



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
Posgrado en Ciencias Físicas  
Instituto de Física  
Óptica y Fotónica

**Viabilidad de un Haz Botella para aplicación a microscopía  
de súper-resolución**

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

Maestro en Ciencias

PRESENTA:

Fís. Reynaldo Juan Ortíz Guerrero

TUTORA

Dra. Karen Patricia Volke Sepúlveda  
Instituto de Física UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

Dra. Rocío Jáuregui Renaud  
Instituto de Física UNAM  
Dr. José Ignacio Jiménez Mier y Terán  
Instituto de Ciencias Nucleares UNAM

Ciudad Universitaria, CDMX, México  
Marzo 2023



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. DATOS DEL ALUMNO

Ortíz  
Guerrero  
Reynaldo Juan  
55 4252 6392  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Posgrado en Ciencias Físicas  
Instituto de Física  
310215091

2. DATOS DEL TUTOR

Dra.  
Karen Patricia  
Volke Sepúlveda

3. DATOS DEL SINODAL 1

Dr.  
Pablo  
Loza Álvarez

4. DATOS DEL SINODAL 2

Dr.  
Maximino  
Avendaño Alejo

5. DATOS DEL SINODAL 3

Dr.  
Fernando  
Ramírez Martínez

6. DATOS DEL SINODAL 4

Dr.  
Daniel  
Sahagún Sánchez

8. DATOS DEL TRABAJO ESCRITO

Viabilidad de un Haz Botella para aplicación a microscopía de súper-resolución  
p. 62  
Marzo 2023

Fís. Reynaldo Juan Ortíz Guerrero: *Viabilidad de un Haz Botella para aplicación a microscopía de súper-resolución* , ©Marzo 2023

·  
·  
·  
·

Para mí.  
Para el Laboratorio Universitario de Micromanipulación Óptica  
(LUMO).



.  
. .  
. .

---

## AGRADECIMIENTOS

---

A Karen Volke por su apoyo, paciencia, enseñanza y consejo, así como a cada uno de los integrantes del Laboratorio Universitario de Micromanipulación Óptica, de quienes aprendí más que física y compartí invaluables momentos por varios años.

Al Instituto de Física de la UNAM por los conocimientos y experiencias que me permitió adquirir en mi estancia como estudiante de posgrado. Además de proporcionarme apoyo mediante el programa PRIDIF22.

Al CONACYT por su apoyo económico durante mi estancia como estudiante.



---

## ÍNDICE GENERAL

---

Introducción	1
1 Preliminares	5
1.1 Microscopía óptica de súper-resolución	5
1.1.1 STED 3D	7
1.2 Haz Botella en el régimen paraxial	8
1.2.1 Haz Botella generado con un axicón refractivo	10
2 Simulaciones numéricas	15
2.1 Campos enfocados	15
2.1.1 Campos lejanos en la representación del espectro angular	15
2.1.2 Enfocamiento de campos	16
2.2 Enfocamiento de un Haz Bessel ideal	19
2.3 Optimización del Haz Botella mediante el control de la apertura	23
3 Confirmaciones y comparaciones experimentales	33
3.1 Sistema y metodología experimental	33
3.2 Haz Bessel	35
3.2.1 Haz a la salida del axicón	35
3.2.2 Haz a la salida del telescopio compuesto	37
3.3 Haz Botella	39
4 Discusión final y conclusiones generales	47
A Programas desarrollados y software utilizado	51
A.1 Otro software usado	57
 Bibliografía	 59



---

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

Figura 1.1	Concepto de microscopía STED . . . . .	6
Figura 1.2	PSF efectiva de un microscopio STED . . . . .	7
Figura 1.3	iso-STED . . . . .	8
Figura 1.4	STED 3D . . . . .	9
Figura 1.5	Arreglo experimental para generar un HB y enfocarlo . . . . .	11
Figura 1.6	Diagrama del haz tipo botella . . . . .	13
Figura 1.7	Sistema óptico para generar un HBG, ensancharlo y enfocarlo . . . . .	14
Figura 2.1	Sistema que describe la geometría del enfocamiento fuerte . . . . .	17
Figura 2.2	HBG polarizado linealmente fuertemente enfocado . . . . .	21
Figura 2.3	HBG polarizado circularmente fuertemente enfocado . . . . .	23
Figura 2.4	Relación del tamaño del HBG con el campo enfocado. . . . .	24
Figura 2.5	Diafragma de apertura . . . . .	25
Figura 2.6	Efecto de apertura en el BB. . . . .	27
Figura 2.7	Efecto de apertura en el BB (perfiles) . . . . .	28
Figura 2.8	Relación del tamaño del HBG óptimo con el campo enfocado. . . . .	30
Figura 2.9	Campo focal de la botella óptima. . . . .	31
Figura 2.10	Propagación de las componentes de la botella óptima. . . . .	32
Figura 3.1	Modelación del objetivo experimental . . . . .	33
Figura 3.2	Sistema experimental . . . . .	34
Figura 3.4	Haz BG a enfocar . . . . .	38
Figura 3.5	Haces Bessel usados en el experimento. . . . .	38
Figura 3.6	Primer ensayo de BB. . . . .	39
Figura 3.7	Uso del diafragma en el experimento . . . . .	40
Figura 3.8	Segundo ensayo de BB. . . . .	43
Figura 3.9	Perfiles de intensidad de los BB experimental y simulado. . . . .	44
Figura 3.10	Intensidades del BB experimental y simulado. . . . .	44
Figura 3.11	Efecto de $\rho_D$ para dos Haz Bessel (HB) . . . . .	45
Figura 4.1	Progresión de intensidad en plano de Fourier para un telescopio 35 $\times$ . . . . .	49

---

## ÍNDICE DE TABLAS

---

Tabla 1.1	Cantidades características HB enfocado en el sistema del axicón . . . . .	12
Tabla 1.2	Parámetros de control en el sistema simulado del axicón . . . . .	12
Tabla 2.1	Parámetros de control en el sistema simulado del axicón (completo). . . . .	26

---

## LISTA DE PROGRAMAS

---

Programa A.1	besselenfocado10_q.m . . . . .	51
--------------	--------------------------------	----

---

## ACRÓNIMOS

---

NA	Apertura Numérica
PSF	Función de Dispersión de Punto o Función de punto extendido
FWHM	Ancho Completo a la Mitad del Máximo
RESOLFT	Transiciones de Fluorescencia Óptica Saturables y Reversibles
STED	Microscopía de Desactivación por Emisión Estimulada
HB	Haz Bessel
HBG	Haz Bessel-Gauss
HG	Haz Gaussiano
BB	Haz Botella



---

## INTRODUCCIÓN

---

Toda la luz tiene estructura, pero hasta ahora ha sido posible controlarla en todos sus grados de libertad y dimensiones, potenciando avances fundamentales y aplicaciones por igual. Estos van desde el estudio tradicional de campos transversales hasta el estudio de estados cuánticos multi-dimensionales e interacciones no lineales [1]. La microscopía es uno de los campos que se han beneficiado de estos avances, específicamente en el desarrollo de técnicas de súper-resolución óptica como **STED**, ideada en 1994 y puesta en práctica en 1999 por Stefan W. Hell, Jan Wichmann y Thomas Klar [2, 3].

El principio de funcionamiento de STED se basa en la desactivación selectiva de marcadores fluorescentes de la muestra a observar. Éstos son previamente excitados por un haz de luz láser denominado *haz de excitación*. La desactivación de la fluorescencia se lleva a cabo utilizando otro haz de luz estructurada denominado *haz STED*. Éste consiste en una distribución de intensidad circular con una región nula en el centro. Su geometría, parecida a la de una dona, permite que la desactivación de los fluoróforos tenga lugar únicamente en la región de intensidad no nula.

El esquema de funcionamiento de esta técnica, se basa en la obtención de una Función de Dispersión de Punto (**PSF** por sus siglas en inglés) efectiva, haciendo que la resolución dependa únicamente de la intensidad de la luz usada para iluminar la muestra. Con este procedimiento resoluciones del orden de decenas de nanómetros son posibles y, consecuentemente, el límite de difracción es vencido.

En la microscopía es natural el deseo de formar imágenes tridimensionales en un mismo examen de la muestra, esto es: obtener la imagen del plano lateral (o transversal) en paralelo con la obtención de la imagen axial (o longitudinal). Originalmente STED fue diseñada como una técnica de súper resolución lateral, razón que ha estimulado el desarrollo de estrategias teóricas y experimentales para su extensión a 3D. Para su consecución, se ha atendido principalmente a la ingeniería que se encarga de generar el haz de desactivación. Por ejemplo, se ha sugerido el uso de dos sistemas del mismo tipo acoplados, cada uno encargado de obtener la imagen de un plano en específico [4]; el uso de un Modulador Espacial de Luz (SLM por sus siglas en inglés) para formar el haz STED (logrando menos foto-blanqueamiento y foto-daño al obtener la imagen) [5]; y el diseño de haces con perfiles de intensidad cuya geometría los hace candidatos a ser un haz de desactivación, como por ejemplo, haces Bessel huecos (GB-STED) [6]. Más aún, existen alternativas que proponen otro paradigma de iluminación de la muestra, en el que en lugar de iluminar con un spot circular,

ésta se ilumine con toda una línea de luz que después la barra. En esta última variante, denominada BB-STED, también se usan haces Bessel tanto para la excitación como para la desactivación, alcanzando mejoras en la profundidad de imagen y la velocidad con la que se obtiene. Finalmente, otros avances apuntan hacia la caracterización de aberraciones en el sistema y sus efectos al examinar tejidos (tanto en la versión 2D como en la 3D) [7, 8], haciendo uso de técnicas de óptica adaptativa [9, 10].

Es en el contexto de la ingeniería de la PSF donde tiene cabida nuestra propuesta, donde en lugar de manipular este haz mediante los métodos antes mencionados, apelamos al uso de un tipo de haz al que es común referirse en la literatura como *Haz Botella (BB)* (o *bottle beam*, en inglés).

Un BB es un haz cuya estructura tiene un nulo de intensidad localizado, circundado por luz. Existen diversas formas de construirlos, como por ejemplo utilizando hologramas de amplitud calculados a partir de la interferencia de dos modos Laguerre-Gaussianos con diferente fase de Gouy y el mismo modo fundamental Gaussiano [11]. Otro de los métodos se basa en el fenómeno de autoimagen, en el que básicamente se hacen interferir dos haces Bessel para construir un arreglo periódico de máximos y mínimos a lo largo del eje de propagación [12]. Los esfuerzos de estos trabajos se han dirigido a la optimización de dicho patrón en eje, logrando caracterizar su extensión, periodicidad, dimensiones y consistencia en intensidad hasta en un 74 %. Estas optimizaciones se han hecho con diferentes técnicas sobre un SLM, que van desde rutinas de optimización de frecuencias espaciales hasta técnicas holográficas. Es importante remarcar que estos estudios se han hecho considerando todo el patrón extendido sobre el eje como si fuera una sola estructura o entidad, razón por la cual también se les ha referido a este tipo de haces como *haces cadena* (por su parecido con eslabones engarzados) [13].

En este sentido, no hay estudios de optimización hechos sobre únicamente uno de los eslabones o botellas en particular y que atiendan a criterios de aplicación específica como STED. No obstante, sí hay estudios que desvelan características interesantes de estos haces, como por ejemplo, los efectos de polarización y la fuerte dependencia en la estructura de la botella con el valor de la apertura numérica involucrada en su generación, logrando huecos con longitudes de aproximadamente  $4\lambda$  [14].

Aplicaciones y roles de los haces botella han sido propuestos, como por ejemplo, su uso en trampas ópticas, atómicas, imagen y litografía. La mayoría de estos estudios se ha enfocado en lograr botellas de dimensiones tales que sean útiles para la manipulación de partículas microscópicas [15].

En vista de lo anterior, el sistema propuesto en este trabajo ofrece una manera de satisfacer las ventanas de oportunidad de aplicación de

un BB para su aplicación a STED 3D, haciéndolo de una manera simple y factible en cualquier laboratorio de óptica. Pues a diferencia de los métodos de generación experimentales donde se usan elementos como SLM y máscaras de fase, el sistema propuesto solamente consta de lentes refractivas convencionales, entre ellas, una lente cónica o axicón (cualquiera que sea).

Dado este contexto, esta tesis tiene como objetivo comunicar los resultados numéricos y experimentales al caracterizar un BB en el régimen no paraxial (de haces fuertemente enfocados). Dicho haz se genera a partir del enfocamiento con un objetivo de apertura numérica grande de un haz Bessel-Gauss producido por un arreglo de lentes refractivas que incluye un axicón.

La investigación se presenta en 4 capítulos, siendo el primero aquél que muestra el contexto de la misma, ampliando detalles del funcionamiento de STED, al mismo tiempo que señala resultados importantes de una investigación previa (correspondiente a mi tesis de licenciatura [16]) sobre el mismo sistema, pero en el régimen paraxial. En el Cap.2 se cita la herramienta matemática útil para atacar el problema que se plantea resolver y se comparten los resultados teóricos obtenidos a través de simulaciones numéricas hechas en Mat Lab. Dichos resultados encuentran su complemento experimental en el Cap.3. Finalmente, una discusión final así como puntos conclusivos del trabajo son tratados en el Cap.4.



---

## PRELIMINARES

---

En este capítulo ampliaremos el contexto dado en la introducción, abundando en la idea subyacente del funcionamiento de STED y justificando nuestra propuesta para extender la técnica a 3D apelando a las propiedades de un Haz Botella (BB) generado con un Haz Bessel (HB) y a los resultados de un estudio previo de su caracterización y optimización.

### 1.1 MICROSCOPIA ÓPTICA DE SÚPER-RESOLUCIÓN

Los principios necesarios para obtener resoluciones más allá del límite de difracción fueron planteados por Stefan Hell (n.1962) y colaboradores mediante la idea de las Transiciones de Fluorescencia Óptica Saturables y Reversibles (RESOLFT). Ésta se basa en la capacidad de los fluoróforos que hay en la muestra de cambiar de un estado A hacia un estado B, y en la condición de que la transición también sea reversible. Estos dos estados pueden ser el estado base y los estados singlete excitados, como los que se usan en la microscopía STED.

La Microscopía de Desactivación por Emisión Estimulada (STED) fue la primera de las técnicas RESOLFT en tener éxito en el estudio de adquisición de imágenes biológicas. En esta técnica la imagen se obtiene escaneando punto por punto la muestra con una iluminación proveniente de dos fuentes láser ultra rápidas, co-lineales y sincronizadas, que consisten en un *haz de excitación* seguido por el pulso de un *haz de desactivación*, denominado *haz STED*.

STED modifica la estructura de la Función de Dispersión de Punto o Función de punto extendido (PSF por sus siglas en inglés), manipulando la fase, el ancho del pulso y la intensidad de los haces de excitación y desactivación. Aunque ambos haces están limitados por difracción conforme pasan por el sistema del microscopio, el haz STED puede modificar este límite cuando, mediante un modulador de fase, se lo dota con una estructura con un nodo de intensidad en el centro del foco, obteniendo una forma que recuerda a una dona. Así, los fluoróforos que están dentro del nodo continúan fluoresciendo tras su exposición al haz de excitación, mientras que aquellos fluoróforos posicionados en la periferia del nodo son desactivados mediante emisión estimulada a su estado no fluorescente. La longitud de onda de este



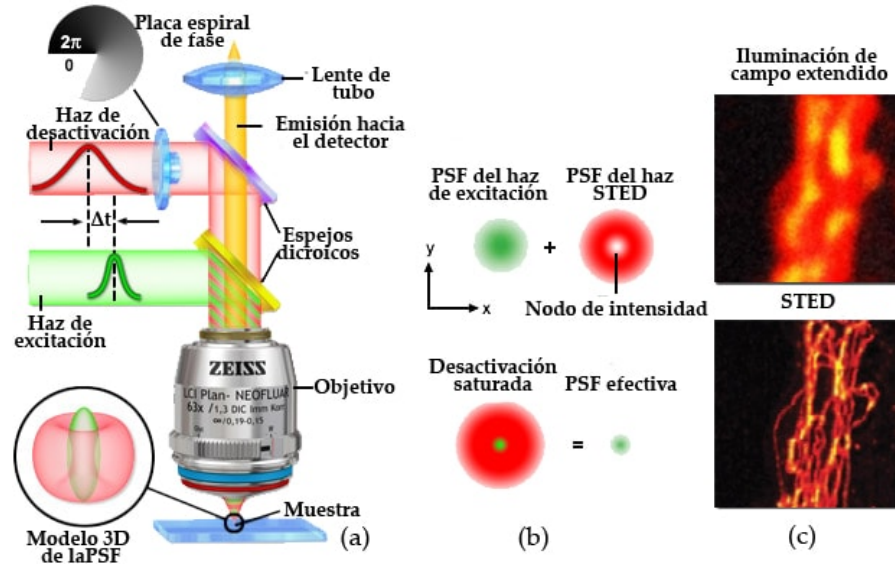


Figura 1.1: Concepto de microscopía STED. (a) Diagrama de un microscopio STED. (b) Proceso de la Función de Dispersión de Punto o Función de punto extendido (PSF) resultante. (c) Comparación de imagen obtenida con microscopía STED y un microscopio de campo extendido. Imagen adaptada de la referencia [17].

haz y su duración se eligen para que coincidan con el máximo de la emisión y la intensidad de saturación, respectivamente, del fluoróforo que se usa. Es en las potencias altas del haz STED donde los fluoróforos son llevados casi instantáneamente a su estado base [2].

La forma de dona del haz STED reduce sustancialmente el ancho de la PSF del haz de excitación, dejando una PSF efectiva en el microscopio que incrementa la resolución hasta 20nm en dirección lateral [18] (hasta 10 veces más que la obtenida con un microscopio confocal convencional [19]). La manipulación para obtener esta PSF efectiva es equivalente a expandir el filtro pasabandas de la frecuencia espacial del microscopio.

La resolución al Ancho Completo a la Mitad del Máximo (FWHM) para la PSF de la microscopía STED está dada por la siguiente expresión [18]:

$$\Delta x = \frac{\lambda}{2AN\sqrt{1 + \alpha(I_{\max}/I_s)}} \quad (1.1)$$

donde  $\lambda$  es la longitud de onda del haz de excitación. La variable  $\alpha$  es un parámetro que toma en cuenta la estructura del haz de desactivación.  $I_{\max}$  es el pico de intensidad del haz de desactivación e  $I_s$  es la intensidad de saturación del fluoróforo usado. Cuando  $I_{\max}$  es cero la ec (1.1) se reduce a  $\Delta x = \frac{\lambda}{2AN}$ . Contrariamente, cuando  $I_{\max}$  es mucho más grande que la intensidad de saturación del fluoróforo, la PSF se vuelve estrecha y puede lograrse la súper-resolución. Por ejemplo, cuando  $I_{\max}/I_s = 100$ , la resolución se incrementa por un factor de 10.

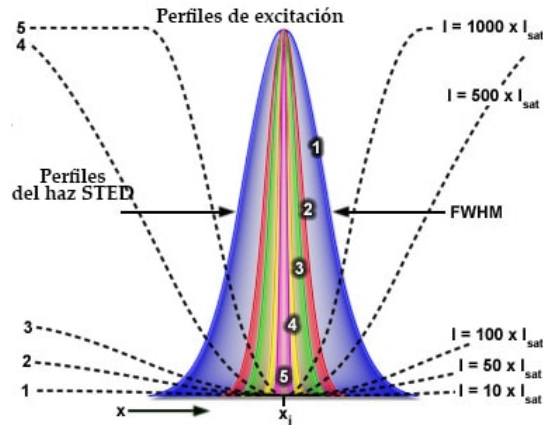


Figura 1.2: PSF efectiva de la microscopía STED. Se muestra en colores la región donde los fluoróforos existen en su estado excitado. Al aumentar la intensidad del haz STED (mostrado en líneas punteadas) esta región disminuye, incrementando la resolución lateral del microscopio. Imagen adaptada de la referencia [17].

Entre los beneficios que STED ofrece se encuentra el que la resolución efectiva que se alcanza depende completamente de la configuración experimental, las potencias de los láseres aplicados, y que no hay un límite teórico de la mejoría que esta puede tener; además, el tiempo de adquisición de la imagen se aproxima a la velocidad de cualquier microscopio confocal láser. Entre las desventajas están el que puede haber problemas con potencias extremadamente altas que resultan en un fotoblanqueamiento rápido y la destrucción de los fluoróforos. Esta importante técnica de microscopía, le valió a Stefan Hell el premio Nobel de química 2014 junto con Eric Betzig y William E. Moerner por el desarrollo de la microscopía óptica de fluorescencia de alta resolución [20].

### 1.1.1 STED 3D

Se han implementado versiones de STED dirigidas a mejorar la resolución axial, logrando con ello microscopía tridimensional de alta resolución.

El primero de estos arreglos, también propuesto por el grupo de trabajo de S. Hell, basa su diseño en una configuración similar al microscopio 4Pi (véase Fig. 1.3), implementando dos haces de desactivación STED (uno para el eje  $x$  y otro para el eje  $z$ ). Este arreglo ha permitido mejoras tanto en  $\Delta x$  como  $\Delta z$ . Debido a que la PSF generada por el arreglo está cercana a ser isotrópica (con geometría casi esférica) y se acerca a los 40nm de resolución a lo largo de los ejes, esta técnica es conocida como iso-STED [21, 22].

Otra configuración utiliza un láser súper-continuo para obtener mapeos 3D en dos colores [4]. Aunque esta configuración requiere de

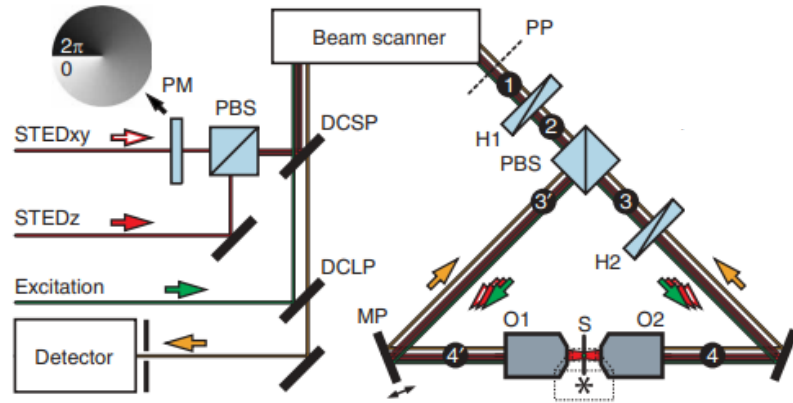


Figura 1.3: Arreglo de un microscopio iso-STED. Nótese el uso de dos haces de desactivación para conformar la PSF de desactivación total, así como la yuxtaposición de los objetivos que la forman. Figura tomada de [21]. Para mayores detalles de la misma y del sistema, consúltese la referencia.

muchos otros elementos ópticos entre los que destacan fibras ópticas para gestionar las diferentes longitudes de onda provenientes del láser (figura 1.4a), ha demostrado lograr una resolución de 35nm en dirección lateral y 90nm en dirección axial. Con esta técnica se han estudiado, partículas coloidales, poros nucleares y replicación de células de mamíferos. Debido a su diseño modular y ajustable, está configuración puede ser de utilidad en la investigación biológica. Para los detalles del sistema experimental, se invita al lector a consultar la referencia [4].

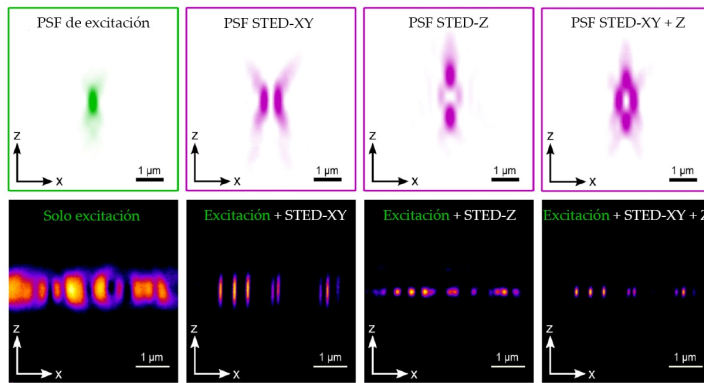
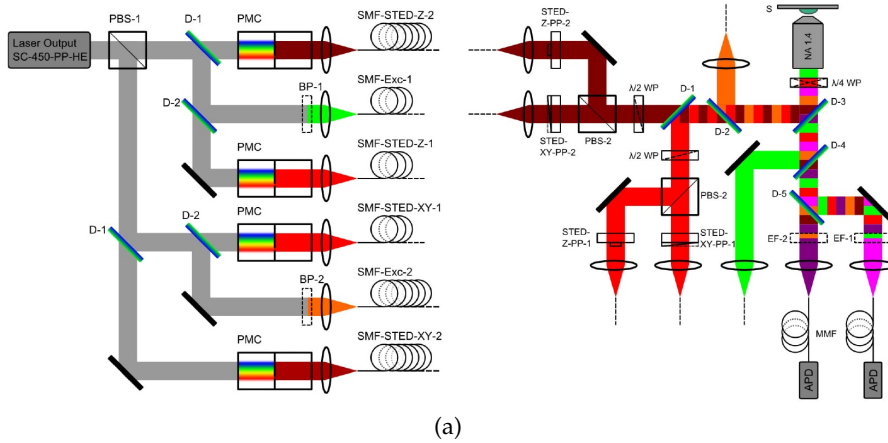
## 1.2 HAZ BOTELLA EN EL RÉGIMEN PARAXIAL

En esta sección apelamos a un tipo de haz de estructura particular al que es común referirse en la literatura como *Haz Botella (BB)* (o *bottle beam*, en inglés). Un haz de este tipo es un haz cuya estructura tiene un nulo de intensidad localizado, circundado por luz. Existen diversos métodos para obtenerlos [11-13], pero por su simplicidad, nosotros estamos interesados en obtenerlo mediante el enfocamiento de un Haz Bessel (HB).

Considérese un HB descrito en coordenadas cilíndricas circulares por:

$$U(\rho, \phi, z, t) = J_1(k_t \rho) \exp\{i(l\phi + k_z z - \omega t)\}, \quad (1.2)$$

donde  $k_t$  y  $k_z$ , son vector de onda transversal y el vector de onda longitudinal, respectivamente, satisfacen:  $|\mathbf{k}| = \sqrt{k_t^2 + k_z^2} = \frac{2\pi}{\lambda}$ . Sin



(b)

Figura 1.4: **STED** 3D. (a) sistema experimental. La parte izquierda muestra el láser y componentes necesarios para preparar seis haces de las bandas espectrales deseadas para la excitación y la desactivación. A la derecha se muestra el microscopio que recibe la salida de las seis fibras y demás elementos. (b) **PSF** obtenidas (arriba) y correspondientes imágenes fluorescentes (abajo). Imágenes adaptadas de la referencia [4].

importar el valor del entero  $l$ , la transformada de Fourier de estos campos ópticos es:

$$U(\rho, \varphi, z) = \frac{j^{l-1}}{k_t} e^{j\frac{k}{2f}\rho^2} e^{jl\varphi} e^{jk_z z} \delta(\rho - \rho_0), \quad (1.3)$$

donde  $k_t = k \sin \theta_0$ , con  $\theta_0$  el ángulo formado por  $\mathbf{k}$  y el eje óptico (véase Fig.1.5).

A partir de (1.3) puede concluirse que, sin importar el número  $l$ , todos los haces Bessel enfocados por una lente delgada de distancia focal  $f$ , exhiben como patrón de intensidad en el plano focal un anillo de radio [23]:

$$\rho_0 \equiv f \frac{k_t}{k}, \quad (1.4)$$

que también puede expresarse como:

$$\rho_0 = f \sin \theta_0. \quad (1.5)$$

La Ec. (1.5) sugiere una forma de crear un anillo de radio deseado con tan solo manipular parámetros de fácil alcance experimental como la distancia focal de la lente y la inclinación del haz respecto al eje óptico.

### 1.2.1 Haz Botella generado con un axicón refractivo

En mi tesis de licenciatura [16] se ha realizado un estudio numérico y experimental del campo generado por un Haz Bessel-Gauss (HBG) (al que también convenimos en llamar *haz tipo botella*) cuando éste es producido por un axicón (o lente cónica), usando además una aproximación paraxial al momento de enfocarlo. En esta sección resumiremos los resultados más importantes de esta investigación para tomarlos como punto de partida en este estudio no paraxial.

La elección del sistema óptico que se trabajó se debe a la simplicidad del mismo para poder generar un campo óptico que podría ser de utilidad en una versión tridimensional alternativa de la microscopía STED, particularmente, para formar parte de la PSF del haz de desactivación.

Cuando un axicón es iluminado por un haz colimado, forma una región de interferencia delante de él donde genera frentes de onda cónicos, como se aprecia en la figura 1.5. La distancia máxima que tiene dicha región puede aproximarse mediante óptica geométrica por:

$$\begin{aligned} z_{\max} &= \frac{w_G}{\tan \theta_0}, \\ &\approx \frac{w_G}{(n_a - 1)\gamma}. \end{aligned} \quad (1.6)$$

donde  $w_G$  y  $n_a$  son el radio del haz que ilumina, el índice de refracción del axicón, y  $\gamma$  su ángulo interno, respectivamente.

Con este sistema se genera una luz muy parecida a un HB (en realidad, un haz denominado HBG [24]), que después se enfoca por una lente delgada que simula un objetivo de microscopio de distancia focal  $f_{obj}$ . Este último se posiciona a una distancia  $z_{obj}$  del axicón.

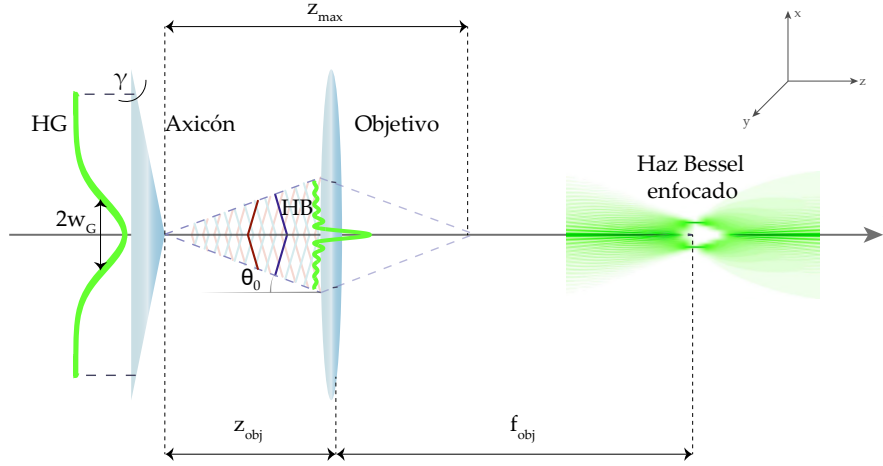


Figura 1.5: Arreglo para generar un HBG y enfocarlo. Un axicón de ángulo interno  $\gamma$  y iluminado por un Haz Gaussiano (HG) de cintura  $w_G$ , propagándose en el eje  $z$ , genera una región (entre guiones claros) donde frentes de onda cónicos interfieren para formar luz HBG. Un frente de onda viajando en dirección contraria a la propagación se muestra en rojo, mientras que un frente de onda viajando en la dirección de propagación se muestra en azul. Este campo se enfoca con un objetivo de distancia focal  $f_{obj}$  colocado a una distancia  $z_{obj}$  del axicón.

La morfología de la botella de luz queda caracterizada por las siguientes cantidades (véase la figura 1.6 y la Tab.1.1): el radio del anillo de luz formado en el plano de Fourier ( $\rho_0$ ) y el grosor de éste ( $d\rho$ ), su dimensión axial ( $\Delta z$ ) y sus máximos de intensidad en ambas direcciones.

Con los cálculos numéricos se encontró que los valores anteriores cambian al variar otras 4 cantidades, definidas como *parámetros de control* (véase Tab.1.2): el ángulo interno del axicón ( $\gamma$ ), el tamaño transversal del haz de iluminación ( $w_G$ ), la distancia focal del objetivo ( $f_{obj}$ ) y su posición respecto del axicón ( $z_{obj}$ ).

Las observaciones de los resultados numéricos arrojaron que, en la dirección lateral:

1. El tamaño del anillo de luz se reduce entre menor sea el valor de  $f_{obj}$  y  $\gamma$ :

$$\rho_0 = f_{obj}(n_a - 1)\gamma. \tag{1.7}$$

CANTIDAD	SÍMBOLO
Tamaño lateral de la botella de luz.	$2\rho_0$
Tamaño axial de la botella de luz.	$\Delta z$
FWHM del grosor de la distribución de intensidad en el plano focal.	$d\rho$
Intensidad pico en el plano focal.	$I(\rho_0, f_{\text{obj}})$
Intensidad axial pico en la sección anterior al plano focal.	$I(0, \zeta_1)$
Intensidad axial pico en la sección posterior al plano focal.	$I(0, \zeta_2)$

Tabla 1.1: Cantidades características del HB enfocado en el sistema del axicón.

CANTIDAD	SÍMBOLO
Ángulo interno del axicón.	$\gamma$
Cintura del HG que ilumina el axicón.	$w_G$
Posición del objetivo respecto al axicón.	$z_{\text{obj}}$
Distancia focal del objetivo.	$f_{\text{obj}}$

Tabla 1.2: Parámetros de control en el sistema simulado del axicón y el objetivo.

2. El grosor del anillo,  $d\rho$  disminuye entre mayor sea el tamaño del haz de iluminación,  $w_G$ :

$$d\rho \propto \frac{1}{w_G}. \quad (1.8)$$

3. La magnitud de la intensidad aumenta con valores mayores de  $w_G$  y valores menores  $\gamma$ :

$$I(\rho_0, f_{\text{obj}}) \propto w_G \quad (1.9)$$

$$I(\rho_0, f_{\text{obj}}) \propto \frac{1}{\gamma}. \quad (1.10)$$

Mientras que en la dirección axial:

1. El tamaño de la botella,  $\Delta z$  se reduce entre menor sea el valor de  $\gamma$ :

$$\Delta z \propto \gamma. \quad (1.11)$$

y mayor el de  $w_G$ .

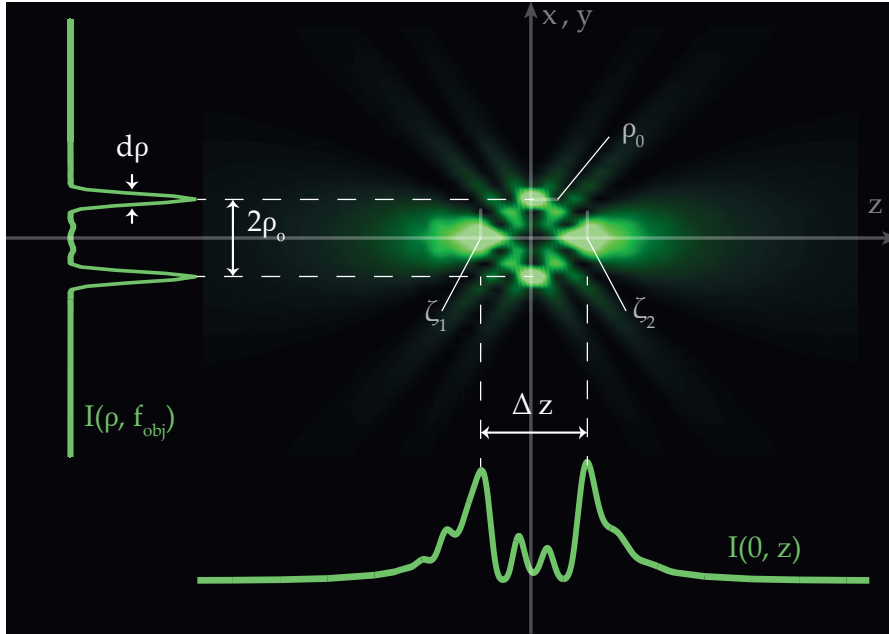


Figura 1.6: Diagrama del haz tipo botella. La imagen del haz enfocado corresponde a una simulación.

2. La magnitud de la intensidad aumenta con valores mayores de  $w_G$ :

$$I(0, \zeta_1), I(0, \zeta_2) \propto w_G, \quad (1.12)$$

y valores menores de  $\gamma$ :

$$I(0, \zeta_1), I(0, \zeta_2) \propto \frac{1}{\gamma}. \quad (1.13)$$

3. La simetría en la magnitud de la intensidad axial depende la posición de la lente de enfoque,  $z_{obj}$ .

La posibilidad de la aplicación del campo investigado recae en obtener una versión optimizada del mismo. Idealmente se buscaría que sus dimensiones sean del orden de decenas de nanómetros y que su distribución de intensidad sea lo más homogénea posible. Aunque para algunos parámetros como  $f_{obj}$  y  $\gamma$  fue sencillo averiguar el comportamiento que optimizara alguna cantidad característica (el tamaño del anillo de luz en este caso) por contar con una expresión analítica como la Ec. (1.7), para otros parámetros fue necesario apreciar los resultados de las simulaciones.

Entre estos resultados se encontró que para obtener una distribución de intensidad axial optimizada, *i.e.* lo más simétrica posible en magnitud, es necesario que la posición de la lente de enfoque,  $z_{opt}$ , cumpla:

$$0.5z_{max} \leq z_{opt} \leq 0.6z_{max}, \quad (1.14)$$

donde  $z_{max}$  está descrita por la Ec.1.6.



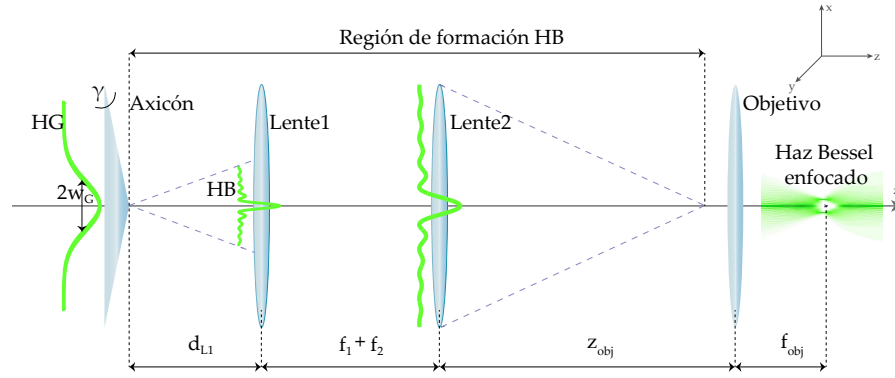


Figura 1.7: Sistema óptico simulado para generar un HBG, ensancharlo y enfocalo. Al implementar un telescopio, además de ensanchar lateralmente el HBG, la región donde se forma también se extiende (ilustrada entre guiones claros).

Un ejemplo más de esta optimización fue la utilización de valores  $\gamma$  muy pequeños y de  $w_G$  grandes. Una forma de conseguir estos valores es magnificando el HBG, por lo cual se añadió un telescopio al sistema anterior, al que se refirió como *sistema de axicón-telescopio* (véase 1.7). Podría pensarse que al introducir dos lentes más al arreglo, se suman más parámetros de control a los ya mencionados, no obstante con el estudio previo logró encontrarse que un sistema caracterizado por las cantidades efectivas:  $\gamma^{\text{eff}}$ ,  $w_G^{\text{eff}}$  (y consecuentemente  $\rho_B^{\text{eff}}$ ), conformado por un axicón (sin telescopio), es equivalente con un sistema de axicón-telescopio, por lo cual no existen más parámetros de control más que los mostrados en la Tab.1.2.

En dicho sistema equivalente se pueden emular ángulos de axicón,  $\gamma^{\text{eff}}$  tan pequeños como se desee (en principio), imposibles de obtener con un axicón comercial. Además permite la manipulación del grosor del anillo de luz al escoger valores  $w_G^{\text{eff}}$  adecuados. Estas cantidades efectivas quedan relacionados con las cantidades del sistema sin telescopio vía la magnificación lateral del telescopio:

$$\gamma^{\text{eff}} = \frac{\gamma}{m_L}, \quad (1.15)$$

$$w_G^{\text{eff}} = m_L w_G. \quad (1.16)$$

Atendiendo a la figura 1.7, la distancia  $d_{L1}$  se convertiría en la  $z_{obj}$  del sistema efectivo.

# 2

---

## SIMULACIONES NUMÉRICAS

---

En este capítulo usamos la representación del espectro angular del campo eléctrico para sentar los fundamentos que describen las distribuciones de campos fuertemente enfocados y que constituyen las bases de los resultados obtenidos en simulaciones numéricas. También se demuestra el efecto e importancia de los parámetros de control de nuestro sistema, en particular, del tamaño de la apertura anterior del objetivo enfocante. Finalmente, se señala la configuración óptima para nuestro propósito en función de todos los parámetros de control.

La parte conceptual de este capítulo se basa principalmente en la referencia [25], en donde el lector puede encontrar más detalles que los aquí mostrados.

### 2.1 CAMPOS ENFOCADOS

#### 2.1.1 Campos lejanos en la representación del espectro angular

Consideremos una distribución de campo localizada en el plano  $z = 0$ . Para conocer la evolución de este campo mientras se propaga y la forma en la que se mapea en cualquier plano lejano,  $z = z_0$ , usamos la representación del espectro angular:

$$\mathbf{E}(x, y, z) = \iint_{-\infty}^{\infty} \hat{\mathbf{E}}(k_x, k_y; 0) e^{i[k_x x + k_y y \pm k_z z]} dk_x dk_y, \quad (2.1)$$

donde  $|\mathbf{k}| = \sqrt{k_x^2 + k_y^2 + k_z^2}$ . Cabe señalar que para la condición  $k_x^2 + k_y^2 > k^2$ , las componentes evanescentes del campo se manifiestan.

Alternativamente, también podríamos partir de la Ec.(2.1) para preguntarnos qué campo resultaría si enfocáramos cualquier distribución proveniente de un plano lejano hacia un plano imagen. En este caso, estaríamos interesados en la aproximación asintótica de campo lejano de  $\mathbf{E}$ , *i.e.*, en la evaluación del campo en un punto  $\mathbf{r} = \mathbf{r}_\infty$  a una distancia "infinita" (muy grande) desde el plano objeto (un plano *origen* muy lejano). A partir de ahora, denotaremos este campo como  $\mathbf{E}_\infty$ .

Es conveniente definir el siguiente vector unitario adimensional paralelo a  $\mathbf{r}_\infty$ :

$$\mathbf{s} = (s_x, s_y, s_z) = \left( \frac{x}{r_\infty}, \frac{y}{r_\infty}, \frac{z}{r_\infty} \right) \quad (2.2)$$

donde  $r_\infty = (x_\infty^2 + y_\infty^2 + z_\infty^2)^{1/2}$  es la distancia de  $\mathbf{r}_\infty$  desde el origen. Para calcular el campo lejano  $\mathbf{E}_\infty$ , requerimos que  $r_\infty \rightarrow \infty$ , por lo que la Ec.(2.1) se reescribe como:

$$\mathbf{E}_\infty(s_x, s_y, s_z) = \lim_{kr_\infty \rightarrow \infty} \iint_{(k_x^2 + k_y^2) \leq k^2} \hat{\mathbf{E}}(k_x, k_y; 0) e^{ikr_\infty \left[ \frac{k_x}{k} s_x + \frac{k_y}{k} s_y \pm \frac{k_z}{k} s_z \right]} dk_x dk_y. \quad (2.3)$$

Donde la zona de integración es sobre el círculo  $(k_x^2 + k_y^2) \leq k^2$ , pues las ondas evanescentes no contribuyen al campo en el infinito debido a que decaen exponencialmente. El comportamiento asintótico se puede evaluar por el método de la *fase estacionaria* [26], resultando en:

$$\mathbf{E}_\infty(s_x, s_y, s_z) = -2\pi i k s_z \hat{\mathbf{E}}(k s_x, k s_y; 0) \frac{e^{ikr_\infty}}{r_\infty}. \quad (2.4)$$

Lo cual manifiesta que el campo lejano se determina por el espectro de Fourier  $\hat{\mathbf{E}}(k_x, k_y; 0)$  si  $k_x \rightarrow k s_x$  y  $k_y \rightarrow k s_y$ . Esa sustitución implica que  $\mathbf{s}$  satisface:

$$\mathbf{s} = (s_x, s_y, s_z) = \left( \frac{k_x}{k}, \frac{k_y}{k}, \frac{k_z}{k} \right) \quad (2.5)$$

De hecho, podemos expresar ahora el espectro de Fourier en términos del campo lejano combinando las Ecs.(2.4) y (2.5):

$$\hat{\mathbf{E}}(k_x, k_y; 0) = \frac{ir_\infty e^{-ikr_\infty}}{2\pi k_z} \mathbf{E}_\infty(k_x, k_y). \quad (2.6)$$

Esta expresión puede sustituirse en la (2.1):

$$\mathbf{E}(x, y, z) = \frac{ir_\infty e^{-ikr_\infty}}{2\pi} \iint_{(k_x^2 + k_y^2) \leq k^2} \mathbf{E}_\infty(k_x, k_y) e^{i[k_x x + k_y y \pm k_z z]} \frac{1}{k_z} dk_x dk_y. \quad (2.7)$$

### 2.1.2 Enfocamiento de campos

En esta sección estudiaremos el enfocamiento de un campo óptico paraxial debido a una lente óptica aplanática como la mostrada en la Fig.2.1(a) [27, 28]. Para describir una lente aplanática requerimos dos reglas: (1) la condición de seno y (2) una ley de intensidad. La primera no es más que una prescripción para la refracción de los rayos ópticos en el elemento aplanático; la segunda es una declaración de

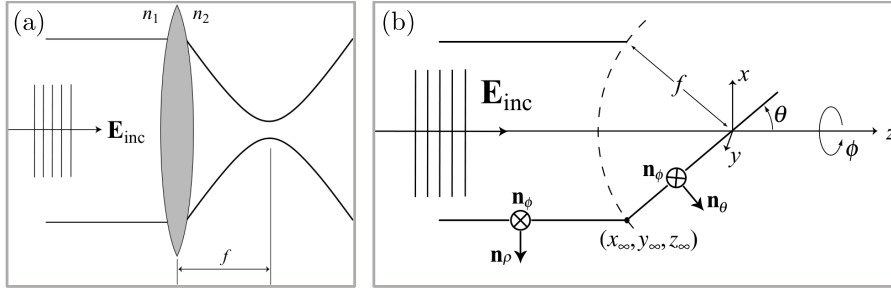


Figura 2.1: Esquema general de un sistema aplanático. En la parte anterior de la lente enfocante se puede tratar a  $\mathbf{E}$  de manera paraxial, es decir, con una polarización definida. En (b) se especifica el sistema de referencia usado para describir el enfocamiento fuerte. Nótese que se trata de un sistema derecho.

la conservación de la energía que señala que el flujo de energía a lo largo de cada rayo debe permanecer constante <sup>1</sup>.

Una consecuencia de la primera regla es que nuestro sistema puede ser representado como el que se muestra en la Fig.2.1(b). Los rayos incidentes se refractan por la esfera (esfera de referencia gaussiana) de radio  $f$ . Denotaremos a un punto sobre la superficie de la esfera por las coordenadas  $(x_\infty, y_\infty, z_\infty)$  y a un punto arbitrario cerca del foco por  $(x, y, z)$ . Estos dos puntos también pueden representarse por las coordenadas esféricas  $(\rho = f, \theta_\infty, \phi_\infty)$  y  $(\rho, \theta, \phi = \varphi)$ .

Para describir la refracción de los rayos incidentes en la esfera de referencia, introducimos los vectores unitarios  $\mathbf{n}_\rho$ ,  $\mathbf{n}_\theta$ ,  $\mathbf{n}_\phi$ , como se muestran en la figura 2.1(b). Nótese que  $\mathbf{n}_\rho$ ,  $\mathbf{n}_\phi$  son vectores unitarios de un sistema coordenado cilíndrico, mientras que  $\mathbf{n}_\theta$  junto con  $\mathbf{n}_\phi$  representan vectores unitarios de un sistema coordenado esférico. En otras palabras, con la presente descripción, la acción de enfocar un haz con una esfera, transforma un sistema coordenado cilíndrico (el haz incidente) en un sistema coordenado esférico (el haz enfocado). Particularmente,  $\mathbf{n}_\rho$  se mapea en  $\mathbf{n}_\theta$ , mientras que  $\mathbf{n}_\phi$  no se altera.

Es importante reconocer que, en el caso más general,  $\mathbf{E}_{\text{inc}}$  puede describirse en su componente de polarización paralela al plano de incidencia,  $\mathbf{E}_{\text{inc}}^{(p)} = [\mathbf{E}_{\text{inc}} \cdot \mathbf{n}_\rho] \mathbf{n}_\rho$  y en su componente perpendicular a éste,  $\mathbf{E}_{\text{inc}}^{(s)} = [\mathbf{E}_{\text{inc}} \cdot \mathbf{n}_\phi] \mathbf{n}_\phi$ . Por lo tanto, el campo eléctrico refractado total, denotado como  $\mathbf{E}_\infty$  es:

$$\begin{aligned} \mathbf{E}_\infty &= \left[ t^s \mathbf{E}_{\text{inc}}^{(s)} + t^p \mathbf{E}_{\text{inc}}^{(p)} \right] \sqrt{\frac{n_1}{n_2}} (\cos \theta)^{1/2} \\ &= \left[ t^s [\mathbf{E}_{\text{inc}} \cdot \mathbf{n}_\phi] \mathbf{n}_\phi + t^p [\mathbf{E}_{\text{inc}} \cdot \mathbf{n}_\rho] \mathbf{n}_\theta \right] \sqrt{\frac{n_1}{n_2}} (\cos \theta)^{1/2}. \end{aligned} \quad (2.8)$$

Donde se han incluido los correspondientes coeficientes de transmisión  $t^s$  y  $t^p$ , y se ha hecho notar el cambio debido a la refracción de  $\mathbf{n}_\rho \rightarrow \mathbf{n}_\theta$  en el segundo término de la suma. El factor afuera de los

<sup>1</sup> Para mayores detalles consultar la referencia [25]

corchetes es una consecuencia de la ley de intensidad para asegurar la conservación de la energía [25].

Nótese que cada uno de estos vectores unitarios también puede expresarse en términos de vectores unitarios cartesianos:  $\mathbf{n}_x$ ,  $\mathbf{n}_y$  y  $\mathbf{n}_z$ , de tal forma que podemos reescribir la Ec. (2.8) como:

$$\mathbf{E}_\infty(\theta, \phi) = t^s(\theta) \left[ \mathbf{E}_{\text{inc}}(\theta, \phi) \cdot \begin{pmatrix} -\sin \phi \\ \cos \phi \\ 0 \end{pmatrix} \right] \begin{pmatrix} -\sin \phi \\ \cos \phi \\ 0 \end{pmatrix} \sqrt{\frac{n_1}{n_2}} (\cos \theta)^{1/2} \\ + t^p(\theta) \left[ \mathbf{E}_{\text{inc}}(\theta, \phi) \cdot \begin{pmatrix} \cos \phi \\ \sin \phi \\ 0 \end{pmatrix} \right] \begin{pmatrix} \cos \phi \cos \theta \\ \sin \phi \cos \theta \\ -\sin \theta \end{pmatrix} \sqrt{\frac{n_1}{n_2}} (\cos \theta)^{1/2} \quad (2.9)$$

Debido a la simetría del problema es conveniente expresar la Ec.(2.7) en términos de los ángulos  $\theta$  y  $\phi$  en lugar de  $k_x$  y  $k_y$ , así que notando que:

$$k_x = k \sin \theta \cos \phi, \quad k_y = k \sin \theta \sin \phi, \quad k_z = k \cos \theta \quad (2.10)$$

y expresando las coordenadas transversales ( $x, y$ ) del campo enfocado como

$$x = \rho \cos \phi, \quad y = \rho \sin \phi, \quad (2.11)$$

finalmente podemos expresar la representación de espectro angular del campo focal (Ec(2.7)) de la forma siguiente:

$$\mathbf{E}(\rho, \varphi, z) = \frac{ikfe^{-ikf}}{2\pi} \int_0^{\theta_{\text{máx}}} \int_0^{2\pi} \mathbf{E}_\infty(\theta, \phi) e^{ikz \cos \theta} e^{ik\rho \sin \theta \cos(\phi - \varphi)} \sin \theta \, d\phi d\theta. \quad (2.12)$$

En esta expresión se ha remplazado la distancia  $r_\infty$  entre el punto focal y la superficie de la esfera de referencia (que funge como el plano lejano descrito en la subsección anterior) por la longitud focal  $f$  de la lente. También se ha limitado el intervalo de integración sobre  $\theta$  al rango finito  $[0, \theta_{\text{máx}}]$ , pues cualquier lente tiene un tamaño finito. Además se deja claro que el campo se propaga en dirección  $+z$ . La Ec.(2.12) en conjunto con la Ec.(2.9), nos permiten calcular el enfocamiento de cualquier campo óptico  $\mathbf{E}_{\text{inc}}$  en un estado de polarización transversal cualquiera, por una lente aplanática de longitud focal  $f$  y apertura numérica:

$$NA = n_2 \sin \theta_{\text{máx}}, \quad (0 < \theta_{\text{máx}} < \pi/2), \quad (2.13)$$

donde  $n_2$  (Fig.2.1) es el índice de refracción del medio circundante. Nótese que la distribución del campo en la región focal está completamente determinada por el campo lejano  $\mathbf{E}_\infty$  (y en consecuencia por el campo  $\mathbf{E}_{\text{inc}}$ ). Por lo tanto, las propiedades del enfocamiento pueden ajustarse si se ajusta el perfil de amplitud y fase de este campo.

## 2.2 ENFOCAMIENTO DE UN HAZ BESSEL IDEAL

Para que se pueda aprovechar toda la Apertura Numérica (NA) de un objetivo de microscopio, el tamaño del campo incidente tiene que cubrir o sobrepasar el tamaño de la apertura posterior de éste. Debido al gran diámetro del haz (del orden de mm), es razonable tratar este campo en un aproximación paraxial. Por simplicidad, si este campo estuviera polarizado a lo largo del eje  $x$ :

$$\mathbf{E}_{\text{inc}} = E_{\text{inc}} \mathbf{n}_x, \quad (2.14)$$

y suponiendo que la lente tiene un excelente recubrimiento anti-reflejante, tal que  $t^s(\theta) = t^p(\theta) = 1$  para toda  $\theta$ , este campo sobre la lente estaría descrito por la siguiente forma de la Ec.(2.9):

$$\begin{aligned} E_{\infty}(\theta, \phi) &= E_{\text{inc}}(\theta, \phi) [\cos \phi \mathbf{n}_{\theta} - \sin \phi \mathbf{n}_{\phi}] \sqrt{n_1/n_2} (\cos \theta)^{1/2} \\ &= E_{\text{inc}}(\theta, \phi) \frac{1}{2} \begin{bmatrix} (1 + \cos \theta) - (1 - \cos \theta) \cos 2\phi \\ -(1 - \cos \theta) \sin 2\phi \\ -2 \cos \phi \sin \theta \end{bmatrix} \sqrt{\frac{n_1}{n_2}} (\cos \theta)^{1/2}, \end{aligned} \quad (2.15)$$

por lo que para proceder analíticamente, basta especificar el perfil de amplitud del haz incidente  $E_{\text{inc}}$ .

Es de nuestro interés que el campo incidente sea un campo muy parecido a un HB. Particularmente, lo que se obtiene en un laboratorio utilizando un axicón refractivo es un HBG<sup>2</sup> [24], que puede escribirse como [29]:

$$E_{\text{inc}} = E_0 J_0(\tilde{k}_t \rho) \exp \left[ - \left( \frac{\rho}{w_0} \right)^2 \right] \quad (2.16)$$

donde  $\tilde{k}_t$  es el vector de onda transversal descrito en la Sec.1.2, y  $w_0$  la cintura del láser usado. Nótese que en este caso, la amplitud del campo incidente solamente depende de la coordenada transversal  $\rho$ , que se relaciona con la coordenada esférica polar  $\theta$  mediante la expresión:

$$\rho = f \sin \theta. \quad (2.17)$$

Así que, la expresión de nuestro campo incidente queda:

$$E_{\text{inc}}(\theta) = E_0 J_0(\tilde{k}_t f \sin \theta) \exp \left[ - \left( \frac{f \sin \theta}{w_0} \right)^2 \right]. \quad (2.18)$$

<sup>2</sup> Más adelante, en la Sec.3.2, veremos que un haz de este tipo dentro de la escala usada en la investigación, se comporta como un HB ideal.

Mediante las relaciones matemáticas [30]:

$$\begin{aligned} \int_0^{2\pi} \cos n\phi e^{ix \cos(\phi-\varphi)} d\phi &= 2\pi (i^n) J_n(x) \cos n\varphi \\ \int_0^{2\pi} \sin n\phi e^{ix \cos(\phi-\varphi)} d\phi &= 2\pi (i^n) J_n(x) \sin n\varphi, \end{aligned} \quad (2.19)$$

donde  $n$  es cualquier entero, podemos llevar a cabo la integración sobre  $\phi$  analíticamente. Así que la expresión del campo enfocado, Ec.(2.12), se reduce a integrar únicamente sobre el ángulo  $\theta$ . En este caso, es conveniente usar las siguientes abreviaciones para señalar las integrales que haremos [25]:

$$\begin{aligned} I_{00}(\rho, z) &= \int_0^{\theta_{\text{máx}}} E_{\text{inc}}(\theta) (\cos \theta)^{1/2} \sin \theta (1 + \cos \theta) J_0(k\rho \sin \theta) e^{ikz \cos \theta} d\theta \\ I_{01}(\rho, z) &= \int_0^{\theta_{\text{máx}}} E_{\text{inc}}(\theta) (\cos \theta)^{1/2} \sin^2 \theta J_1(k\rho \sin \theta) e^{ikz \cos \theta} d\theta \\ I_{02}(\rho, z) &= \int_0^{\theta_{\text{máx}}} E_{\text{inc}}(\theta) (\cos \theta)^{1/2} \sin \theta (1 - \cos \theta) J_2(k\rho \sin \theta) e^{ikz \cos \theta} d\theta. \end{aligned} \quad (2.20)$$

Por lo tanto, el problema de calcular el campo enfocado en cualquier punto del espacio, se reduce a calcular numéricamente estas integrales.

Finalmente, el campo resultante de enfocar fuertemente un HBG ideal polarizado en la dirección transversal  $x$  puede escribirse como:

$$\mathbf{E}^{(x)}(\rho, \varphi, z) = \frac{ikf}{2} \sqrt{\frac{n_1}{n_2}} E_0 e^{-ikf} \begin{bmatrix} I_{00} + I_{02} \cos 2\varphi \\ I_{02} \sin 2\varphi \\ -2iI_{01} \cos \varphi \end{bmatrix}. \quad (2.21)$$

Cuando se aplica la rotación adecuada a las expresiones (2.21), se obtienen las expresiones análogas de un campo polarizado en el eje  $y$ :

$$\mathbf{E}^{(y)}(\rho, \varphi, z) = \frac{ikf}{2} \sqrt{\frac{n_1}{n_2}} E_0 e^{-ikf} \begin{bmatrix} -I_{02} \sin (2(\varphi - \pi/2)) \\ I_{00} + I_{02} \cos (2(\varphi - \pi/2)) \\ -2iI_{01} \cos (\varphi - \pi/2) \end{bmatrix} \quad (2.22)$$

En la Fig.2.2 se muestra la estructura en la región focal de un HBG ideal, polarizado en la dirección  $x$ . Las imágenes fueron generadas con una simulación numérica en Matlab (consúltese el Ap.A). Como parámetros se usó una  $NA = 1.25$  y un índice de refracción  $n_2 = 1.52$

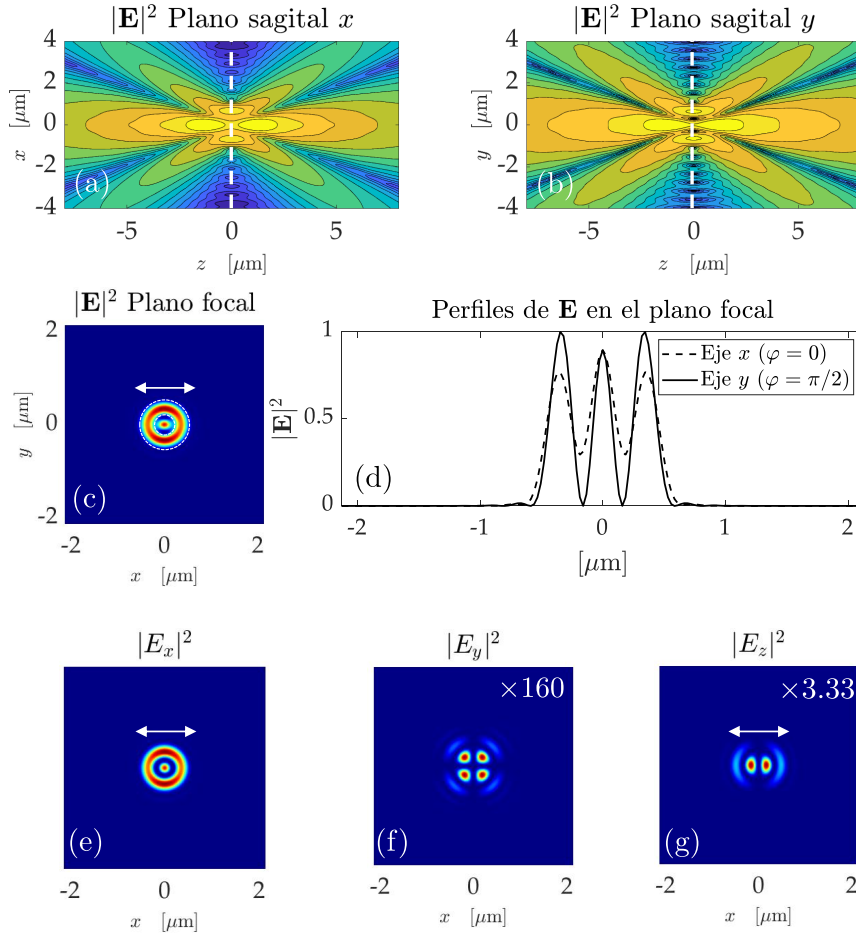


Figura 2.2: Campo de un HBG polarizado linealmente fuertemente enfocado. El efecto de la polarización puede notarse en los cortes sagitales axiales a lo largo de la dirección de polarización (a) y en la dirección perpendicular (b). Como se observa en (d), la estructura del campo tiende a ensancharse a lo largo de la dirección de polarización, lo cual provoca un spot elíptico en el plano focal (c). La mayor parte de este anillo se debe a la estructura del campo de la componente en la dirección de polarización (e). Nótese la relevancia en la contribución de la componente longitudinal (g).

(correspondiente al aceite de inmersión del objetivo enfocante), lo cual significa un ángulo de recolección de luz máximo de  $\theta_{\text{máx}} = \arcsin(\text{NA}/n_2) = 55.32^\circ$ , según la Ec.(2.13).

Es importante notar que conforme se incrementa el confinamiento del campo en la región focal, éste se va haciendo más y más elíptico. Mientras que en la aproximación paraxial (óptica de Fresnel) el *spot* focal es perfectamente circular y puede definirse un radio para éste (Ec.1.4), un haz fuertemente enfocado tiene un *spot* que se elonga en la dirección de polarización (Fig.2.2 (c) y (d)). De hecho, este comportamiento puede advertirse a partir de la Ec.(2.21), porque la primera componente del campo (en dirección  $x$ ) suma un término más



al término común que se comparte con la segunda componente (en dirección  $y$ ).

Como puede apreciarse en los cortes sagitales: en el plano de la polarización incidente ( $x, z$ ), en el plano perpendicular a este ( $y, z$ ); y en la intensidad total del plano focal (2.2 (a), (b) y (c), respectivamente), la estructura resultante de enfocar un HBG con estos parámetros, no es una en la que la luz se distribuya circundando una región de intensidad nula. Por el contrario, luz permanece en el centro del anillo y en las regiones anteriores y posteriores al plano focal sobre el eje de propagación.

Esta observación tiene importantes consecuencias en un caso de aplicación como el buscado en este trabajo: si uno apunta a tener cada vez mejores resoluciones al usar luz confinada, es menester tomar en cuenta la naturaleza vectorial de los campos que se usan. Una teoría escalar se vuelve insuficiente. En las tres imágenes inferiores de la Fig.2.2, se muestran cada una de las componentes del campo. Si atendemos a los valores de intensidad relativos al campo focal total de las componentes del *spot*, indicado por el número de color blanco en la esquina superior derecha, observamos que su estructura se compone principalmente de la componente  $x$ . También es fácil ver que una cantidad considerable de energía se distribuye en la componente longitudinal, pues tiene casi 50 veces más peso que el que tiene la componente  $y$ .

Es de nuestro interés tener un haz enfocado lo más homogéneo posible tanto en distribución espacial como energética. Una forma de acercarnos al primer objetivo es utilizar una polarización circular en lugar de una polarización lineal, pues esta tiene el efecto práctico de formar un *spot* perfectamente circular y no elíptico, como puede apreciarse en la Fig.2.3. El efecto es posible porque este caso constituye una combinación del caso anterior, en el que se tiene una distribución espacial de energía elongada tanto en la dirección  $x$ , como en la dirección  $y$  (debido a la componente respectiva de la polarización circular). Este hecho también afecta la componente longitudinal del campo, que en contraste con el caso de la polarización lineal, también posee simetría circular. Nótese que para este tipo de polarización, esta componente tiene casi la mitad del peso en la distribución total del campo enfocado que la que tiene cuando el campo está linealmente polarizado, y contribuye con aproximadamente  $1/6$  de la energía al campo en su plano focal, pues la estructura de éste es gobernada principalmente por la estructura de sus componentes transversales<sup>3</sup>. El efecto neto de enfocar un HBG circularmente polarizado es entonces, el de formar una estructura con simetría circular alrededor del eje de propagación, como lo muestran los cortes sagitales.

<sup>3</sup> No obstante, a mayor grado de confinamiento, la componente longitudinal tiene cada vez más peso [25].

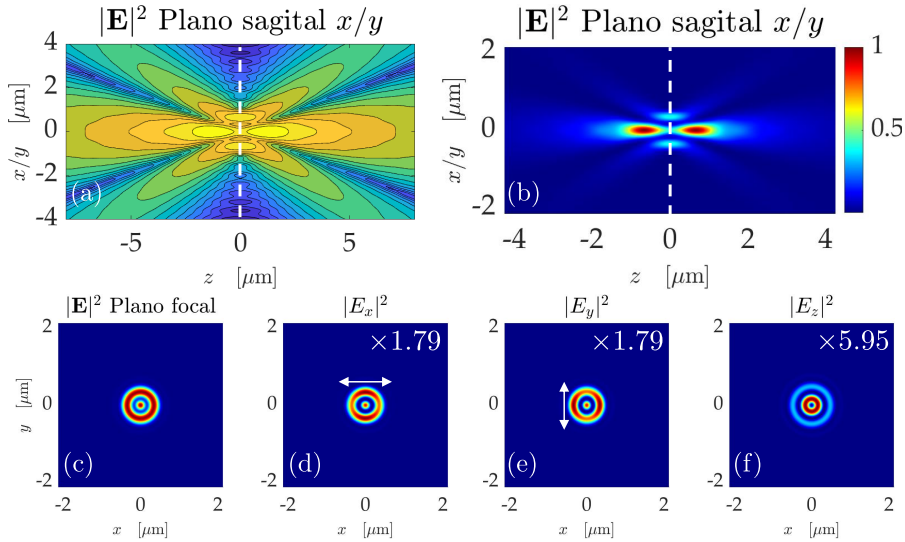


Figura 2.3: Campo de un HBG polarizado circularmente fuertemente enfocado. Este tipo de polarización dota al campo de simetría en las direcciones  $x$  y  $y$  (a), (b). La estructura del plano focal (c) es perfectamente simétrica, fruto de la combinación efectiva de las componentes del campo transversales (d) y (e), cada una de las cuales está elongada a lo largo de su correspondiente dirección de polarización. En este caso, la componente longitudinal (f) contribuye menos que en caso de polarización lineal.

### 2.3 OPTIMIZACIÓN DEL HAZ BOTELLA MEDIANTE EL CONTROL DE LA APERTURA

Fijémonos una vez más en la componente longitudinal de la Fig.2.3. Ésta posee una estructura de 3 anillos concéntricos cuya intensidad disminuye conforme se alejan del centro, en el cual se aprecia un nulo de intensidad. Por otro lado, las componentes transversales exhiben una fuerte intensidad distribuida en un anillo elíptico concéntrico (elongado en la dirección según sea el caso), que rodea un punto en el centro del plano de una intensidad de la misma escala que el anillo. Como estas componentes predominan más que la longitudinal en la estructura neta del campo, podemos decir que el resultado final de enfocar este HBG en particular es un campo cuya estructura transversal, en el plano focal, corresponde a un anillo perfectamente simétrico, que circunda un punto intenso en el centro. Dada la simetría del sistema alrededor del eje  $z$ , podemos caracterizar las propiedades de interés de toda la propagación del campo (homogeneidad espacial y energética) con solo analizar el perfil de intensidad en eje de un plano sagital axial (perfil longitudinal) y el del plano de Fourier del objetivo (perfil transversal), tal cual se muestra en la Fig.2.4.

Visto de esta forma, se hace evidente que el centro del anillo del plano de Fourier tiene tanta intensidad como el anillo mismo. No obstante, esta intensidad es menor que la alcanzada en los lóbulos

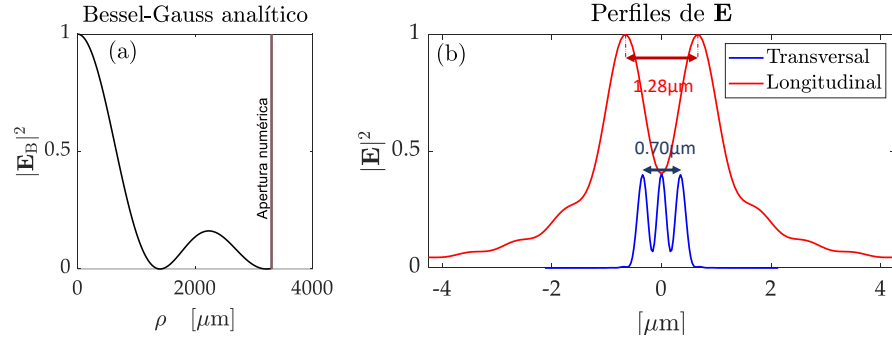


Figura 2.4: Relación del tamaño del HBG con el campo enfocado. En (a) el HBG que se enfoca. Nótese el paso de un anillo entero hacia el objetivo. En (b) los perfiles del campo enfocado. Para este HBG, el enfocamiento provoca luz espuria al centro de la botella.

axiales, y en ningún caso, para ambos perfiles, se alcanza un nulo de intensidad en el centro de la estructura. Obsérvese también que el tamaño pico a pico entre los lóbulos de la dirección longitudinal es de aproximadamente el doble que la distancia entre los lóbulos más externos del perfil transversal. Nuestro objetivo es hacer que estas longitudes permanezcan en el mismo orden de magnitud, pero sobre todo, alcanzar el nulo de intensidad en las inmediaciones del plano focal en eje.

Para alcanzar este último propósito y eliminar la luz que permanece en la región de interés (en adelante: *luz espuria*), proponemos usar un diafragma o iris cuyo tamaño pueda manipularse para filtrar el HBG que incide sobre el objetivo (véase Fig.2.5(c)). Esta propuesta se basa en aprovechar dos hechos de la estructura de un HB ideal,  $J_0(k_t \rho)$ . El primer hecho es que la fase de cada anillo concéntrico del haz difiere en  $\pi$  de la fase de los anillos adyacentes; el segundo tiene que ver con la amplitud que el lóbulo central y los anillos concéntricos poseen. Estas dos ideas en conjunto con el principio de interferencia sientan las bases de la propuesta que a continuación se explica.

Una medida de la amplitud que los anillos del haz tienen, desde el origen del plano XY hasta un radio  $\rho$ , puede modelarse mediante la siguiente función:

$$M(\rho) = \int_A J_0(k_t \tilde{\rho}) dA, \quad (2.23)$$

donde la región A es un círculo de radio  $\rho$  centrado en el origen (Fig.2.5(b)). En coordenadas circulares, la Ec.(2.23) se escribe:

$$M(\rho) = 2\pi \int_0^\rho \tilde{\rho} J_0(k_t \tilde{\rho}) d\tilde{\rho}. \quad (2.24)$$

Al usar la identidad:  $\frac{d}{dx} [xJ_1(x)] = xJ_0(x)$  [31], con el correspondiente cambio de variable, la función  $M(\rho)$  puede reescribirse como:

$$M(\rho) = \frac{2\pi}{k_t} \rho J_1(k_t \rho). \quad (2.25)$$

A partir de esta expresión es claro que, si se pudieran hacer interferir los anillos de un HB, existirían radios para los cuales la suma de sus amplitudes es cero, en el espacio en que la interferencia tenga lugar. Particularmente, esto sucede en círculos de radio  $\rho$  donde la función  $J_1(k_t\rho)$  tiene sus ceros. La forma de conseguir esta interferencia es mediante una lente, enfocando el haz, siendo en principio el foco de ésta la región de máxima interferencia. En otras palabras: es posible hacer que la estructura del anillo que se enfoca (botella de luz) experimente interferencia destructiva total en el foco de la lente, si se permite que pase la cantidad de luz correcta.

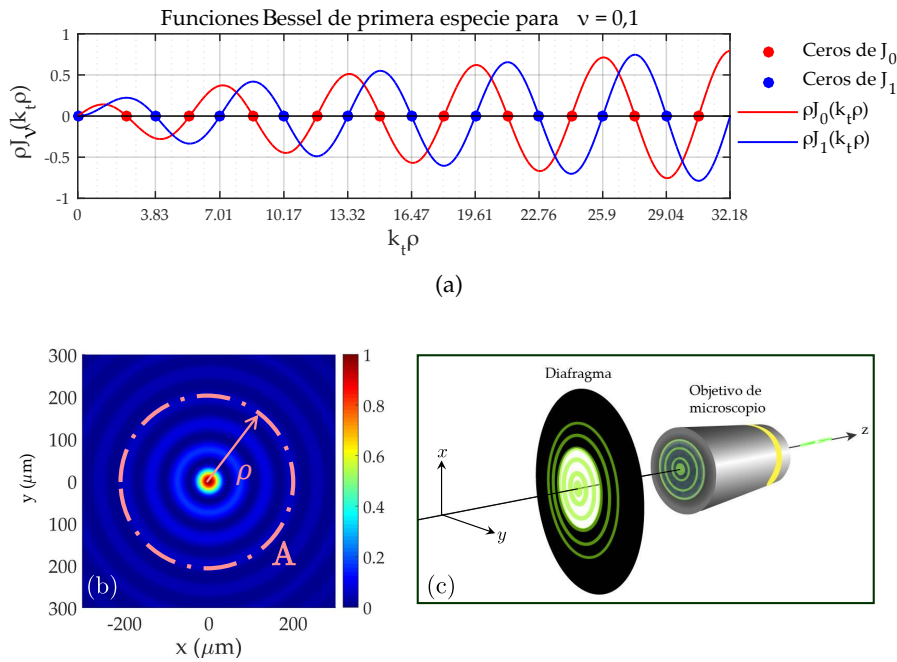


Figura 2.5: En (a) comparación de la amplitud de  $\rho J_0(k_t\rho)$  con  $\rho J_1(k_t\rho)$ . Gráfica simulada para los parámetros de un haz con  $\lambda = 532\text{nm}$ . En (b) se muestra la región A de integración (Ec.(2.23)) que ilustra el funcionamiento del diafragma de apertura (c).

Como los ceros de la función  $J_1(k_t\rho)$  no coinciden con los de  $J_0(k_t\rho)$  (véase Fig.2.5 (c)), para que exista una buena aproximación a la interferencia destructiva total en los alrededores del plano focal, el diafragma ha de cortar la estructura anillada no en secciones enteras de los anillos, sino más bien en secciones parciales, cuyo radio se corresponde precisamente con los ceros de  $J_1(x)$ . Llamamos a estos radios: *radios* o *aperturas óptimas*. En la Fig.2.6 se muestra una secuencia del cambio en la morfología de la botella, junto con el correspondiente plano de Fourier, al incrementar la apertura del diafragma. La primera fila corresponde a la 3ª apertura óptima (aquella que deja pasar casi 3 anillos, además del lóbulo central), y la última fila corresponde a la 4ª apertura óptima. Las filas restantes corresponden a aperturas interme-

días; en particular la fila central tiene una apertura que corresponde con el 4o cero de  $J_0(x)$ .

Es fácil ver cómo para las aperturas óptimas, no existe luz espuria al centro de la botella. Más aún, es notorio que la apertura en la que más luz espuria hay ocurre cuando se dejan pasar anillos completos. Esto encuentra justificación en la gráfica de la Fig.2.5(a), porque los ceros de  $J_0(x)$  coinciden aproximadamente con los máximos de amplitud de  $J_1(x)$ . Como puede apreciarse en la primera columna de la Fig.2.6, la botella también reduce su tamaño longitudinal en función del número de anillos que puedan pasar, así como el grosor del anillo central. Estas observaciones son mayormente apreciables al examinar los perfiles de la botella, como en la Fig.2.7, en donde es claro que se logra el nulo de intensidad para las aperturas óptimas.

Estos resultados nos hacen concluir que el tamaño de la apertura que filtra el haz es un factor muy relevante, por lo cual es importante incluirlo como uno de los parámetros de control en la ingeniería de un BB. En particular, para un HBG formado a partir de un axicón como el descrito en la Sec.1.2.1, el radio del diafragma de apertura es uno de los parámetros más importantes que se unen al conjunto de la Tab.1.2 junto con la magnificación total del sistema. Estos parámetros se resumen en la Tab.2.1.

CANTIDAD	SÍMBOLO
Ángulo interno efectivo del axicón.	$\gamma^{\text{eff}}$
Cintura del HBG efectiva que ilumina el axicón.	$w_G^{\text{eff}}$
Posición del objetivo respecto al axicón.	$z_{\text{obj}}$
Distancia focal del objetivo.	$f_{\text{obj}}$
Radio del diafragma de apertura.	$\rho_D$
Magnificación lateral del telescopio.	$M_T$

Tabla 2.1: Parámetros de control en el sistema simulado del axicón y el objetivo.

Además de resolver el problema de la luz espuria, el diafragma, en conjunción con el tamaño del haz, surten efectos relevantes en el tamaño general de la botella. Para una aplicación como STED, este tamaño ha de ser lo más pequeño posible. Una forma de lograrlo es con valores muy pequeños de  $\gamma^{\text{eff}}$  y valores grandes de  $w_G^{\text{eff}}$ . Esta práctica tiene el efecto de acrecentar el tamaño transversal del haz vía  $M_t$  (Sec.1.2.1). No obstante surge la siguiente pregunta: ¿existe un tamaño de magnificación óptimo? Es decir: ¿existe algún tamaño de HB tal que pueda aprovecharse el efecto del tamaño de apertura?

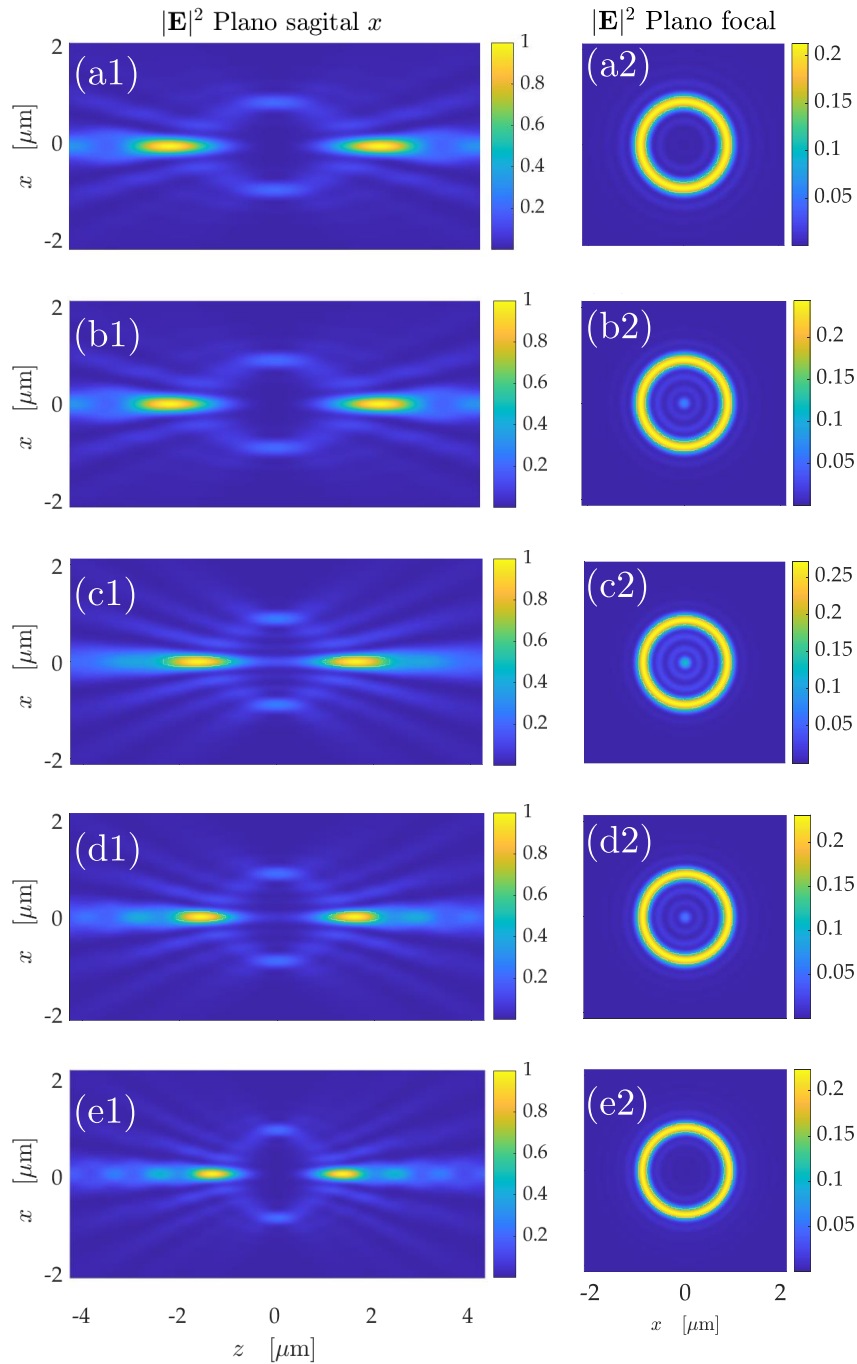


Figura 2.6: Efecto de apertura en el BB. En la primera columna se muestran cortes sagitales de la propagación de la botella; a la derecha su respectivo anillo en el plano focal, como progresión al variar el tamaño del diafragma desde la 3a apertura óptima (a) a la 4a(e), pasando por aquella apertura que permite el paso de un número entero de anillos (c).

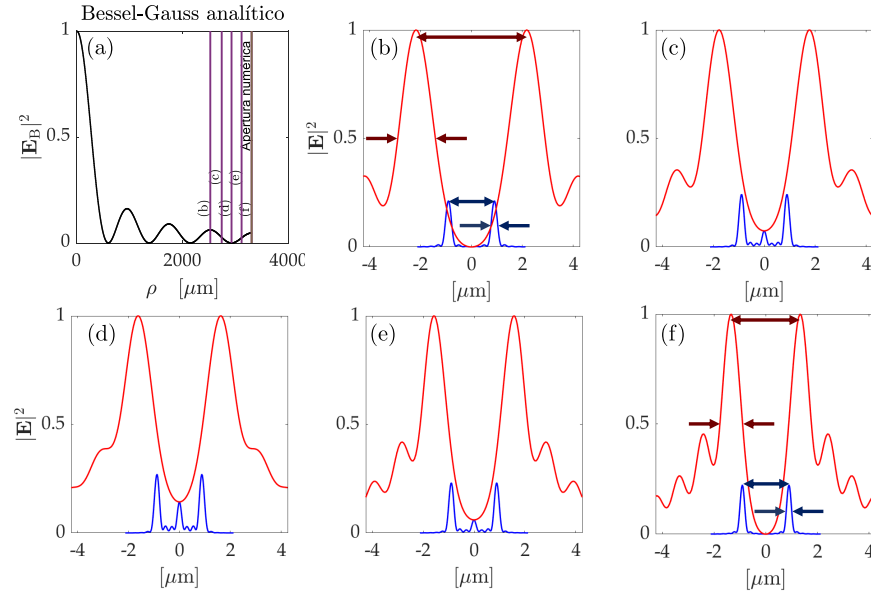


Figura 2.7: Efecto de apertura en el BB (perfiles). En (a) se muestra el tamaño de la apertura usada para el resto de las figuras sobre el Bessel utilizado. Nótese el nulo de intensidad logrado en el centro de la botella cuando las aperturas son óptimas (b) y (f).

La respuesta es: sí. Para comprender porqué, compárese los planos sagital y focal de la Fig.2.6(c1) y (c2), con Fig.2.3(b) y (c), respectivamente. El evidente cambio en la dimensión longitudinal y lateral de la botella es debido a que, a pesar de que las botellas fueron generadas con el mismo objetivo y con la misma apertura de diafragma,  $\rho_D$  (la natural proporcionada por el objetivo), el tamaño del HB que enfocaron no fue el mismo, siendo mayor en el segundo caso.

Lo anterior también puede decirse con otra perspectiva que destaca la importancia del parámetro  $\rho_D$ : la cantidad de anillos del haz que son enfocados, también modifica el tamaño de la botella. Mientras que en la Fig.2.6 (a) el valor de  $\rho_D$  es tal que deja pasar más de 2 anillos enteros, con el valor de  $\rho_D$  en (e), pasan más de 3 anillos y el BB reduce su tamaño respecto al caso anterior. Esto puede ser más claro si se comparan los perfiles correspondientes perfiles en la Fig. 2.7.

En conclusión, existe un *efecto de tamaño del sistema* que resume los dos párrafos anteriores: a menor número de anillos, más pequeña será la botella. Este efecto de tamaño se conjuga armoniosamente con los valores adecuados de los parámetros de control estudiados en [16] y reportados en el capítulo anterior, pues a tamaños más grandes del haz corresponde, naturalmente, mayores magnificaciones (y consecuentemente, tamaños más grandes de  $w_G^{\text{eff}}$  y menores de  $\gamma^{\text{eff}}$ ).

A partir de estos hechos es fácil concluir la existencia de la mejor configuración posible del sistema que se adecúe a una aplicación determinada, en nuestro caso con vías a STED. Es decir, aquella configuración en donde se obtenga un HBC a lo más, tan grande como

para que la primera apertura óptima (la que deja pasar el lóbulo central y casi medio anillo más, y que corresponde al primer cero de la respectiva función  $J_1(x)$ ) coincida con el tamaño de la apertura anterior del objetivo que lo enfocará. De esta forma, el tamaño de la apertura anterior que posee el objetivo mismo representa una cota superior para el tamaño óptimo del haz. Gran peso recae entonces en el objetivo *per se*, pues se requieren grandes aperturas anteriores y cortas distancias focales, características de un objetivo de amplia apertura numérica. Esta última característica también es beneficiosa, pues valores grandes de  $NA$  también nos permiten acceder a una descripción más exacta de la morfología de la botella en la que además podemos explorar los efectos tanto de la polarización del haz como el de cada una de las componentes del campo, efectos que abren una ventana de oportunidad para diferentes aplicaciones.

Para finalizar este capítulo, hagamos el ejercicio de encontrar la mejor configuración posible para un objetivo de microscopio de  $NA=1.25$  con un radio de apertura anterior de  $3300\mu\text{m}$ , un axicón de  $\gamma = 0.5^\circ$ , y un haz gaussiano con un diámetro de cintura a la salida del láser ( $\lambda = 532\text{nm}$ ) de  $2250\mu\text{m}$ . Para que un frente de onda muy plano incida en el axicón, el haz se expande 3 veces. Esto implica que el tamaño de  $w_G$  a ser considerado en la descripción del Cap.1 es de  $w_G = 3 \times 2250/2 \mu\text{m} = 3375\mu\text{m}$ .

Dados los parámetros del sistema anteriores, lo que requerimos es calcular la magnificación necesaria,  $M_T$ , para acrecentar el  $HB$  hasta que su tamaño sea el apropiado como para considerar el radio del diafragma,  $\rho_D$ , como óptimo. Como lo ideal es aprovechar siempre la apertura anterior del objetivo mismo de manera completa, ésta fungirá como el diafragma, así que  $\rho_D = 3300\mu\text{m}$ . También es ideal que  $M_T$  sea lo más grande posible. La única forma para que esto suceda y al mismo tiempo se preserve una estructura de  $HB$  para enfocar, es haciendo incidir sobre el objetivo una sección del primer anillo además del lóbulo central del haz. En otras palabras, buscamos que  $\rho_D$  sea el radio de la primera apertura óptima, la cuál se obtiene cuando el argumento de  $J_0(k_t\rho_D)$  se iguala al primer argumento donde  $J_1(x)$  se anula, *i. e.*, buscamos  $M_T$  tal que

$$k_t\rho_D = 3.83. \quad (2.26)$$

Una expresión para  $M_T$  puede obtenerse de la siguiente forma. Partimos de expresar el vector de onda transversal del  $HBG$  en aproximación paraxial como [16]:

$$\begin{aligned} k_t &= k \sin \theta_0 \\ &= k \theta_0 \\ &= k(1.5 - 1)\gamma^{\text{eff}} \\ &= k(1.5 - 1)\frac{\gamma}{M_T}, \end{aligned}$$



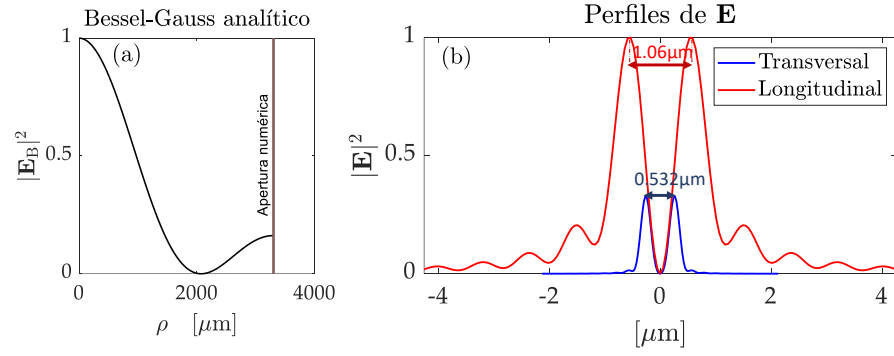


Figura 2.8: Relación del tamaño del HBG óptimo con el campo enfocado. En (a) se muestra el HBG enfocado. Nótese que el tamaño de este puede manipularse para hacer que el tamaño de la apertura anterior del objetivo sea el correspondiente a la primera apertura óptima. En (b) se aprecia el nulo de intensidad alcanzado en el centro de la botella.

donde en el último paso se usó la Ec.(1.15). Al sustituir  $k_t$  en la expresión anterior con la Ec.(2.26) y al resolver para  $M_T$  obtenemos:

$$M_T = k(1.5 - 1) \gamma \frac{\rho_D}{3.83}. \quad (2.27)$$

En este caso, dado este objetivo, se alcanza una magnificación transversal de  $M_T = 44.38$ . Lo cual emula un sistema con un axicón con un  $\gamma^{\text{eff}} = 0.011^\circ$  y un  $w_G^{\text{eff}} = 15\text{cm}$ .

Como se ve en la Fig.2.8, con la configuración anterior puede alcanzarse una botella de un tamaño de un par de longitudes de onda -longitudinalmente- y de una longitud de onda -transversalmente-. Esto es midiendo la distancia pico a pico de los lóbulos de la Fig.2.8(b). Más aún, el FWHM del nulo de intensidad longitudinal es de  $0.552\mu\text{m} = 1.03\lambda$ , mientras que el del nulo transversal es  $0.314\mu\text{m} = 0.6\lambda$ . Más aún, aunque la intensidad alcanzada por el anillo focal es a lo más  $1/3$  de la intensidad máxima alcanzada longitudinalmente, la forma de los nulos de intensidad coincide perfectamente en el espacio ocupado por el perfil transversal, lo cual garantiza una región homogénea del espacio, en los alrededores de la zona focal, en donde no hay luz.

En la Fig.2.9(a) se puede apreciar la forma del anillo, el cual no contiene luz espuria en su centro y además posee un ancho  $d\rho = 592\mu\text{m} = 1.11\lambda$ . Una inspección cuidadosa de este campo delata la presencia de anillos concéntricos exteriores al anillo de interés que son muy poco intensos. En la parte (d) de la misma figura, podemos observar la poca contribución que tiene la componente longitudinal del campo enfocado al campo total en el plano de Fourier (casi del 9%). De hecho, el máximo valor de esta componente a lo largo de toda la propagación es 25 veces menor que el máximo del campo total en toda la propagación (Fig.2.10(c)), así que, con los parámetros usados

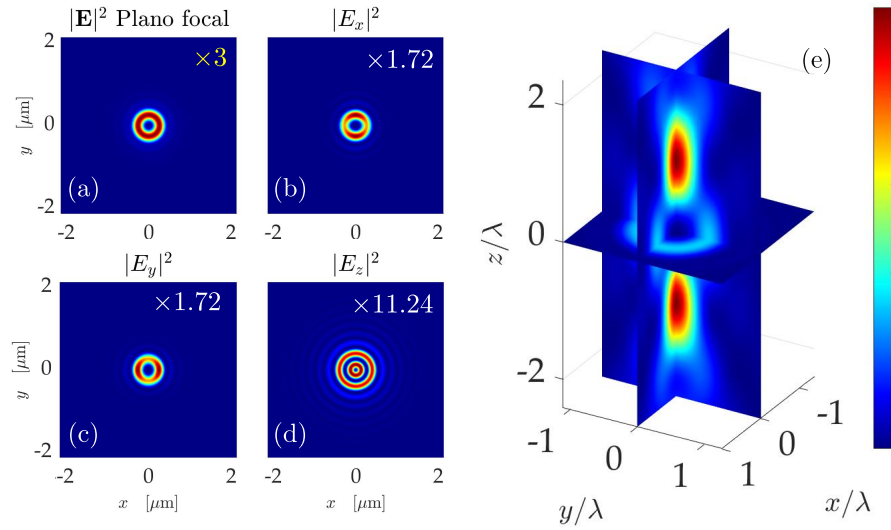


Figura 2.9: Campo focal de la botella óptima. La contribución del campo focal total (a) es 3 veces menor (indicado en letras amarillas) a la alcanzada en toda la propagación (e). En este caso, el máximo de las componentes transversales del anillo es 1.7 veces más pequeño al máximo alcanzado dentro del anillo. Nótese la escasa contribución de la componente longitudinal.

en esta simulación, podemos concluir que la componente longitudinal se vuelve irrelevante.

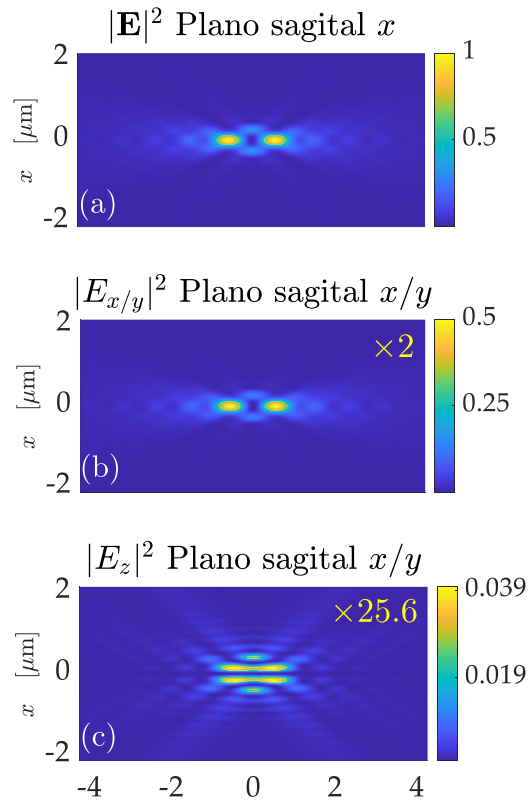


Figura 2.10: Propagación de las componentes de la botella óptima. Se muestran cortes sagitales axiales en el plano  $x - z$ . Nótese como prácticamente todo el campo (a) se encuentra formado por las componentes  $x$  y  $y$  (b), mientras que, aunque interesante en estructura, la componente longitudinal (c) casi no contribuye.

---

CONFIRMACIONES Y COMPARACIONES  
EXPERIMENTALES

---

En este capítulo se muestran confirmaciones de comportamiento observadas en las simulaciones, así como comparaciones del experimento hecho en el Laboratorio Universitario de Micro-manipulación Óptica (LUMO) del IF y el experimento numérico discutido al final del Cap.2.

## 3.1 SISTEMA Y METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

El objetivo de amplia apertura numérica usado para enfocar el HB fue un Zeiss 63x Plan-NEOFLUAR, de inmersión en aceite y con  $NA=1.25$  [32]. Aunque el fabricante no detalla en las descripciones ni el tamaño de la apertura anterior ni la distancia focal de este dispositivo, estos pueden obtenerse midiéndolos o calculándolos. En nuestro caso, con un vernier se obtuvo un valor de  $(6.6 \pm 0.05)\text{mm}$  para el diámetro de la apertura anterior (o un radio  $\rho_{NA} = 3300\mu\text{m}$ ). Esto significa un ángulo de recolección de luz máximo de  $\theta_{\text{máx}} = \arcsen(NA/n_2) = 55.32^\circ$  (Ec.(2.13)), lo cual se traduce en que puede asociarse al objetivo una distancia focal calculada de  $f = \rho_{NA}/\text{sen } \theta_{\text{máx}} = 4.01\text{mm}$  (véase Fig.3.1).

De acuerdo a los resultados mostrados en los Cap.1 y 2, uno puede manipular el tamaño del HBG tanto como desee. Con ello puede acceder a una gran variedad de axicones con diferente  $\gamma^{\text{eff}}$ . De hecho, puede acceder a tantos  $\gamma^{\text{eff}}$  como el número de magnificaciones transversales,  $M_T$ , que pueda conseguir al combinar las lentes dispo-

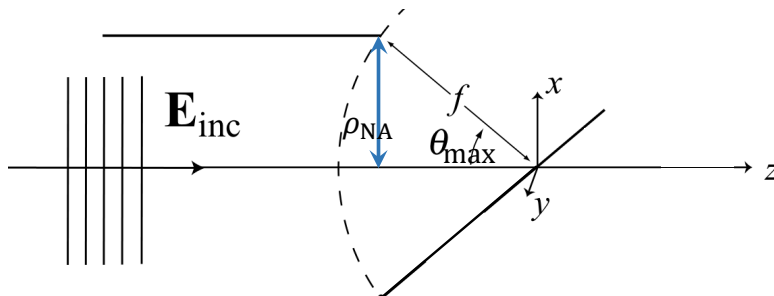


Figura 3.1: Modelación del objetivo experimental.

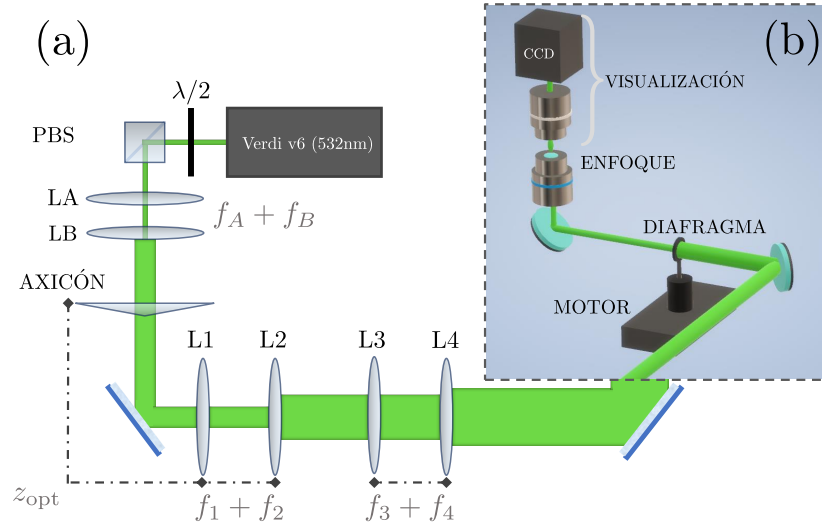


Figura 3.2: Sistema experimental. Una placa  $\lambda/2$  en combinación con un PBS, ayuda a regular la potencia del láser, cuyo haz es amplificado 3 veces antes de incidir sobre el axicón. El haz BG generado pasa por un telescopio de magnificación  $f_2/f_1 = 20\times$  y luego por otro  $f_4/f_3 = 1.5\times$ . Luego el haz se filtra por un diafragma montado en un micro-motor y es enviado a la vertical, donde un objetivo de  $AN = 1.25$  lo enfoca.

nibles en el laboratorio para construir telescopios. En particular, para optimizar un BB dado este objetivo de microscopio y un axicón de  $\gamma = 0.5^\circ$ , el valor teórico es  $M_T = 44.38$  (véase final de la Sec. 2.3 para más detalles).

Conseguir una magnificación transversal específica representa dificultades prácticas. Algunos métodos posibles para ampliar el rango de magnificaciones disponibles y acercarse al valor requerido son utilizar lentes tanto positivas como negativas e incluso objetivos de microscopio, así como el uso de telescopios compuestos.

En nuestro caso, recurrimos al uso de una lente negativa seguida de una positiva para formar un telescopio  $3\times$  (LA-LB en la figura Fig.3.2 (a)) previo al axicón, para que hubiera una incidencia semejante a una onda plana; mientras que conseguimos una  $M_T$  aproximada a la requerida usando un telescopio compuesto (L1-L2-L3-L4) formado de un telescopio  $20\times$  seguido de otro  $1.5\times$ , usando en ambos lentes positivas. Por lo tanto, se consiguió una magnificación transversal efectiva de  $M_T = 30\times$ . El láser utilizado fue de una  $\lambda = 532\text{nm}$  y con un diámetro de  $(2.25 \pm 10\%) \text{mm}$  (Verdi v6). Una placa  $\lambda/2$  en combinación con un PBS colocado a su salida, ayudó a regular su intensidad.

Aunque  $30\times$  dista mucho de la magnificación que nos haría aprovechar la apertura propia del objetivo completamente, puede usarse en conjunto con un diafragma colocado anterior al objetivo (Fig.3.2 (b)). Un sistema así ofrece la posibilidad de acceder tanto a la apertura

óptima como a otras que no lo son, únicamente variando el tamaño,  $\rho_D$ , del diafragma.

Cabe señalar que la parte más delicada del experimento, en términos de precisión, se encuentra hacia el final del montaje, cuando se filtra el haz con el diafragma. Esta parte es crucial, pues sabemos que por su construcción, estos dispositivos no forman una apertura perfectamente circular, además de que se requiere un manejo delicado del mismo: tanto en lo correspondiente a su alineación (por lo cual es preferible montarlo en una plataforma cuyo desplazamiento pueda controlarse, como por ejemplo, un motor micrométrico), como al momento de manipularlo para cambiar su tamaño.

Una vez filtrado el haz con el diafragma, éste fue desviado verticalmente hacia un sistema de monturas que sostenían el objetivo enfocante y otro colocado en contraposición a éste para utilizarlo en conjunto con una cámara CCD como sistema de visualización. La NA de este segundo objetivo fue de 1.3, mayor a la del primero para poder coleccionar la mayor cantidad de luz proveniente del BB. Tanto el objetivo enfocante como el sistema de visualización fueron dotados de grados de libertad en los ejes  $x, y, z$  para facilitar su alineación. La configuración vertical para el enfocamiento del haz y su visualización es una configuración bastante robusta y estable. Una configuración horizontal también es posible, pero dada la extensión que ocupa el sistema *per se*, un arreglo así orientado trae consigo movimientos oscilatorios que dificultarían las tareas observacionales y de medición.

Finalmente, se hizo una exploración fina de la región de formación del BB usando un controlador micrométrico, y se obtuvieron fotografías de su plano transversal con las que fue posible reconstruir un modelo tridimensional de la misma y estudiar sus características.

### 3.2 HAZ BESSEL

Como se ha estudiado hasta el momento, las características del BB como lo son sus dimensiones y grado de oscuridad en su centro, dependen del haz que se enfoca. Esta razón es suficiente y necesaria para procurar una caracterización completa y confiable del haz previo al objetivo de microscopio. Dedicaremos esta sección a la descripción del haz que se enfoca con el propósito de tener una base confiable que nos ayude a explicar las características del BB obtenido en el laboratorio.

#### 3.2.1 *Haz a la salida del axicón*

Para comenzar, será útil conocer el haz generado por el axicón. A partir del estudio previo de esta situación en mi tesis de licenciatura, sabemos que la forma y calidad del HB a la salida de esta lente, así como del BB resultante al enfocarlos, dependen de la distancia -medida

desde el axicón- a la que el HB se estudie, siendo las distancias más apropiadas aquellas correspondientes al rango de valores  $[0.5, 0.6]z_{\max}$  [16]. La Fig.3.3 compara el perfil del haz experimental (negro) con el perfil obtenido para una simulación con los mismos parámetros del experimento en donde se usa propagación de Fresnel (azul), al mismo tiempo que se compara con la función analítica  $J_0(x)$  (rojo). En este caso usamos la distancia existente en el experimento de  $z_{\text{opt}} = 0.55z_{\max} = 42.5\text{cm}$

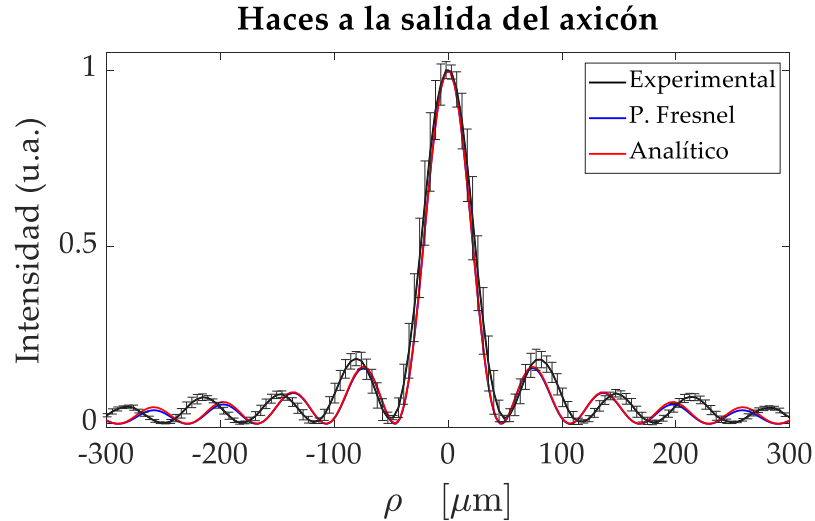


Figura 3.3

Como puede apreciarse, los tres perfiles preservan muy bien la forma de una función  $J_0(x)$ . Si observamos las líneas azul y roja, nos daremos cuenta de que estas son prácticamente las mismas hasta una distancia aproximada de  $\rho = 200\mu\text{m}$ . De acuerdo a nuestros resultados del Cap.2, nuestra región de interés -dados nuestro axicón,  $M_T$  y objetivo- recae en poder controlar el tamaño del haz hasta a lo más el primer anillo contiguo al lóbulo central, por lo que aludiendo a lo mostrado hemos convenido en llamar a todos estos haces como HB en lugar de hacer la diferencia con un HBG, pues el comportamiento gaussiano no se expresa tanto como sí lo hace el de la función  $J_0(x)$ . Una razón que explica esto es la expansión del HG previo a la incidencia en el axicón para conseguir una iluminación semejante a onda plana.

Por otra parte, es evidente que el HB experimental es más grande que los otros haces. Podemos caracterizar los tamaños de estos con el parámetro  $\rho_B$ , definido como el ancho del lóbulo central dividido por 2. En este caso, el HB proveniente del axicón posee  $\rho_B^{(\text{ax})} = 51.20\mu\text{m}$ , mientras que para el haz simulado y el analítico tenemos:  $\rho_B^{(\text{Fr})} = \rho_B^{(\text{an})} = 47\mu\text{m}$ , habiendo una diferencia del 8% entre ellos.

A partir del hecho anterior podemos concluir que el axicón genera HB más grandes al del tamaño esperado por los cálculos teóricos (ya

sea al de una aproximación de propagación paraxial o a una función analítica). De hecho podríamos decir que, al menos para esta distancia  $z_{opt}$ , el  $\gamma$  del axicón se comporta como si fuera menor a su valor nominal de  $0.5^\circ$ .

Las comparaciones roja y azul en la Fig.3.3 también son útiles porque justifican el uso de un *script* simple y directo (Ap.A) que aprovecha las ventajas de la programación en Matlab, obteniendo beneficios de velocidad de cálculo y menores requisitos de almacenamiento, sobre un programa menos eficiente basado en la propagación de Fresnel

### 3.2.2 Haz a la salida del telescopio compuesto

Podemos caracterizar el HB a la salida del telescopio compuesto  $30\times$  de diferentes formas. La primera forma que presentamos es una caracterización hecha a partir de la medición de intensidad de cada punto del haz. Para implementar esta idea, se hizo incidir el haz sobre un potenciómetro cuyo sensor se cubrió con un *pinhole*. La idea de usar el *pinhole* fue obtener mediciones de intensidad lo más aproximadas a una medición puntual sobre el patrón de intensidad del HB. El potenciómetro se montó sobre plataformas que permitieron desplazar su posición lateral y su altura para facilitar las mediciones. Para proceder con el registro de intensidades lo primero que hubo que hacer, tras una correcta alineación del potenciómetro, fue intentar hacer coincidir el centro geométrico del HB con el *pinhole*, lo cual se logró a partir de identificar el mismo como el punto de mayor intensidad. A partir de este punto, el medidor se desplazó lateralmente para obtener el gráfico mostrado por la Fig.3.4.

La mejor curva que se ajusta a los datos experimentales es:

$$I(x) = 0.833 \exp \left[ -\frac{2x^2}{(20.27\text{mm})^2} \right] J_0^2(1.213x). \quad (3.1)$$

En este caso obtuvimos sobre la curva del ajuste un  $\rho_B^{(30\times)} = 2000\mu\text{m}$ . Es interesante saber que si multiplicamos por 30 el tamaño del HB a la salida del axicón:  $\rho_B^{(ax)} \times 30 = 1536\mu\text{m}$ , obtenemos una enorme diferencia de 23% respecto al valor obtenido con este método de caracterización a la salida del telescopio  $30\times$ .

A partir de estas observaciones y en adición a la lentitud del método de caracterización, optamos por caracterizar el haz con la cámara CCD, en la cual es posible capturar una muestra suficiente del HB para estudiarlo (Fig.3.5). En este caso tenemos  $\rho_B^{(30\times)} = 1564.7\mu\text{m}$ , el cual difiere solamente un 1.8% del valor esperado.

Por otra parte, el uso de telescopios compuestos para este experimento supone un beneficio adicional al de acceder a un rango mayor de magnificaciones, y que sugiere una solución para obtener el HB del tamaño adecuado para cualquier objetivo en caso de no existir confianza en el tamaño del haz que genera el axicón (en nuestro caso,



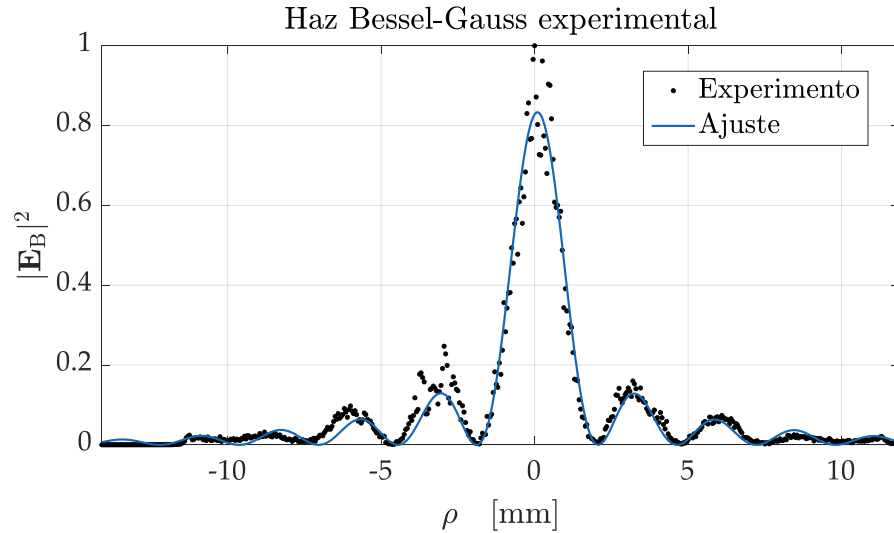


Figura 3.4: HB a enfocar. Los datos experimentales se ajustan bastante bien al ajuste generado usando el método de mínimos cuadrados no lineales con el algoritmo de Levenberg-Marquardt, que arroja un valor de  $R = 0.97$

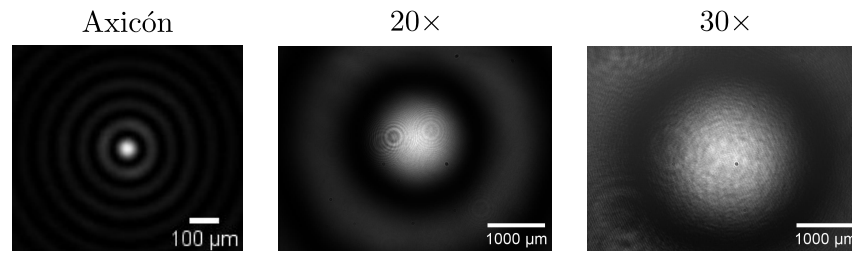


Figura 3.5: HB usados en el experimento. Imágenes tomadas con la misma cámara CCD.

una discrepancia del 80 % respecto al valor teórico). Nos referimos a que uno puede caracterizar el HB a la salida del primer telescopio (el 20 $\times$  en nuestro caso) y en función del tamaño  $\rho_B^{(20\times)}$ , se puede escoger para el siguiente telescopio la mejor magnificación posible que agrande el haz al tamaño deseado. Más aún, la caracterización del haz a la salida de este telescopio intermedio también permite aproximar el tamaño del HB a la salida del axición. En nuestro caso, por ejemplo, tenemos  $\rho_B^{(20\times)} = 1062.5\mu\text{m}$ , de tal forma que esperaríamos que ese haz provenga de otro de tamaño:  $\rho_B^{(\text{ax})} = \rho_B^{(20\times)} / 20 = 53.12\mu\text{m}$ . Valor que difiere únicamente en 3.8% del medido directamente a la salida del axición.

Un hecho relevante del análisis anterior es que contamos con un HB a la entrada del objetivo de microscopio que es más grande al esperado, por lo cual contamos con un haz un 8% mayor a lo esperado, lo cual puede traducirse en que en realidad tenemos una “magnificación efectiva” de  $M_T = 30 \times 1.08 = 32.4$ , la cual sigue estando por debajo de la estimada para el caso del axición simulado con  $\gamma = 0.5^\circ$ , por lo

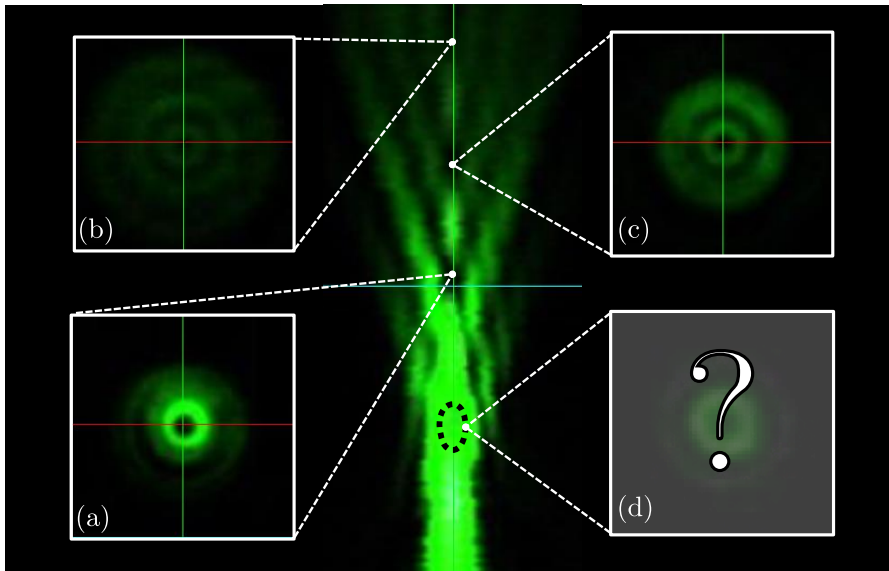


Figura 3.6: Primer ensayo de BB. Aunque la imagen se asemeja un poco a la esperada, estar conscientes de las dificultades en el diafragma y el sistema de visualización nos hicieron desconfiar en la identificación de (a), (b), (c) e incluso en la posibilidad de (d), como plano focal.

que siguió siendo útil el uso de un diafragma para aperturar la parte anterior del objetivo y conseguir el mejor BB posible.

### 3.3 HAZ BOTELLA

Teniendo claro el tamaño del HB a enfocar, la siguiente tarea fue calibrar el sistema de visualización para conocer la escala real de las imágenes formadas. Para este propósito se colocó entre ambos objetivos una rejilla Ronchi [33]. Específicamente, se obtuvo imagen del grabado de 150 líneas por mm. Luego, aprovechando que éste se componía de un patrón de líneas periódicas, se analizó la imagen mediante técnicas de óptica de Fourier, realizando un filtrado en el espacio de frecuencias para obtener la correspondiente frecuencia espacial del patrón y con ello la relación entre píxeles y la longitud real. Así se concluyó que cada píxel medía:  $0.062\mu\text{m} \pm 5.02\%$ .

En la Fig.3.6 se muestra un plano sagital de un BB en propagación, reconstruido a partir de decenas de imágenes correspondientes a planos transversales separados una distancia de  $0.10\mu\text{m}$ .

Para medir el tamaño de la apertura del diafragma,  $\rho_D$ , se tomó una fotografía del diafragma junto con una escala conocida, como por ejemplo un vernier (Fig.3.7(a)). Luego, con la misma técnica descrita anteriormente pudo obtenerse la relación entre píxeles y distancias reales para calibrar las longitudes. Para el ensayo mostrado en la Fig.3.6 se obtuvo  $\rho_D = 2.15\text{mm}$ . Aunque este método es preciso, puede llegar a ser inexacto si se basa en una fotografía que conten-

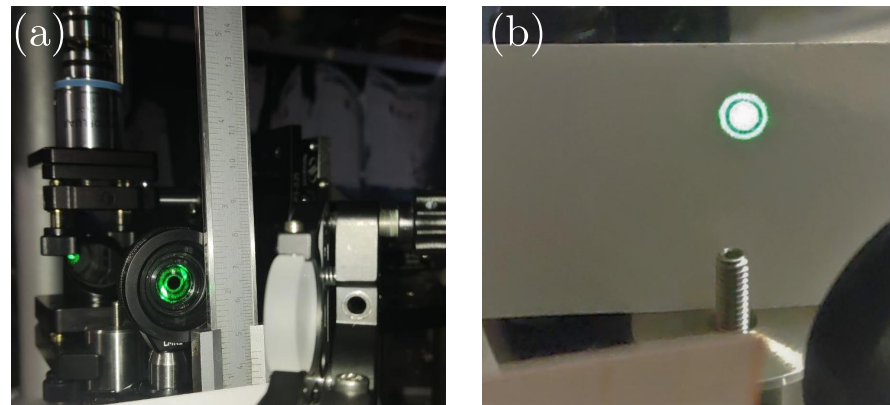


Figura 3.7: Uso del diafragma en el experimento. En (a) se muestra la parte anterior del diafragma y parte del primer anillo del HB que se filtra, en la frontera interna del iris. Una imagen más clara de la parte del haz que llega al objetivo está en (b), una zona posterior al diafragma.

ga errores sistemáticos, como por ejemplo de paraleje, sin embargo, pensamos que representa la mejor opción, pues otras opciones que probamos resultaron ser ineficientes. Por ejemplo, intervenir el diafragma montado, con un vernier, causa problemas de desalineación y peor aún, si el diafragma no está lo suficientemente apretado para que su iris no se abra fácilmente, entonces éste puede moverse al introducir las puntas del vernier (de hecho, si el iris estuviera muy apretado, entonces tampoco podría abrirse para explorar las posibilidades de optimización discutidas más abajo). Finalmente, quitar el vernier para medirlo de una forma más controlada, lejos del experimento, no es viable y alteraría la repetibilidad del experimento cuando se volviera a colocar para seguir tomando mediciones.

Es muy importante describir la metodología con la que las imágenes de los BB fueron obtenidas, pues es un proceso delicado y complejo que amerita varios comentarios. Para comenzar la recopilación de datos, con el HB incidiendo sobre el objetivo de enfoque (atravesando el diafragma totalmente abierto) y observando mediante la CCD montada en el sistema de observación, hay que tener en cuenta los siguientes puntos:

1. Hay que identificar, a priori, el plano de Fourier del objetivo enfocante con el objetivo de observación. Esto puede hacerse manipulando primero los tornillos micrométricos de cada una de las monturas que sostienen cada objetivo, en sus tres grados de libertad, y de una manera basta. La pista más importante para esta tarea es poder apreciar con la CCD la formación de un intenso anillo

que sea lo más pequeño posible. Es importante señalar la alta probabilidad de que este anillo contenga luz en su interior, pues la relación entre el tamaño del HB y el tamaño de la apertura anterior del objetivo es, en principio (de acuerdo a nuestros cálculos), no óptima como para tener un nulo de intensidad.

2. *Hay que hacer una exploración fina en la dirección anterior y posterior del plano identificado como "plano de Fourier", con el propósito de refinar el proceso anterior.* Para ello únicamente se utiliza (mediante software) el controlador que dirige la montura del objetivo de observación. Esta parte es muy delicada e importante, pues requiere contar con un controlador capaz de realizar un movimiento delicado y repetible. En nuestro caso, una vez que se avanzaba hacia atrás (delante), fue casi imposible recuperar la imagen del plano anterior al moverse de vuelta hacia adelante (atrás).
3. *Manipular el diafragma para optimizar el plano de Fourier.* Esto también puede hacerse de una manera basta apreciando con el ojo desnudo, que el diafragma filtre únicamente el lóbulo central y parte del primer anillo del HB, de tal forma que lo que incida sobre el objetivo de microscopio sea una estructura parecida a la mostrada en la Fig.3.7(b). Luego puede refinarse dicha aproximación visualizando el contenido de la CCD en el monitor de la computadora. El tamaño de la apertura del diafragma se vuelve entonces un tamaño que, *a priori*, optimiza el BB.
4. *Refinar la optimización explorando en las cercanías del plano de Fourier.* Es muy destacable señalar que existe una gran posibilidad de que el plano identificado como "focal" no sea tal, por lo cual existe también la posibilidad de encontrar, mediante la exploración fina a su alrededor y con el tamaño de diafragma con el que se cuenta, un plano en el que se aprecie el anillo con la región de intensidad casi nula en su interior. Si ese es el caso, entonces se habrá encontrado el plano de Fourier del objetivo y la región central del plano longitudinal del BB.
5. *Hallar los extremos del BB y ajustar el tiempo de exposición de la CCD.* Esto es necesario para hallar el rango de movimiento que usará el controlador y para que cada una de las fotografías que se tomen pueda ser comparada entre sí.
6. *Tomar fotografías y procesarlas en la computadora.*

Como puede apreciarse del párrafo anterior, la obtención de una imagen del BB se vuelve una empresa compleja, tardada, debido a la itereatividad del proceso de hallar el plano de Fourier y la apertura  $\rho_D$  óptima, y bastante susceptible de errores si es que no se cuenta,

principalmente, con: 1. Una buena alineación en el sistema de observación; 2. Un controlador cuya repetibilidad en su recorrido sea muy confiable; 3. Un diafragma que pueda manipularse con precisión y exactitud.

Más aún, a pesar de las observaciones descritas el investigador puede notar, solamente *a posteriori* (*i. e.* con las imágenes ya procesadas) características en el BB que no aparecen en las simulaciones y que, por la forma en que se procedió con el experimento, no pudieron notarse antes. Explicaremos esto en los párrafos siguientes.

Para la Fig.3.6, se identificó el plano (a) como el plano de Fourier (*a priori*) del objetivo enfocante (el cual está en la parte inferior de la imagen). Uno podría esperar entonces observar, a partir de ese plano, en ambos sentidos del eje vertical, tener una imagen parecida a la de la Fig.2.10(a), *i. e.* , un nulo de intensidad central con dos regiones muy intensas (como lóbulos), a cada lado de éste sobre el eje vertical. Si se continuara explorando el eje vertical, uno se encontraría con una especie de repeticiones del plano focal originados por difracción, cada vez menos intensos. Sin embargo, aunque en la imagen obtenida del BB se aprecian lo que parecieran ser las repeticiones del plano focal en (b) y (c), no se aprecia la simetría anteriormente descrita. De hecho, es claro que en la dirección del objetivo enfocante, existe mayor intensidad. Más aún, es razonable sospechar que el plano (a) no fue el plano de Fourier, sino que éste se encuentra en algún plano (d).

Debido a tales sospechas, el experimento se repitió, tomando en cuenta la facilidad con la que uno puede errar al encontrar el plano de Fourier. Los resultados esta vez fueron más satisfactorios y el BB resultante es mostrado en la Fig.3.8.

En este ensayo se usó un  $\rho_D = (2.061 \pm 6\%)$ mm, para el diafragma. Como se aprecia en la Fig.3.8, al hacer las mediciones considerando los posibles errores se obtuvo una mejor imagen de la botella. De acuerdo a la distribución de intensidad, en esta imagen tenemos más confianza al proponer el plano señalado en (a) como el plano de Fourier, y consideraremos al plano (b) como algo parecido a una repetición de (a), formada por difracción.

Al analizar su perfil (Fig. 3.9), nos damos cuenta de la gran similitud que tiene con su contraparte simulada en (b). Los perfiles transversales difieren muy poco en tamaño (a lo más 22 % en su FWHM) y forma. De hecho, llegan a apreciarse los lóbulos señalados con flechas verdes. En cuanto a intensidad, estos perfiles difieren en menos del 6 % en sus máximos.

Los perfiles longitudinales también se encuentran en la misma escala de longitudes, aunque hay algunas diferencias significativas en su forma. El lóbulo derecho de la curva experimental presenta una deformación, probablemente formada por la incapacidad práctica del objetivo de formar un enfocamiento exactamente igual al de la teoría. No obstante, sí puede llegarse a apreciar el lóbulo al extremo de la

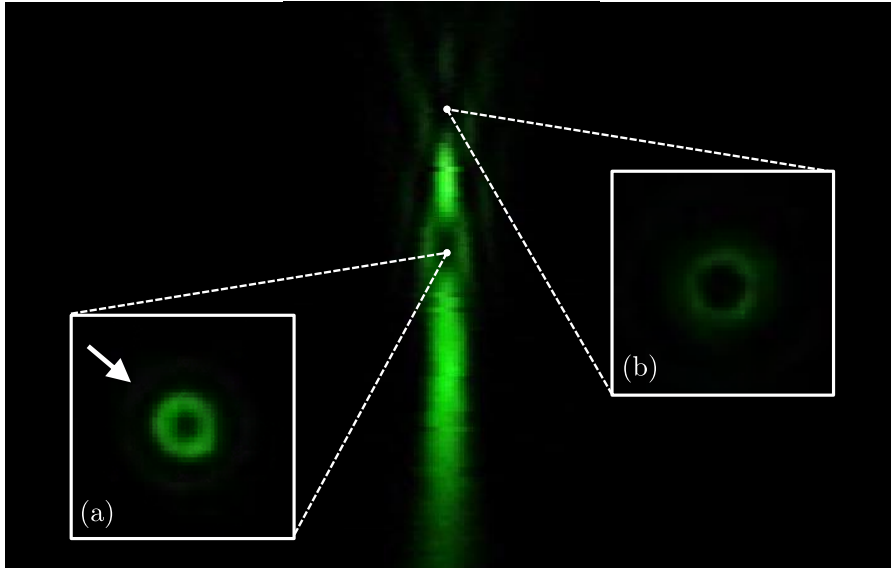


Figura 3.8: Segundo ensayo de BB. Una correcta gestión en la tolerancia del experimento al momento de visualizar y aperturar el diafragma, nos hacen confiar en (a) como el plano focal del objetivo y en (b) como una repetición.

visualización, señalado en morado, lo cual sugiere que a partir de esa distancia de separación de los objetivos yuxtapuestos, se genera imagen de forma más estable.

La Fig.3.10 muestra una comparación cualitativa de los haces botella en propagación y del plano de Fourier. El parecido de ambas perspectivas es bastante aproximado e incluso es notorio un segundo anillo en el experimento (muy débil en intensidad pero que también aparece en la simulación).

Ambas parejas de perfiles son muy parecidos tanto en tamaño, como en el valor de las intensidades relativas entre el máximo longitudinal y el máximo transversal, respectivamente. Recordando además que, desde un principio, el HB proveniente del telescopio 30× difieren en 8% con el teórico trabajado en las simulaciones. Por lo que podemos afirmar que aunque un poco engorroso en la práctica, el método de aperturas controladas propuesto es aplicable en la formación de haces botella.

Es importante mencionar que los haces botellas experimentales obtenidos están línealmente polarizados, por lo que en este experimento, la polarización parece ser un parámetro irrelevante dado el método de observación y resolución de observación, sin embargo, estos efectos no deben despreciarse en una descripción teórica.

Para finalizar este capítulo analicemos imágenes del plano de Fourier de dos diferentes ensayos (distintos a los ya presentados) de un caso optimizado y no optimizado, para el telescopio 30× y otro de 35×. El (8% ↑) al costado de las imágenes, hace referencia a que,

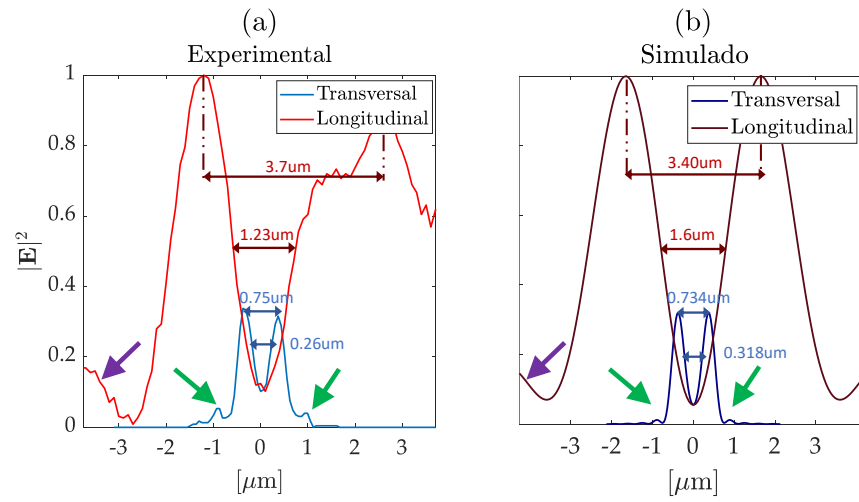


Figura 3.9: Perfiles de intensidad de los BB experimental y simulado.

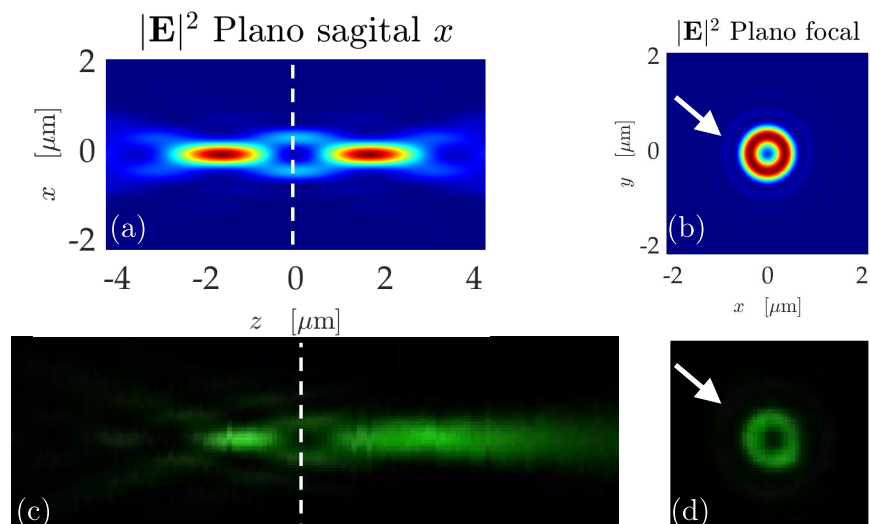


Figura 3.10: Intensidades del BB experimental y simulado. Nótese que además del parecido, el plano focal también exhibe el tenue anillo exterior de la simulación.

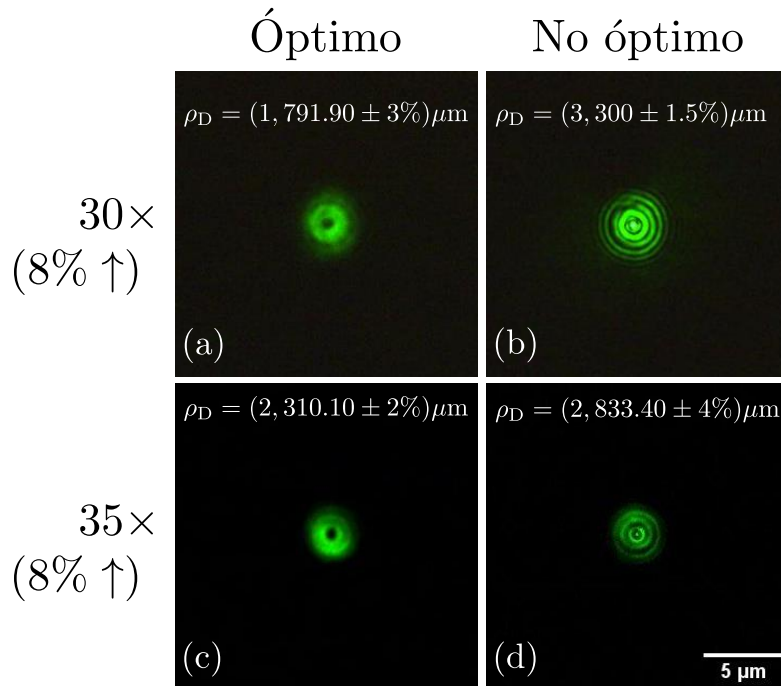


Figura 3.11: Efecto de  $\rho_D$  para dos HB. Hay gran diferencia en el campo del plano de Fourier como resultado de variar el tamaño del iris del diafragma. Nótese incluso como un ligero cambio en su tamaño (0.5mm de (c) a (d)) cambia drásticamente la forma del campo. El (8% ↑) hace referencia a que, de acuerdo en lo discutido en la subsección anterior, el telescopio compuesto magnifica un HB 8% mayor al simulado. Todas las fotografías tienen la misma escala.

de acuerdo en lo discutido en la subsección anterior, el telescopio compuesto magnifica un HB 8% mayor al simulado.

En los casos optimizados (Fig.3.11 (a) y (c)) no puede apreciarse a simple vista una diferencia en los tamaños de ambos anillos, a pesar de que el segundo proviene de un HB 5 veces mayor. Lo que sí puede apreciarse claramente es la influencia del valor de  $\rho_D$ , siendo más drástico el cambio al variar por 0.5mm este tamaño de (c) a (d) (una variación que es difícilmente controlable al aperturar usando la mano). Cuando el valor de  $\rho_D$  no es el óptimo, una estructura de anillos concéntricos a un pequeño lóbulo central claramente se manifiesta, cambiando por completo la forma de dona que se tiene en los casos optimizados. Cabe decir que los valores “no óptimos” fueron arbitrarios y se decidieron en función de notar la pérdida en la estructura de dona partiendo de los valores “óptimos”. En el caso de (b), el iris del diafragma fue totalmente abierto, por lo cual el valor reportado de  $\rho_D$  corresponde al que tiene el objetivo de microscopio que enfoca el HB.



Finalmente, otro aspecto de suma importancia a señalar y destacable de los valores de  $\rho_D$  señalados en la Fig.2.9 es que, a pesar de ser muy precisos (con errores relativos de hasta 2%), parece que no son muy exactos. Fundamentamos esta aseveración en que el valor reportado para (a) difiere en a lo menos 5%, considerando los extremos correspondientes de sus errores de medición, aún y cuando se trata del mismo haz expandido 30 veces. Esto a su vez confirma la necesidad de un método que permita saber con exactitud el valor de  $\rho_D$  sin que existan errores de paralaje al tomar fotografías o deba interferirse en el experimento. Así que, a pesar de los valores señalados en la figura, estos se orientan más a dar confianza en la existencia de posiciones del iris que favorecen o desfavorecen la estructura deseada del campo en el plano focal.

# 4

---

## DISCUSIÓN FINAL Y CONCLUSIONES GENERALES

---

A continuación señalaremos algunos puntos y comentarios con base en los resultados mostrados tanto en las simulaciones numéricas como en su contraparte experimental. Para lo primero, es posible concluir que:

1. Lograron generarse numéricamente haces botella con las mejores características posibles deseadas para una propuesta plausible de un haz de desactivación **STED**, usando un objetivo de microscopio de amplia apertura numérica y la descripción de haces fuertemente enfocados. Entre estas características se encuentran longitudes del orden de unas cuantas  $\lambda$  y una distribución homogénea de la intensidad.
2. Con la teoría de haces fuertemente enfocados fue posible describir de una manera más completa la estructura de la botella de luz, apreciando cambios interesantes en su forma dependiendo del tipo de polarización del campo incidente. Una exploración de las componentes vectoriales de este campo nos muestra el peso que cada una de ellas tiene en la estructura total de la botella y arroja nociones sobre el origen de comportamientos como elongaciones y aparición de estructuras particulares en el spot del plano focal. En este sentido, hemos encontrado adecuado el uso de polarización circular por proporcionar una estructura transversal perfectamente simétrica.
3. Al ser una teoría más completa, la teoría de haces fuertemente enfocados nos genera mayor confianza en la descripción del efecto de tamaño debido a la relación del tamaño del **HB** incidente y el tamaño de la apertura anterior del objetivo de microscopio, mientras consideramos su amplia apertura numérica.
4. Lograron generarse haces botella con características en la morfología que se asemejan a los obtenidos en simulaciones que utilizan la teoría de haces fuertemente enfocados. En cuanto a sus dimensiones, estos difieren a lo más en 23% (en el **FWHM** del perfil longitudinal) y a lo menos en 1.6% (en el tamaño pico a pico del perfil transversal). Encontramos en el script utilizado una buena herramienta para predecir resultados experimentales.

Algunos comentarios son muy importantes respecto a la parte experimental:

1. Una de las partes más relevantes en esta investigación se encuentra en el diafragma de apertura. Debe mantenerse especial cuidado en la alineación de éste y en su manejo durante el experimento (al abrirlo o cerrarlo).
2. Aunque la posición exacta del diafragma a lo largo de la propagación del HB expandido se vuelve poco relevante debido a la gran adifraccionalidad del haz, se recomienda colocarlo en un lugar en el que pueda accederse fácilmente a él, permitiendo una manipulación cómoda y el control preciso del tamaño de su iris.
3. De ser posible, se sugiere el uso de un diafragma que pueda controlarse remotamente (es decir: sin involucrar las manos en el sistema) y con precisión nominal del orden de decenas de micras.
4. Aunque el valor de  $\rho_D$  es muy relevante si quieren hacerse comparaciones entre experimento y simulación, es posible que en la práctica (*i. e.*, en alguna aplicación práctica) este valor no sea requerido y baste únicamente con: 1. Reconocer la existencia de una configuración óptima; y 2. Encontrarla. Para esto último ofrecemos la metodología experimental descrita en el 3.
5. Para una comparación más precisa entre los resultados teóricos hechos con la simulación y los vistos en el laboratorio, se recomienda hacer una caracterización previa del axicón a utilizar para generar el HB. En nuestro caso, aunque el axicón tiene un ángulo nominal de  $\gamma = 0.5^\circ$ , el haz que genera es 8% más grande que el esperado por las simulaciones. El no tener estos factores en mente, puede llevar a dificultades en la elección adecuada de las lentes usadas en el(los) telescopio(s) del arreglo y a confusiones en la interpretación de los resultados experimentales cuando se contrastan con los teóricos.
6. Atiéndase la Fig. 4.1. Aunque el FWHM del nulo de intensidad del anillo en el plano de Fourier es de aproximadamente  $0.543\mu\text{m}$ , cuando se sube la intensidad del láser, es posible reducirlo. En el caso presentado en la figura, hasta  $0.276\mu\text{m}$ . De hecho, este mecanismo recuerda a la forma operativa de STED para reducir el tamaño de la PSF con el haz de desactivación. Sin embargo, hay dos puntos muy importantes a considerar en la propuesta presentada: 1. Es menester e imprescindible realizar una optimización precisa y exacta del BB, de lo contrario, la luz espuria en su interior también escalara conforme el aumento de la intensidad del láser (como en la figura de la extrema derecha); y 2.

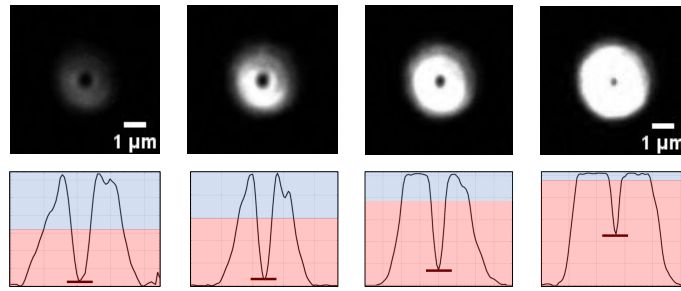


Figura 4.1: Progresión de intensidad en plano de Fourier para un telescopio  $35\times$ . La intensidad aumenta de izquierda a derecha. Nótese que cuando esta sube, el nulo de intensidad se hace más pequeño. Esto sucede porque la curva de intensidad se escala progresivamente a mayor intensidad (lo cual está representado por el desplazamiento de las zonas azul y roja a partir de la imagen izquierda). Es importante hacer la optimización más exacta posible (llegar a un nulo completamente) para que la escasa luz espuria del BB no se escale también (lo cual se indica con la línea roja sobre el mínimo de la curva).

Es cierto que con el aumento de la intensidad, el tamaño lateral del BB se reduce porque su perfil de intensidad se escala, sin embargo, su perfil de intensidad longitudinal (sobre el eje) también se escala. Aunque esta medición no se realizó en el laboratorio, no existe un argumento para pensar que ésta no se escale en la misma proporción que su homólogo transversal (o que incluso su FWHM varíe), de tal forma que al comparar ambos perfiles siempre obtendríamos algo parecido a lo mostrado en la Fig.3.9. Esto representa un problema por dos razones fundamentales:

- 1 Se tendría una PSF elíptica (elongada en dirección longitudinal).
- 2 Al existir una diferencia tan grande entre las intensidades de ambos perfiles, habría un problema con el umbral de daño en los fluoróforos a desactivar, ocasionando quizás, desactivaciones parciales (en el caso en que se desactive atendiendo a la intensidad de saturación impuesta por la curva de intensidad longitudinal del haz de desactivación) o fotoblanqueamiento (si se desactiva atendiendo la intensidad de saturación de su homólogo transversal).

Las conclusiones aquí expuestas, complementan los resultados de la investigación citada en [16] en un régimen no paraxial. Además constituyen un conjunto de resultados disponibles para su aplicación en otros ámbitos diferentes a la microscopía, como la creación de trampas ópticas para distintos usos. Sin embargo, es posible que el desempeño de este método como parte de un proceso STED sea deficiente.



# A

---

## PROGRAMAS DESARROLLADOS Y SOFTWARE UTILIZADO

---

A continuación se presenta el código fuente de los programas creados en Matlab<sup>®</sup> para hacer los experimentos simulados del Cap.2.

Todo el trabajo computacional y de edición de este trabajo se realizó en un equipo ASUS X550z con un procesador AMD A10-7400P Radeon R6 de 2.50 GHz con 10 núcleos: 4C+ 6G, y una memoria RAM de 12 GB (10.9 GB usables). Siempre se trabajó en un sistema operativo Windows 10 Home de 64 bits.

Programa A.1: besselenfocado10\_q.m

```
1 close all;
2 clear, tic, clc
3 % ::::          ENFOCAMIENTO DE UN HAZ BESSEL-GAUSS CON
4   ::::
5 % ::::          COMPONENTES DE POLARIZACION TRANSVERSAL (X, Y)
6   ::::
7 % ::::          1) el peso de las componentes 'x' y 'y' se puede regular
8   ::::
9 % ::::          2) dibuja los planos longitudinales y sagitales deseados
10  ::::
11 % ::::          (rapido y no rapido)
12  ::::
13 % ::::          3) calcula la magnificacion optima
14  ::::
15 % ::::
16 % ::::
17 % ::::
18 % ::::
19 % ::::
20 % ::::
21 % ::::
```

```
12 % :::::::::::::::::::: PARAMETROS
13 % ::::::::::::::::::::
14
15 % n      - indice de refraccion del medio circundante al objetivo
16 % lamb   - longitud de onda [um]
17 % mag_t  - magnificaci n lateral del telescopio pre-enfocamiento
18 % gamma  - angulo de axicon efectivo [rad]
19 % w0     - cintura efectiva [um]
20 % beta0  - angulo del haz bessel (onda plana-ejez) [rad]
21 % k      - magnitud del vector de onda [1/um]
```



```

79     pl_iris_D.Color = [0.5 0.2 0.5];
80     text(0.95*iris_D,0.3,'Diafragma','Rotation',90,'FontSize',14);
81     P3 = [iris_AN 0]; P4 = [iris_AN 1];
82     pl_iris_AN = plot([P3(1) P4(1)],[P3(2) P4(2)]);
83     pl_iris_AN.LineWidth = 2;
84     pl_iris_AN.Color = [0.5 0.4 0.3];
85     text(0.95*iris_AN,0.1,'Apertura num rica','Rotation',90,'FontSize'
      ,14);
86     ax = gca;
87     ax.FontName = 'Palatino Linotype';
88     ax.Title.Interpreter = 'latex';
89     ax.XLabel.Interpreter = 'latex';
90     ax.YLabel.Interpreter = 'latex';
91     ax.FontSize = 20;
92     ax.Title.String = "Bessel-Gauss anal\`itico";
93     ax.XLabel.String = '$\rho\quad\{\mu\}$';
94     axis square
95     hold off
96 end
97 %% :::::::::::::::::::::::::::: CALCULOS
98     ::::::::::::::::::::::::::::::::::::
99 % ----- Se definen los integrandos
100 % th - angulo theta
101 % rho - radio en multiplos de lambda
102 fun00 = @(th,rho,z) fw(th)...
103     .*(cos(th)).^(1/2).*sin(th).*(1+cos(th)).*besselj(0,2*pi*n*rho*sin(th)
104     )...
105     .*exp(1i*2*pi*n*z.*cos(th));
106 fun01 = @(th,rho,z) fw(th)...
107     .*(cos(th)).^(1/2).*sin(th).^2.*besselj(1,2*pi*n*rho*sin(th))...
108     .*exp(1i*2*pi*n*z.*cos(th));
109 fun02 = @(th,rho,z) fw(th)...
110     .*(cos(th)).^(1/2).*sin(th).*(1-cos(th)).*besselj(2,2*pi*n*rho*sin(th)
111     )...
112     .*exp(1i*2*pi*n*z.*cos(th));
113
114 % ----- Se definen las integrales como funciones
115 integral_00 = @(r,z) (integral( @(th) fun00(th,r,z),0,thmax_D,'
116     ArrayValued',true));
117 integral_01 = @(r,z) (integral( @(th) fun01(th,r,z),0,thmax_D,'
118     ArrayValued',true));
119 integral_02 = @(r,z) (integral( @(th) fun02(th,r,z),0,thmax_D,'
120     ArrayValued',true));
121
122 % ----- Integracion rapida del plano sagital
123 [x_s,z_s] = meshgrid(x0,z0);
124 rho_s = sqrt(x_s.^2);
125 % eje x
126 varphi_s = 0;
127 I00_s = integral_00(rho_s,z_s);
128 I01_s = integral_01(rho_s,z_s);
129 I02_s = integral_02(rho_s,z_s);
130 [int_sx,int_sx_x,int_sx_y,int_sx_z] = intensidad(I00_s,I01_s,I02_s,
131     varphi_s,polx,poly);
132 % eje y
133 varphi_s = deg2rad(90);

```



```

127 [int_sy,int_sy_x,int_sy_y,int_sy_z] = intensidad(I00_s,I01_s,I02_s,
      varphi_s,polx,poly);
128
129 % ----- Integracion rapida del plano focal
130 [x_f,y_f] = meshgrid(x0);
131 [varphi_f,rho_f] = cart2pol(x_f,y_f);
132 I00_f = integral_00(rho_f,0);
133 I01_f = integral_01(rho_f,0);
134 I02_f = integral_02(rho_f,0);
135 [int_f ,int_f_x ,int_f_y ,int_f_z] = intensidad(I00_f,I01_f,I02_f,
      varphi_f,polx,poly);
136
137 if 0
138 % ----- Integracion completa en todo el espacio
139 [x,y,z] = meshgrid(x0,x0,z0); %#ok<UNRCH>
140 [varphi,rho] = cart2pol(x,y);
141 I00 = integral_00(rho,z);
142 I01 = integral_01(rho,z);
143 I02 = integral_02(rho,z);
144 [int ,int_x ,int_y , int_z] = intensidad(I00,I01,I02,varphi,polx,poly);
145 end
146
147 %% :::::::::::::::::::::::::::: GRAFICAS
      ::::::::::::::::::::::::::::
148 % maximo en todo el espacio (del cálculo rapido)
149 load('colormap532.mat')
150 norm0 = max([max(max(int_sx)), max(max(int_sy))]);
151 cb = colorbar; cb.Limits = [0 1]; caxis([0 1]);
152
153 % ----- volumetrica
154 if 0
155     slice(x,y,z,int,[0],[0],[-3,0,3]) %#ok<NBRABK,UNRCH>
156     ax = gca;
157     ax.FontName = 'Palatino Linotype';
158     ax.Title.Interpreter = 'latex';
159     ax.XLabel.Interpreter = 'latex';
160     ax.YLabel.Interpreter = 'latex';
161     ax.ZLabel.Interpreter = 'latex';
162     ax.FontSize = 25;
163     ax.Title.String = '';
164     ax.XLabel.String = '$x/\lambda$';
165     ax.XLabel.FontSize = 20;
166     ax.YLabel.String = '$y/\lambda$';
167     ax.YLabel.FontSize = 20;
168     ax.ZLabel.String = '$z/\lambda$';
169     ax.ZLabel.FontSize = 20;
170     ax.XGrid = 'off';
171     ax.YGrid = 'off';
172     %ax.View = [90, 0];
173     cb;
174     shading interp;
175     daspect([1 1 1])
176 end
177
178 % ----- contorno de planos sagitales
179 figure()
180 [C,h] = contourf(z_s,x_s,log(int_sx),15);

```

```

181     h.LevelStep=2;
182     daspect([1 1 1])
183     ax=gca;
184     ax.FontName='Palatino Linotype';
185     ax.Title.Interpreter='latex';
186     ax.XLabel.Interpreter='latex';
187     ax.YLabel.Interpreter='latex';
188     ax.FontSize=25;
189     ax.Title.String = '$|\mathbf{E}|^2$ Plano sagital $x$';
190     ax.XLabel.String = '$z\quad[\mu\text{trm}{m}]$';
191     ax.XLabel.FontSize = 20;
192     ax.YLabel.String = '$x\quad[\mu\text{trm}{m}]$';
193     ax.YLabel.FontSize = 20;
194     ax.XGrid = 'off';
195     ax.YGrid = 'off';
196     %colorbar;
197     figure()
198     [D,h] = contourf(z_s,x_s,log(int_sy),15);
199     h.LevelStep=2;
200     daspect([1 1 1])
201     ax=gca;
202     ax.FontName='Palatino Linotype';
203     ax.Title.Interpreter='latex';
204     ax.XLabel.Interpreter='latex';
205     ax.YLabel.Interpreter='latex';
206     ax.FontSize=25;
207     ax.Title.String = '$|\mathbf{E}|^2$ Plano sagital $y$';
208     ax.XLabel.String = '$z\quad[\mu\text{trm}{m}]$';
209     ax.XLabel.FontSize = 20;
210     ax.YLabel.String = '$y\quad[\mu\text{trm}{m}]$';
211     ax.YLabel.FontSize = 20;
212     ax.XGrid = 'off';
213     ax.YGrid = 'off';
214     %colorbar;
215
216     % ----- plano sagital rapido
217     grafical('E_s','$|\mathbf{E}|^2$ Plano sagital $x$',...
218             int_sx/norm0,z_s*lamb,x_s*lamb,-inf,inf,-inf,inf,...
219             '$z\quad[\mu\text{trm}{m}]$','$x\quad[\mu\text{trm}{m}]$',$0,path,0);
220     daspect([1 1 1]), cb; % plano x-z
221     grafical('E_s','$|\mathbf{E}|^2$ Plano sagital $y$',...
222             int_sy/norm0,z_s*lamb,x_s*lamb,-inf,inf,-inf,inf,...
223             '$z\quad[\mu\text{trm}{m}]$','$y\quad[\mu\text{trm}{m}]$',$0,path,0);
224     daspect([1 1 1]), cb; % plano y-z
225
226     % ----- plano focal rapido
227     grafical('E_f','$|\mathbf{E}|^2$ Plano focal',...
228             int_f/norm0,x_f*lamb,y_f*lamb,-inf,inf,-inf,inf,...
229             '$x\quad[\mu\text{trm}{m}]$','$y\quad[\mu\text{trm}{m}]$',$0,path,0);
230     %     cb; cb.Limits = [0 1]; caxis([0 1]);
231
232     % ----- componentes del plano focal rapido
233     norm1 = max([max(max(int_f_x)), max(max(int_f_y)), max(max(int_f_z))]);
234     grafical('E_x','$|E_x|^2$',...
235             int_f_x/norm1,x_f*lamb,y_f*lamb,-inf,inf,-inf,inf,...
236             '$x\quad[\mu\text{trm}{m}]$','$y\quad[\mu\text{trm}{m}]$',$0,path,0);
237     %     cb; cb.Limits = [0 1]; caxis([0 1]);

```

```

238
239 grafical('Ey',' $|E_y|^2$ ',...
240         int_f_y/norm1,x_f*lamb,y_f*lamb,-inf,inf,-inf,inf,...
241         ' $x^{\mu}\text{trm}\{m\}$ ','$y^{\mu}\text{trm}\{m\}',0,path,0);
242 %         cb; cb.Limits = [0 1]; caxis([0 1]);
243
244 grafical('Ez',' $|E_z|^2$ ',...
245         int_f_z/norm1,x_f*lamb,y_f*lamb,-inf,inf,-inf,inf,...
246         ' $x^{\mu}\text{trm}\{m\}$ ','$y^{\mu}\text{trm}\{m\}',0,path,0);
247 %         cb; cb.Limits = [0 1]; caxis([0 1]);
248 % ----- perfiles longitudinal y transversal
249 prof_T=int_f(x0mitad,:);
250 prof_L=int_sx(:,x0mitad);
251 norm2=max([max(prof_T), max(prof_L)]);
252 figure();
253 p1 = plot(x0*lamb,prof_T/norm2);
254 p1.Color = 'Blue';
255 p1.LineWidth = 1.5;
256 hold on
257 p2 = plot(z0*lamb,prof_L/norm2);
258 p2.Color = 'Red';
259 p2.LineWidth = 1.5;
260 ax = gca;
261 ax.FontName = 'Palatino Linotype';
262 ax.Title.Interpreter='latex';
263 ax.XLabel.Interpreter='latex';
264 ax.YLabel.Interpreter='latex';
265 ax.FontSize = 20;
266 ax.Title.String = 'Perfiles de  $\mathbf{E}$ ';
267 % ax.Title.String = {[' $w_0^{\mu}\text{trm}\{eff\}$ ','CommaFormat(w0),' $\mu$ 
268 % ' $\gamma^{\mu}\text{trm}\{eff\}$ ','CommaFormat(rad2deg(gamma)),' $\gamma^{\mu}$ 
269 % [' $\rho_D$ ','CommaFormat(iris_D),' $\mu$   $\text{trm}\{pol\}$ -x$
270 % num2str(polx),'\,  $\text{trm}\{pol\}$ -y$=',num2str(poly)]};
271 ax.XLabel.String = ' $\mu\text{trm}\{m\}$ ';
272 ax.YLabel.String = ' $|\mathbf{E}|^2$ ';
273 ax.XGrid = 'off';
274 ax.YGrid = 'off';
275 ax.XLim = [-inf inf];
276 axis square
277 lgd = legend;
278 lgd.Interpreter='latex';
279 legend('Transversal','Longitudinal');
280 hold off
281 % ----- perfiles transversales
282 prof_T1=int_f(x0mitad,:);
283 prof_T2=int_f(:,x0mitad);
284 norm3=max([max(prof_T1), max(prof_T2)]);
285 figure();
286 p1 = plot(x0*lamb,prof_T1/norm3);
287 p1.Color = 'Black';
288 p1.LineWidth = 1.5;
289 p1.LineStyle='- -';
290 hold on
291 p2 = plot(x0*lamb,prof_T2/norm3);

```

```

292     p2.Color = 'Black';
293     p2.LineWidth = 1.5;
294     ax = gca;
295     ax.FontName = 'Palatino Linotype';
296     ax.Title.Interpreter='latex';
297     ax.XLabel.Interpreter='latex';
298     ax.YLabel.Interpreter='latex';
299     ax.FontSize = 20;
300     ax.Title.String = 'Perfiles de  $\mathbf{E}$  en el plano focal';
301     %   ax.Title.String = [{'\quad  $w_0^{\mathrm{eff}}$ ' , CommaFormat(w0), '\mu$'...
302     %       '\quad  $\gamma^{\mathrm{eff}}$ ' , CommaFormat(rad2deg(gamma)), '$^\circ$'...
303     %       ['\rho_D$' , CommaFormat(iris_D), '\mu$ \quad  $\mathrm{pol}$ _x$
304     %       =', ...
305     %       num2str(polx), '\,  $\mathrm{pol}$ _y$=' , num2str(poly)]];
306     ax.XLabel.String = '$[\mu\mathrm{m}]$';
307     ax.YLabel.String = '$|\mathbf{E}|^2$';
308     ax.XGrid = 'off';
309     ax.YGrid = 'off';
310     ax.XLim = [-inf inf];
311     axis square
312     lgd = legend;
313     lgd.Interpreter='latex';
314     legend("Eje  $x$   $(\varphi=0)$ ", "Eje  $y$   $(\varphi=\pi/2)$ ");
315     hold off
316 %%
317 time = toc;
318 toc

```

## A.1 OTRO SOFTWARE USADO

Para la posterior edición de cada imagen presentada y la creación y composición de varias figuras, fueron utilizados los programas: Adobe Illustrator CC 2017, Adobe Photoshop CS6 e ImageJ 1.8.0.

Debido a la calidad de gráficos vectoriales y de mapa de bits obtenidos, fue necesario comprimir cada figura para evitar un exceso en el tamaño de este documento. Para ello fue utilizada la herramienta en línea Compress JPEG, disponible en <https://compressjpeg.com/>.



---

## BIBLIOGRAFÍA

---

- [1] Andrew Forbes, Michael de Oliveira y Mark R. Dennis. "Structured light". En: *Nature Photonics* 15.4 (2021), págs. 253-262. ISSN: 1749-4893. DOI: [10.1038/s41566-021-00780-4](https://doi.org/10.1038/s41566-021-00780-4). URL: <https://doi.org/10.1038/s41566-021-00780-4>.
- [2] Stefan W. Hell y Jan Wichmann. "Breaking the diffraction resolution limit by stimulated emission: stimulated-emission-depletion fluorescence microscopy". En: *Opt. Lett.* 19.11 (1994), págs. 780-782. DOI: [10.1364/OL.19.000780](https://doi.org/10.1364/OL.19.000780). URL: <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-19-11-780>.
- [3] Thomas A. Klar y Stefan W. Hell. "Subdiffraction resolution in far-field fluorescence microscopy". En: *Opt. Lett.* 24.14 (1999), págs. 954-956. DOI: [10.1364/OL.24.000954](https://doi.org/10.1364/OL.24.000954). URL: <http://ol.osa.org/abstract.cfm?URI=ol-24-14-954>.
- [4] Christian Osseforth et al. "Simultaneous dual-color 3D STED microscopy". En: *Optics Express* 22.66 (2014), págs. 7028-7039.
- [5] Yi Xue y Peter T. C. So. "Three-dimensional super-resolution high-throughput imaging by structured illumination STED microscopy". En: *Opt. Express* 26.16 (2018), págs. 20920-20928. DOI: [10.1364/OE.26.020920](https://doi.org/10.1364/OE.26.020920). URL: <http://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-26-16-20920>.
- [6] Wentao Yu, Ziheng Ji, Dashan Dong, Xusan Yang, Yunfeng Xiao, Qihuang Gong, Peng Xi y Kebin Shi. "Super-resolution deep imaging with hollow Bessel beam STED microscopy". En: *Laser & Photonics Reviews* 10.1 (2016), págs. 147-152. DOI: <https://doi.org/10.1002/lpor.201500151>. eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/lpor.201500151>. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/lpor.201500151>.
- [7] Yanghui Li, Hui Zhou, Xiaoyu Liu, Yuxue Li y Le Wang. "Effects of aberrations on effective point spread function in STED microscopy". En: *Appl. Opt.* 57.15 (2018), págs. 4164-4170. DOI: [10.1364/AO.57.004164](https://doi.org/10.1364/AO.57.004164). URL: <http://opg.optica.org/ao/abstract.cfm?URI=ao-57-15-4164>.
- [8] Jacopo Antonello, Emil B. Kromann, Daniel Burke, Joerg Bewersdorf y Martin J. Booth. "Coma aberrations in combined two- and three-dimensional STED nanoscopy". En: *Opt. Lett.* 41.15 (2016), págs. 3631-3634. DOI: [10.1364/OL.41.003631](https://doi.org/10.1364/OL.41.003631). URL: <http://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-41-15-3631>.

- [9] Brian R. Patton, Daniel Burke, David Oswald, Travis J. Gould, Joerg Bewersdorf y Martin J. Booth. "Three-dimensional STED microscopy of aberrating tissue using dual adaptive optics". En: *Opt. Express* 24.8 (2016), págs. 8862-8876. DOI: [10.1364/OE.24.008862](https://doi.org/10.1364/OE.24.008862). URL: <http://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-24-8-8862>.
- [10] Piotr Zdankowski, David McGloin y Jason R. Swedlow. "Full volume super-resolution imaging of thick mitotic spindle using 3D AO STED microscope". En: *Biomed. Opt. Express* 10.4 (2019), págs. 1999-2009. DOI: [10.1364/BOE.10.001999](https://doi.org/10.1364/BOE.10.001999). URL: <http://opg.optica.org/boe/abstract.cfm?URI=boe-10-4-1999>.
- [11] J. Arlt y M. J. Padgett. "Generation of a beam with a dark focus surrounded by regions of higher intensity: the optical bottle beam". En: *Opt Lett* 25.4 (2000), págs. 191-193.
- [12] Li Li, Woei Ming Lee, Xiangsheng Xie, Wieslaw Krolikowski, Andrei V. Rode y Jianying Zhou. "Shaping self-imaging bottle beams with modified quasi-Bessel beams". En: *Opt. Lett.* 39.8 (2014), págs. 2278-2281. DOI: [10.1364/OL.39.002278](https://doi.org/10.1364/OL.39.002278). URL: <http://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-39-8-2278>.
- [13] Xianlin Song, Jianshuang Wei, Ao Teng y Aojie Zhao. "Controllable axial optical chain beams using a holographic method". En: *Opt. Express* 29.11 (2021), págs. 17304-17315. DOI: [10.1364/OE.421852](https://doi.org/10.1364/OE.421852). URL: <http://opg.optica.org/oe/abstract.cfm?URI=oe-29-11-17304>.
- [14] Huapeng Ye, Chao Wan, Kun Huang, Tiancheng Han, Jinghua Teng, Yeo Swee Ping y Cheng-Wei Qiu. "Creation of vectorial bottle-hollow beam using radially or azimuthally polarized light". En: *Opt. Lett.* 39.3 (2014), págs. 630-633. DOI: [10.1364/OL.39.000630](https://doi.org/10.1364/OL.39.000630). URL: <http://opg.optica.org/ol/abstract.cfm?URI=ol-39-3-630>.
- [15] A. P. Porfirev y R. V. Skidanov. "Generation of an array of optical bottle beams using a superposition of Bessel beams". En: *Appl. Opt.* 52.25 (2013), págs. 6230-6238. DOI: [10.1364/AO.52.006230](https://doi.org/10.1364/AO.52.006230). URL: <http://opg.optica.org/ao/abstract.cfm?URI=ao-52-25-6230>.
- [16] Reynaldo J. Ortíz. "Caracterización de un haz Bessel enfocado para la aplicación a microscopía STED 3D". Ciudad de México, México, 2019.
- [17] Mats G. L. Gustafsson et al. *Introduction to Superresolution Microscopy*. [Web; accedido en Enero 2019]. URL: <http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/superresolution/introduction.html>.
- [18] Stefan W. Hell. "Far-Field Optical Nanoscopy". En: *Science* 316.5828 (2007), págs. 1153-1158.

- [19] Andrés Arroyo-Pieck y Jorge Peón. "Premio Nobel de Química 2014 Microscopía de fluorescencia con super-resolución". En: *Educación Química* 26 (2015), págs. 50-51.
- [20] The Nobel Prize. *All Nobel Prizes in Chemistry*. [Web; accedido en Agosto 2022]. URL: <https://www.nobelprize.org/prizes/lists/all-nobel-prizes-in-chemistry/>.
- [21] R. Schmidt, C. A. Wurm, S. Jakobs, J. Engelhardt, A. Egner y S. W. Hell. "Spherical nanosized focal spot unravels the interior of cells". En: *Nat Methods* 5.6 (2008), págs. 539-544.
- [22] R. Schmidt, C. A. Wurm, A. Punge, A. Egner, S. Jakobs y S. W. Hell. "Mitochondrial cristae revealed with focused light". En: *Nano Lett* 9.6 (2009), págs. 2508-2510.
- [23] Pravin Vaity y Rusch Leslie. "Perfect vortex beam: Fourier transformation of a Bessel beam". En: *Optic Letters* 40.4 (2015), págs. 597-600.
- [24] Zhongsheng Zhai, Zhuang Cheng, Qinghua Lv y Xuanze Wang. "Tunable Axicons Generated by Spatial Light Modulator with High-Level Phase Computer-Generated Holograms". En: *Applied Sciences* 10.15 (2020). ISSN: 2076-3417. DOI: [10.3390/app1015127](https://doi.org/10.3390/app1015127). URL: <https://www.mdpi.com/2076-3417/10/15/5127>.
- [25] Novotny Lukas y Hecht Bert. *Principles of Nano Optics*. 1.<sup>a</sup> ed. Reino Unido: Cambridge University Press, 2006.
- [26] Leonard Mandel y Emil Wolf. "Optical Coherence and Quantum Optics". En: 1995.
- [27] E. Wolf y Dennis Gabor. "Electromagnetic diffraction in optical systems - I. An integral representation of the image field". En: *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences* 253.1274 (1959), págs. 349-357. DOI: [10.1098/rspa.1959.0199](https://doi.org/10.1098/rspa.1959.0199). eprint: <https://royalsocietypublishing.org/doi/pdf/10.1098/rspa.1959.0199>. URL: <https://royalsocietypublishing.org/doi/abs/10.1098/rspa.1959.0199>.
- [28] E. Wolf y Dennis Gabor. "Electromagnetic diffraction in optical systems - I. An integral representation of the image field". En: *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences* 253.1274 (1959), págs. 349-357. DOI: [10.1098/rspa.1959.0199](https://doi.org/10.1098/rspa.1959.0199). eprint: <https://royalsocietypublishing.org/doi/pdf/10.1098/rspa.1959.0199>. URL: <https://royalsocietypublishing.org/doi/abs/10.1098/rspa.1959.0199>.



- [29] F. Gori, G. Guattari y C. Padovani. "Bessel-Gauss beams". En: *Optics Communications* 64.6 (1987), págs. 491-495. ISSN: 0030-4018. DOI: [https://doi.org/10.1016/0030-4018\(87\)90276-8](https://doi.org/10.1016/0030-4018(87)90276-8). URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0030401887902768>.
- [30] I. S. Gradshteyn e I. M. Ryzhik. *Table of Integrals, Series, and Products*. 7.<sup>a</sup> ed. EUA: Elsevier, 2007.
- [31] George B. Arfken y Hans J. Weber. *Mathematical Methods for Physicists*. 5.<sup>a</sup> ed. EUA: Elsevier Academic Press, 2005.
- [32] Zeiss®. *Objective EC "Plan-Neofluar" 63x/1.25 Oil*. [Web; accedido en Agosto 2022]. URL: <https://www.micro-shop.zeiss.com/en/us/shop/objectives/440460-9904-000/Objective-EC-Plan-Neofluar-63x-1.25-Oil#>.
- [33] THORLABS<sup>®</sup>. *Resolution Test Targets*. [Web; accedido en Junio 2019]. URL: [https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup\\_id=4338s](https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup_id=4338s).