada posición, un CCD trifásico tiene fases separadas por 1/3 del tamaño del pixel. Las dimensiones características de pixeles del CCD varían de 2 a 30  $\mu m$  (Durini, 2019, p. 77).

Los CCD están divididos en matrices como matrices lineales y las matrices de área. Las matrices lineales constan por pocas columnas de pixeles que son sensibles a la luz, por otra parte, las

matrices de área consisten de una matriz de 2 dimensiones de pixeles sensibles a la luz. Además, los arreglos lineales suelen ser menos costosos y de lectura rápida mientras que los arreglos de área son mucho más comunes para científicos, imagenología de alta gama. En la Figura 7-1. se observa la cámara CCD que se acopla al arreglo de la pinza óptica que se utiliza en este Proyecto Integrador, esta cámara es conectada a un computador para poder observar la muestra que se encuentra en el porta y cubreobjetos, además, es una cámara altamente sensible por lo que se la debe manejar con mucho cuidado (Ulloa y Llano, 2021: p. 14).



**Figura 7-1.** Cámara CCD de la pinza óptica

Realizado por: Flores Sánchez, Andrea, 2021.

### ***1.1.2. Utilidad de las pinzas ópticas***

Las diferentes aplicaciones que tienen las pinzas ópticas han tenido un gran crecimiento en la ciencia, como en biofísica, biotecnología, medicina reproductiva, medicina general, biología, donde se ha podido realizar exitosamente la manipulación de una molécula. Actualmente cuenta con un gran campo de aplicaciones en ciencias biológicas donde se perfilan como una herramienta de trabajo para poder estudiar tejidos tales como los organelos de una célula, las diferentes moléculas de un virus o también el mecanismo de transporte de una enzima, tanto así que para la comunidad médica es una tecnología de alta precisión y de mínima invasión, útil en microcirugía y en la aplicación de métodos de reproducción asistida. En el caso de manipulación de material orgánico, como por ejemplo una célula, se debe utilizar láseres que emiten en el IR, esto con longitud de onda de 1064 nm.

A nivel mundial se está trabajando en desarrollar nuevas técnicas de manipulación que sean más eficientes facilitando las aplicaciones y permitiendo un mayor control en los métodos que se llevan con la captura múltiple. Además, se está trabajando en el desarrollo experimental de pinzas nanométricas para poder lograr la manipulación de objetos biológicos más pequeños tales como

virus, bacterias, moléculas, ADN, etc.; los cuales son de este orden de magnitud (Ricardez et al., 2008: pp, 28-29).

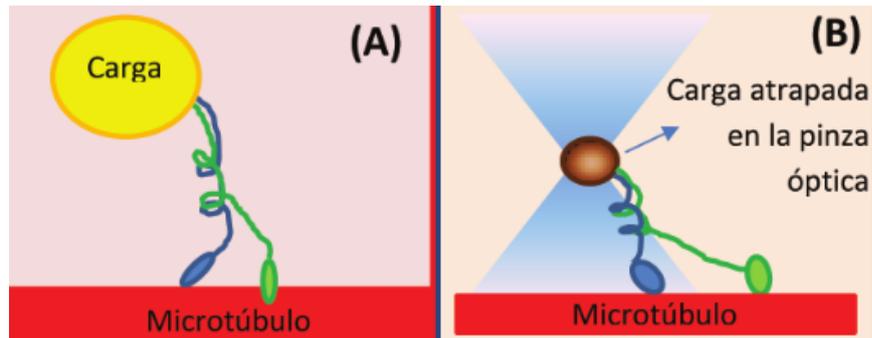
En ciertas aplicaciones que tiene la pinza óptica, la mayor parte de veces se debe atrapar o capturar una microesfera, la cual se encuentra inmersa al sistema que se requiere estudiar. Las esferas utilizadas son de materiales como poliestireno o sílice, o también recubiertas de ácido carboxilo, aminos o algunas proteínas. Dentro también de las aplicaciones se puede encontrar el estudio de plegamiento de macromoléculas, donde los extremos de la molécula se unen a dos esferas derivatizadas con “manijas” de ADN, donde las propiedades mecánicas han sido extensamente estudiadas; estudio de los motores moléculas en la biología, estudio de biomembranas, entre otras aplicaciones más. (Wilke, 2013, p. 3).

También los biólogos toman delantera con el uso de las pinzas ópticas para realizar la medición del rendimiento de colas de bacterias, las diferentes fuerzas ejercidas por un motor proteínico y también el alargamiento de moléculas de ADN, además, ha sido combinado con un láser adicional con el cual se forman tijeras ópticas.

En síntesis, solo algunas aplicaciones no biológicas han sido exploradas a profundidad. La fuerza de esparcimiento, la fuerza gradiente o la transferencia de momento angular han sido postuladas como medios para el manejo de micro máquinas. Otra de las áreas en la cual las pinzas ópticas no han sido estudiadas con esmero es en el ensamble de micro máquinas o micro estructuras como los cristales fotónicos (Padilla, 2009, pp. 4-5).

#### *1.1.2.1. Motores Moleculares*

Los Motores Moleculares son máquinas que se encuentran formadas por pocas moléculas, son capaces de realizar trabajo a partir de otro tipo de energía. Los más estudiados son las kinesinas, encargadas de transportar cargas a lo largo de una célula, moviéndose así sobre un tipo de riel que se llama microtúbulo. Dicho transporte se lo realiza a costa de energía química que se acumula en el organismo. En la Figura 8-1 se muestra un esquema estructural propuesta para la kinesina, donde se aplican las pinzas ópticas. La pinza óptica captura a la carga, gracias a esto se mide la fuerza que la kinesina realiza cuando se desplaza por el microtúbulo. Al mismo tiempo, se determina la distancia donde la carga es capaz de atravesar utilizando energía química.



**Figura 8-1.** (a) Esquema de la estructura para la kinesina. (b) Experimento típico con la pinza óptica

Fuente: Wilke, 2016, p. 27.

Los motores moleculares son estudiados en biología y son responsables del transporte dentro de la célula. Mediante el uso de las pinzas ópticas se puede observar la dinámica y la fuerza a escala nanométrica de los motores moleculares (Wilke, 2016, p. 27).

#### 1.1.2.2. Escalpelo óptico y clasificación celular

Una de las aplicaciones más interesantes que existe es el uso combinado de la pinza óptica con lo que se conoce como escalpelo óptico para ejecutar fertilización in vitro. El escalpelo óptico se basa en enviar pulsos cortos y controlados de luz láser con alta energía y con longitud de onda en el ultravioleta (menor a  $0.40 \mu\text{m}$ ) donde se hace un orificio dentro del óvulo para así proporcionar la entrada del gameto, el espermatozoide también es movido con la pinza hasta el óvulo, para finalmente realizar la fertilización. El escalpelo óptico también permite aislar células individuales de un tejido que se encuentra sano o enfermo para poder estudiar las diferencias a nivel molecular (Ramírez, 2018, p. 3).

Según Challonier (2016, p.92), las Pinzas ópticas también han sido útiles en áreas como la Biología. Para el año 2003 se utilizó la técnica de las pinzas ópticas para aplicarlas en el campo de la clasificación celular; creando una inmensa intensidad óptica sobre el área con muestras microbiológicas, las células estudiadas pueden ser clasificadas por sus características ópticas intrínsecas.

#### 1.1.2.3. Estiramiento de una molécula de Ácido Desoxirribonucleico (ADN)

Un ejemplo de gran interés que hay de las aplicaciones biológicas es el estiramiento de una molécula de ADN, lo cual ha sido esencial para entender las propiedades mecánicas y funcionales en las operaciones de la máquina celular. Para realizar el estiramiento se debe insertar un extremo de la molécula en una esfera hecha de látex que primeramente fue atrapada por la pinza óptica.

Subsiguientemente se hace uso de la fuerza hidrodinámica de un líquido que fluye para poder alargar al ADN hasta obtener una longitud aproximada de 64.5  $\mu\text{m}$ . Cuando el flujo haya acabado, la molécula se puede relajar y así volver a su estado inicial (Sepúlveda et al., 2007, p. 22).

Otra forma de hacer este estiramiento, es utilizando dos pinzas ópticas, una de ellas se mantendrá fija y la otra estará en movimiento, cada una de las pinzas ópticas tendrá una esfera de látex que estará adherida a los extremos de la molécula de ADN, de esta manera se puede determinar las diferentes propiedades mecánicas al medir la fuerza que necesita la molécula para reproducir el estiramiento.

Cuando se requieren mediciones cuantitativas, la mayor parte de pinzas ópticas son operadas de tal manera que la partícula que es un dieléctrico raramente se mueve lejos del foco de la pinza. Esto se debe a que la fuerza que es aplicada a la partícula se encuentra lineal con respecto a su desplazamiento, esto ocurre siempre que el desplazamiento sea pequeño (Sepúlveda et al., 2007, p. 23).

#### *1.1.2.4. Optomecánica de cavidades*

La manipulación y la captura óptica han surgido como herramientas poderosas para investigar objetos microscópicos en un entorno controlado. Usando el impulso llevado por la luz, las fuerzas se pueden ejercer para confinar y manipular objetos en varias condiciones, mediante el uso de la pinza óptica para atrapar nano objetos y posterior acoplarlos a cavidades ópticas, dando lugar posteriormente a una cavidad, esta interacción optomecánica entre el objeto atrapado y la cavidad medida por la presión de radiación.

Se implementa una pinza óptica móvil con precisión nanométrica para poder colocar una nano esfera de sílice levitada en una onda estacionaria de una cavidad con el objetivo de enfriar su centro de movimiento de masas al estado fundamental a temperatura ambiente, para lograr esto se diseña un proceso de enfriamiento de dos pasos: modulación paramétrica del potencial de atrapamiento óptico y la conducción de la cavidad con un láser desafinado de color rojo a través de la interacción optomecánica, y se presenta un modelo semiclásico para resolver el movimiento de las nanopartículas hasta la excitación de un fonón. En síntesis, se dice que en la optomecánica haciendo uso de la pinza óptica se estudia la interacción de partículas individuales con la luz (Muestres, 2017, p.3).

Una cavidad permite el confinamiento de ondas de luz y de vibraciones mecánicas en una región sub micrométrica. Dado que existe un alto confinamiento, ambos tipos de onda se terminan acoplando y además intercambian energía mutuamente, dado que es posible modular la luz con dicha vibración mecánica. Asimismo, debido al tamaño de la cavidad, el orden de la frecuencia de la vibración mecánica sería de varios GHz, una vez detectada la luz modulada, esta se convierte en una señal eléctrica de microondas.

Este tipo de cavidades optomecánicas es interesante en el campo de la fotónica de microondas, el cual estudia el proceso de señales de microondas en el régimen óptico (Castellá, 2020, p.2).

#### *1.1.2.5. Estudio de las propiedades mecánicas en glóbulos rojos*

Una de las condiciones más comunes que perturban a las células vivas es el uso de fármacos, que son importantes para el diagnóstico y tratamiento de la mayoría de las enfermedades. Para este punto es importante conocer la dosis exacta, su concentración. Se ha investigado el efecto que tiene el resveratrol como agente antioxidante en glóbulos rojos, con el objetivo de poder comprender el mecanismo de acción de dicha molécula como antioxidante en membranas biológicas. Los eritrocitos humanos poseen suficientes funciones tales como el transporte activo y pasivo, y la producción de gradientes iónicos y eléctricos para poder ser considerados representativos de la membrana plasmática en general (Ramírez, 2018, p. 16).

Se hace uso de la pinza óptica para medir las variaciones de la membrana celular con resveratrol y HClO. Las técnicas que se presentan en la microscopía óptica no son invasivas y tampoco son destructivas, iguales al uso de la pinza óptica, y, por ende, son adecuadas para el estudio en sistemas biológicos.

La técnica que se usa con las pinzas ópticas considera la detección de los cambios en la posición de un láser colocado en el borde de la célula. La diferencia en el índice de refracción ( $n$ ) se desvía a medida que la membrana fluctúa. De esta manera se logra medir las fluctuaciones de la membrana cerca de la posición de equilibrio y también el análisis de la densidad espectral de potencia de la señal, que, ligado a un modelo matemático de la membrana, permite la determinación de ciertos parámetros mecánicos como: la tensión de la membrana, la rigidez de flexión y la viscosidad efectiva.

Esta técnica ya ha sido utilizada para conocer los parámetros mecánicos de glóbulos rojos, membranas lipídicas y neuronas de PC12 (Ramírez, 2018, p. 16).

#### *1.1.3. Teoría del atrapamiento óptico*

El principio de atrapamiento óptico de una micropartícula es descrito de acuerdo con el tamaño de dicha partícula. Se considera un haz gaussiano que se encuentra enfocado por un lente sobre el cual se hace un análisis geométrico, justo por debajo del foco se coloca una partícula. Los distintos rayos que están incidiendo sobre la esfera sufren un cambio en el momento lineal por la refracción, cuando se hace un análisis resulta que a cada rayo le corresponde una fuerza, y esto se debe a la conservación del momento lineal. Dado a que ambas fuerzas tienen igual magnitud, se da una fuerza total que mueve la partícula hacia el centro de la pinza, de esta manera permite que la partícula quede atrapada de forma estable y tridimensionalmente. Hay la presencia de dos

fuerzas, la que se describe anteriormente y una que surge debido a la reflexión de la luz la cual provoca una fuerza en dirección a la propagación del haz, en otras palabras, al sentido contrario de la fuerza gradiente, se la llama fuerza de dispersión.

Hay que recordar que la fuerza de dispersión es menor en comparación con la fuerza gradiente, dicha condición debe siempre cumplirse para que se pueda realizar el atrapamiento (Ulloa y Llano, 2021: p. 21). Una desviación del lugar estable del centro de la pinza da como resultado una fuerza restauradora que la conduce de nuevo a su posición inicial de equilibrio, esta puede ser calculada mediante la ecuación 4.1:

$$F = Q \left( \frac{n_1 P}{c} \right) \quad 4.1$$

La ecuación anterior nos dice que es la máxima fuerza que ejerce la trampa, donde  $Q$  es una constante de escalamiento el cual depende del tamaño de la esfera y de la diferencia del índice de refracción entre la esfera y el medio donde se encuentra,  $P$  es la potencia del haz láser,  $c$  es la velocidad de la luz en el espacio libre y  $n_1$  es el índice de refracción del medio (Méndez, 2015, p. 41).

La descripción teórica de la captura óptica depende de algunos parámetros tales como el tamaño, la forma y el índice de refracción de la partícula; la longitud de onda y la potencia del haz láser para el atrapamiento y también la apertura numérica del objetivo del microscopio.

Se menciona el Régimen de Rayos Ópticos cuando la extensión del objeto (puede ser su radio) es mucho más grande que la longitud de onda  $\lambda$  que pertenece al haz láser:  $D \gg \lambda$ . Aquí, los efectos de la difracción son descritos además de las fuerzas de captura de la luz son descritas en términos de óptica geométrica. Ahora bien, en el régimen en el cual  $D \ll \lambda$  recibe el nombre de régimen de Rayleigh. Para este caso se necesita un estudio basado en dipolos electromagnéticos. En una gran cantidad de casos las partículas micrométricas son atrapadas cuando se usa una fuente que está en el rango UV- Vis o cercana al IR ( $D \approx \lambda$ ). Esto permite crear una nueva oferta teórica entre dos límites que se encuentran para poder lograr una estimación cuantitativa para las fuerzas de atrapamiento, dicha propuesta es nombrada el régimen generalizado de Lorenz- Mie (Ulloa y Llano, 2021: p. 22).

#### ***1.1.4. Fuerzas que actúan sobre la partícula***

La reflexión de la luz genera una fuerza la cual hace un cambio en su trayectoria lineal y es aquella fuerza que actúa sobre una partícula. La técnica utilizada para la manipulación de objetos de tamaño micro y nanométrico con un haz de luz ha sido un auge, por lo que se puede lograr varias aplicaciones diferentes.

La presión de radiación se refiere a la fuerza que la luz ejerce cuando interacciona con la materia y que se produce por fenómenos que corresponden a la absorción, dispersión, la refracción, la reflexión y transmisión de la luz. El término de presión de radiación se lo puede interpretar de distintas formas, aun así, la forma más sencilla de entenderla es en función de fuerza de dispersión; es la fuerza producida por la dispersión de la luz que es directamente proporcional a su intensidad y además actúa en la dirección de la propagación (González, 2009, p.9).

Por otro lado, partículas metálicas se ha mostrado un principio, sufrían de gradiente repulsivo, pero poco después se observó un comportamiento diferente. Las distintas fuerzas que están actuando sobre una partícula son de naturaleza repulsiva, empujando la partícula en dirección de la que se propagan (González, 2009, p. 9).

#### 1.1.4.1. Fuerzas ópticas

La teoría electromagnética ejemplifica que la luz también puede manipular algunos objetos. Se podría realizar un aproximado de la fuerza  $F$  resultante relacionada con la velocidad de la luz  $c$ . Cuando se posee un solo rayo de luz con una potencia  $P$ , se tiene (Ríos González, 2018, p. 16):

$$F \propto \frac{P}{c} \tag{5.1}$$

Para poder evaluar la magnitud de la fuerza que la luz realiza se debe tener en cuenta un haz de luz que golpea un espejo. Cada fotón tendrá un momento asociado (Ríos González, 2018, p. 16):

$$\vec{p} = h\vec{k} \tag{6.1}$$

donde  $h$  es la constante de Planck y  $\vec{k}$  es el vector de onda asociado a la luz. Al existir una reflexión de la luz con el espejo habrá una transferencia de momento (Ríos González, 2018, p. 16):

$$\Delta\vec{p} = 2h\vec{k} \tag{7.1}$$

Y si se escribe el módulo del momento en función de la energía asociada a la onda se tiene:

$$|\Delta\vec{p}| = \frac{2hW}{c} = \frac{2E}{c} \tag{8.1}$$

Procediendo con respecto del tiempo hallará la siguiente ecuación para  $F$ , en la cual  $F$  es mayor a la fuerza que está conteniendo a la partícula, esto es consecuencia de que los valores que se consiguen por inclinación de rayos no son despreciados (Ríos González, 2018, p. 16).

$$F = 2 \frac{P}{c} \tag{9.1}$$

Cuando se trabaja con las pinzas ópticas, las potencias que se utilizan están en el rango de los poco mW, con lo cual la ecuación 9.1 puede predecir una fuerza del orden de los  $10^{-10}N$ . Dicha fuerza no puede explicar el aislamiento óptico de una partícula dado a que su efecto sería un desplazamiento que se da en la dirección incidente del rayo de luz (Ríos González, 2018, p. 16).

Las fuerzas ópticas pueden actuar sobre el propio fundamento (por ejemplo, perturbando el movimiento de coloides en un medio líquido) o posiblemente directamente en las sondas. Estos aspectos recién salen a la luz y hasta ahora solo han evidenciado cierta cantidad de situaciones. Las fuerzas láser tienen una larga tradición en el campo de la manipulación óptica de partículas que fue desarrollada por el trabajo de Arthur Ashkin en los años 80, que posterior llevo al diseño y desarrollo de la pinza óptica. Gran parte de los trabajos que se encuentran sobre manipulación y atrapamiento óptico se lo ha realizado en gran cantidad de partículas dieléctricas, incluyendo células y bacterias (con un rango de tamaño de  $\sim 1\mu m$ ). (Ulloa y Llano, 2021: p. 25). El estudio del efecto de las fuerzas ópticas sobre partículas metálicas en el rango  $\eta m$ , por otra parte, es relativamente reciente (Le Ru et al., 2010, p. 455).

#### 1.1.4.2. Fuerza scattering

Cuando la luz interactúa con la materia ejerce una fuerza que es producida por transmisión, reflexión, refracción, absorción y dispersión de la luz sobre la materia. Esto se lo explica cuando se considera la interacción del láser que está enfocado por un lente sobre una partícula dieléctrica. (Ulloa y Llano, 2021: pp. 25-26). De esta forma la luz incide sobre la partícula, produciendo una transferencia de momento y creando un desplazamiento en la misma dirección de la propagación, a esto se lo conoce como fuerza *scattering* o fuerza de dispersión y es proporcional a la intensidad del haz que se incide (Ramírez, 2018, p. 7).

Para  $n$  rayos que están incidiendo sobre una partícula, existen  $n$  fuerzas, de esta manera se da lugar a la fuerza de dispersión o también conocida como fuerza de esparcimiento  $F_s$ , esto se debe al esparcimiento del momento de la luz (Torres, 2016, p. 7).

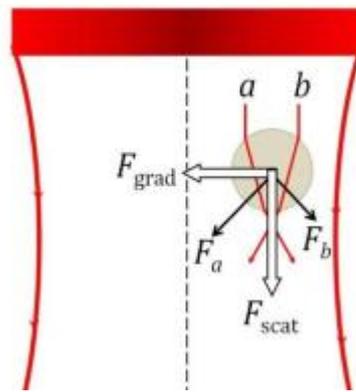
La fuerza de dispersión  $\vec{F}_s$  está asociada con fenómenos de esparcimiento, además, es proporcional al campo eléctrico y se aplica en la dirección de propagación del láser incidente  $\hat{r}_i$  como en la ecuación 10.1:

$$\vec{F}_s = F_s \hat{r}_i \tag{10.1}$$

Como característica de una pinza óptica de alta gama, se necesita que  $\vec{F}_s$  sea más baja que la fuerza gradiente para que el sistema pueda acelerar y realizar la captura de la microesfera (Samaniego, 2020, p. 18).

### 1.1.4.3. Fuerza gradiente

De igual manera, para  $n$  rayos que inciden sobre una partícula, hay una fuerza gradiente  $F_G$ , que proviene del gradiente de intensidad transversal en la dirección de propagación que apunta hacia zonas que poseen una mayor intensidad. Esta fuerza solo aparece cuando la partícula se encuentra fuera del eje (Figura 9-1.), dado a que la partícula se encuentra en el eje del haz gaussiano  $TEM_{00}$ , las fuerzas  $a$  y  $b$  en dirección transversal y la componente neta de gradiente no existe. En el caso en el cual los rayos  $a$  y  $b$  pasan a través de una lente para poder enfocar el haz, cuando estos inciden sobre la partícula, por efecto de refracción, se genera un cambio en el momento de la luz, y por consecuencia de momento, dicha partícula también experimentara un cambio en su momento, pero en sentido contrario, de esta manera surge una fuerza total  $F$ , que atrae a la partícula hacia la zona donde se desea enfocar (Torres, 2016, pp. 7-8).



**Figura 9-1.** Fuerzas sobre una partícula

Fuente: Torres, 2016, p.8.

La fuerza gradiente  $\vec{F}_G$  es dependiente del gradiente de la intensidad del haz. Esta fuerza tiene una dirección que va a lo largo del gradiente de intensidad y es perpendicular al haz de luz  $\hat{r}_j$  como lo indica la ecuación 11.1 (Torres, 2016, pp. 8).

$$\vec{F}_G = F_G \hat{r}_j$$

11.1

### 1.1.5. Modelos de captura óptica

La técnica de captura más común, la trampa de gradiente de un solo haz, esta trampa se hace llamar pinza óptica y es una trampa tridimensional. Al usar el confinamiento óptico y la fuerza de presión de radiación, el análisis de las distintas fuerzas de radiación de la pinza óptica deriva de la teoría más general del esparcimiento de la luz, donde el esparcimiento se refiere a la

redirección de la luz en un rango de ángulos como resultado de su interacción con un objeto, esto presenta cierto problema para la teoría electromagnética de Maxwell, dicho así el tema debe ser tratado como tal (Ricardez, 2007, p. 16).

Las fuerzas principales del atrapamiento en una pinza óptica se pueden expresar en términos de la variación temporal del flujo de momento del haz que incide, esto resulta de la transferencia del momento de la partícula que se encuentra atrapada. Aplicando la Ley de Planck y Einstein (Sepúlveda, 2012, p. 6).:

$$p = \frac{nE}{c} \tag{12.1}$$

Donde E es la energía del fotón y c la velocidad de la luz, haciendo una consideración del flujo de energía de un rayo, se puede tener el flujo de momento (Sepúlveda, 2012, p. 6).:

$$\phi_p = \frac{nP}{c} \tag{13.1}$$

Considerando a P como la potencia o flujo de energía.

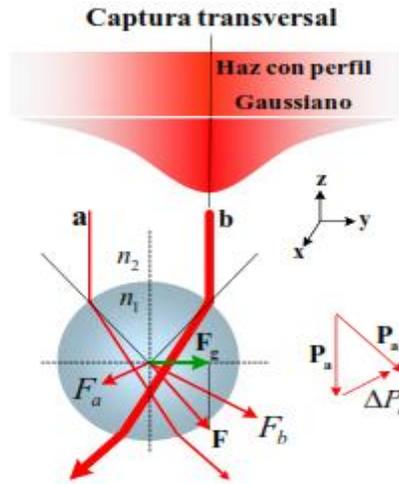
Las fuerzas que se generan por el cambio de momento se pueden alterar en una componente Axial, en dirección de propagación, y otra transversal o radial, ortonoronal a la dirección de propagación (Animas, 2014, p. 22).

#### 1.1.5.1. Régimen de rayos ópticos $D \gg \lambda$

Según Padilla (2009, p. 15), en el régimen de los rayos ópticos, las fuerzas de atrapamiento o dispersión pueden ser descritas en términos de refracción de los rayos de luz entre medios con diferentes índices de refracción. La luz posee un momento que es proporcional a su energía en la misma dirección de propagación.

Para una partícula que se encuentra atrapada en el caso limite donde  $D \gg \lambda$ . La óptica geométrica es una herramienta muy fácil de utilizar y muestra también buenos acuerdos con los resultados medidos. Se descompone el haz láser total en rayos individuales, cada uno con su propia intensidad y dirección que se propagan en líneas rectas en un medio de índice de refracción uniforme. La refracción de la luz por una partícula transparente lleva a un cambio de dirección en la propagación del rayo. De esta manera ocurre una transferencia de momento y su fuerza de reacción correspondiente (Ricardez, 2007, p. 18).

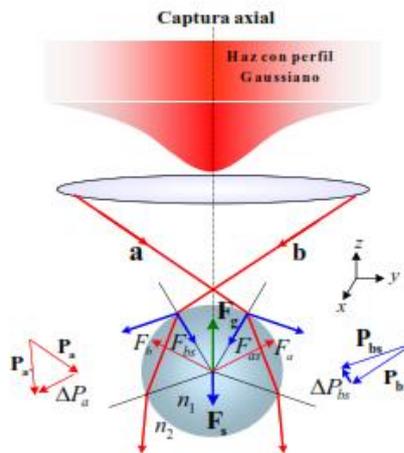
El par de rayos paralelos a y b que se observan en la Figura 10-1. son derivados de un haz Gaussiano, debido a que los rayos vienen de diferentes partes del haz y con potencias diferentes, la variación de momento de estos rayos debido a la refracción,  $\Delta P_a = P_{a'} - P_a$  y  $\Delta P_b = P_{b'} - P_b$ , difieren en magnitud  $\Delta P_b > \Delta P_a$  dando como resultado gracias a la conservación del momento lineal la sumatoria de sus fuerzas y que  $F_b > F_a$ .



**Figura 10-1.** Origen de la fuerza gradiente lateral

Fuente: Ricardez, 2007, p. 19.

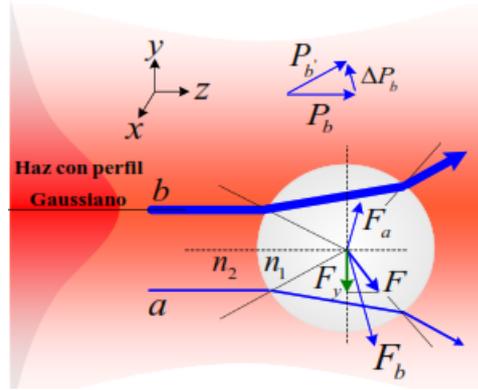
Ahora, dos rayos inciden simultáneamente respecto al centro del haz láser. El rayo a soporta un cambio de momento  $\Delta P_a = P_{a'} - P_a$  debido a la refracción, de igual manera el rayo b, generando fuerzas  $F_a$  y  $F_b$  (de igual magnitud) sobre la esfera y su resultante  $F_g$  es llamada fuerza de gradiente axial, que actúa como fuerza restauradora hacia el foco como se observa la Figura 11-1 (Ricardez, 2007, pp. 20-21).



**Figura 11-1.** Fuerza de gradiente axial

Fuente: Ricardez, 2007, p. 21.

Rayos b y b nuevamente refractados, así sufriendo el cambio de momento  $\Delta P_a = P_{a'} - P_a$  y  $\Delta P_b = P_{b'} - P_b$ , dando origen a las fuerzas  $F_a$  y  $F_b$ . Como el rayo b es mas fuerte que el rayo a,  $F_b > F_a$ , se deduce la fuerza neta transversal F apunta con intensidad mucho más alta en la misma dirección del haz, además la fuerza de esparcimiento apunta en dirección +z como indica la Figura 12-1. (Ricardez, 2007, p. 22).



**Fuerza 12-1.** Fuerza neta resultante

Fuente: Ricardez, 2007, p. 22.

### 1.1.5.2. Régimen de Rayleigh $D \ll \lambda$

Para el régimen de Rayleigh, las partículas que se encuentran atrapadas son descritas como dipolos, dado a que el campo electromagnético es constante sobre la escala de la partícula.

La fuerza de dispersión viene dada por la ecuación 14.1:

$$F_S = n_1 \frac{\langle \vec{S} \rangle}{c} \sigma \quad 14.1$$

Donde  $\langle \vec{S} \rangle$  es el vector Poyting que esta promediado en el tiempo que se encuentra la onda electromagnética y  $\sigma = \sigma(d, \lambda, n_2/n_1)$  la sección transversal de dispersión de una partícula de diámetro  $d$ . La fuerza gradiente es la Fuerza de Lorentz actuando sobre un dipolo inducido por la onda electromagnética:

$$F_G = \frac{\alpha}{2} \nabla \langle E^2 \rangle \quad 15.1$$

Donde  $E$  es el campo eléctrico y  $\alpha = \alpha(d^3, n_2/n_1)$  la polarización de la partícula (Padilla, 2009, pp. 18-19).

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

La fuerza de esparcimiento o dispersión. Dado que el campo eléctrico oscila armónicamente en el tiempo, el dipolo puntual que se induce sigue sincrónicamente el campo eléctrico y por ende la partícula actúa como un dipolo eléctrico oscilante que radia ondas secundarias o esparcidas en todas las direcciones. Esta fuerza está dada por la ecuación 16.1:

$$\vec{F}_S(\vec{r}) = \hat{z} \frac{n_2}{c} \frac{128\pi^5 a^6}{3\lambda^4} \left( \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right)^2 I(\vec{r}) \quad 16.1$$

Donde  $I(\vec{r})$  es la distribución de intensidad,  $n_2$  es el índice de refracción,  $c$  la velocidad de la luz,  $m = n_1/n_2$  y  $a$  es el radio de la partícula.

Y la otra componente ecuación 17.1 es la fuerza gradiente actuando sobre el dipolo inducido (de la partícula que esta polarizada) en el campo electromagnético (Ricardez, 2007, p.27).

$$\vec{F}_G(\vec{r}) = \frac{2\pi n_2 a^3}{c} \left( \frac{m^2 - 1}{m^2 + 2} \right) \nabla I(\vec{r})$$

17.1

### 1.1.5.3. Régimen generalizado de Lorenz- Mie $D \approx \lambda$

La aproximación descrita por Rayleigh falla para ciertas partículas que tienen un radio aproximado con el de la longitud de onda ( $D \approx \lambda$ ). La Teoría Generalizada de Lorenz- Mie es una extensión de la teoría de Mie para el esparcimiento, esta permite calcular el campo dispersado y las fuerzas de radiación que se ejercen sobre una partícula de tamaño arbitrario, colocada en un haz de intensidad Gaussiano.

En este régimen las fuerzas ópticas están descritas en términos de tres secciones transversales para la presión de radiación:

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

18.1

Donde  $I_0 = 2P/\pi\omega_0^2$  es la intensidad del haz en la cintura mínima, siendo  $P$  la potencia del haz láser.  $C_{pr,x}$  y  $C_{pr,y}$  son las componentes transversales y  $C_{pr,z}$  es la sección transversal longitudinal que está asociada con la dirección principal de propagación  $z$  del haz (Padilla, 2009, p.19).

El régimen generalizado de Lorenz- Mie muestra gran promesa para la predicción de fuerzas de radiación para todos los regímenes de tamaños, dado a que es el más general y completa. Resultados de esta teoría ya han sido comparados con experimentos de levitación óptica y se ha encontrado un buen acierto. Para aceptar este régimen como un modelo para fuerzas de radiación, sus predicciones deben ser consistentes con resultados experimentales con una variedad de tamaños de partículas y geometrías experimentales (Ricardez, 2007, pp. 31-32).

## 1.2. Haz

### 1.2.1. Breve introducción al haz gaussiano

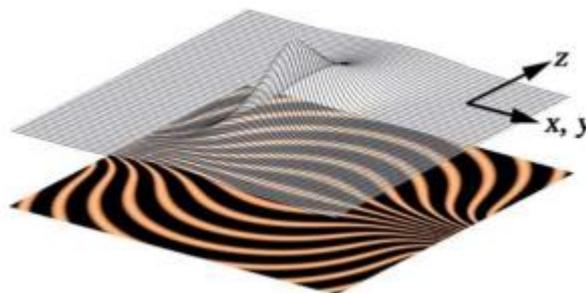
En varias aplicaciones de óptica láser, se asume que el rayo láser es gaussiano con un perfil de irradiancia que sigue una distribución gaussiana real. Todos los rayos láser que son reales tendrán alguna desviación del comportamiento ideal de Gauss.

A pesar de comparar un haz de luz con un rayo unidimensional, en la misma dirección que se propaga la luz. Un haz es mucho más complicado, se refiere a un conjunto de rayos de los cuales no necesariamente tendrán la misma dirección o sus direcciones se modifican ligeramente con respecto a un eje de propagación. La idea que se tiene del conjunto de rayos sirve para poder describir la propiedad de dimensión transversal que poseen los haces de luz.

Algo que no se puede describir de los rayos es la fase que tienen las ondas que componen el haz. El tratamiento que ayuda a describir de forma total esta característica de un haz es el ondulatorio. Es aquí donde el haz se considera una onda que tiene dirección preferencial de propagación. El ejemplo mejor explicado de los haces son los de tipo Gaussiano, descritos con características de divergencia o a su vez, convergencia, la fase del frente de onda y su dimensión transversal. Como se sabe es muy común encontrar estos haces gaussianos en los sistemas láseres y mucho de los haces con una estructura mucho más compleja hacen unos del haz gaussiano (Rodríguez et al., 2009, p. 17).

De acuerdo con Rodríguez et al., (2009, pp. 17-18), cualquier descripción matemática de un haz es solución a las ecuaciones de Maxwell y si se considera la naturaleza ondulatoria esta descripción matemática sería solución a la ecuación de Helmholtz. Existen tres factores que describen un haz Gaussiano, el primer factor es la amplitud del campo electromagnético, el segundo factor es la fase longitudinal (está en dirección de propagación) y finalmente el tercer factor es la fase radial (encontrada en el plano transversal), además estos factores dependen de la propagación.

En la Figura 13-1. se observa la propagación de un haz Gaussiano, se compone de dos partes, la primera parte; la parte superior indica la amplitud del campo electromagnético, la segunda parte; la parte inferior representa la fase del haz Gaussiano (Rodríguez et al., 2009, p. 18).



**Figura 13-1.** Propagación de un haz Gaussiano

Fuente: Rodríguez et al., 2009, p. 18.

Generalmente cualquier descripción matemática de un haz es solución a las ecuaciones de Maxwell y si es considerada la naturaleza oscilatoria armónica de las ondas electromagnéticas, la descripción matemática es la solución a la ecuación de Helmholtz, dada por la ecuación 19.1:

$$\nabla^2 \Psi + k^2 \Psi = 0$$

19.1

Donde  $\Psi$  es solución de la ecuación,  $k$  es el número de onda y  $\nabla^2$  es el Laplaciano.

Si consideramos que el haz es una onda en la cual su propagación es direccional, se debe hacer uso de una aproximación paraxial por la cual se considera que las variaciones del campo electromagnético en dirección transversal son muy pequeñas cuando se las compara con la dirección de propagación, cuando se aplica esta aproximación a la ecuación 19.1 se tiene la ecuación 20.1 paraxial.

$$\nabla_t^2 \Psi - \frac{2ik \partial \Psi}{\partial z} = 0 \quad 20.1$$

Si se toma la ecuación del campo eléctrico:

$$E(x, y, z) = E_0 \Psi(x, y, z) e^{-ikz}$$

Se tiene una solución común de la ecuación 20.1 que se conoce como haz gaussiano y viene dada por:

$$E(x, y, z) = E_0 \frac{\omega_0}{\omega(z)} e^{\left[\frac{-r^2}{w^2(z)}\right]} \cdot e^{\left\{-i[kz - \eta(z)] - \frac{ikr^2}{2R(z)}\right\}} \quad 21.1$$

Cada factor de la ecuación 21.1 corresponde a una propiedad física del haz. El primer factor corresponde a la amplitud del campo electromagnético y el segundo factor corresponde a la fase en la dirección de propagación y en el plano transversal

$$E_0 \frac{\omega_0}{\omega(z)} e^{\left[\frac{-r^2}{w^2(z)}\right]} \quad \text{Factor de Amplitud}$$

$$e^{\left\{-i[kz - \eta(z)] - \frac{ikr^2}{2R(z)}\right\}} \quad \text{Factor de Fase}$$

### 1.3. Infrarrojo

#### 1.3.1. Introducción, origen y fuentes

El infrarrojo (IR) corresponde a la radiación electromagnética con una longitud de onda mayor que la luz visible, pero menor a la de microondas. El nombre IR indica que esta “por debajo” del rojo, que sería el color visible con mayor longitud de onda. Este espectro se extiende desde 700 nm a 1 mm (1000  $\mu$ m). La zona del IR del espectro no se puede observar, pero si se la puede detectar (Fontal, 2005, pp. 79-80).

El IR se subdivide en cuatro regiones, las cuales son: Infrarrojo cercano que va de 780 a 3000 nm, el Infrarrojo medio que va de 3000 a 6000 nm, el Infrarrojo lejano que va desde los 6000 a los 1500 nm y finalmente el extremo Infrarrojo que va desde los 0,015 hasta 1,0 nm.

El IR cercano es muy común usarlo con fibra óptica debido a la poca pérdida de atenuación con el SiO<sub>2</sub>.

Algunos objetos que generan calor también pueden crear radiación IR como animales y el propio cuerpo humano, cuya emisión es mayor a  $9,4 \mu\text{m}$ . El Infrarrojo atraviesa muchos materiales que no son transparentes en el visible tales como el vidrio, el agua o el plástico y algunos materiales opacos visibles son más transparentes en el IR como el germanio y el silicio (Fontal, 2005, p. 80).

Las fuentes que generan la radiación infrarroja han sido generadas con gran variedad, dado que existen una gran cantidad de nuevas aplicaciones que se le dan a este espectro electromagnético. Existen fuentes incandescentes que utilizan metales o cerámicas incandescentes, diodos emisores de luz en el infrarrojo. Otra fuente que es importante en radiación infrarroja son los láseres de infrarrojo como los láseres de estado sólido (semiconductores) (Fontal, 2005, pp. 83-84).

### ***1.3.2. Interacción con la materia***

La gran parte de la materia en estado sólido, líquido o gaseoso tienen la capacidad de interactuar con radiación IR. Dicha radiación puede ser transmitida, absorbida o reflejada. Al absorber la radiación IR, el contenido energético de la sustancia que se está estudiando acrecienta. Al absorber la radiación, también ocurren transiciones en los movimientos vibracionales y rotacionales de las moléculas.

Muchos animales, incluidos los seres humanos, son “sensibles” a la radiación infrarroja y tienen sensores que indican cuando se recibe dicha radiación, generalmente los humanos la detectamos como sensación de calor.

En la sección siguiente se presenta la demostración de manera teórica de la interacción radiación materia.

### ***1.3.3. Demostración teórica interacción radiación- materia***

Se comienza primeramente hablando de la Ley del Cuerpo Negro, donde un cuerpo negro es un objeto que absorbe el 100% de la radiación y no refleja ninguna radiación. Un cuerpo negro que este calentado a una temperatura suficientemente elevada puede emitir radiación. La energía que es emitida es totalmente isotrópica e independiente solo de la temperatura del cuerpo y no de la forma o del material que está constituido.

Función de Planck

Al pasar la radiación emitida por un cuerpo negro a temperatura  $T$  a través de un espectrógrafo y midiendo la intensidad de la energía en las distintas longitudes de onda, se logra observar los espectros producidos por la función de Planck.

$$B(\lambda, T) = \frac{3,742 \times 10^{-6} \text{ Wm}^{-3}}{\lambda^5 \left( e^{\frac{1,439}{\lambda T}} - 1 \right)}$$

22.1

### Ley de Wien

El espectro de emisión del cuerpo negro muestra un máximo de energía de una cierta longitud de onda  $\lambda_{max}$ . Cuando se aumenta la temperatura  $T$  del cuerpo negro, la longitud de onda del máximo de emisión tiende a decrecer.

$$\lambda_{max} = \frac{2,898 \times 10^{-3} \text{ m}}{T} \quad 23.1$$

### Ley de Stefan – Boltzmann

Si sumamos los valores de la función a cada longitud de onda, se obtiene el flujo de energía total, es decir, la cantidad de energía emitida por unidad de superficie en una unidad de tiempo.

$$F = \int_0^{\infty} B(\lambda, T) = \sigma T^4 \quad 24.1$$

donde  $\sigma = 5,6703 \times 10^{-8} \text{ Wm}^{-2}\text{K}^{-4}$  es la constante de Stefan- Boltzmann

### Ecuación de la Onda Electromagnética

$$\vec{E} = E_0 e^{i(kx - \omega t)} \quad 25.1$$

donde  $k$  es el espacio y  $\omega$  es la frecuencia.

### Interacción radiación materia

$E$  localizado con un  $e^-$

$$E = h\nu \quad 26.1$$

Vamos a caracterizar un sistema de materia asilada para lo que se considera un oscilador armónico simple

$$m\ddot{x} + kx = 0 \quad 27.1$$

Divido la ecuación 27.1 para la masa  $m$

$$\ddot{x} + \frac{k}{m}x = 0 \quad 28.1$$

donde  $\frac{k}{m} = \omega_0^2$  (representa la ecuación de movimiento simple de la onda).

Entonces la ecuación 29.1 representa un oscilador armónico simple.

$$\ddot{x} + \omega_0^2 x = 0 \quad 29.1$$

Si agregamos más electrones al sistema, la ecuación 27.1 cambia debido a que el movimiento estaría perturbado y el factor  $b\dot{x}$  está conectado con la fricción del sistema.

$$m\ddot{x} + b\dot{x} + kx = 0 \tag{30.1}$$

Divido la ecuación 30.1 para la masa  $m$

$$\ddot{x} + \frac{b}{m}\dot{x} + \frac{k}{m}x = 0 \tag{31.1}$$

donde  $\frac{k}{m} = \omega_0^2$  y  $\frac{b}{m} = \eta$

Entonces la ecuación 32.1 representa un oscilador armónico amortiguado.

$$\ddot{x} + \eta\dot{x} + \omega_0^2x = 0 \tag{32.1}$$

Vamos a alterar el sistema con un fotón que viene representado por un Campo Eléctrico y la Fuerza

$$\vec{E} = E_0 e^{i(kx - \omega t)} \tag{33.1}$$

$$\vec{F} = F_0 e^{i(kx - \omega t)} \tag{34.1}$$

$$\vec{F}_0 = -e\vec{E} \tag{35.1}$$

Si la onda solo depende del tiempo  $t$  y no del desplazamiento  $x$ , tendremos una fuerza periódica oscilante continua, entonces  $e^{i(kx - \omega t)}$  quedaría de la siguiente manera:

$$e^{ikx} = \cos\omega t - i\sin\omega t \tag{36.1}$$

Si las frecuencias angulares son iguales, entonces  $\omega = \omega_0$

$$\ddot{x} + \eta\dot{x} + \omega_0^2x = \frac{F_0}{m} e^{i\omega t} \tag{37.1}$$

Partiendo de la función:

$$x(t) = x_0 e^{i\omega t} \tag{38.1}$$

Haciendo la primera y segunda derivada de la función:

$$\frac{\partial x}{\partial t} = i\omega x_0 e^{i\omega t} \tag{39.1}$$

$$\frac{\partial^2 x}{\partial t^2} = -\omega^2 x_0 e^{i\omega t} \tag{40.1}$$

Reemplazamos las ecuaciones 39.1 y 40.1 en la ecuación 37.1

$$\begin{aligned}
-\omega^2 x_0 e^{i\omega t} + \eta i \omega x_0 e^{i\omega t} + \omega_0^2 x_0 e^{i\omega t} &= \frac{F_0}{m} e^{i\omega t} \\
\frac{1}{e^{i\omega t}} \cdot (-\omega^2 x_0 e^{i\omega t} + \eta i \omega x_0 e^{i\omega t} + \omega_0^2 x_0 e^{i\omega t}) &= \left(\frac{F_0}{m} e^{i\omega t}\right) \cdot \frac{1}{e^{i\omega t}} \\
x_0(-\omega^2 + \eta i \omega + \omega_0^2) &= \frac{F_0}{m} \\
x_0 &= \frac{F_0}{m(\omega_0^2 - \omega^2 + i\omega\eta)}
\end{aligned}$$

41.1

Donde  $x_0$ , representa la posición de equilibrio que depende de la frecuencia angular del fotón que ingreso al sistema.

Entonces la ecuación 41.1 representa la interacción radiación materia, puesto que la parte del denominador  $\omega_0^2 - \omega^2 + i\omega\eta$  es la parte imaginaria, se puede racionalizar:

$$\begin{aligned}
x_0 &= \frac{F_0}{m(\omega_0^2 - \omega^2 + i\omega\eta)} \cdot \frac{\omega_0^2 - \omega^2 - i\omega\eta}{\omega_0^2 - \omega^2 - i\omega\eta} \\
x_0 &= \frac{F_0}{m} \left( \frac{\omega_0^2 - \omega^2}{(\omega_0^2 - \omega^2 + i\omega\eta)} \cdot \frac{-i\omega\eta}{\omega_0^2 - \omega^2 - i\omega\eta} \right)
\end{aligned}$$

Donde  $\frac{\omega_0^2 - \omega^2}{(\omega_0^2 - \omega^2 + i\omega\eta)}$  corresponde a la parte real y  $\frac{-i\omega\eta}{\omega_0^2 - \omega^2 - i\omega\eta}$  es la parte imaginaria. Entonces, si se hace  $\omega = \omega_0$ , se va a tener el máximo de la Fuerza Lorentziana.

$$\begin{aligned}
x_0 &= \frac{F_0}{m} \left( \frac{-i}{\omega\eta} \right) \\
x_0 &= \frac{eE}{m} \left[ \frac{\omega_0^2 - \omega^2}{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + \eta^2 \omega^2} - i \frac{\eta\omega}{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + \eta^2 \omega^2} \right]
\end{aligned}$$

42.1

Cuando el electrón se desplaza alejándose o acercándose el sistema se polariza, entonces:

$$P = n e x_0$$

Y partiendo de la definición de la ecuación de Maxwell

$$\begin{aligned}
\vec{P} &= (\varepsilon_r - 1) \varepsilon_0 \vec{E} \\
\varepsilon_r - 1 &= \frac{P}{\varepsilon_0 E} = \frac{n e x_0}{\varepsilon_0 E}
\end{aligned}$$

43.1

Donde:  $\varepsilon_r$  es la permitividad relativa y  $\varepsilon_0$  es la permitividad en el vacío

Y además se considera que  $\varepsilon_r$  es la constante dieléctrica relativa del sistema considerado.

$$\varepsilon_r(\omega) = \varepsilon_{r1}(\omega) - i\varepsilon_{r2}(\omega)$$

Reemplazando la ecuación 42.1 en la ecuación 43.1

$$\varepsilon_r = 1 + \frac{n e^2}{\varepsilon_0 m} \left[ \frac{\omega_0^2 - \omega^2}{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + (\eta\omega)^2} - i \frac{\eta\omega}{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + (\eta\omega)^2} \right]$$

44.1

## **1.4. Partículas de Sílica**

### ***1.4.1. Introducción, rasgos e importancia para el estudio en pinzas ópticas***

Para este proyecto se debe tomar en cuenta la adquisición de un elemento capaz de interactuar con el haz láser. Dicho elemento es el gel de Sílica, sin embargo, este gel no se lo puede encontrar fácilmente en el mercado, es específico para este tipo de experimentos. A continuación, se va a detallar algunas características y la razón para poder utilizarlo en el estudio de la pinza óptica.

Las micropartículas de sílica que se encuentran incluidas en el kit elaborado por *Bangs Laboratories* que además se diferencia de otros por su porosidad nula. Su composición química es Óxido de Silicio ( $\text{SiO}_2$ ), las esferas de sílica varían de 150 nm a 8  $\mu\text{m}$  de diámetro (Ulloa y Llano, 2021: p. 54).

Las esferas de Sílica son conocidas como soportes inorgánicos y sirven para un sin número de aplicaciones como: separación celular y el aislamiento de los ácidos nucleicos. Todos estos procesos se dan por las características únicas que posee el gel de Sílica para los estudios referidos. A continuación, se citarán algunas propiedades del gel de Sílica (Ulloa y Llano, 2021: p. 54).

- Silanización química flexible, permite que el recubrimiento de un material, en este caso de la Sílica sea conveniente para trabajar en medios acuosos y ayuda que las esferas no se queden pegadas a las paredes de los cubreobjetos de vidrio o entre ellas
- Tienen un índice de refracción y densidad característicos
- Baja autofluorescencia
- Baja unión inespecífica de muchas biomoléculas
- Hidrofilicidad
- Facilidad de manejo para la preparación de la muestra
- índice de refracción: 1.43 – 1.46 (589 nm)
- Densidad: 2.0 g /  $\text{cm}^3$

## **1.5. Microorganismos presentes en la orina**

### ***1.5.1. Introducción, rasgos e importancia para el estudio en pinzas ópticas***

#### ***1.5.1.1. Microorganismos presentes en la orina***

La orina cuando se encuentra en condiciones iniciales posee un color amarillo o ámbar más o menos intenso dependiendo el grado de concentración. En reiteradas ocasiones, suele ser

transparente, y el grado de turbidez este asociado a infecciones urinarias, hematuria y contaminación por secreciones vaginales.

Las características de la orina, que son determinadas en su paso por toda la vía urinaria, revelan datos interesantes. El estudio cualitativo de una muestra de orina es de gran ayuda en el estudio inicial de enfermedades renales, detección de infecciones etc. La orina cuenta con una cantidad de proteínas y en el caso de la excreción de proteínas puede aumentar transitoriamente en infecciones urinarias, situaciones de estrés, insuficiencia cardíaca y alteraciones metabólicas. El pH de la orina varía de 4,5 a 8 dependiendo del estado ácido- base, la densidad urinaria esta entre los valores de 1000 a mayores de 1030 mg/ml (Castaño et al.,2009, pp. 22-24).

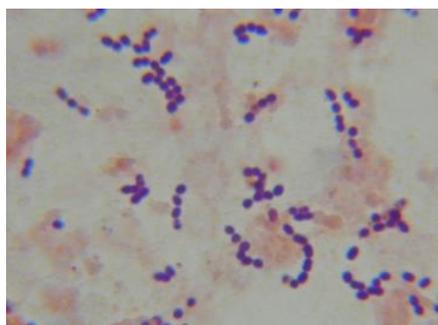
Se puede considerar una infección de vías urinarias a la presencia y multiplicación de microorganismos de tejidos adyacentes que forman parte del aparato genitourinario. Están producidas generalmente por bacterias y en menor proporción por hongos y virus. Los microorganismos que están presentes en la orina son: *Escherichia Coli*, gérmenes atípicos y *Enterococcus* como los microorganismos más frecuentes (Rodríguez, 2005, p.160).

Mencionado los microorganismos presentes en la orina, también existen otras causas por las cuales se pueden producir las infecciones (presencia de microorganismos) en la orina.



**Figura 14-1.** Escherichia Coli

**Fuente:** James et al., 2004, p. 126.



**Figura 15-1.** Enterococcus

**Fuente:** Porte et al., 2007, p. 231.

Para la observación de una muestra de orina que se encuentra infectada, es necesario seguir un procedimiento extremadamente largo, se debe recolectar la muestra a primera hora de la mañana, llevarlo a centrifugar durante 10 min a 3500 rpm y solamente se debe tomar la parte que se encuentra sedimentada para poder realizar la observación de microorganismos, se debe utilizar un lente 10 para enfocar y posteriormente se utiliza un lente 40x para la lectura, además se tiene peligro de contaminar al sujeto que trata la muestra, es por ello que es necesario utilizar guantes y lentes adecuados para la protección. Con el uso de la pinza óptica para este tipo de análisis, se debe seguir el mismo protocolo de seguridad y obtención de las muestras, sin embargo, una razón importante es que se puede separar en grupos de bacterias con la ayuda del haz láser adecuado y permitiría observar de mejor manera qué infección tiene el paciente.

#### *1.5.1.2. Bacterias*

Las bacterias son macroorganismos unicelulares, son conocidas como la forma de vida más antigua desde el comienzo del planeta Tierra. Existe una gran variedad de bacterias en todos los medios existentes en el mundo, pueden vivir en el mar, suelo, aire, cuerpo humano, la piel, animales, la boca y los tractos digestivo, reproductivo y urinario, están presentes sin causar daño alguno. Estas bacterias son conocidas en la comunidad científica como microbioma, gran parte de estas bacterias son fundamentales para el desarrollo del cuerpo humano, ayudan a digerir los alimentos o impedir la reproducción de bacterias peligrosas. Se puede clasificar a las bacterias según su nombre científico, tinción, formas, necesidad de oxígeno y composición genética. Además, las bacterias se pueden clasificar según las infecciones bacterianas, como las infecciones causadas por bacterias gramnegativas o grampositivas (Bush, 2020, p. 1).

En la última década se ha detectado un aumento de infecciones causadas por bacterias gramnegativas resistentes a múltiples fármacos, incluyendo enterobacterias multirresistentes, estos microorganismos están implicados en infecciones graves, teniendo un peor diagnóstico en comparación con patógenos sensibles. Muchos gérmenes pueden irrumpir el tracto urinario, los microorganismos con más frecuencia son los bacilos gramnegativos.

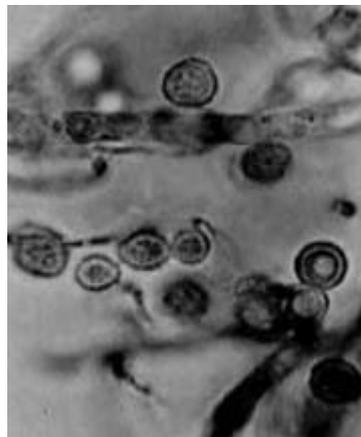
Con el término de bacilos gramnegativos se designa un heterogéneo grupo de microorganismos que son incapaces de fermentar diversos hidratos de carbono. Muchos de estos microorganismos se comportan como oportunistas y hasta pueden causar infecciones muy graves (Larrondo, 2010, p. 681).

Las infecciones bacterianas en las vías urinarias son bastante frecuentes en recién nacidos, las infecciones son provocadas por bacterias provenientes de los mismos intestinos o de la propia vagina.

### 1.5.1.3. Hongos

Los hongos no son animales ni plantas, pertenecen a un reino en específico, tienen dos posibles formas por las cuales se reproducen y crecen; levadura: son células redondas; y los mohos que son organismos que están compuestos por muchas células. Los hongos mucho más complejos que las bacterias, además pueden ser unicelulares o multicelulares, dependiendo su desarrollo (Bush, 2020, p. 2).

Las infecciones causadas por hongos en las vías urinarias están provocadas por *Cándida* (una levadura que causa candidiasis) y son producidas en personas que presentan una sonda vesical. En algunos casos, otros tipos de hongos, como los que provocan blastomicosis o coccidioidomicosis pueden infectar las vías urinarias, generalmente los hongos y las bacterias infectan a los riñones también. En la Figura 16-1. se observan los hongos *Cándida* que también son causantes de las infecciones urinarias, la imagen que se observa es tomada por un microscopio.



**Figura 16-1.** Hongo *Cándida*

**Fuente:** Ciudad, 2007, p. 161.

### 1.5.1.4. Parásitos

Los parásitos son microorganismos que viven sobre otro cuerpo o en su interior, es decir, un huésped, se usa el término de parásitos cuando se refiere a los protozoos, las amebas; y los gusanos que componen muchas células y tienen organismos internos (Bush, 2020, p. 5).

Una cierta cantidad de parásitos, sin excluir las lombrices, pueden provocar también infecciones en las vías urinarias. El paludismo, es una enfermedad causada por parásitos protozoarios que son transportados por los mosquitos, obstruyen los pequeños vasos sanguíneos de los riñones o lesionar los glóbulos rojos, provocando insuficiencia renal aguda. La tricomoniasis, que es

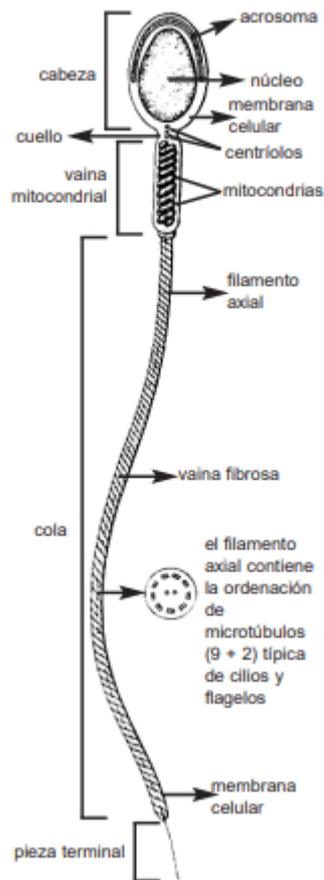
causada también por un protozoo es una enfermedad transmitida mediante relaciones sexuales que puede producir un copioso flujo espumoso color amarillo verdoso por la vagina.

## **1.6. Gameto bovino**

### ***1.6.1. Introducción, rasgos e importancia para el estudio en pinzas ópticas***

Los espermatozoides de los mamíferos son incapaces de fertilizar el ovocito posterior a la eyaculación, es por ello que se necesita de un proceso de maduración dentro del tracto genital femenino, que se lo conoce como capacitación espermática. En el bovino se puede destacar el uso de la heparina como inductor fisiológico para que se dé la fertilización *in vitro*. La heparina es un glicosaminoglicano que se encuentra presente en el tracto genital de la hembra. Además, en el bovino ya se ha demostrado que la incubación de espermatozoides eyaculados con heparina puede aumentar el porcentaje de ovocitos que fertilizados. En la célula espermática la mayor parte del ATP producido es utilizado para poder sostener energéticamente la motilidad, esencial para la fertilización (Fernández & Córdoba, 2014, p. 79).

Uno de los requisitos indispensables para el desarrollo de la inseminación artificial es que el semen que se utiliza mantenga su capacidad de fertilidad incluso después de haber sido crio preservado. El análisis para que el semen fuese ideal sería aquel que de manera sencilla y eficaz permita predecir la capacidad de fecundar de un eyaculado concreto. Las cualidades o características importantes que deben tener los espermatozoides de un eyaculado fecundante son: motilidad progresiva, morfología normal, metabolismo energético activo, capacidad para desarrollar una motilidad hiperactiva, integridad estructural y funcionalidad de la membrana, integridad de las enzimas agrupadas con la fecundación, capacidad de penetración y transferencia óptica del material genético (Hidalgo, 2005, p. 39). En la Figura 17-1. se mencionan las partes que posee el gameto bovino, desde la cabeza pasando por la cola y finalizando en la pieza terminal.



**Figura 17-1. Gameto bovino**

Fuente: Hidalgo, 2005, p. 43.

Dada la complejidad que se tiene al momento de recaudar gameto bovino, es un proceso que es bastante costoso y lleva mucho tiempo realizar una inseminación *in vitro*, donde se pueda obtener un óvulo fecundado y poder introducirlo de nuevo a la vaca, con el uso de la pinza óptica se puede acelerar este proceso, ya que se analizarían a los gametos más fuertes y a los ovocitos, se realizaría un orificio en el ovocito y se guiaría al gameto para que pueda fecundar al óvulo, esto se lo debe hacer con el uso de dos pinzas ópticas. Además, este sería uno de los procesos más económicos y eficaces para la inseminación.

## 1.7. Ovocito bovino

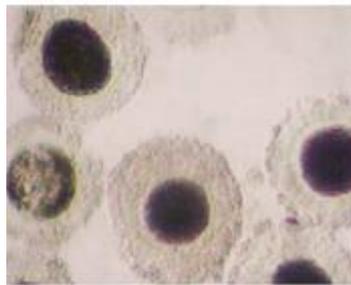
### 1.7.1. Introducción, rasgos e importancia para el estudio en pinzas ópticas

La producción de embriones *in vitro* pertenece a una biotecnología que fue desarrollada para poder obtener crías de animales en producción de un alto coste genético. Dicha técnica en conjunto implica la maduración *in vitro* de ovocitos, fecundación *in vitro* de ovocitos maduros y

cultivo *in vitro* de ovocitos que ya están fertilizados hasta un estado blastocisto en el séptimo día en caso de los bovinos (Quispe et al., 2018, p. 1115).

Los ovocitos bovinos (Figura 18-1.) son obtenidos a partir de los ovarios de las vacas que son beneficiadas y especialmente de donantes no inertes, así también como hembras que ya conllevan un buen ciclo reproductivo. La condición de fisiología de la vaca indica que solamente el 0,1 % de los folículos pueden alcanzar la ovulación. La calidad que poseen los ovocitos se define como la capacidad que tienen estos ovocitos para poder producir un blastocito dentro del sistema *in vitro* (Quispe et al., 2018, pp. 1115-1116).

Una fuente importante de los ovocitos la constituyen los ovarios que son obtenidos de vacas que se encuentran ya en el matadero, estas vacas proporcionan una gran cantidad de ovocitos, logrando ser madurados y fertilizados *in vitro*, La adecuada selección de ovocitos para poder ser madurados en laboratorios es muy importante para el éxito de la fecundación y el desarrollo embrionario subsecuente. Las características morfológicas del ovocito a madurar son de vital importancia, ya que de estas dependerá si puede reiniciar la meiosis (Reyes, 1999, pp. 42-43).



**Figura 18-1.** Ovocitos viables

**Fuente:** Calvo, 2015, p. 1245.

Como un rasgo importante del uso de la pinza óptica para los ovocitos es la realización de fecundación *in vitro* mucho más eficaz y certera, es decir, gracias a que el haz láser puede guiar microorganismos, micropartículas, microbacterias, también es posible mover a un gameto para poder introducirlo al óvulo, y que se pueda realizar una fertilización correcta. Gracias a la pinza óptica, se puede reducir los gastos e inclusive el tiempo que se tarda en inseminación, ya que se conoce que no existe una 100% de eficacia al momento de realizar este proceso de forma manual y se puede llegar a gastar miles de dólares.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

En el siguiente Proyecto Integrador se realizó en primera estancia al montaje de la pinza óptica, para adaptarla al estudio, también se realizó la clasificación de los diferentes elementos que conforman la pinza y algunos de los componentes, la calibración de la pinza como del haz láser, y además el análisis estadístico muestral, se detalla a continuación.

#### 2.1. Montaje de la Pinza Óptica

Para poder realizar el montaje de la pinza óptica, hay dos secciones que son de vital importancia: la primera sección de colimación y expansión y la segunda sección de enfoque y observación, para este Proyecto Integrador se usó la parte de enfoque y observación debido a que el primer láser que se ocupó no tenía una potencia suficiente ( $< 1\text{mW}$ ) para hacer el atrapamiento de microorganismos, y el segundo láser perdía mucha potencia en la salida del objetivo, y se procedió a omitir la parte de colimación y expansión, se debe mencionar que ambas partes de la pinza óptica se encuentran disponibles en el Laboratorio de Óptica de la Facultad de Ciencias y fueron puestas a disposición de Thorlabs, Inc.

Cuando se realizó el montaje en la parte de enfoque y observación, se utilizó el primer láser con una longitud de onda  $\lambda=632,8\text{ nm}$ , láser de helio – neón que es un tipo de láser de gas que se encuentra en el espectro de luz visible de color rojo, dicho láser no daña a las muestras de los sistemas biomoleculares, y un segundo láser con  $\lambda=650\text{ nm}$ , que tampoco daña a las muestras.

Una vez que se tenía el haz láser enfocado en el cubo divisor, se usó un sistema de microscopía invertida, el cual se constituye de un objetivo de microscopio de cierta apertura, en este caso se utilizó un objetivo de 40x debido a carencias dentro de la pinza óptica, posterior a ello se añadió el sistema para poder visualizar la muestra en pantalla, la cámara CCD. También se adicionó un soporte de desplazamiento con una base de montaje para los movimientos en los distintos ejes coordenados x, y, z, justo por debajo del objetivo, con el fin de posicionar correctamente la muestra a estudiar. Este movimiento de los soportes de desplazamiento se lo tuvo que realizar de manera manual con tres tornillos micrométricos que se encuentran en cada eje.

Una vez que el haz del láser estuvo bien posicionado en la pinza óptica, se lo dirigió hacia el cubo divisor y posteriormente hacia el centro del objetivo. Una vez que el haz láser entró en contacto con el objetivo, se dirigió hacia la muestra donde se colocó sobre el portaobjetos y cubreobjetos para que pudiera interactuar con la muestra. Con el sistema ya finalmente armado se procedió a medir la potencia de salida del haz láser y también la potencia justo en la salida del objetivo, con el fin de ver cuanta potencia llegaba hasta la muestra, esto se midió con un Medidor de

potencia lumínica Modelo PM100D Digital Power&Energy Meter, Sensor de Silicio, 400- 1100 nm, 500 mW.

## 2.2. Componentes de la pinza óptica

A continuación, se presentan los diferentes elementos que fueron parte de la estructura experimental de la pinza óptica. Las diferentes partes estructurales y ópticas fueron proporcionadas por Thorlabs, Inc. Ciertas partes fueron adaptadas a las necesidades que se iban presentando ya que al momento de hacer el pedido de este dispositivo no se contó con todos los elementos completos para armar correctamente la pinza, como la base para poder poner el objetivo por debajo del cubo divisor, ciertos tornillos necesarios y el mismo objetivo necesario para poder observar muestras.

### 2.2.1. Luz fría blanca y haz láser

Una de las mejoras que se aplicó al sistema de la pinza, fue el uso de una luz fría blanca la cual permitió iluminar la muestra, la luz se la puede regular a nuestra conveniencia, además el uso de un haz láser super importante para la interacción con la parte de enfoque y observación de la muestra. En la Tabla 1-2. se describen detalles importantes de estos elementos.

Se debe mencionar además que el haz láser fue de HeNe, y es el láser esencial para la pinza óptica y permitió la interacción de los microorganismos. También se utilizó otro tipo de láser de aleación de aluminio, que también es descrito en la Tabla 1-2.

**Tabla 1-2:** Luz fría blanca y haz láser

N°	Nombre/ Empresa	Descripción	Imagen
1	LD Didactic	HeNe Laser, Linearly Polarized < 1mW, 632, 8 nm Class II Laser	
1	MCWHL5	Cold White Mounted LED 6500 K, 800mW	

		(Min) Mounted LED, 1000 mA P-36	
1	LEDD1B	T- Cube LED Driver	
1	KPS101	Power Supply	 Location-Specific Adapter Provided
1	Puntero Láser rojo profesional	Traje puntero láser rojo profesional de 200mW con cargador negro 200 mW, 650 nm Class IIIB Lasers	

Realizado por: Flores Sánchez, Andrea, 2021.

### 2.2.2. Régimen de posicionamiento de la muestra

El sistema de posicionamiento de la muestra es un dispositivo acoplado a la pinza óptica el cual permitió colocar la muestra para poder observar con el objetivo y hacer la captura óptica. Los elementos se muestran en la Tabla 2-2. Este dispositivo cuenta con una serie de tornillos micrométricos que permitieron el movimiento traslacional de la muestra.

**Tabla 2-2:** Sistema de Posicionamiento de la Muestra

N°	Nombre/Empresa	Descripción	Imagen
1	MT1(/M)	Manual Translation Stage, 1/2" (12 mm) Travel	

1	MT402	Right Angle Bracket	
1	MT402- SLH-SP	Modified MT402 for Mounting AMA-SLH	
1	AMA-SLH	Slide Holder	
1	MT401	Mounting Base for Translation Stages	
1	MAX3SLH	Fixed Microscope Slide Holder	
1	PTE/25MM XYZ		

Realizado por: Flores Sánchez, Andrea, 2021.

### 2.2.3. Microscopio

Se implementó un sistema de microscopio de enfoque invertido el cual permitió ver a la muestra en una pantalla de computador, que utiliza un programa de computador que permitió observar los microorganismos en tiempo real conjuntamente con la cámara CCD. Los elementos se muestran en la Tabla 3-2.

**Tabla 3-2:** Microscopio

N°	Nombre/Empresa	Descripción	Imagen
1	DDC1645C	High Resolution CMOS Camera	

2	SM1T2 <sup>9</sup>	Ø1" Lens Tube Coupler	
3	C1498(M)	Slip- On Ø1,5" Post Clamps	
1	SM1L20	Ø1" Lens Tube 2" Long	
4	CP02(M) <sup>10</sup>	SM1- Threaded Cage Plate	
1	CP02T(M)	SM1- Threaded Cage Plate, 0,5" Thick	
2	FGB37	Ø25 mm BG40 Colored Glass Bandpass Filter, 335- 610 nm	
1	FES0650	Ø1" Shortpass Filter, 650 nm Cut Off	
1	LB1676	Ø1" N-BK7 Bi-Convex Lens, f=100 mm	
1	SM1A9	Adapter with External C- Mount Threads and Internal SM1 Threads	

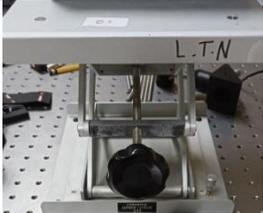
1	CCM1-BS013(M)	Cube- Mounted 50:50 Beamsplitter Cube	
1	SM1CP2	SM1 End Cap	
1	DP14A(M)	Damped Ø1,5" Post	
4	ER3	Ø6 mm Cage Assembly Rod, 3" Long	
4	ER2	Ø6 mm Cage Assembly Rod, 2" Long	
1	SM1L10 <sup>11</sup>	Ø1" Lens Tube, 1" Long	
1	SM1A17	Adapter with External SM1 Threads and Internal M27 X 0,75 Threads	
1	Motic	Microscope 40x / 0,65 $\alpha/0,17$	

Realizado por: Flores Sánchez, Andrea, 2021.

#### 2.2.4. Algunos componentes adicionales

Hubo elementos indispensables para el montaje de la pinza óptica, algunos de ellos fueron utilizados con el fin de adaptar las necesidades que se iban presentando en el transcurso del proyecto, dichos componentes se los detalla en la Tabla 4-2.

**Tabla 4-2:** Componentes adicionales

N°	Nombre/Empresa	Descripción	Imagen
1	BD-3/16l (BD-5ML)	1/4 -20 (M6) Balldriver 0,050", 5/64", 3/32", 1/8" and 2,5 mm Hex Keys (1 x 1,3 mm, 2 mm, 2,5 mm, and 3 mm, Hex Keys in Metric Version)	
1	PM100D	Digital Power&Energy Meter, Si Sensor, 400-1100 nm, 500 mW	
1		Soporte	
1	Thorlabs, Inc.	Mesa Óptica	

1	Thorlabs Model # TC2	Hexagonales para tornillos	
1	Phywe Optical Cleaning Kit	Optical Cleaning Kit	

Realizado por: Flores Sánchez, Andrea, 2021.

### 2.2.5. *Kit de preparación de muestras para trampa óptica (OTKBTK)*

Para el uso de la pinza óptica que se encuentra en el Laboratorio de Óptica de la Facultad de Ciencias gracias a Thorlabs, Inc. incluye un kit de preparación, ver Figura 19-2, el cual consta de dos líquidos, perlas de Sílica fundida y gel de inmersión, también posee otros materiales que fueron necesarios implementarlos en las muestras estudiadas.



**Figura 19-2.** Contenido del kit de preparación de muestras

Realizado por: Flores Sánchez, Andrea, 2021.

El kit de preparación de muestras para trampa óptica OTKBTK es un kit que cuenta con las herramientas necesarias para preparar una muestra y observarla en la pinza óptica, las características y detalles se muestran a continuación en la Tabla 5-2.

**Tabla 5-2:** Contenido del kit de preparación de muestras para trampa óptica

	<b>Contenido del kit de prueba</b>
<b>Contenido</b>	Aceite de Inmersión para Microscopía, Cargille Tipo LDF
	Bangs Laboratories Inc. P/N SS04N – Perlas de sílica fundida no funcionalizado en agua desionizada, Ø 2,06 µm, 2 g/mL -Temperatura recomendad de almacenaje: 2 °C a 8 °C.
	Mini Pipeta con un volumen de 50 µL
	Dos portaobjetos de plástico con canal incorporado, 400 µm altura, 100 µL volumen, No. 1,5 (0,18 mm de grosor) Cubreobjetos
	5 portaobjetos de vidrio para microscopio con paredes de reacción, 20 µm profundidad, 10 mm diámetro; 100 piezas de 18 mm x 18 mm cubreobjetos, No. 1,5 espesor
	Gotero para aceite de inmersión

Realizado por: Flores Sánchez, Andrea, 2021.

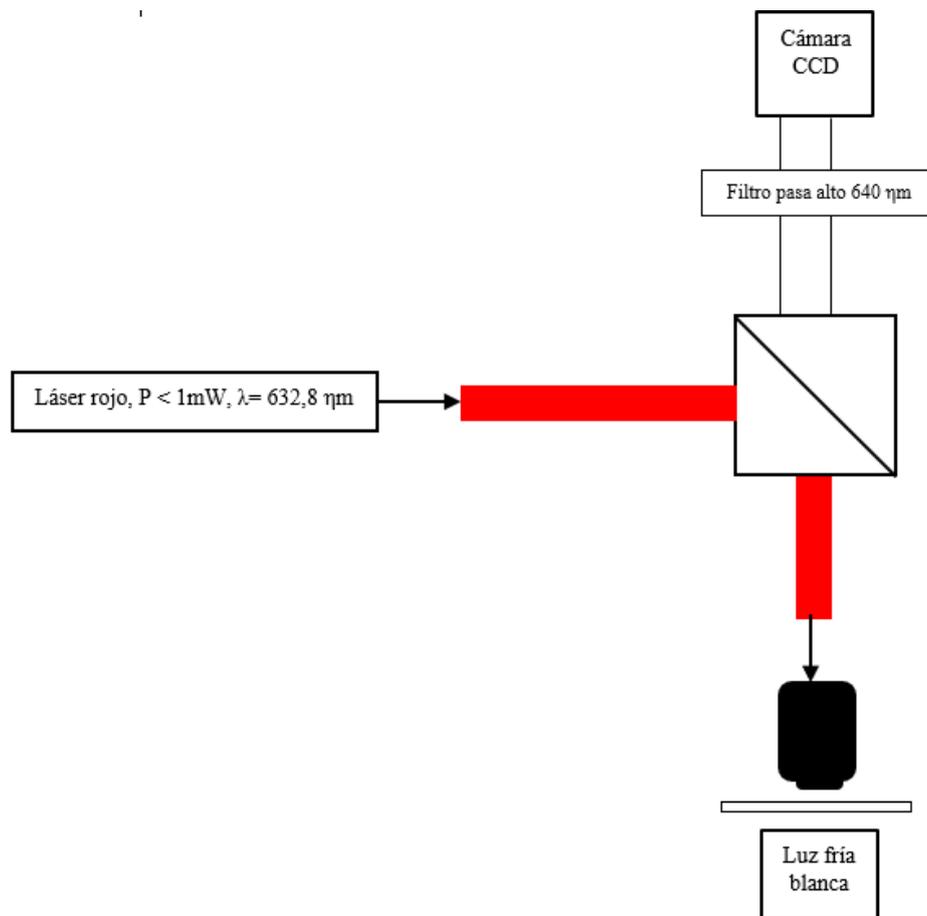
### 2.3. Montaje de la pinza óptica

Se procedió a realizar un nuevo montaje de la pinza óptica, en la mesa óptica apropiada para este dispositivo, con el fin de evitar perturbaciones y vibraciones dentro del análisis de las muestras. Además, se instalaron cortinas dentro del Laboratorio de Óptica con el fin de evitar la luz exterior, de esta manera se tenía un ambiente mucho más controlado para el análisis de las muestras, a pesar de ciertas carencias que tenía la pinza óptica, se supo adaptar piezas y conseguir un acabado mucho más limpio con respecto a proyectos pasados.

Es importante mencionar que se debe manipular con suma delicadeza cada una de las partes de la pinza óptica ya que, al ser de un material delicado, se podían romper, trizar o incluso ensuciar al dispositivo, sin olvidar el elevado costo de cada una de las piezas. Para poder dar mantenimiento a los componentes hechos de vidrio se los limpiaba con un kit de limpieza que constaba de varios elementos, los mismos que servían para poder limpiar los componentes como el cubo divisor, el objetivo, los lentes, entre otros. También se debe mantener un orden con respecto a las piezas que se iban ocupando o aquellas piezas que ya no se necesitaba ya que al ser piezas muy pequeñas se podían perder dentro del mismo laboratorio y posteriormente generar inconvenientes para proyectos futuros.

Dentro del Laboratorio de Óptica de la Facultad de Ciencias actualmente cuenta con un arreglo básico de una pinza óptica, que puede ser modificado dependiendo los equipos y necesidades de la persona a cargo que desee hacer su investigación o experimento, en la Figura 20-2. se puede

apreciar un esquema sencillo de la pinza óptica que se usó para la elaboración de este Proyecto Integrador.

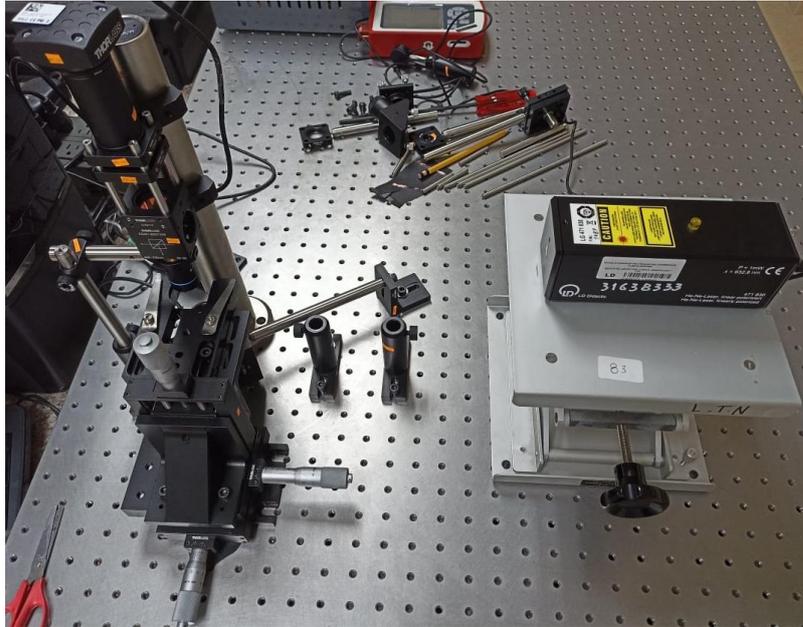


**Figura 20-2.** Esquema básico de la pinza óptica utilizada en el Laboratorio de Óptica de la ESPOCH

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2021.

Anteriormente la pinza óptica se encontraba ensamblada en un *breadboard* MB1224 (MB3060/M), sin embargo, se realizó un nuevo montaje sobre la meza óptica que permitió una mejor estabilidad y cero vibraciones para las muestras, ya que a la menor perturbación habría un cambio significativo, también, la mesa óptica se la adaptó a las condiciones para sacar su máxima utilidad. En la Figura 21-2. se puede observar el montaje de la pinza óptica con el cual se llevó a cabo este proyecto.

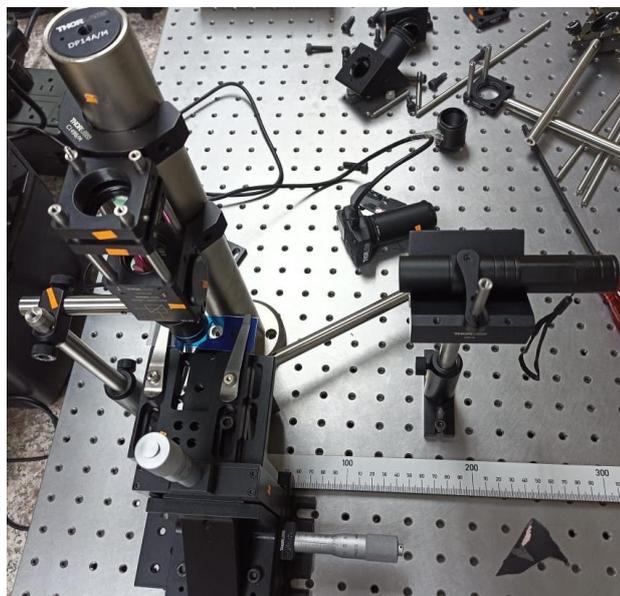
Además, se utilizaron varios montajes para la pinza óptica, sin embargo, se vio el más viable con el láser que se tenía en aquel momento.



**Figura 21-2.** Pinza óptica armada en el Laboratorio de Óptica

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2021.

Posteriormente se logró adquirir otro tipo de láser mucho más potente, el cual ayudó de mejor manera a la observación de la captura óptica del sistema biomolecular que se estaba estudiando. El montaje con este láser se lo realizó de manera similar al de la Figura 21-2. Con el fin de no perder potencia de salida en el objetivo de microscopio. El nuevo montaje con el segundo láser se lo observa en la Figura 22-2.



**Figura 22-2.** Pinza Óptica con láser de 650 nm

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

### **2.3.1. Sección de enfoque y observación**

Para el haz láser de HeNe con  $\lambda=632,8$  nm se utilizó únicamente la sección que estaba conformada por la sección de enfoque y observación debido a su débil potencia que tenía dicho láser, y no sería posible utilizar el colimador ya que perdería su potencia al pasar por este y no llegaría casi nada a la muestra para poder hacer el atrapamiento óptico.

En esta sección se implementaron todos los materiales que se detallan en Tabla 1-2. hasta los componentes adicionales Tabla 4-2. Todos y cada uno de estos componentes fueron útiles para poder llevar a cabo el trabajo.

Se tenía que posicionar la parte del cubo divisor, posterior el objetivo y finalmente la cámara CCD, es decir, primero se colocó la sección de enfoque y observación, con el fin de tener una estabilidad en los componentes de dicha sección, el principal problema que sucedió en este caso, fue posicionar de manera correcta al objetivo de microscopio ya que al no contar con los instrumentos y partes completas de la pinza óptica, se tuvo que improvisar un montaje para que el objetivo quedase por debajo del cubo y apuntara al medio de la muestra.

El objetivo que se utilizó fue uno de 40x, ya que fue uno por los cuales el haz pasaba con mayor facilidad y se lo podía ver completamente en pantalla, además se implementó un filtro pasa alto con  $\lambda=640$  nm para poder eliminar el haz láser de 633 nm al momento de observar la imagen. Este filtro pasa alto evita el camino o también “filtra” algo que no se desea, también este filtro fue el necesario para la longitud de onda que tenía el haz láser, además sin este filtro, se saturaría la imagen que se observa en la pantalla, es por esto la gran utilidad de este filtro.

Al filtro se lo colocó por encima del cubo divisor y 5 cm más arriba se colocó un lente plano convexo con  $f= 100$  mm.

El láser de HeNe que se utilizó fue un láser de color rojo, para poder realizar el atrapamiento óptico se necesita que el láser se encuentre en el Infrarrojo cercano con una longitud de onda de  $\lambda=632,8$  nm, que para fines más prácticos se pude aproximar a 633 nm y con una potencia  $P < 1$ mW. Al tener un mayor espacio en la mesa óptica se colocó el láser junto con el soporte a una distancia de aproximadamente 25 cm desde el cubo divisor, se debe tomar en cuenta que, si al montaje de la pinza óptica se le adicionaban espejos, la potencia de salida iba a disminuir, es decir, se perdía un valor significativo de potencia cuando se lo media por debajo del objetivo del microscopio.

Para un segundo análisis, se utilizó un láser más potente de aleación de aluminio el cual asimismo era de color rojo, pero se diferenciaba del láser de HeNe por la longitud de onda de 650 nm y una potencia de salida de 200 mW, de igual manera se utilizó solamente la sección de enfoque y observación ya que al utilizar un colimador, se perdía mucho la potencia necesaria, es así que, este segundo láser también hizo uso de los componentes detallados de la Tabla 1-2 hasta la Tabla 4-2.

El segundo láser se lo colocó de igual manera en la mesa óptica junto con un soporte que fue armado con materiales de la empresa de Thorlabs Inc., este fue colocado a una distancia aproximada de 10 cm medida desde el cubo divisor, con el fin de no perder potencia de salida en el objetivo de microscopio para poder tener la máxima intensidad al momento de colocar las diferentes muestras. Se debe mencionar también que todas las características y equipos empleados a la pinza óptica se los hizo de igual forma para ambos láseres. Solo se varió el láser y la distancia. Una vez que se tenía montado tanto el láser como la sección de enfoque y observación, se pudo colocar una linterna de luz fría blanca por debajo del objetivo de microscopio con el fin de iluminar la muestra. Esta linterna se la colocó haciendo uso de diferentes elementos que venían dentro de la pinza óptica, como tornillos, y soportes, ya que no se contaba con el equipo necesario para poder mantener en una sola posición la linterna.



**Figura 23-2.** Linterna de luz fría blanca adaptada a la pinza óptica

Realizado por: Flores Sánchez, Andrea, 2021.

#### **2.4. Calibración del haz láser**

Una vez que se hizo el nuevo montaje y armado de la pinza óptica sobre la mesa óptica para evitar perturbaciones dentro de la muestra se procedió a calibrar el haz láser para que enfocara justo en el centro del cubo divisor, esto se lo hizo con la ayuda de SM1CP2 que se encuentra en la Tabla 3-2., el cual tiene en su centro una cruz y se podía centrar el haz láser con facilidad, a continuación, se detalla el proceso por el cual se realizó la calibración del haz láser:

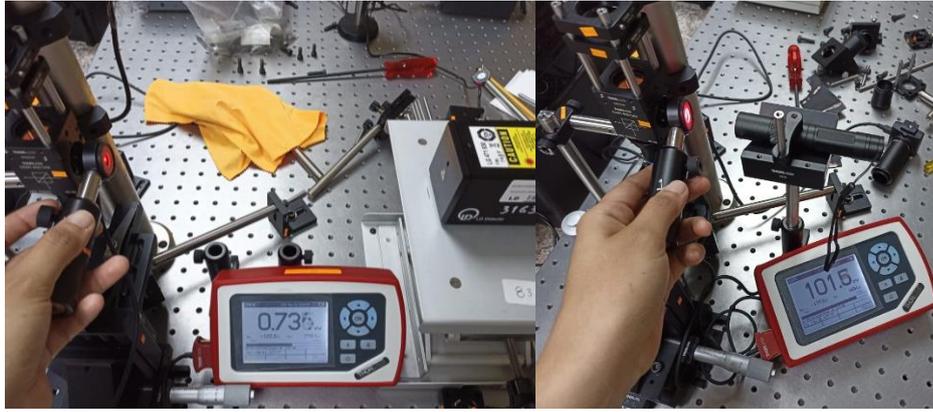
- Para poder realizar la calibración del láser de HeNe, primero se procedió a colocar un soporte a una distancia aproximada de 25 cm desde el cubo divisor hasta el borde del soporte.
- Seguidamente se colocó el haz en el centro del soporte y de manera manual se iba ajustando la altura necesaria del haz láser, con el fin de que apuntara justo en el centro del cubo divisor.

- Con la ayuda de un revestimiento SM1CP2 se ajustó el haz láser justo al centro del cubo, como se puede observar en la Figura 24-2. Una vez hecho este ajuste, se desenroscó el revestimiento y se lo colocó en la parte posterior del cubo con el fin de no perder potencia, y que toda la requerida vaya hacia la muestra.
- Al momento de quitar el revestimiento se pudo observar claramente que el haz láser impactaba justo en el centro del cubo divisor, y además salía por el objetivo de 40x que se encontraba por debajo del mismo cubo, hacia la muestra.
- Finalmente, se procedió a verificar la salida de potencia, tanto en el haz láser, justo antes del cubo divisor y después del objetivo de microscopio, es decir, donde se colocó la muestra, con el fin de verificar cuánta potencia se perdió, ya que se debe recordar que se necesita toda la potencia que posee el láser para realizar la captura óptica, se puede observar en la Figura 25-2. la toma de potencia del láser.
- Cuando se realizó la calibración del segundo láser, se colocó un soporte a una distancia aproximada de 10 cm desde el cubo divisor hasta la punta del haz láser, posteriormente se procedió a realizar todos los pasos a partir del segundo punto.



**Figura 24-2.** Revestimiento SM1CP2

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2021.



**Figura 25-2.** Monitoreo de la potencia del haz láser

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

## 2.5. Preparación de las muestras

Para poder realizar la preparación de las muestras, se siguió una serie de pasos que van a depender mucho del tipo de muestra estudiada, en este caso se utilizó el kit de preparación para la pinza óptica y además de eso, microorganismos que se encontraban en sistemas biomoleculares, los cuales fueron tomados con mucho cuidado y sobre todo respetando la integridad de cada uno de los que colaboraron dentro de este proyecto.

### 2.5.1. Preparación de gel de sílica

- El kit de preparación de muestras para trampa óptica cuenta con un envase de perlas de sílica fundida, es por eso que el primer paso, fue identificar este envase. Para realizar la primera preparación de muestras, se necesitó una micropipeta de 50  $\mu\text{L}$ , el porta y cubreobjetos de vidrio.
- Una vez que se tienen todos los instrumentos a la mano, se procedió a tomar con mucho cuidado las microesferas de sílica con ayuda de la micropipeta, un cuarto de la capacidad máxima de la micropipeta.
- Posterior se colocó la muestra de sílica sobre el portaobjetos, se recomienda colocarlo en el primer círculo que ya viene marcado en el portaobjetos que llega en el kit de experimentación, una vez hecho esto, se colocó cuidadosamente el cubreobjetos sobre la muestra con una angulación aproximada de  $45^\circ$  con el fin de evitar burbujas de aire dentro de la muestra, si la muestra sobresalió del cubreobjetos se puede limpiar con un paño que no esté contaminado.

- Una vez hecho este paso, se tomó al portaobjetos por el extremo de color blanco y se lo colocó en la platina sobre el *slideholder* de la pinza óptica y se lo aseguró con las pinzas de agarre.
- Con todos lo mencionado anteriormente, la muestra estaba lista para poder realizar la captura con la pinza óptica.



**Figura 26-2.** Muestra de gel de sílica

Realizado por: Flores Sánchez, Andrea, 2021.

### 2.5.2. *Preparación de microorganismos en sistemas biomoleculares*

Para la preparación de los microorganismos se llevó a cabo un proceso bastante diferente, ya que al ser muestras que podrían causar algún daño hacia las personas, se debió recurrir al uso de materiales de protección.

#### 2.5.2.1. *Muestra de orina*

Las muestras de orina recolectadas debían contener bacterias u hongos para poder observar los microorganismos presentes, es por ello que se necesitó de muestras que ya fueran revisadas anteriormente y confirmadas con patógeno. Sin embargo, también se hicieron muestras de personas voluntarias que facilitaban su orina, con el fin de observar algún microorganismo que estuviera presente.

- Primero se procedió a la colocación de guantes de látex con el fin de evitar el contacto directo con las muestras patógenas, y se contraer algún tipo de bacteria, y sin olvidar el uso de una mascarilla y alcohol para ir desinfectando las zonas donde se colocaban las muestras.
- Posterior a esto se procedió a colocar una punta desechable de micropipeta sobre la micropipeta que venía en el kit de experimentación, cabe mencionar que esta micropipeta no fue contaminada con la orina ya que se tuvo mucho cuidado al momento de tomar la muestra

para no topar la base de la micropipeta. Solamente se tomó un aproximado de 10 $\mu$ L de la muestra.

- Se procedió a colocar la muestra sobre el portaobjetos, y con mucho cuidado se dejó caer el cubreobjetos con una inclinación de aproximadamente 45° para evitar que se hicieran burbujas de aire dentro de la muestra.
- Se tomó al portaobjetos por el extremo de color blanco y se lo llevó a la platina sobre el *slideholder* de la pinza óptica y se lo aseguró con las pinzas de agarre.
- Una vez hecho esto, se procedió a cambiar los guantes de látex por unos limpios para poder manipular los demás objetos.



**Figura 27-2.** Muestras de orina

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2021.

#### 2.5.2.2. *Muestra de gameto bovino*

Para la colocación de las muestras tanto de gameto como de ovocito bovino se siguió el mismo procedimiento, ya que las muestras estaban congeladas, para su preservación.

- Primero se procedió a la colocación de guantes de látex con el fin de evitar cualquier contacto con la muestra y de esta manera contaminarla.
- Posterior a esto se abrió con mucho cuidado el termo donde venían las muestras, este termo es especializado para la preservación de muestras ya que en su interior contiene nitrógeno, una vez abierto se procedió a sacar una de las canastillas donde se encuentra la muestra que se estudiaron y se sacó una de las pajuelas la cual, para el caso de los gametos bovinos contiene un aproximado de 25 millones a 30 millones de espermatozoides.
- Se descongeló por unos minutos a los espermatozoides en agua con una temperatura de 37°C.
- Cuando ya se encontraron descongelados, con una tijera esterilizada se cortó la punta de la pajuela y de inmediatamente se lo colocó sobre el portaobjetos haciendo un poco de presión en uno de los extremos de dicha pajuela, se dejó caer el cubreobjetos con una inclinación aproximada de 45° para evitar cualquier burbuja de aire.

- Se tomó al portaobjetos por el extremo de color blanco y se lo llevó a la platina sobre el *slideholder* de la pinza óptica y se lo aseguró con las pinzas de agarre.
- Una vez hecho esto, se procedió a cambiar los guantes de látex por unos limpios para poder manipular los demás objetos.



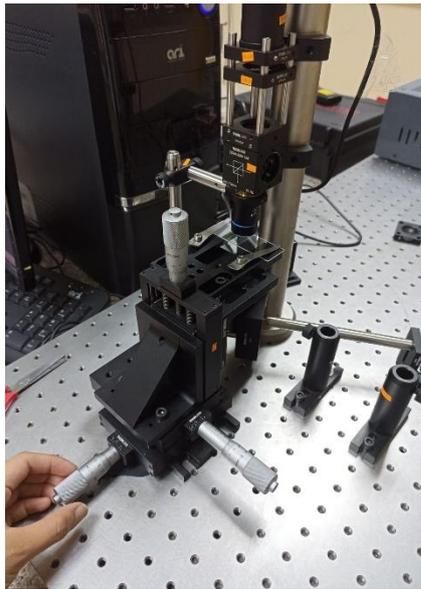
**Figura 28-2.** Colocación de la muestra de gameto bovino

Realizado por: Flores Sánchez, Andrea, 2021.

## 2.6. Enfoque de las muestras

Para realizar el enfoque de las muestras, se siguió el mismo procedimiento tanto para el gel de sílica como para los microorganismos presentes en sistemas biomoleculares.

- Una vez que se colocó el portaobjetos en la platina sobre el *slideholder* de la pinza óptica, se comenzó a manipular con mucho cuidado los tornillos micrométricos que se encuentran en cada extremo del sistema de posicionamiento de la muestra PTE.
- Los ejes coordenados (x, y, z) corresponden a los movimientos traslacionales del sistema de posicionamiento de la muestra. Se comenzó con el movimiento del tornillo perteneciente al eje coordenado en “z” que da un movimiento de arriba hacia abajo, con el fin de llevar a la muestra hasta el objetivo del microscopio, se lo debe llevar tan cerca como sea posible sin olvidar que se debe enfocar la muestra con este movimiento. En el caso de que se llevara mucho hacia arriba, es decir, muy cerca del objetivo, se podría romper al cubreobjetos y se dañaría la muestra.
- Con los tornillos que se encuentran en el eje coordenado “x”, se puede mover la muestra hacia adelante o hacia atrás, y con los tornillos que se encuentran en el eje coordenado “y” se los puede mover en dirección de derecha o izquierda. Estos movimientos se los debe tener mucho en cuenta ya que con ellos se pudo mover la muestra y encontrar se ubicaba una mayor parte de microorganismos para poder realizar la captura óptica.



**Figura 29-2.** Manipulación de los tornillos

Realizado por: Flores Sánchez, Andrea, 2021.

## 2.7. Manejo de la cámara CCD

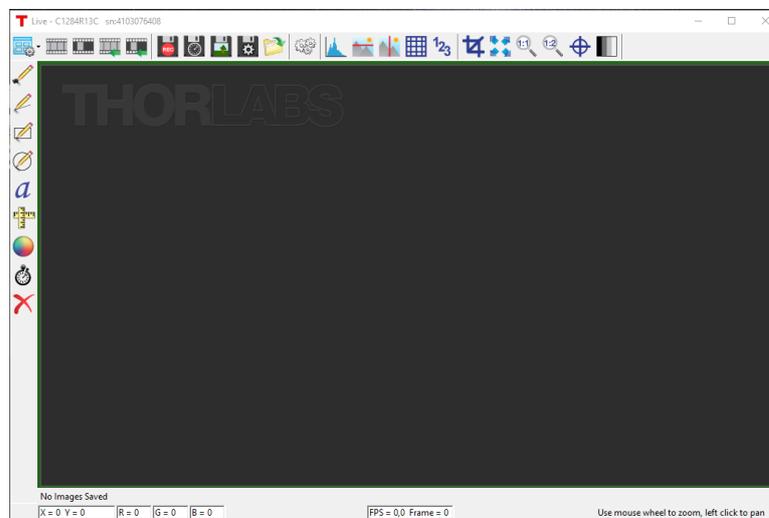
Para poder operar la cámara CCD, se debe descargar el software ThorCam más reciente de Thorlabs o también se puede instalarlo haciendo uso del CD que viene incluido, este software es recomendable instalarlo en Windows 7. Una vez que se instaló este software en el computador y el haz láser correctamente calibrado, se procedió a conectar la cámara al computador e iniciar con Thorcam.

Luego de abrir el programa en el computador, se procedió a seleccionar el ícono de cámara y se seleccionó la cámara que estaba habilitada en ese momento, al momento que no apareció la cámara se dio clic en actualizar hasta que el sistema reconoció la cámara que se ocupó en ese momento. Al instante que se seleccionó la cámara habilitada, se inició un panel frontal del software con una pantalla de color negra que se lo puede ver en la Figura 30-2.

Para observar la transmisión en vivo desde la cámara se seleccionó  (iniciar captura) desde el panel de comando.

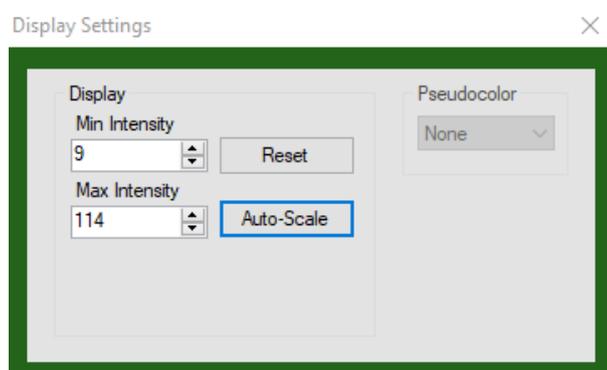
Una vez hecho la transmisión en vivo, se vió la pantalla completamente negra, para evitar eso, se seleccionó , y se dió un clic en *AutoScale*, para mejorar la imagen primero se tuvo que dar *AutoScale* con las luces apagadas y sin nada prendido, luego se encendió el haz laser y otra vez se aplastó el icono y finalmente se hizo lo mismo, pero, encendiendo la luz fría blanca (Figura 31-2).

Se pudo cambiar el brillo, o mejorar la apariencia de la imagen seleccionando , todo esto va a depender de la perspectiva del observador para considerar si la imagen se ve bien o se ve mal, y de la habilidad para enfocar, atenuar y dar mejor apariencia en colores a la imagen en vivo. En la pestaña de cámara se eligió, *Pixel Clock*, *Frame Rate* y *Exposure Time*, el parámetro básico para la sincronización de la cámara fue *pixel clock*. Esta determinó la velocidad a la que se leen los píxeles del sensor. Para establecer cierta velocidad de fotogramas altos, se aumentó el *pixel clock* a 2/3 de la banda total, se recomienda una velocidad de fotogramas de 10 FPS o superior. *Exposure Time* depende de la velocidad de fotogramas que se seleccione y se encuentra preestablecido en su valor recíproco. Todos los parámetros considerados se los observa en la Figura 32-2. Y finalmente, después de haber colocado los parámetros considerados adecuados se obtuvo una imagen con un enfoque correcto de la muestra estudiada, en este caso se presentó la muestra con las partículas de sílica enfocadas y junto con el haz láser (Figura 33-2).



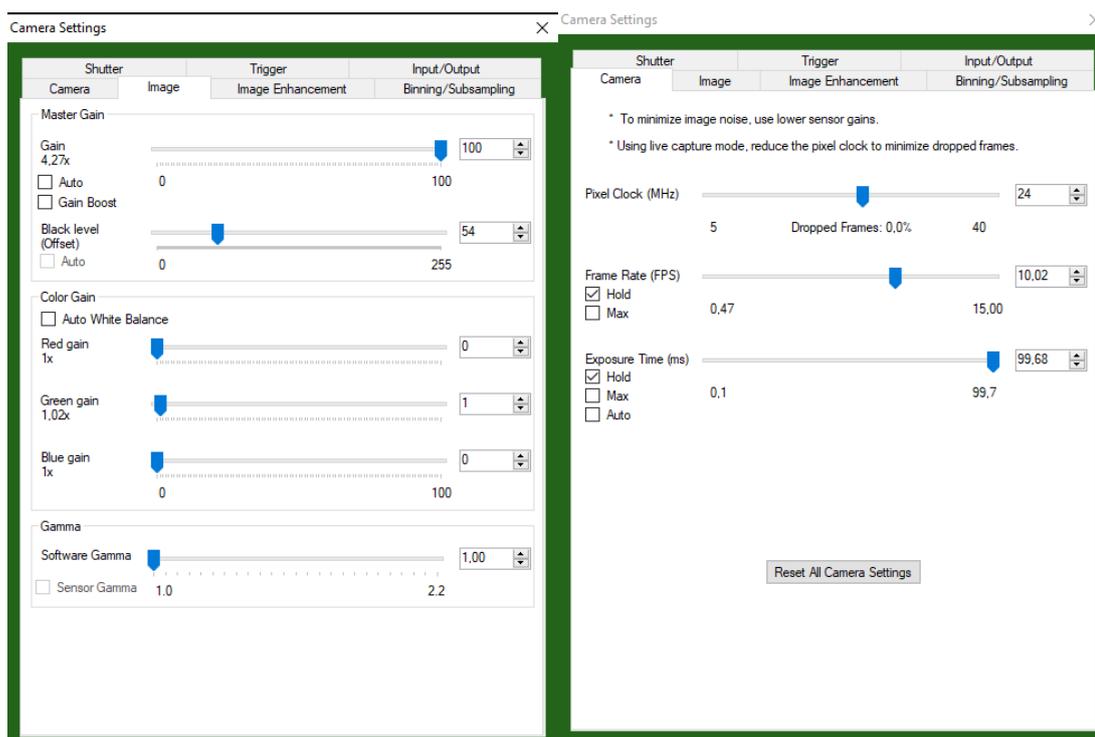
**Figura 30-2.** Interfaz gráfica de ThorCam

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2021.



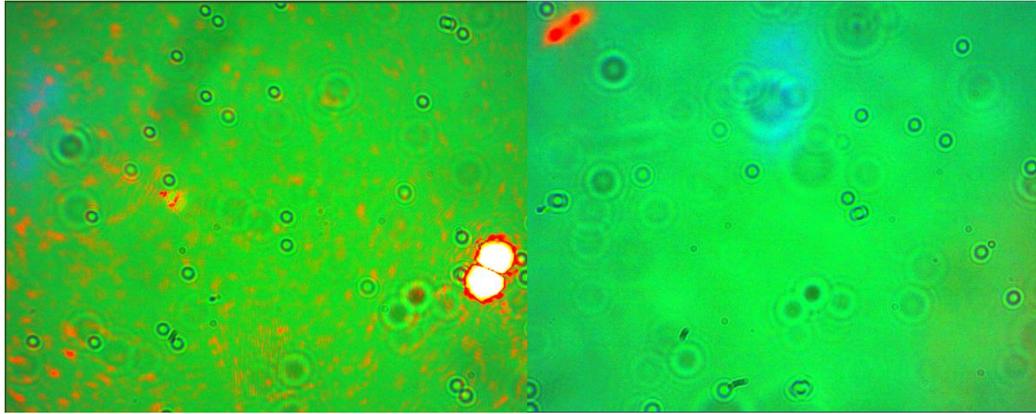
**Figura 31-2.** AutoScale de la imagen, ausencia de luz, láser y luz blanca

Realizado por: Flores Sánchez, Andrea, 2021.



**Figura 32-2.** Consideraciones de imagen para el software ThorCam

Realizado por: Flores Sánchez, Andrea, 2021.



**Figura 33-2.** Enfoque de microesferas de sílica con el haz láser de 633 nm y 650nm

Realizado por: Flores Sánchez, Andrea, 2022.

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 3.1. Interpretación de resultados generales del sistema de Pinza Óptica

En el presente Proyecto Integrador se mostró una primera vista de lo que conlleva la técnica de manipulación y atrapamiento óptico de micropartículas de sílica y de sistemas biomoleculares. Además, se logró identificar que el estudio de radiación láser en microorganismos de muestra de orina y gameto bovino permitieron atrapar y sostener partículas de tamaño micro y nanométrico debido al potencial eléctrico que tenía el láser.

También se diseñó de manera correcta una metodología que permitía utilizar la pinza óptica de mejor manera y aprovechar su funcionamiento mediante la descripción de sus elementos y diversas funciones.

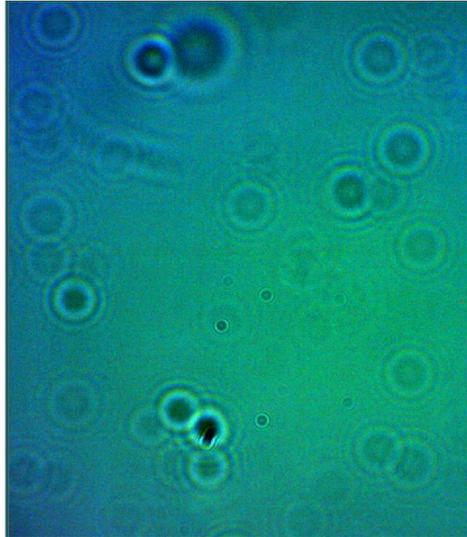
Además, se analizaron los aspectos más importantes dentro del uso de la pinza óptica que fue el armado y calibrado de la pinza dentro del Laboratorio de Óptica de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, aplicando los conocimientos y contrarrestando con la literatura presentada.

##### 3.1.1. *Primer enfoque de las micropartículas de sílica*

Para obtener mejores resultados se contó con una zona específica para ensamblar el equipo, es decir, una mesa óptica adecuada donde no existieron perturbaciones al momento de colocar las muestras.

Para poder observar las microesferas de sílica, se tuvo un ensamble de enfoque y observación adecuados el cual se lo hizo con los componentes que se detallan en la Tabla 2-2. y Tabla 3-2. Primero se hizo con el láser apagado para poder observar de mejor manera, además ya se contaba con una luz fría blanca, la cual permitió regular la intensidad de la luz para poder observar en la pantalla. Cabe mencionar que ya hubo un primer trabajo sobre la pinza óptica que de igual manera se obtuvieron resultados favorables, sin embargo, se hicieron algunos ajustes los cuales mejoraron la calidad de imagen presente.

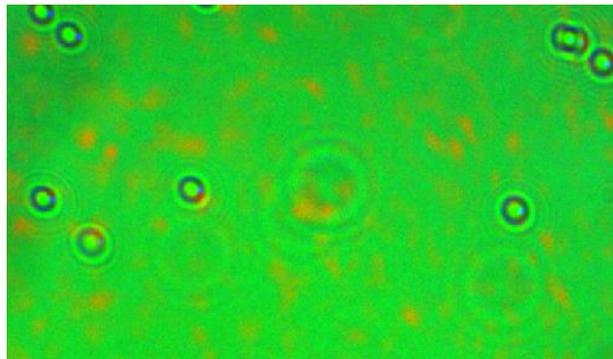
En la Figura 34-3. se observa el primer enfoque que se realizó de las microesferas de sílica, con el láser apagado, en la figura se observa que la calidad es muy buena, pero aun así posee poco nivel de color y con un enfoque inadecuado ya que no permitía ver a las microesferas de manera nítida. Esta imagen refleja el poco conocimiento que se tenía al comienzo con el software ThorCam.



**Figura 34-3.** Primer enfoque de sílica

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

Cuando ya se tuvo un poco más de experiencia con este software se realizaron algunos cambios al momento de su nitidez, sus colores, su enfoque, y de esta manera se logró obtener una imagen mucho más limpia con respecto a las micropartículas de sílica. (Figura 35-3).



**Figura 35-3.** Observación de las micropartículas de Sílica

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

Una vez lograda esta imagen que se observa en la Figura 35-3., se procedió a seguir mejorando la calidad de imagen en el software, estas observaciones fueron realizadas con un objetivo de 40x, y tenía congruencia con la teoría que describía las micropartículas, se podían ver unas microesferas casi perfectas de la sílica. Sin embargo, aún no se tenía una imagen clara de cómo eran estas estructuras, además cada día, las características que se tenían que ingresar al software variaban, esto se debía a las condiciones que se encontraba el laboratorio en su momento, por lo que cada imagen que se realizaba en vivo necesitaba cambiar la configuración en el ThorCam.

Al momento de poder dominar correctamente las configuraciones de la cámara CCD y manipular sobre todo los tornillos micrométricos se pudo lograr un enfoque correcto de las micropartículas que se puede observar en la Figura 36-3. También gracias a la experiencia que se iba obteniendo con el software se pudo enfocar de mejor manera las diferentes muestras estudiadas.



**Figura 36-3.** Enfoque de micropartículas de sílica

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

### **3.1.2. Interacción de la pinza óptica con las micropartículas de sílica**

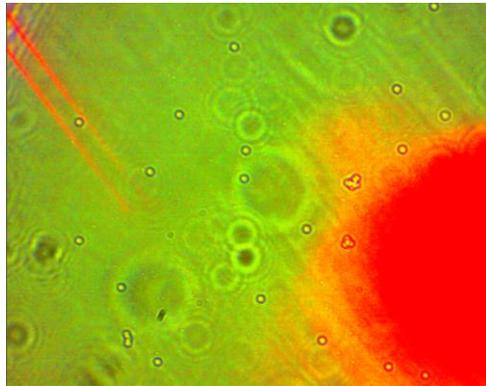
#### **3.1.2.1. Láser de $\lambda=632,8 \text{ nm}$ y $P= < 1 \text{ mW}$**

Como ya se tenía una visión mejor del uso del software, se pudo continuar con la implementación del láser en el sistema de enfoque y observación de la pinza óptica, se debe comenzar diciendo que, sí se usó el sistema de colimación para la pinza óptica, sin embargo, como se tuvieron carencias en algunos materiales y en especial la potencia del láser, la intensidad de salida del objetivo del microscopio no era la adecuada para poder realizar correctamente una observación de interacción.

Dado a que ya hubo un primer análisis con la pinza óptica, se procedió a verificar los diferentes láseres que se contaba en el Laboratorio de Óptica, y se concluyó que el mejor en ese momento fue el láser de HeNe con  $\lambda=633 \text{ nm}$  el cual contaba con el color que se requería para practicar la teoría de la pinza óptica, el color rojo, en el espectro del IR, el cual permitió no dañar o perturbar a las muestras que se encontraban en análisis.

Al momento de medir la potencia del láser, el potenciómetro nos daba un valor de  $\approx 0,735 \text{ mW}$  a una distancia de 25 cm desde la pinza óptica hasta el láser, y también al medir la potencia en la salida del objetivo, esta era de  $\approx 0,012 \text{ mW}$ , es decir, hubo una disminución significativa de potencial al pasar el láser por el cubo divisor y por el objetivo. Esto hizo que la captura de las micropartículas fuese inestable e incluso no se llegaba a dar la captura óptica, por tan baja potencia que recibía la muestra.

Se logró realizar las primeras interacciones del láser con las micropartículas de sílica, esto se observa en la Figura 37-3. En un comienzo se tuvo que la imagen en vivo que salía de las microesferas con el láser, existía un pequeño resplandor, esto se debía a que el láser chocaba con los bordes del cubreobjetos, también había una reflexión del láser con la sílica. A este punto se debe mencionar que, al momento de prender el láser, se tenía que realizar nuevas configuraciones en el software para poder tener una visión correcta de la muestra.



**Figura 37-3.** Interacción del láser con las micropartículas de sílica

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

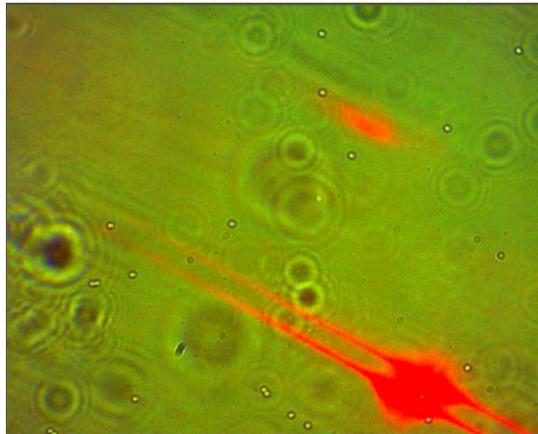
Una vez que el láser estaba interactuando con la muestra, fue necesario hacer ciertas mejoras, como enfocar de mejor manera para poder observar en la pantalla de computador una imagen mucho más nítida, esto se lo hizo moviendo los tornillos micrométricos, especialmente en el eje Z, haciendo que la muestra este lo más pegada posible al objetivo y esto permitió que el láser interactuara de mejor manera con las micropartículas. Se observó que existían microesferas que parecían estar al fondo de la imagen y otras más cerca, esto es porque las microesferas comenzaban a levitar en el medio en que se encontraban haciendo que algunas estuvieran pegadas al cubreobjeto y otras al portaobjeto, para poder evitar esta situación se debería colocar la muestra hacia abajo con otro montaje de la pinza óptica, pero no existen ciertos materiales para poder realizar dicho montaje.

También se consideró el tamaño de la muestra, en este caso el diámetro de la microesfera de sílica fue más grande que la longitud de onda del rayo incidente, por lo cual se consideró el Régimen de Rayos Ópticos  $D \gg \lambda$ . Para este Proyecto Integrador se consideró un diámetro aproximado de  $2 \mu\text{m}$  para las microesferas de sílica y para la longitud de onda  $\lambda = 0,63 \mu\text{m}$  y claramente se observó que cumplía la relación de  $D \gg \lambda$ .

Una vez que se consiguió el mejor enfoque para la sílica y el láser, se comenzó a hacer pruebas con diferentes muestras, y en todas existía un destello característico de color rojo, se procedió a limpiar lentes, objetivo, el cubo y la cámara por si estuviera algo sucio y hacer nuevamente el

montaje, pero ocurría siempre lo mismo, sin embargo, lo que más interesaba con esta muestra, era observar algún movimiento diferente en el comportamiento de la sílica y determinar si el láser interaccionaba o no.

Todos los análisis que se hacían con las diferentes muestras, a pesar de la poca potencia de salida que existía en el lente objetivo, el láser interaccionaba con las microesferas, haciendo que estas se detuvieran por un tiempo aproximado de 3 segundos y luego en algunos casos salieran disparadas, es decir, también el láser perturbaba la trayectoria de las microesferas. (Figura 38-3.)



**Figura 38-3.** Atrapamiento Óptico de las micropartículas de sílica

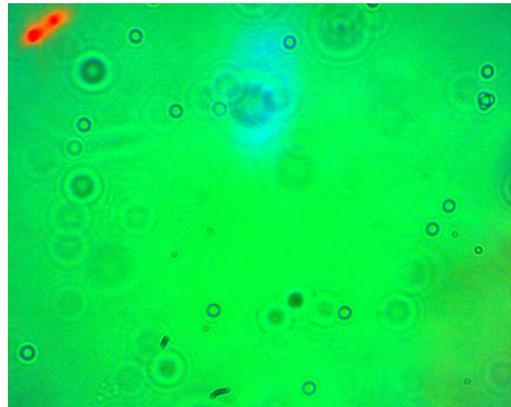
**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

### 3.1.2.2. Láser de $\lambda=650 \text{ nm}$ y $P= 200 \text{ mW}$

Debido a que hubo una limitación en los materiales para realizar el atrapamiento óptico, se decidió adquirir un nuevo láser de manera personal, un láser de color rojo con una longitud de onda de  $650 \text{ nm}$  y potencia de  $200 \text{ mW}$ , que es mayor a la potencia del láser mencionado anteriormente. Se realizó el mismo montaje de observación y enfoque en la pinza óptica, lo único que cambió fue el posicionamiento del láser y la distancia a la que este se encontraba.

Primero se decidió colocar el láser a la misma distancia que el láser pasado, a  $25 \text{ cm}$  desde la pinza hasta la punta del láser, y se obtuvo una potencia de salida en el objetivo de  $5,4 \text{ mW}$ , y se observó que las micropartículas de sílica se separaban en distintos grupos, es decir, se comenzaban a agrupar con la presencia del láser. Sin embargo, se requería de una interacción mucho más certera, y se comenzó a variar la distancia a la que se encontraba el láser, hasta que se llegó a una distancia de  $10 \text{ cm}$  desde la muestra hasta la punta del láser y la potencia de salida en el lente objetivo era de  $11,7 \text{ mW}$ , lo cual era verdaderamente más grande que el láser de  $633 \text{ nm}$ .

El láser atraía a todas las microesferas de sílica hacia el lugar donde se encontraba el láser, en una sola dirección como si estuvieran sincronizadas. Figura 39-3.



**Figura 39-3.** Láser de 650 nm con micropartículas de sílica

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

De igual manera se tomó el Régimen de Rayos Ópticos, donde el diámetro de las microesferas era de 2  $\mu\text{m}$  y el del láser 0,65  $\mu\text{m}$ . Se hicieron varias pruebas del láser con diferentes muestras de sílica y se pudo verificar que ya no existía el destello rojo que había con el láser de 633 nm, y se pudo concluir que no era por la reflexión de la sílica o del cubreobjeto, sino más bien, era un problema que tenía el láser, al comparar ambos láseres en una superficie plana, se observó que el primer láser no tenía un “spot” perfecto, era más bien como una circunferencia y alrededor de esta tenía destellos, y el segundo láser tenía un “spot” completamente puntual.

Además, con las pruebas que se realizaron, se determinó que con una potencia  $\approx 11$  mW en la salida del lente objetivo, las micropartículas interaccionaban mucho mejor. Realizando un atrapamiento óptico adecuado y cumpliendo con la teoría sobre la pinza óptica.

### **3.1.3. Atrapamiento Óptico sistemas biomoleculares**

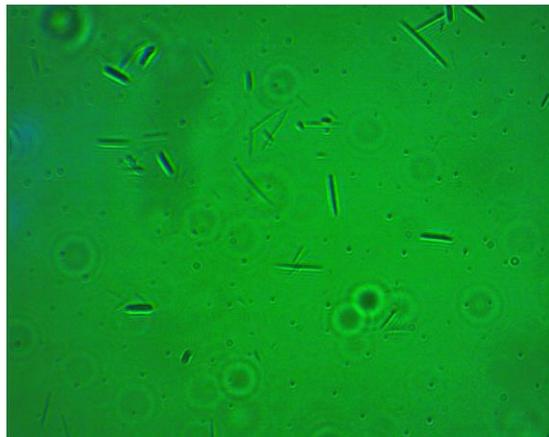
Ya que se describió anteriormente lo que ocurre con las micropartículas de sílica, y su interacción con diferentes láseres, se cambia la muestra de sílica por un sistema biomolecular de microorganismos presentes en orina y gameto bovino, los cuales fueron principal fuente de estudio en este trabajo.

#### **3.1.3.1. Láser de $\lambda=632,8$ nm y $P= < 1\text{mW}$**

De igual manera que las micropartículas de sílica, se hizo interactuar el haz láser de 633 nm con sistemas biomoleculares, con la potencia de salida del lente objetivo de  $\approx 0,012$  mW el resultado

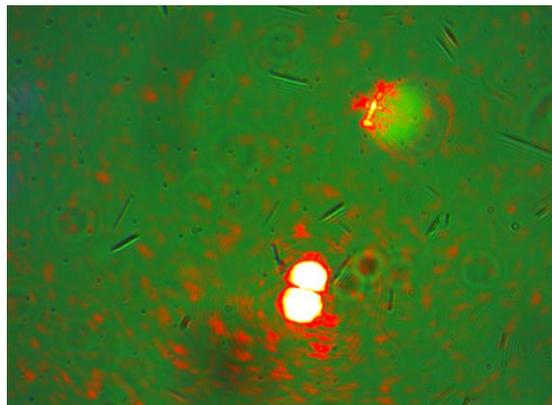
general fue de una captura óptica débil, a pesar de que con las micropartículas de sílica no se obtuvo un resultado favorable, con los microorganismos en orina y gameto bovino se observó una mejora con la interacción del láser.

Como primera muestra de sistemas biomoleculares, se tomó los diferentes microorganismos presentes en la orina, en las muestras se pudieron evidenciar bacterias como la *escherichia coli*, la cual tiene una estructura aproximada de 3  $\mu\text{m}$ , esto hace posible que siga el Régimen de Rayos Ópticos haciendo que fuese posible realizar una captura débil con el haz láser. Esta captura se puede evidenciar en la Figura 40-3. y Figura 41-3.



**Figura 40-3.** Avistamiento de *Escherichia coli*

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

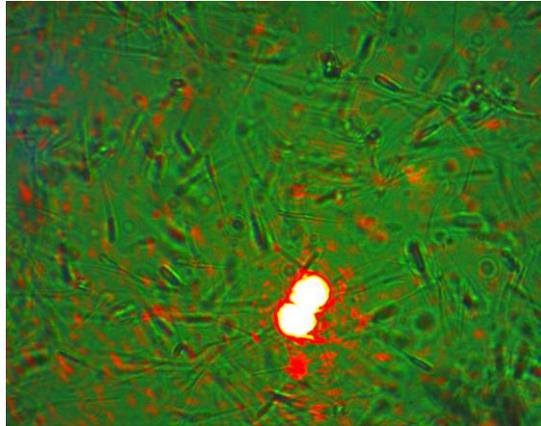


**Figura 41-3.** Interacción del láser respecto a microorganismos en orina

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

También se puede evidenciar en la Figura 42-3. la interacción del haz láser con gameto bovino, se sabe que en una sola muestra existe una cantidad aproximada de 25 millones de gametos bovinos, los cuales al cabo de 25 minutos comenzaron a morir dada las condiciones en las que se encontraban. El diámetro aproximado de la cabeza del espermatozoide era de 4  $\mu\text{m}$  a 5  $\mu\text{m}$ , que,

de igual manera cumplía con el Régimen de los Rayos Ópticos por lo que si fue posible hacer una captura óptica débil. Con el láser de 633 nm, las estructuras de los gametos eran capturadas de manera diferente, es decir, el láser tomaba ya sea por la cola o por la cabeza a los gametos y los hacia permanecer inmóviles, los detenía en un solo lugar, sin embargo, hubo algunos gametos que se movían demasiado rápido por lo que era casi imposible atraparlos con el láser.



**Figura 42-3.** Interacción del láser con gameto bovino

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

### 3.1.3.2. Láser de $\lambda=650 \text{ nm}$ y $P= 200 \text{ mW}$

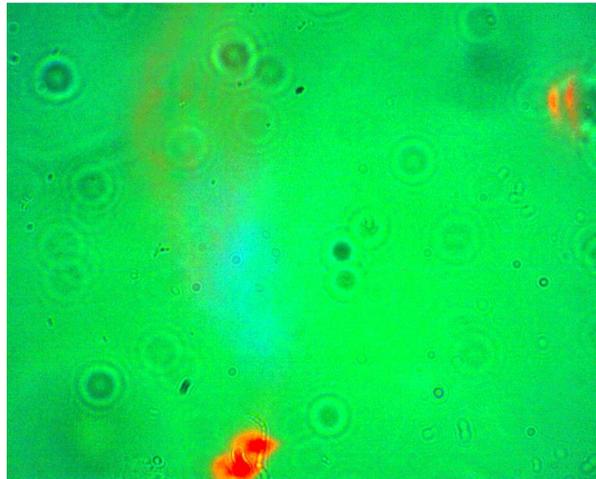
Al igual que el primer láser, se realizaron las mismas muestras para el análisis con el láser de 650 nm, esto se lo hizo ya que la potencia de este láser era mucho mayor y la captura óptica mejor que lo que se vio con el láser de 633 nm.

Tomando la muestra de orina que contenía una infección y siguiendo el Régimen de Rayos Ópticos, se logró evidenciar que con una potencia aproximada en la salida del lente objetivo de 11,7 mW, las bacterias de *escherichia coli*, eran eliminadas, es decir, las bacterias se movían por todos lados, y al momento de acercarlas al láser, debido a su fuerte potencial, las capturaba y las mataba de tal manera que se dejaban de mover, esto ocurría en un lapso de menos de 2 segundos, por lo que era casi instantáneo. En la Figura 43-3. y Figura 44-3 se puede observar el fenómeno descrito.



**Figura 43-3.** Interacción del láser con microorganismos en orina

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

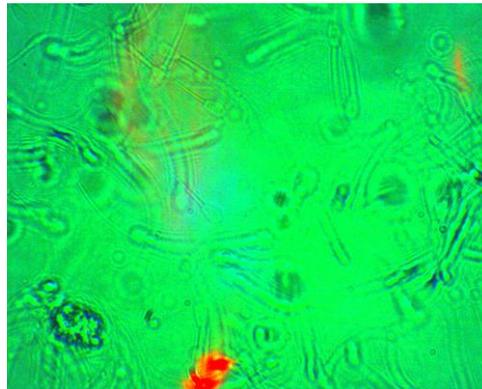


**Figura 44-3.** Atrapamiento de escherichia coli

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

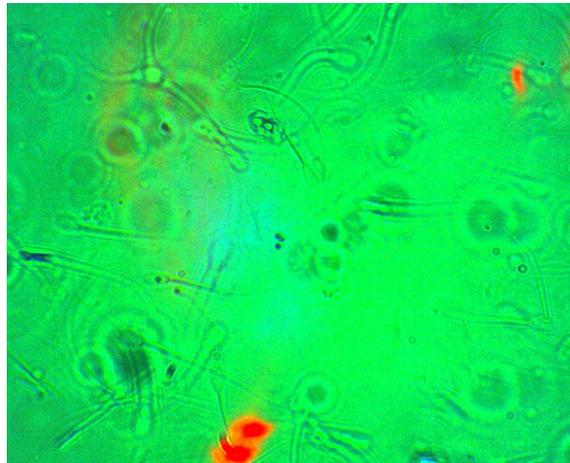
Tomando la muestra de gameto bovino, donde en una pajuela existen aproximadamente 25 mil a 30 mil espermatozoides, se hizo la interacción con el láser de 650 nm el cual capturó de manera satisfactoria a los gametos por un tiempo prolongado, de igual manera que las muestras anteriores, se utilizó el Régimen de los Rayos Ópticos, además en las muestras se evidenciaron ciertas anomalías en la anatomía del gameto como dos cabezas, dos colas o inclusive algunos sin colas, esto se debe a que las muestras fueron tomadas 48h antes de un bovino joven, en su primera monta, y es por ello que aun los espermatozoides seguían siendo inmaduros en comparación con bovinos que presentan una genética mucho mejor y más longevos, este factor hizo un poco difícil realizar la captura óptica debido a que si se atrapaba un gameto que estuviera atrofiado, el láser

solo atrapaba cierta parte de la anatomía, haciendo que sea más difícil observar bien los resultados, en la Figura 45-3. y Figura 46-3. se puede observar la interacción del láser con el gameto.



**Figura 45-3.** Interacción gameto bovino

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

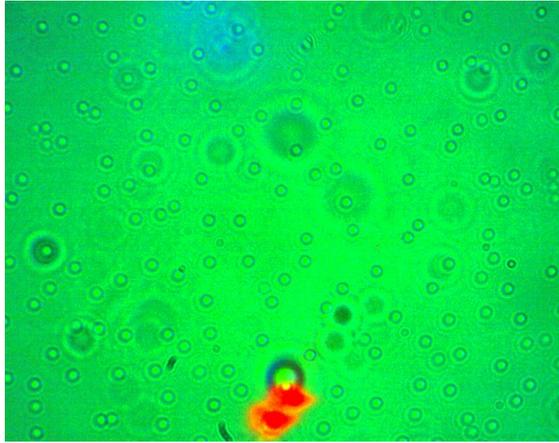


**Figura 46-3.** Atrapamiento óptico gameto bovino

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

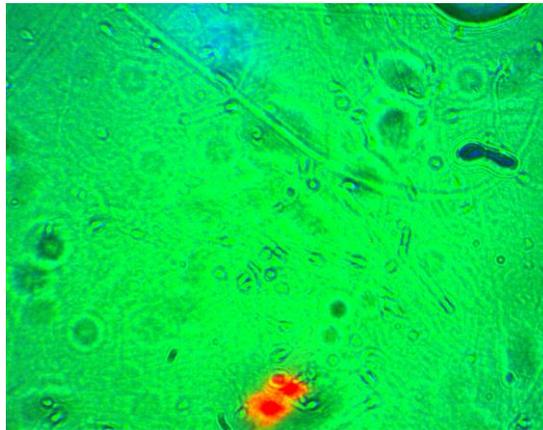
Debido a la reacción positiva que se tuvo con el láser de 650 nm, se decidió ahondar más sobre la interacción de la radiación láser con otros sistemas, se tomó muestras de agua estancada que se encontraban en la ESPOCH (Figura 47-3.), y también se tomaron muestras de gameto humano (Figura 48-3.), se colocaron las muestras en la pinza óptica para observar el efecto que tenía el láser sobre los sistemas.

Gracias a que se siguió la misma metodología para enfocar las muestras, se obtuvo un resultado favorable, los diferentes sistemas interactuaron con el haz láser, con el agua estancada se observó que el láser atrapó una microbacteria y no dejaba que se moviera hacia otros lados, mientras que, con el gameto humano, a pesar de no haber muchos en la muestra, comenzó a tomarlos por la cabeza y cola sin dejarlos movilizar, e inclusive, mataba a algunos gametos.



**Figura 47-3.** Captura óptica de microbacteria de agua estancada

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.



**Figura 48-3.** Captura óptica de gameto humano

**Realizado por:** Flores Sánchez, Andrea, 2022.

## CONCLUSIONES

Se estudio y se comprendió de manera satisfactoria el principio físico de la interacción radiación materia mediante la demostración matemática de la ecuación física, se comprendió que al interaccionar la radiación en la materia podemos encontrar información de la misma, y depende de,  $x_0$  que representa la posición de equilibrio que depende el campo de  $\omega$  que existe fuera,  $F_0$  que es la fuerza eléctrica y  $\omega_0^2, \eta$  como parámetros internos. También si la ecuación de la interacción radiación materia se racionaliza y se hace  $\omega = \omega_0$ , se obtiene el máximo de la Fuerza Lorentziana.

Se revisó el comportamiento físico que tiene el haz láser a través del estudio de la ecuación del haz gaussiano. La solución de la ecuación gaussiana contiene un factor de amplitud y además un factor de fase. El factor de amplitud tiene un perfil Gaussiano y el ancho es  $w(z)$  el cual representa la naturaleza difractiva de la luz, por otra parte, el perfil Gaussiano esta atenuado por  $w_0(z) / w(z)$  el cual hace que disminuya la amplitud del haz conforme se propaga cuando se aleja de la cintura del haz. El factor  $w_0(z) / w(z)$  se encarga de cumplir la conservación de la energía del haz.

Mediante la pinza óptica se estudió la orina como sistema biomolecular y se determinó la presencia de microorganismos debido a que la persona que donó las muestras de orina se encontraba con infección de vías urinarias y esto hace que exista presencia y multiplicación de microorganismos, generalmente producidos por bacterias y en menor proporción por hongos y virus. Los microorganismos presentes que se observaron en la orina fue *Escherichia Coli*, gérmenes atípicos y *Enterococcus* como los microorganismos más frecuentes (que se distinguen por su morfología). Además, se realizó la captura óptica con el Régimen de Captura Óptica el cual asegura que el radio de la partícula debe ser mayor a la longitud de onda del haz láser  $D \gg \lambda$ , para los microorganismos de la orina se tiene una estructura aproximada de  $3\mu\text{m}$  y para los láseres que se utilizaron  $0,63\mu\text{m}$  y  $0,65\mu\text{m}$ , con esto se pudo evidenciar una captura óptica.

En el proyecto se logró estudiar el gameto bovino mediante el láser de la pinza óptica, en una muestra se encontraban alrededor de 25 mil a 30 mil espermatozoides los cuales tenían ciertas características tales como, doble cola, doble cabeza, habían unos más grandes que otros y se movían en todas las direcciones, inclusive se movían en círculos, esto dependía del donador de espermatozoides, que tan joven era el bovino, ya que debido a su edad, los gametos serían más inmaduros, haciendo que el comportamiento de los gametos varíe, también, el gameto bovino es uno de los más grandes y resistentes con un tiempo de vida aproximado de 20 minutos a temperatura ambiente, el diámetro de la cabeza de los espermatozoides varia de  $4\mu\text{m}$  a  $5\mu\text{m}$  por lo que también se siguió el Régimen de Rayos Ópticos para estas muestras  $D \gg \lambda$  con los láseres de  $633\text{ nm}$  y  $650\text{ nm}$  y se pudo evidenciar una captura óptica, donde se podía apreciar el atrapamiento de varios gametos con el haz láser.

## RECOMENDACIONES

El Laboratorio de Óptica se debe encontrar en condiciones óptimas de trabajo para evitar daños o problemas tales como: daño de los equipos, desorganización de las mesas ópticas donde se encuentran los materiales necesarios, inconsistencia de los resultados que se toman y el mal uso que se da a los equipos. Se debe mencionar además que la pinza óptica cuenta con partes hechas de vidrio y pequeñas, por lo que se podrían rayar, romper e incluso perder, siendo un equipo con un valor elevado se debe tener precaución.

Si se utiliza un láser potente, mayor a 130 mW se recomienda utilizarlo por intervalos de 10 minutos, ya que, al ser un láser con mayor potencia, tiende a calentar la muestra y esto hace que se perturbe los resultados, y en algunos casos dañaría la muestra. También es necesario que se vayan haciendo diferentes pruebas con la distancia del haz láser respecto a la pinza óptica ya que mientras más lejos del cubo divisor este el láser, se va a perder potencia al momento de la salida del objetivo hacia la muestra.

Debido a que el Laboratorio de Óptica no cuenta con un haz láser suficientemente potente se recomienda adquirir un láser que cumpla con ciertas características como una longitud de onda que se encuentre en el IR y UV-Vis, una potencia de salida mayor a 100 mW y que tenga un comportamiento gaussiano.

Debido a la potencia tan alta que se requirió para el atrapamiento óptico, es necesario utilizar protección en los ojos, usando gafas de protección que contraste el haz láser, ya que al ser un láser de Clase IIIB este puede causar daño si el haz entra directamente a los ojos, sin embargo si se utiliza un láser de Clase IIB a pesar de no causar mayor daño en los ojos, no tendrá una potencia suficiente ya que será menor a 1 mW, esto hace necesario utilizar otro tipo de clase para poder tener resultados esperados, cuidando siempre nuestros ojos.

Ya que el estudio de la pinza óptica ha tenido un gran auge en estos últimos años, cada vez se puede encontrar más aplicaciones tanto en biofísica, tecnología, medicina, e inclusive en la física para la caracterización de propiedades físicas de diferentes tipos de haces, es por ello que se recomienda conocer previamente el funcionamiento de la pinza óptica y los diferentes microorganismos, micropartículas y microbacterias que se puede capturar dependiendo el régimen que se quiera utilizar.

Hay que mencionar que, los tornillos micrométricos, se los debe manipular con mucho cuidado ya que es un sistema muy sensible y a la menor perturbación se podría descalibrar o incluso si se mueve muy rápido estos tornillos, no se podría encontrar una zona adecuada dentro de la muestra para el estudio necesario. Debido a que el haz láser de 633 nm se encontraba defectuoso y hacía que existiera un destello al momento de ver la captura óptica en la pantalla del computador, se recomienda utilizar un láser puntual, este permitirá observar mejor la captura óptica de la muestra.

## GLOSARIO

**Absorción:** Es el proceso donde la radiación electromagnética es atrapada por la materia, al momento en que la absorción se produce dentro del rango de la luz visible, pasa a ser absorción óptica. La luz puede ser absorbida por diferentes medios o cuerpos y ser transformada en calor (Malacara, 2015, p. 432).

**Bit:** Binary Digital, es un dígito del sistema de la numeración binaria, la cual puede tener solamente dos valores, cero o uno (Flores Sánchez, Andrea, 2022).

**Convergencia:** Mediante la refracción, que es el cambio de dirección de la onda al interactuar con un medio material, se tiene que la convergencia es cuando se unen las ondas, es decir, al momento de incidir haces de luz en una lente convergente, esta hace que las ondas se unan, formando un solo haz (Flores Sánchez, Andrea, 2022).

**Cuerpo negro:** El cuerpo negro es cierto sistema idealizado el cual absorbe toda la radiación que puede recibir, con la peculiaridad de que no refleja nada de lo que recibe (Padilla, 2005, p. 371).

**Dieléctrico:** Es un material que posee una baja conductividad eléctrica, en otras palabras, es un material aislante. El dieléctrico tiene la propiedad de crear dipolos eléctricos bajo la influencia de un campo eléctrico, como el vidrio, la goma, la cerámica, entre otras (Flores Sánchez, Andrea, 2022).

**Dispersión:** Es un fenómeno de separación de ondas que tienen diferentes frecuencias al pasar por un medio material. Dicha dispersión es causada ya que la velocidad de la onda depende de la frecuencia (Flores Sánchez, Andrea, 2022).

**Divergencia:** Mediante la refracción, que es el cambio de la dirección de la onda al interactuar con un medio material, se manifiesta que la divergencia es cuando se separan las ondas al incidir en un medio, es decir, al incidir en una lente divergente un haz, este se separa en varios haces (Flores Sánchez, Andrea, 2022).

**Estocástico:** Es un sistema el cual su proceso es no determinista, un comportamiento no específico, es un proceso el cual su comportamiento se basa en el azar y la probabilidad mediante análisis estadístico (Flores Sánchez, Andrea, 2022).

**Fotón:** El fotón es partícula mínima elemental que contiene energía luminosa o diferentes energías electromagnéticas. Además, el fotón compone la luz y los cuantos de energía en forma de radiación electromagnética, que es emitido o a su vez absorbido por la materia. También se dice que es una partícula indivisible que se mueve a la velocidad de la luz (Padilla, 2005, p. 371).

**Levitación óptica:** Método para poder levitar ciertos objetos con propiedades dieléctricas a tamaños micrométricos haciendo uso de un haz láser (Galán et al., 2019, p. 143).

**Microtúbulos:** Son estructuras proteicas que son parte fundamental del citoesqueleto celular. Como funciones principales se tiene que ayudan a contribuir el mantenimiento de la forma celular, servir como camino para el transporte intracelular, componentes principales de cilios y flagelos y

también formación del huso mitótico, y además importante en la división celular (Martínez, 2008, p. 31).

**Ondas Evanescentes:** Ondas que se forman cuando las ondas viajan con una reflexión interna total, donde el límite es causado por golpear un ángulo mayor que el ángulo crítico. Ondas estacionarias con cierta intensidad en forma de decaimiento exponencial (Flores Sánchez, Andrea, 2022).

**Pixel:** Píxel o también conocido como Pixel es una unidad homogénea a color que forma parte de una imagen de manera digital. Unidad básica de una imagen que se encuentra digitalizada a base de puntos con color o también a escala de grises (Flores, Sánchez, Andrea, 2022).

**Radiación:** La radiación es la propagación de energía mediante ondas electromagnéticas a través del vacío o un medio material. La radiación se puede presentar en diferentes longitudes de onda y frecuencia, aun así, en el vacío se desplazan con la misma velocidad (Padilla, 2005, p. 371).

**Reflexión:** El rayo incidente, el rayo reflejado y la normal se encuentran en un plano común, es decir, la reflexión es el cambio de dirección de un rayo que entra en contacto con una superficie con índice de refracción. La magnitud del ángulo de reflexión es igual al del ángulo de incidencia (Malacara, 2015, p. 34).

**Refracción:** Es el cambio de dirección que experimenta un rayo al pasar de un medio a otro, con distintos índices de refracción (Flores Sánchez, Andrea, 2021).

**Trifásico:** Es un sistema de tres fases, producción, distribución y consumo de electricidad que se encuentra formado por tres corrientes alternas monofásicas que contienen frecuencia y amplitudes iguales. La corriente trifásica es un flujo de la electricidad que se encuentra formada por tres corrientes alternas monofásicas (Planas, 2021, p. 3).

## BIBLIOGRAFÍA

**ALFARAJ, Nasir.** “A review of charge- coupled device image sensors”. *ResearchGate* [en línea]. 2017. pp. 1–18. [consulta: 01 de diciembre de 2021]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/313504888\\_A\\_review\\_of\\_charge-coupled\\_device\\_image\\_sensors](https://www.researchgate.net/publication/313504888_A_review_of_charge-coupled_device_image_sensors)

**ANIMAS, Jonny Gabriel.** Pinzas ópticas aplicadas a la fabricación de nanocompuestos. (Trabajo de Titulación). (Maestría). Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Unidad Altamira, Altamira, 2014, pp.1- 102.

**ASHKIN, Arthur.** “ACCELERATION AND TRAPPING OF PARTICLES BY RADIATION PRESSURE”. *Physics* [en línea]. 1970, 24(4), pp. 156–159 [consulta: el 20 de septiembre de 2021]. Disponible en: doi:10.1103/PhysRevLett.24.156

**BUSH, Larry.** *Introducción a las Bacterias* [blog]. Florida: 2020. Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es-ec/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-introducci%C3%B3n/introducci%C3%B3n-a-las-bacterias>

**BUTT, Hans-Jürgen, & KAPPL, Michael.** *Surface and Interfacial Forces – Optical Tweezers* [en línea] (2da Edición). Knovel, 08 de octubre de 2018. [Consulta: 17 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00CY8BP1/surface-interfacialforces/magnetic-tweezers.978-1-5231-1921-9>.

**CALVO, Juan.** “Viabilidad de Ovocitos Vitriificados y Madurados *in Vitro* de Gata Doméstica Adulta (*Felis Catus*) en Estación Reproductiva”. *Int. J. Morphol* [en línea]. 2015, 33(4), pp. 1242–1247. [consulta: 29 de septiembre de 2021]. Disponible en: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-95022015000400008](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022015000400008)

**CASTELLÁ, Adrián.** Excitación de cavidades optomecánicas mediante acopladores "grating" para procesado fotónico de señales de microondas. (Trabajo de Titulación). [en línea]. Universidad Politécnica de Valencia, 2020, pp. 1-40. [consulta: 13 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/handle/10251/143044>

**CASTEÑO, Itziar, SLON Fernanda, & GARCÍA Nuria.** “Estudios de función renal: función glomerular y tubular. Análisis de la orina”. *NefroPlus* [en línea]. 2009, 2(1), pp.17–30.

[consulta:18 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.revistanefrologia.com/es-estudios-funcion-renal-funcion-glomerular-articulo-X1888970009000355>

**CHALLONIER, Jack.** *The Cell. A VISUAL TOUR OF THE BUILDING BLOCK OF LIFE* [en línea]. Chicago: The Ivy Press, 2016. ISBN 9781782402077 [consulta: 31 de julio de 2021]. Disponible en: <https://www.investigacionyciencia.es/files/23735.pdf>

**CIUDAD, Antonio.** “Infecciones vaginales por candida: diagnóstico y tratamiento”. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia* [en línea]. 2007, 53(3), pp. 159–166. [consulta: 21 de septiembre de 2021]. Disponible en: [https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ginecologia/vol53\\_n3/pdf/a04v53n3.pdf](https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ginecologia/vol53_n3/pdf/a04v53n3.pdf)

**DURINI, Daniel.** *High Performance Silicon Imaging - Fundamentals and Applications of CMOS and CCD Sensors* [en línea] (2nd Edition). Tucson, AZ- United States: Kanovel, Elsevier, 09 de diciembre de 2019. [Consulta: 12 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt0121YC02/high-performance-silicon/basic-photon-detection.978-0-0810-2435-5>

**FERNÁNDEZ S., & CÓRDOBA M.** “El espermatozoide criopreservado bovino es capaz de modular su requerimiento energético dependiendo de los sustratos oxidativos para la capacitación inducida *in vitro* con heparina”. *InVet* [en línea]. 2014, 6(2), pp. 69–78. ISSN 1514-6634 [consulta: 07 de diciembre de 2021]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1791/179138576003.pdf>

**FERNÁNDEZ, Guillermo.** *Diseño e Implementación de Sistemas CCDs de Bajo Ruido para la Detección de Antineutrinos Provenientes de un Reactor Nuclear (Trabajo de Titulación)*. (Doctoral). Universidad Nacional del Sur, Argentina, 2015, pp. 1- 165. [consulta: 27 de agosto de 2021]. Disponible en: [https://repositoriodigital.uns.edu.ar/bitstream/handle/123456789/3452/tesis\\_guillermo\\_fernandez\\_moroni.pdf;jsessionid=781800EE5B84014DAE75F30D26C9E4E6?sequence=1](https://repositoriodigital.uns.edu.ar/bitstream/handle/123456789/3452/tesis_guillermo_fernandez_moroni.pdf;jsessionid=781800EE5B84014DAE75F30D26C9E4E6?sequence=1)

**FONTAL, Bernardo.** *El Espectro Electromagnético y sus Aplicaciones* [en línea]. Venezuela: Editorial, 2005 [consulta: 10 de septiembre de 2021]. Disponible en: [http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/16746/espectro\\_electromagnetico.pdf;jsessionid=A8B9E032D756B5B31AA9AD68E1FBA350?sequence=1](http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/16746/espectro_electromagnetico.pdf;jsessionid=A8B9E032D756B5B31AA9AD68E1FBA350?sequence=1)

**GALÁN, D. et al.** “Safe Experimentation in Optical Levitation of Charged Droplets Using Remote Labs”. *J. Vis. Exp.* [en línea]. 2019, pp. 143. Disponible en: <https://www.jove.com/es/t/58699/safe-experimentation-optical-levitation-charged-droplets-using-remote>

**GONZÁLEZ, Milton Carlos.** DESARROLLO DE UNA INSTALACIÓN PARA LA MANIPULACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE PARTÍCULAS POR ATRAPAMIENTO ÓPTICO. "PINZAS ÓPTICAS" (Trabajo de Titulación) (Maestría). [en línea]. Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación en Ciencias Aplicadas y Tecnología Avanzada, 2009. pp. 1-81. [consulta: 08 de octubre de 2021]. Disponible en: [https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/5914/1384\\_Centro%20de%20InvestigaciO n%20en%20Ciencia%20Aplicada%20y%20TecnologIa%20Avanzada%20\(CICATA\)%20Unid ad%20Altamiratesis\\_Febrero\\_2010\\_920729920.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/5914/1384_Centro%20de%20InvestigaciO n%20en%20Ciencia%20Aplicada%20y%20TecnologIa%20Avanzada%20(CICATA)%20Unid ad%20Altamiratesis_Febrero_2010_920729920.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

**RÍOS GONZÁLEZ, Rebeca del Carmen.** Implementación de un sistema de pinzas ópticas para manipulación de organismos biológicos (Trabajo de titulación). [en línea]. Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador. 2018. Disponible en: <http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/20.500.11962/22545/1/R%C3%ADos%20Gonz%C3%A1lez%20Rebeca%20del%20Carmen.pdf>

**HIDALGO, Carlos, TAMARGO Carolina, & DIEZ Carmen.** “Análisis del semen bovino”. *INFORMACIÓN GANADERA* [en línea]. 2005, 1(2), pp. 39–43. [consulta: 16 de octubre de 2021]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/28239900\\_Analisis\\_del\\_semen\\_bovino](https://www.researchgate.net/publication/28239900_Analisis_del_semen_bovino)

**JAMES, Kaper, JAMES Narato, & MOBLEY Harry.** “Pathogenic Escherichia Coli”. *Microbiology* [en línea]. 2004, 2, pp. 123–140. [consulta: 19 de octubre de 2021]. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nrmicro818.pdf>

**LARRONDO, Hilev de las Mercedes.** “Infección por bacilos gram- negativos no fermentadores. Problemática en las unidades de cuidados intensivos”. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* [en línea]. 2010, 9(5), pp. 680–687. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1729-519X2010000500011](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2010000500011)

**LE RU, Eric, & ETCHEGOIN, Pablo.** *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy and Related Plasmonic Effects* [en línea]. Knovel, Elsevier, 06 de enero de 20210. [consulta: 25 de noviembre de 2021]. Disponible en:

<https://app.knovel.com/web/view/khtml/show.v/rcid:kpPSERSRP1/cid:kt0078LDV9/viewerType:khtml/?view=collapsed&zoom=1&page=41>

**MALACARA, Daniel.** *Óptica Básica (3a. ed.)* [en línea]. 3ª ed. México D. F, México: FCE, 2015. [consulta: 19 de agosto de 2021]. ISBN 9786071634139 Disponible en: <https://elibro.net/es/ereader/epoch/37747?>

**MARTÍNEZ, Buey.** *Interacción de los microtúbulos con ligandos activadores de tubulina* [en línea]. Madrid, Universidad Complutense de Madrid, 2008. [ consulta: 03 de enero de 2022]. Disponible en: <https://elibro.net/es/ereader/epoch/88628?>

**MÉNDEZ ÁVALOS, Fidel.** “Efectos de radiación láser en sistemas de muchas partículas”. *Journal of Basic Sciences* [en línea]. 2015, (México), 1(3), pp. 40–44. ISSN 2448-4997. Disponible en: <https://revistas.ujat.mx/index.php/jobs/article/view/1328>

**MUESTRES, Pau.** Cavity optomechanics with optically trapped particles. (Trabajo de Titulación). (Doctoral). [en línea]. Universidad Politécnica de Cataluña, España, 2017, pp. 1-157. [consulta: 03 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=230155>

**PADILLA CALVO.** *Óptica avanzada* [en línea]. 11ª ed. Barcelona: Editorial Ariel, 2005. [consulta: el 24 de julio de 2021]. ISBN 9788434480520. Disponible en: <https://elibro.net/es/ereader/epoch/100169?>

**PADILLA, Juan Pablo.** Medición de la constante elástica k en un sistema de pinzas ópticas usando el método de densidad espectral de potencia. (Trabajo de Titulación). (Maestría) [En línea] INAOE, Puebla, México, 2009. pp. 1-59. [Consulta: 05 de agosto de 2021]. Disponible en: <http://inaoe.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1009/428>.

**PÁEZ AMAYA, Darby.** Análisis Teórico de las Pinzas Ópticas Bajo las Aproximaciones de Rayleigh y Mie (Trabajo de Titulación). [en línea]. Universidad de Pamplona, Colombia, 2015. [consulta: 18 de julio de 2021]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/331074906\\_Analisis\\_Teorico\\_de\\_las\\_Pinzas\\_Opticas\\_Bajo\\_las\\_Aproximaciones\\_de\\_Rayleigh\\_y\\_Mie](https://www.researchgate.net/publication/331074906_Analisis_Teorico_de_las_Pinzas_Opticas_Bajo_las_Aproximaciones_de_Rayleigh_y_Mie)

**PLANAS, Oriol.** *¿Qué es un sistema trifásico? Corriente trifásica* [blog]. 30 de septiembre de 2021, 2021. [consulta: 03 de enero de 2022]. Disponible en: <https://solar-energia.net/electricidad/corriente-electrica/sistema-trifasico>

**PORTE, Lorena et al.** “Enterococcus sp”. *REV CHIL INFECT* [en línea]. 2007, 24(3), p. 231. [consulta: 15 de octubre de 2021]. Disponible en: doi:10.4067/S0716-10182007000300010

**QUISPE, Carlos et al.** “Capacidad de desarrollo embrionario de ovocitos de bovino recuperados vía ultrasonografía y de ovarios de matadero”. *InVet Perú* [en línea]. 2018, 29(4), pp. 1114–1121. [consulta: 31 de octubre de 2021]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v29n4/a04v29n4.pdf>

**RAMIREZ, Diego Andres.** Pinzas ópticas débiles para el estudio de propiedades mecánicas en glóbulos rojos (Trabajo de Titulación) (Maestría). [en línea] Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, Concepción, Chile, 2018. pp. 1-62. [consulta: 10 de agosto de 2021]. Disponible en: <http://repositorio.udec.cl/jspui/handle/11594/3603>

**REYES, Solovera.** “Evaluación de ovocitos de vaca para maduración en cultivo”. *Avances en Ciencias Veterinarias* [en línea]. 1999, 14(1-2), pp. 42-53. [consulta: 14 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/122553>

**RICARDEZ V., OROZCO, Eber, & HERNÁNDEZ, José.** “PINZAS ÓPTICAS, UNA HERRAMIENTA EFICAZ PARA MICROMANIPULACIÓN”. *FARAUTE Ciens. y Tec.* [en línea], 2008, México 3(1), pp. 25-30. [Consulta: 12 de septiembre de 2021]. ISSN 1698-7418. Disponible en: <http://servicio.bc.uc.edu.ve/facyt/v3n1/3-13.pdf>.

**RICARDEZ, Ibis, OROZCO, Eber y HERNÁNDEZ, José.** “Pinzas ópticas, una herramienta eficaz para micromanipulación”. *FARAUTE Ciencia y Tecnología* [en línea]. 2007. (México), 3(1), pp. 25–30. ISSN 1698-7418. Disponible en: <http://servicio.bc.uc.edu.ve/facyt/v3n1/3-1-3.pdf>

**RODRIGUEZ, Gustavo, SÁNCHEZ Fausto, & MARTÍNEZ Simón.** “Ingeniería de haces láser: Propiedades, manipulación y aplicaciones”. *Ingenierías* [en línea]. 2009, 12(44), pp. 16–23. [consultado el 4 de noviembre de 2021]. Disponible en: [http://eprints.uanl.mx/10415/1/44\\_Ingenieria\\_de\\_haces.pdf](http://eprints.uanl.mx/10415/1/44_Ingenieria_de_haces.pdf)

**RODRÍGUEZ, F. C. et al.** “Microorganismos aislados de muestras de orina procedentes de la comunidad y patrón de sensibilidad en un periodo de 12 años”. *REV ESP QUIMIOTERAP* [en línea]. 2005, 128(2), pp. 159–167. [consulta: 25 de agosto de 2021]. Disponible en: <http://www.seq.es/seq/0214-3429/18/2/159.pdf>

**SAMANIEGO, Eugenia Elizabeth.** Implementación y prueba de una pinza óptica para captura y manipulación de micropartículas. (Trabajo de Titulación). [en línea]. Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador, 2020. pp. 1-109. [consulta: 02 de septiembre de 2021]. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/20995>

**SAMANIEGO, Eugenia.** Implementación y prueba de una pinza óptica para captura y manipulación de micropartículas (Trabajo de Titulación). [en línea]. Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador, 2020. pp.1-109. Disponible en: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/20995/1/CD%2010522.pdf>

**SEPÚLVEDA, Karen, RICARDEZ VARGAS, Ibis, & RAMOS GARCÍA, Rubén.** “Pinzas Ópticas: las delicadas manos de la luz”. [En línea], 3 de diciembre de 2007, (México), pp. 18-25. [Consulta: 29 de octubre de 2021]. Disponible en: [https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/58\\_4/PDF/05-465-18-25.pdf](https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/58_4/PDF/05-465-18-25.pdf).

**SEPÚLVEDA, Román.** Manipulación de objetos micrométricos por medio de pinzas ópticas (Trabajo de Titulación). [en línea]. Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín, Colombia, Medellín, 2012. pp. 1-47. Disponible en: [https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/9794/8104648.\\_\\_2012.\\_1.pdf?sequence=2](https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/9794/8104648.__2012._1.pdf?sequence=2)

**THORLABS, INC.** *Portable Optical Tweezers Educational Kit* [blog]. 2019. [Consulta: 25 de septiembre de 2021]. Disponible en: [https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup\\_id=6966&pn=EDU-OT2/M](https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup_id=6966&pn=EDU-OT2/M).

**TORRES HURTADO, Susana Alejanda.** Atrapamiento y manipulación óptica para aplicaciones biológicas (Trabajo de Titulación). (Doctoral) [en línea] INAOE, Tonantzintla, Puebla, México, 2016. pp. 1-138. [consulta: el 27 de agosto de 2021]. Disponible en: <https://inaoe.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1009/325/1/TorresHuSA.pdf>

**ULLOA, Ricardo, LLANO, Josué.** ESTUDIO DE RADIACIÓN LÁSER EN SISTEMAS DE MICROPARTÍCULAS DE SÍLICA Y DE MICROBACTERIAS USANDO LA TÉCNICA DE

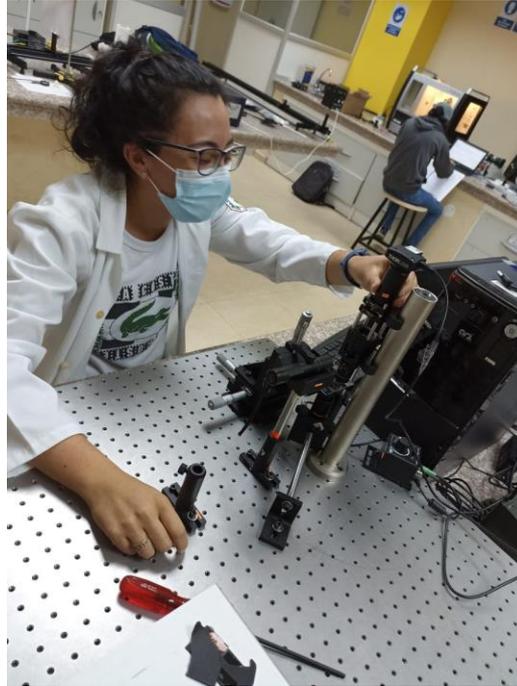
PINZA ÓPTICA EN EL LABORATORIO DE ÓPTICA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS-  
ESPOCH (Trabajo de Titulación). ESPOCH, Ecuador, Riobamba, 2021. pp. 1-127.

**WILKE, Natalia.** “Pinzas Ópticas y su aplicación en la biología”. *Bitácora digital*. [en línea].  
2013, 1(2), pp. 1-5. Disponible en:  
<https://revistas.unc.edu.ar/index.php/Bitacora/article/view/5577>

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Natalia Wilke', written in a cursive style.

## ANEXOS

### ANEXO A. MANIPULACIÓN DE LA PINZA ÓPTICA



Manipulación de la pinza óptica

## ANEXO B. LÁSER IMPORTADO DE ESTADOS UNIDOS



Láser de  $\lambda = 650 \text{ nm}$  y  $P = 200 \text{ mW}$



Envoltura del láser para su protección

## ANEXO C. MUESTRAS Y DESCONGELACIÓN DE GAMETO BOVINO

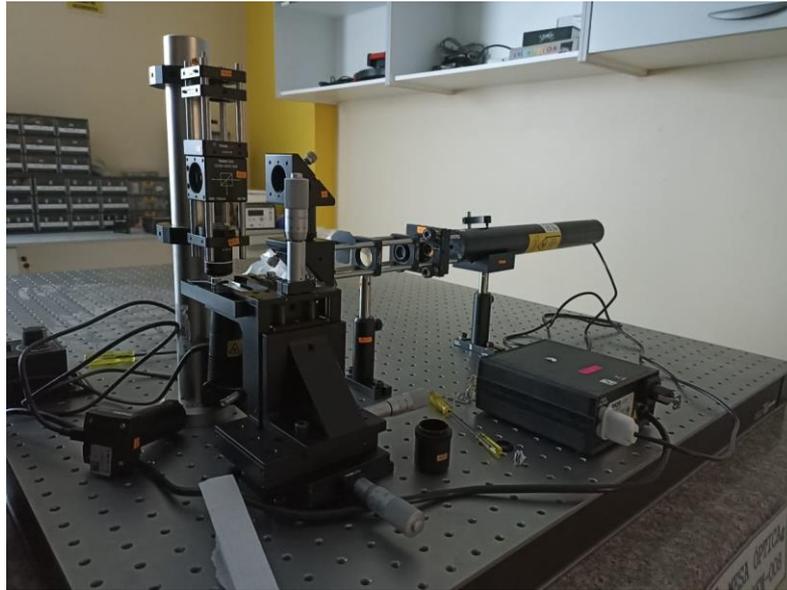


Termo de contención de muestras

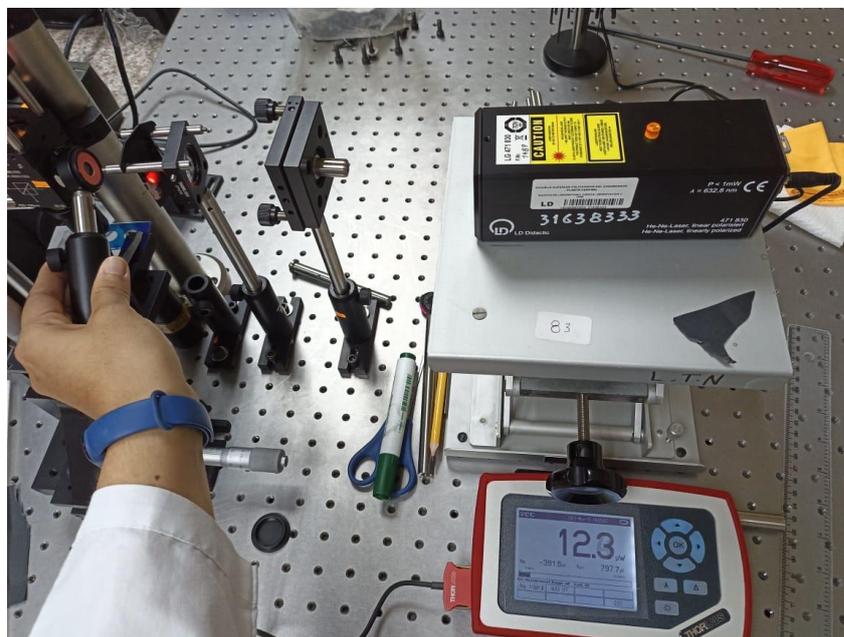


Descongelamiento de pajuela de gameto bovino

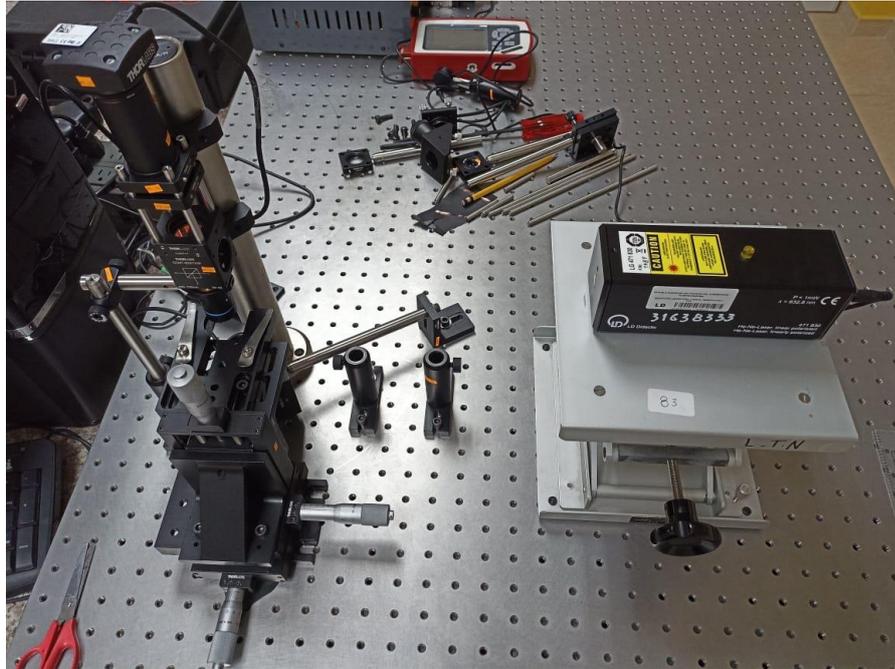
## ANEXO D. MONTAJES DE LA PINZA ÓPTICA EN EL LABORATORIO DE ÓPTICA



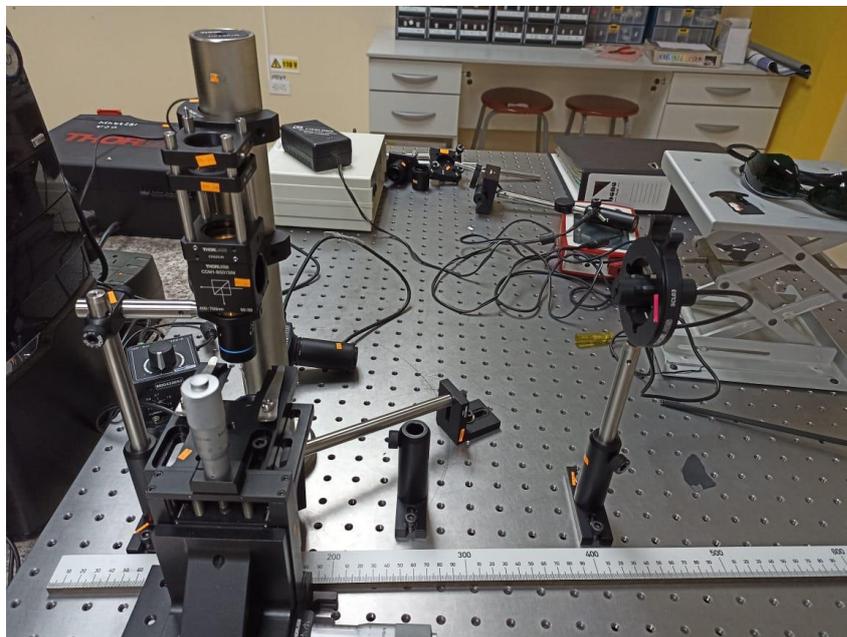
Primer montaje de la Pinza Óptica en el Laboratorio de Óptica



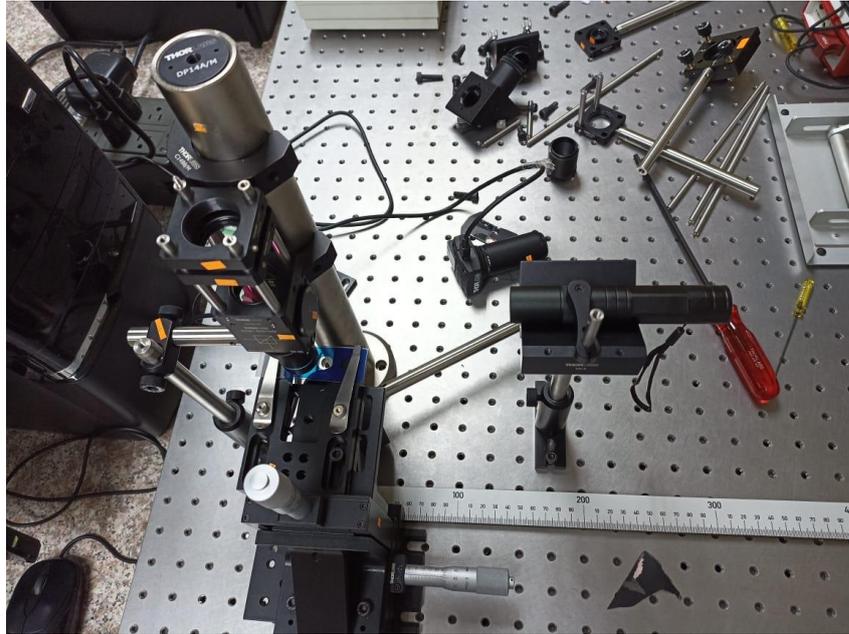
Segundo montaje de la Pinza Óptica en el Laboratorio de Óptica



Montaje de la Pinza óptica con  $\lambda=633 \text{ nm}$



Cuarto montaje de la Pinza Óptica en el Laboratorio de Óptica



Montaje de la Pinza Óptica de  $\lambda=650 \text{ nm}$



esPOCH

Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje

*UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL*

*REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA*

Fecha de entrega: 12 / 05 / 2022

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres- Apellido:</b> <i>Andrea Michelle Flores Sánchez</i>
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> <i>Ciencias</i>
<b>Carrera:</b> <i>Física</i>
<b>Título a optar:</b> <i>Física</i>
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> <i>Ing. Leonardo Medina Ñuste Msc.</i>



0882-DBRA-UTP-2022