



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

Caracterización de un haz Bessel enfocado para la  
aplicación a microscopía STED 3D

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Físico

PRESENTA:

Reynaldo Juan Ortíz Guerrero

TUTORA

Dra. Karen Patricia Volke Sepúlveda



Ciudad Universitaria, CDMX, México

Agosto 2019



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  
Facultad de Ciencias  
Física  
310215091

2. DATOS DEL TUTOR

Dra.  
Karen Patricia  
Volke Sepúlveda

3. DATOS DEL SINODAL 1

Dr.  
Crescencio  
García Segundo

4. DATOS DEL SINODAL 2

Dr.  
Victor Manuel  
Velázquez Aguilar

5. DATOS DEL SINODAL 3

Dr.  
Alejandro  
Vásquez Arzola

6. DATOS DEL SINODAL 4

Dr.  
Jorge  
Peón Peralta

7. DATOS DEL TRABAJO ESCRITO

Caracterización de un haz Bessel enfocado para la aplicación a microscopía STED 3D  
145P  
2019

Reynaldo Juan Ortíz Guerrero: *Caracterización de un haz Bessel enfocado para la aplicación a microscopía STED 3D* , © Agosto 2019

Para mis papás,  
que han dado todo por mis hermanos y por mí.

Para mí,  
que también intento darlo todo.



*Nuestras ideas deben ser tan amplias como  
la naturaleza si aspiran a interpretarla.*

— Arthur Conan Doyle [12]

## AGRADECIMIENTOS

---

Quiero agradecer en primer lugar a mis padres: Carmelita Guerrero Jiménez y Reynaldo Juan Ortíz Rodríguez. Personas a quienes amo, admiro y que me inspiran. Sin su apoyo y dedicación dados a lo largo de toda mi vida, es muy probable que muchos de los éxitos obtenidos en todos estos años no hubieran sido posibles.

Me encuentro muy agradecido con la Dra. Karen Patricia Volke Sepúlveda, por su invaluable supervisión en el desarrollo de este trabajo, sus críticas, gran apoyo, inestimable confianza, y por concederme tiempo y espacio para conocerla. Encuentro en ella a una persona admirable, un modelo a seguir, y una gran amiga a la que estimo mucho. Gracias, Karen.

Agradezco también a cada uno de mis sinodales por tomarse el tiempo de participar evaluando esta investigación. Asimismo, al Dr. Pablo Loza Álvarez, quien junto con la Dra. Karen idearon el inicio de este proyecto.

Sin duda, haber conocido y colaborado en el grupo de Micromanipulación Óptica del Instituto de Física de la UNAM, fue un parteaguas en mi formación profesional. Realmente agradezco formar parte de él. Las actividades realizadas, ideas y miembros ayudaron a darme una perspectiva mayor y mejor no solo de una vida profesional, sino personal. De cada una de las personas a las que he conocido durante mi estancia en él he logrado aprender algo. En particular, quiero agradecer al Dr. Alejandro Vásquez Arzola, la Dra. Argelia Balbuena Ortega y al M. en C. Hernando Magallanes González por sus consejos y compañía en el trabajo de laboratorio.

A lo largo de todo mi formación educativa y personal, siempre estuve rodeado de personas que hicieron más agradable este recorrido. Agradezco a mi abuelito, el cuál sigue apoyándonos a mis hermanos y a mí para alcanzar nuestros objetivos; a mis hermanos, Katy y Angel, por su compañía, motivación e inspiración; a Stephanie Zaráid por constituir la singularidad que me ha hecho ser y ver cosas que antes no podía; a todos mis amigos, particularmente a los chavales: Erick, Elias, Hacker (Gustavo) y Trumbley, por alguna vez encontrarme y por las estimulantes conversaciones de tantos temas que en más de una ocasión motivaron y afianzaron mi curiosidad por muchas cosas; y a Lou y Xadani, cuya amistad y actitud en los retos de la licenciatura me motivó tantas veces a dar siempre más.

Finalmente, pero no menos importante, agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por recibirme como su estudiante, a la Facultad de Ciencias, al Instituto de Física, en cuyas instalaciones tuvo desarrollo esta investigación y a los proyectos PAPIIT IN113419 e IN114517. Al CONACyT por concederme un estímulo económico, como ayudante de investigador durante mi estancia en el grupo de trabajo y a cada uno de los cerca de 100 profesores que compartieron algo de lo que saben conmigo durante mi educación formal.

## ÍNDICE GENERAL

---

INTRODUCCIÓN	1
<b>I PRELIMINARES TEÓRICOS</b>	
1 CONCEPTOS BÁSICOS	7
1.1 Microscopía óptica	7
1.1.1 Apertura numérica	8
1.1.2 Límite de difracción de Abbe y resolución	8
1.1.3 Función de dispersión de punto	9
1.2 Microscopía de fluorescencia	12
1.2.1 Fluorescencia y fluoróforos	12
1.2.2 Espectro de absorción, excitación y emisión	15
1.2.3 Tiempo de vida de fluorescencia y atenuación	16
1.2.4 Microscopios de fluorescencia	17
1.3 Microscopía óptica de súper-resolución	20
1.3.1 Técnicas de súper-resolución lateral	21
1.3.1.1 STED 2D	23
1.3.2 Súper-resolución axial	26
1.3.2.1 STED 3D	27
2 HACES BESSEL	29
2.1 Preliminares	29
2.1.1 La ecuación de onda	29
2.1.2 Aproximación paraxial de la ecuación de onda	31
2.2 El haz Bessel ideal	33
2.2.1 Campos Ópticos Invariantes en Propagación	33
2.2.2 Propagación de campos ópticos	36
2.2.3 Transformada de Fourier de un haz Bessel	38
2.3 Métodos de generación experimental	40
<b>II SIMULACIONES NUMÉRICAS</b>	
3 ANÁLISIS DEL CAMPO PRODUCIDO POR UN HAZ BESSEL ENFOCADO	47
3.1 Parámetros de control	47
3.2 Caracterización del campo producido en función de los parámetros de control	49
3.2.1 Caracterización lateral	50
3.2.2 Caracterización axial	53
3.3 Posición de la lente de enfoque	55
4 SISTEMA DE AXICIÓN Y TELESCOPIO	61
4.1 Magnificación de un haz Bessel por un telescopio	61
4.1.1 Magnificación axial del haz Bessel	64
4.2 Comparación con un sistema equivalente	68
4.3 Diafragma de apertura: una botella de luz optimizada	73

**III TRABAJO EXPERIMENTAL**

5	GENERACIÓN Y CARACTERIZACIÓN EXPERIMENTAL DEL HAZ BESEL ENFOCADO	87
5.1	Montaje y metodología experimental . . . . .	87
5.2	Caracterización de los haces Bessel . . . . .	90
5.3	Haz enfocado . . . . .	94

**IV CONCLUSIONES**

6	DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES	101
A	PROGRAMAS DESARROLLADOS Y SOFTWARE UTILIZADO	105
A.1	Simulaciones . . . . .	105
A.2	Experimentos . . . . .	122
A.3	Otro software usado . . . . .	125

	BIBLIOGRAFÍA	127
--	--------------	-----

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1	Concepto de apertura numérica . . . . .	8
Figura 1.2	Concepto de resolución . . . . .	10
Figura 1.3	Función de punto extendido . . . . .	11
Figura 1.4	Función de transferencia . . . . .	13
Figura 1.5	Diagrama de Jablonski para la fluorescencia . . . . .	14
Figura 1.6	Diagrama de energía para una transición fluorescente . . . . .	15
Figura 1.7	Banda de absorción, espectro de emisión y excitación de un fluoróforo . . . . .	16
Figura 1.8	Sistema de epi-iluminación . . . . .	19
Figura 1.9	Comparación de resoluciones alcanzadas y tamaños de imagen creados por diferentes técnicas de microscopía . . . . .	21
Figura 1.10	Concepto de microscopía STED . . . . .	24
Figura 1.11	PSF efectiva de la microscopía STED . . . . .	25
Figura 1.12	STED 3D . . . . .	28
Figura 2.1	Onda paraxial . . . . .	32
Figura 2.2	Modos $TEM_{nm}$ y $TEM_{pl}^*$ . . . . .	33
Figura 2.3	Esfera de McCutchen . . . . .	35
Figura 2.4	Variaciones transversales de tres haces Bessel . . . . .	37
Figura 2.5	Sistema de referencia para la propagación de Fresnel . . . . .	38
Figura 2.6	Configuración experimental para generar un haz Bessel mediante un anillo delgado. . . . .	41
Figura 2.7	Configuración experimental para generar un haz Bessel mediante un axicón . . . . .	42
Figura 3.1	Sistema óptico para generar un haz Bessel y enfocarlo . . . . .	48
Figura 3.2	Diagrama del haz Bessel enfocado . . . . .	50
Figura 3.3	Simulaciones de la distribución de intensidad de la botella de luz al variar $\gamma$ . . . . .	51
Figura 3.4	Simulaciones de la distribución de intensidad de la botella de luz al variar $w_G$ . . . . .	52
Figura 3.5	Comparación de intensidades en el plano de Fourier del objetivo para diferentes valores de $w_G$ . . . . .	53
Figura 3.6	Comparación de intensidades en el plano de Fourier del objetivo para diferentes valores de $\gamma$ . . . . .	54
Figura 3.7	Comparación de intensidades en el eje axial del haz enfocado para diferentes valores de $\gamma$ . . . . .	55

Figura 3.8	Comparación de intensidades en el eje axial del haz enfocado para diferentes valores de $w_G$ . . .	56
Figura 3.9	Regiones de formación HB para diferentes $\gamma$ .	57
Figura 3.10	Simulaciones de la distribución de intensidad de la botella de luz al variar la posición de la lente de enfoque, $z_{obj}$ . . . . .	59
Figura 4.1	Variación del ancho del haz Bessel en función del tamaño del ángulo interno del axicón: $\rho_B$ vs $\gamma$	62
Figura 4.2	Sistema óptico para generar un haz Bessel, ensancharlo y enfocararlo . . . . .	62
Figura 4.3	Ilustración de la propagación del HB a través de un telescopio . . . . .	63
Figura 4.4	Perfiles axiales de intensidad a la salida del telescopio variando $d_{L1}$ . . . . .	65
Figura 4.5	Perfil de intensidad axial posterior al telescopio de magnificación $m_L$ variando $f_1$ y $f_2$ . . . . .	66
Figura 4.6	Comparación de perfiles axiales de intensidad posteriores al telescopio, para diferentes $d_{L1}$ , con el perfil anterior . . . . .	66
Figura 4.7	Magnificación axial en función de la posición de primera lente del telescopio: $m_A$ vs $d_{L1}$ . .	67
Figura 4.8	Comportamiento de $m_A$ para el caso particular de $\gamma = 0.5^\circ$ con $d_{L1} = 0.88z_{max}$ . . . . .	68
Figura 4.9	Ancho de Bessel en función del ángulo interno del axicón: $w_B$ vs $\gamma$ , correspondencia de una $m_L$ para cada valor de $\gamma$ . . . . .	69
Figura 4.10	Comparación de perfiles de intensidad axial anterior y posterior para un sistema de ángulo interno de axicón $\gamma^{eff}$ y un sistema con telescopio	71
Figura 4.11	Comparación de curvas de intensidad axial de un sistema de axicón-telescopio y un sistema equivalente con $\gamma^{eff}$ . . . . .	72
Figura 4.12	Comparación de curvas de intensidad axial de un sistema de axicón-telescopio y un sistema equivalente con $\gamma^{eff}$ y $w_G^{eff}$ . . . . .	74
Figura 4.13	Sistema óptico para generar un haz Bessel y enfocararlo, equivalente a un sistema de axicón-telescopio . . . . .	75
Figura 4.14	Haces Bessel enfocados en el sistema equivalente al sistema axicón-telescopio, con diafragma aperturado hasta el tercer mínimo del HB . . .	77
Figura 4.15	Perfiles de intensidad lateral y axial del sistema equivalente, aperturado hasta el tercer mínimo del HB . . . . .	78

Figura 4.16	Haces Bessel enfocados en el sistema equivalente al sistema axicón-telescopio, con diafragma aperturado más allá del tercer mínimo del HB	79
Figura 4.17	Perfiles de intensidad lateral y axial del sistema equivalente, aperturado más allá del tercer mínimo del HB	80
Figura 4.18	Comparación de la amplitud de $\rho J_0(k_t \rho)$ con $\rho J_1(k_t \rho)$	83
Figura 5.1	Esquema del sistema óptico experimental para generar un haz Bessel, ensancharlo y enfocarlo	87
Figura 5.2	Sistema experimental	89
Figura 5.3	Rejilla de Ronchi usada para medir distancias laterales	90
Figura 5.4	Haz Bessel generado con el axicón	92
Figura 5.5	Haz Bessel generado con el axicón y magnificado	93
Figura 5.6	Referencias para la extensión axial del HB enfocado	95
Figura 5.7	Perfiles de intensidad lateral y axial experimentales del HB enfocado	96
Figura 5.8	PSF experimental	97

## ÍNDICE DE TABLAS

---

Tabla 3.1	Parámetros de control en el sistema simulado del axicón	48
Tabla 3.2	Cantidades características del haz Bessel enfocado en el sistema del axicón	49
Tabla 4.1	Parámetros de control en el sistema simulado del axicón con telescopio	63
Tabla 4.2	Parámetros de control en el sistema simulado equivalente al sistema axicón-telescopio, con diafragma	76
Tabla 4.3	Parámetros de control y cantidades características del HB enfocado en el sistema equivalente al sistema axicón-telescopio, aperturado hasta el tercer mínimo del HB	81
Tabla 4.4	Parámetros de control y cantidades características del Haz Bessel (HB) enfocado en el sistema simulado equivalente al sistema axicón-telescopio, aperturado más allá del tercer mínimo del HB	82
Tabla 5.1	Dimensiones del haz Bessel enfocado experimental	97

## LISTA DE PROGRAMAS

---

Programa A.1	principal21.m . . . . .	105
Programa A.2	propagacion.m . . . . .	115
Programa A.3	axicon.m . . . . .	116
Programa A.4	lente.m . . . . .	116
Programa A.5	condiciones.m . . . . .	116
Programa A.6	findB.m . . . . .	117
Programa A.7	findD.m . . . . .	118
Programa A.8	propTF.m . . . . .	118
Programa A.9	indice.m . . . . .	119
Programa A.10	grafica1.m . . . . .	119
Programa A.11	grafica2.m . . . . .	121
Programa A.12	crop.m . . . . .	122
Programa A.13	perfiles3.m . . . . .	122

## ACRÓNIMOS

---

MO	Microscopía Óptica
TEM	Microscopía Electrónica de Transmisión
SEM	Microscopía Electrónica de Barrido
SPM	Microscopía de Barrido con Sonda
AN	Apertura Numérica
PSF	Función de Dispersión de Punto
OTF	Función de Transferencia
FWHM	Ancho Entero a la Mitad del Máximo
SRO	Súper Resolución Óptica
PET	Termografía por Emisión de Positrones
MRI	Imagen por Resonancia Magnética
OCT	Tomografía de Coherencia Óptica
PALM	Microscopía de Localización por Foto-Activación
STORM	Microscopía por Reconstrucción Óptica Estocástica

I <sup>m</sup> M	Microscopía de Interferencia de Imagen
SR-SIM	Microscopía de Súper-Resolución por Iluminación Estructurada
NSOM	Microscopía Óptica de Campo Cercano
LMI	Microscopía de Localización de Moléculas Individuales
RESOLFT	Transiciones de Fluorescencia Óptica Saturables y Reversibles
GSD	Microscopía de Desactivación al Estado Base
SSIM	Microscopía de Iluminación Saturada Estructurada
STED	Microscopía de Desactivación por Emisión Estimulada
DH-PSF	Microscopía de PSF de doble Hélice
4Pi	Microscopía 4Pi
HB	Haz Bessel
HG	Haz Gaussiano
TEM <sub>n,m</sub>	Modos Transversal Eléctrico y Magnético
COIPs	Campos Ópticos Invariantes en Propagación
SLM	Modulador Espacial de Luz



## INTRODUCCIÓN

---

La *óptica* es la rama de la física que estudia el comportamiento y las propiedades de la luz, incluyendo su interacción con la materia y la construcción de instrumentos y dispositivos que la utilizan y detectan [32].

Quizás el dispositivo óptico más importante desarrollado en el último siglo sea el láser. Desde su llegada en los años 60, ya sea dentro o fuera de la comunidad científica, ha dado el estímulo suficiente para hacer de la óptica uno de los campos de más rápido desarrollo en el campo de la ciencia y la tecnología [38]. El uso de este dispositivo ha facilitado el estudio de modos de propagación de la luz a los que no puede accederse en la naturaleza, como es el caso de los *vórtices ópticos*.

Para comprender qué son estos últimos, basta señalar que un campo óptico puede ser descrito con base en sus tres características fundamentales: su intensidad, fase y estado de polarización. Si una o más de estas características presenta una variación espacial y/o temporal, se habla de un haz de *luz estructurada*.

Un vórtice óptico es un tipo de luz estructurada, en la cual el tren de ondas electromagnéticas que describe su campo sufre una dislocación o singularidad de fase que provoca un punto de intensidad cero en su centro [35]. Esta dislocación hace que la distribución espacial de fase alrededor de ella varíe, causando que los frentes de onda asociados adopten formas helicoidales y dotando al haz de propiedades como momento angular y un flujo transversal de energía [9, 10]. Dicha variación es cuantificada por un número llamado *carga topológica*. La descripción de la topología de los vórtices ópticos constituye el objeto de estudio de la *óptica singular*.

Actualmente se han identificado una gran cantidad de modos estables de propagación con diferente estructura y con propiedades distintivas de acuerdo a su estructura y geometría. Son ejemplos de ellos la onda plana, los haces Laguerre-Gaussianos [3], los Hermite-Gaussianos, los haces Mathieu [21], los Weber [8] y el Haz Bessel (HB) [14].

Existe una variedad de técnicas para poder generar haces estructurados, algunas de las cuales optimizan más que otras ciertas características funcionales, como por ejemplo, la eficiencia energética. Estas técnicas incluyen el uso de pantallas con cierta geometría [14], lentes cónicas (axicones) [13-15], placas espirales de fase, técnicas holográficas y moduladores espaciales de luz [37].

También existe una gran cantidad de investigaciones centradas en las aplicaciones de los vórtices ópticos, que abarcan campos como la

generación de imágenes, la óptica cuántica [34], la micromanipulación óptica [53] y la microscopía [16, 30].

Particularmente, la microscopía se ha beneficiado del uso de luz estructurada. Hace algunos años, este campo se enfrentaba a una importante limitante debida a la naturaleza ondulatoria de la luz. La imposibilidad de discernir dos puntos que se encuentran muy próximos entre sí quedaba señalada por la condición de Abbe, la cual depende tanto de la Apertura Numérica (AN) del objetivo como de la longitud de onda utilizada. Fue hasta 1994 cuando Stefan W. Hell y Jan Wichmann idearon la manera de vencer este límite, dando origen a lo que hoy en día es conocida como *microscopía óptica de súper-resolución*. Fue con su trabajo que se sentaron las bases de la Microscopía de Desactivación por Emisión Estimulada (STED por sus siglas en inglés) [24]. Por su utilidad en ciencias biológicas, ésta se ha convertido en una de las técnicas actuales más poderosas de la microscopía óptica de súper resolución espacial.

Su principio de funcionamiento 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 (como vórtices ópticos y haces similares a los Laguerre-Gaussianos, generados a partir de mascarillas y placas espirales de fase) llamado *haz STED*.

La principal característica del haz STED es su estructura, la cual consiste en una distribución de intensidad circular con una región nula en el centro. Esta 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 STED, se basa en la obtención de una Función de Dispersión de Punto (PSF por sus siglas en inglés) efectiva, haciendo que la resolución dependa unicamente 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. La idea fue demostrada experimentalmente por primera vez por Hell y Thomas Klar en 1999 [28]. Más tarde, Hell junto con Eric Betzig y William E. Moerner fueron galardonados con el premio Nobel de química en 2014 por el desarrollo de la microscopía óptica de fluorescencia de súper resolución [41].

Cabe aclarar que STED fue diseñada en un origen como una técnica de súper resolución lateral (*i. e.* en dos dimensiones). Se han sugerido modelos para su extensión a 3D utilizando dos sistemas del mismo tipo acoplados [36]: uno encargado de obtener la imagen en el plano lateral y otro para obtenerla en el plano axial. La consecución de este propósito conlleva un sistema complejo, por lo que es de especial interés implementar un sistema más sencillo y con el cuál pueda obtenerse

el mismo resultado pero con un sólo haz [STED](#). Esta posibilidad es la motivación de esta tesis.

Se pretende aprovechar las características de la distribución de intensidad de un [HB](#) generado con un axicón y enfocado con un objetivo de microscopio. Es conocido que este tipo de haces se enfocan en un anillo. Por otra parte, conforme se hace una exploración en posiciones anteriores y posteriores a éste, se encuentra una distribución de intensidad que pareciera ir cerrándolo. Esto es, el haz enfocado posee una estructura de intensidad tal que en su conjunto, puede ser descrita como una superficie de luz que rodea una región de intensidad nula. Dicha *botella de luz* pudiera ser de utilidad en algunas aplicaciones, entre las que pudiera destacar, un haz de desactivación [STED](#).

En vista de lo anterior, el objetivo general del trabajo es

Realizar un estudio teórico a través de simulaciones, y experimental, en el que se investigue la estructura de un [HB](#) enfocado.

Particularmente:

Serán caracterizadas las dimensiones laterales y axiales del haz enfocado en función de los parámetros de control del sistema propuesto.

Se investigará la posibilidad de optimizar el campo generado en aras de una posible aplicación a la microscopía [STED](#) 3D.

Se corroborarán los resultados obtenidos en las simulaciones con el experimento.

Esta investigación se encuentra dividida en tres partes. La parte [i](#) es una revisión bibliográfica cuidadosa de conceptos básicos de microscopía óptica, de fluorescencia y de súper resolución (capítulo [1](#)). También se abunda en la naturaleza y generación de la luz estructurada utilizada en la investigación: el [HB](#) (capítulo [2](#)).

En la parte [ii](#) se desarrolla el trabajo de las simulaciones. Los dos capítulos que la componen presentan de manera inductiva el proceso que lleva a la identificación de los *parámetros de control* del sistema, a la elección apropiada de sus valores para la optimización del campo y a la de un sistema óptico conveniente para su estudio computacional y experimental.

En las simulaciones se utilizarán herramientas numéricas de óptica de Fourier y propagación de Fresnel, por lo tanto, no se puede acceder a valores numéricos de resolución cercanos a los requeridos en [STED](#), pero permiten analizar los aspectos importantes en la búsqueda de un campo optimizado.

Finalmente, la parte [iii](#) muestra los resultados experimentales de enfocar un [HB](#) a la luz de los resultados de la parte [ii](#).



## Parte I

### PRELIMINARES TEÓRICOS

El contenido de los capítulos de esta sección es necesario para plantear el contexto y desarrollo los objetivos de esta tesis. El primero de ellos trata los temas del ámbito de la microscopía; el segundo explica la naturaleza de la luz utilizada en el trabajo.



## CONCEPTOS BÁSICOS

---

Desde que la disciplina de la microscopía comenzó a desarrollarse, se ha recreado a sí misma, diversificándose en una gran cantidad de técnicas diferentes adaptadas a un propósito en particular, y cuyo principio de funcionamiento recae en aprovechar distintos fenómenos físicos. Sin embargo, cada una de éstas comparten el mismo objetivo: observar áreas u objetos que no pueden ser vistos en el rango de resolución de un ojo humano.

En este capítulo se abordarán conceptos básicos de microscopía y el funcionamiento general de las técnicas que utilizan el fenómeno de fluorescencia, sobre el cual se basa la microscopía óptica de alta resolución. Se enfatizará el desarrollo y funcionamiento de la microscopía **STED**, y finalmente serán presentadas otros tipos de microscopía óptica de súper-resolución.

### 1.1 MICROSCOPIA ÓPTICA

Si hubiera que hacer una clasificación del gran número de técnicas de microscopía existentes, sería una buena idea empezar por clasificarlas en dos grandes grupos atendiendo a la manera básica en la que obtienen información para presentar la imagen final. En el primero de ellos se incluiría a aquellas técnicas que utilizan la radiación esparcida por la muestra para formar la imagen, y que son por tanto susceptibles de presentar fenómenos de reflexión, refracción, y difracción. En esta categoría estarían la Microscopía Óptica (**MO**), que utiliza radiación electromagnética, la Microscopía Electrónica de Barrido (**SEM**) y la Microscopía Electrónica de Transmisión (**TEM**), que usan haces de electrones. El segundo grupo comprendería las técnicas que utilizan una sonda o punta para escanear la superficie de la muestra, conocidas como Microscopía de Barrido con Sonda (**SPM**).

Aunque hoy en día técnicas como **SEM**, **TEM** y **SPM**, llegan a permitir la observación de objetos tan pequeños como átomos, cerca del 80 % de la investigación en el área de ciencias biológicas se realiza con técnicas de microscopía óptica [23] debido a que las células son relativamente transparentes en la región óptica del espectro [33]. La importancia del uso de éstas se debe a que son *no invasivas*, es decir que causan daños mínimos o escasos en la muestra a observar, permitiendo incluso el estudio de muestras *in vivo*.

## 1.1.1 Apertura numérica

La Apertura Numérica (AN) de un sistema óptico está definida por la cantidad [22]:

$$AN = n \sin(\alpha), \quad (1.1)$$

donde  $n$  es el índice refracción donde viaja la luz y  $\alpha$  el ángulo que hace con la normal un rayo de luz proveniente de un punto de la muestra, *ángulo de apertura* (figura 1.1).

La AN es un parámetro útil que permite estimar la capacidad del sistema de capturar luz, es decir, de obtener información de la muestra además de conseguir una imagen mejor iluminada (pues el brillo de la imagen es proporcional al cuadrado de ésta)<sup>1</sup>. Por supuesto que en el aire, la AN no puede ser mayor a 1, aunque esto implica que el ángulo de apertura sea el mayor posible, lo cuál como se verá más adelante es difícil de conseguir en la práctica. No obstante, la apertura numérica puede incrementarse haciendo una elección adecuada del índice de refracción del espacio donde está la muestra, en adición al uso del objetivo adecuado. Es común encontrar valores de apertura numérica que van desde 0.07 hasta 1.4 o más.

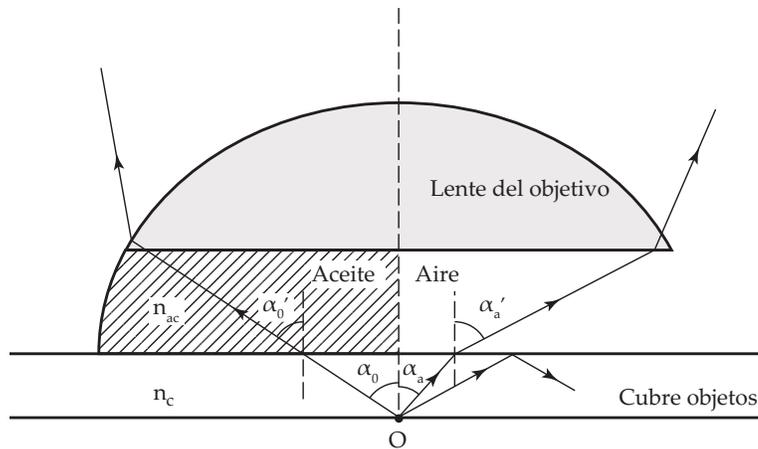


Figura 1.1: Concepto de apertura numérica. Un objetivo de microscopio de inmersión en aceite captura más cantidad de luz, pues en él entran rayos con un ángulo de apertura  $\alpha_0$  mayor al que entrarían sin el aceite,  $\alpha_a$ . Imagen adaptada de la referencia [38].

## 1.1.2 Límite de difracción de Abbe y resolución

La resolución se define como la distancia más pequeña entre dos objetos a la que todavía pueden discernirse como objetos individuales

<sup>1</sup> El brillo de la imagen obtenida depende también del inverso del cuadrado del *número-f* [38], definido como el cociente entre la distancia focal de la lente y su diámetro. Éste suele usarse en sistemas diseñados para trabajar con objetos a grandes distancias, como telescopios o cámaras fotográficas.

separados [25]. La imagen formada en el plano imagen de una lente objetivo de un punto fuente de luz infinitesimalmente pequeño es la imagen difractada del objeto original (figura 1.3). El centro de esta imagen difractada es conocida como el disco de Airy y su radio,  $r_{\text{Airy}}$ , está dado por:

$$r_{\text{Airy}} = \frac{0.61\lambda}{AN}. \quad (1.2)$$

Uno de los problemas de la MO era que su resolución era relativamente baja, hecho señalado por Ernst Abbe (1840-1905) desde 1873, por lo que también es conocido como *condición* o *límite de difracción de Abbe*.

*La resolución de la microscopía óptica está limitada por difracción.*

Existen algunos criterios para reconocer la resolución de un sistema óptico. Uno de ellos es que la distancia entre los centros de los discos de Airy de dos objetos sea a lo más:

$$\Delta x = \frac{\lambda}{2AN}, \quad (1.3)$$

en el plano lateral o transversal de observación, y de

$$\Delta z = \frac{\lambda}{n \sin^2(\alpha)}. \quad (1.4)$$

Dichas expresiones definen una expresión funcional de la *resolución lateral o transversal*<sup>2</sup>, y *resolución axial*, respectivamente [23].

Otros criterios (como el de Rayleigh) sugieren que la distancia mínima de separación es  $r_{\text{Airy}}$ , pues a pesar de que las imagen difractadas se estén solapando, a esta distancia existe una diferencia de intensidad suficiente (aproximadamente 26.5%) para distinguir cada imagen por separado (figura 1.2). A partir de distancias menores a  $0.78r_{\text{Airy}}$  ya no existe una diferencia de intensidad suficiente para hacer la distinción (criterio de Sparrow) [25].

Cuando los objetos están separados hasta al menos la distancia indicada por la ec (1.3), (1.4) o el criterio de Rayleigh, se dice que los objetos se pueden *resolver*.

Debido a que el diámetro del disco de Airy está gobernado por la AN del objetivo y la  $\lambda$  de de la luz, a mayor AN del objetivo y menor  $\lambda$ , la resolución mejorará. Como un ejemplo de referencia, en la microscopía de fluorescencia, si se usara la longitud de onda de excitación más corta en la práctica (400nm) en conjunto con un objetivo de apertura numérica 1.40, se obtendría una resolución lateral de 150nm y de aproximadamente 400nm en el eje axial [20, 23].

*A mayor AN, mayor resolución.*

### 1.1.3 Función de dispersión de punto

Solamente una fracción de la luz emitida por un punto fuente sobre la muestra es recolectada por un objetivo con una AN dada, el cual la

<sup>2</sup> También llamada *poder de resolución*.

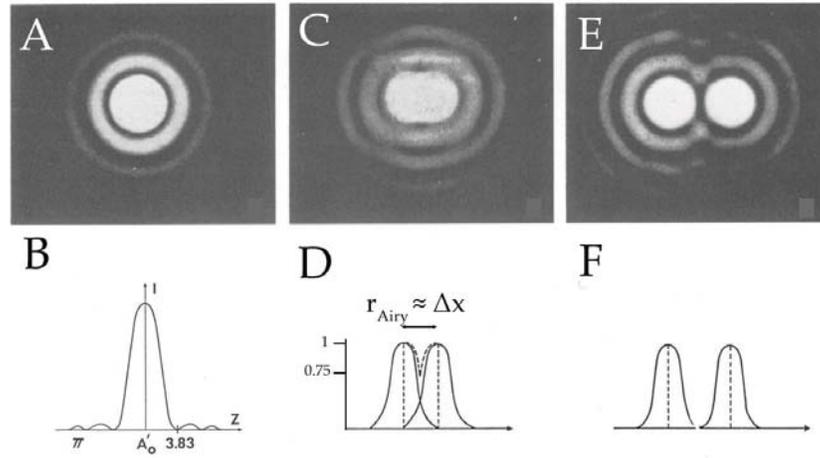


Figura 1.2: Concepto de resolución. A,B son el disco de Airy y su perfil de intensidad. C y D son dos discos de Airy y sus perfiles de intensidad bajo condiciones donde la distancia de centro a centro del disco igualan su radio (criterio de Rayleigh). E y F muestra dos discos cuya distancia de separación es mayor a su radio, y se pueden resolver. Imagen adaptada de la referencia [25].

enfoca en un punto correspondiente en el plano imagen. Sin embargo, el objetivo no enfoca la luz en un punto infinitesimal, en lugar de eso la ondas de luz convergen e interfieren constructivamente en el punto imagen para producir un patrón de difracción conocido como la Función de Dispersión de Punto (PSF) del sistema [43]. En un sistema óptico convencional (como por ejemplo una lente simple o un microscopio de iluminación de campo extendido), este patrón corresponde al ya mencionado disco de Airy. Como el radio del disco es determinado por la AN, así que medir su tamaño ofrece una manera de evaluar el poder de resolución del sistema óptico (figura 1.3a).

*La PSF es la imagen difractada de un punto infinitesimal de la muestra.*

En una lente perfecta, sin aberraciones, la PSF es simétrica tanto lateralmente como axialmente, y puede tener varias formas dependiendo del instrumento utilizado, aunque las más comunes son las formas elipsoidales o parecidas a un reloj de arena (figura 1.3b). Para obtener estas formas o patrones tridimensionales, la PSF es generada a partir de evaluar puntos en una serie de cortes de la muestra en dirección axial.

Es importante comprender cómo se presenta la información final de la muestra en forma de una imagen y su relación con la PSF. La formación de la imagen comienza con la suposición de que el proceso de difracción de la luz en el sistema óptico se puede tratar como un sistema lineal e invariante. Si la imagen formada por una colección de puntos en el plano objeto se puede describir como la suma de las imágenes de cada punto, entonces se dice que el sistema es *lineal*. Cuando la imagen de un punto de la muestra tiene la misma forma independientemente de la ubicación del punto en el plano imagen, se

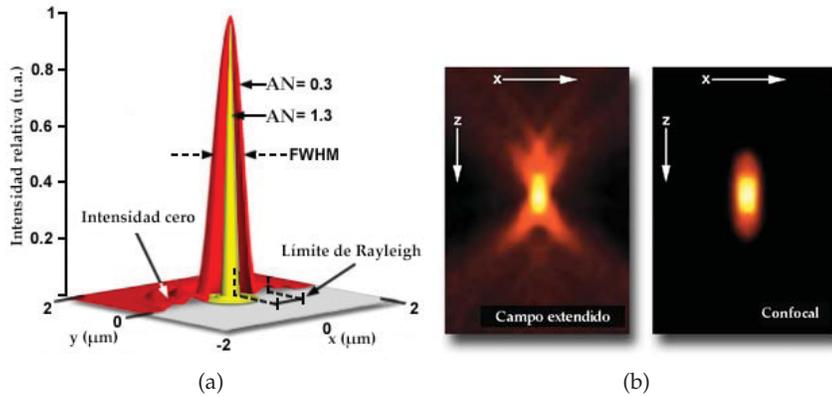


Figura 1.3: Función de punto extendido. (a) Se ilustra el cambio en el tamaño del disco de Airy para diferentes valores de  $AN$ . Imagen adaptada de la referencia [43]. (b) Se muestra la geometría de las PSF de un microscopio de campo extendido y uno confocal. Imagen adaptada de la referencia [6].

dice que el sistema es *invariante* a desplazamientos. La condición de linealidad se cumple siempre que el detector tenga un comportamiento lineal. Los sistemas reales de imagen no cumplen la condición de invariancia a desplazamientos, sin embargo, la suposición es razonable para instrumentos de investigación de alta calidad.

La PSF no solo es valiosa para evaluar el desempeño en resolución de objetivos y sistemas de imagen, sino también por su uso como concepto fundamental de la *deconvolución*, usada en el procesamiento final de la imagen. La deconvolución es la operación matemática usada sobre los datos de la imagen para reducir la luz *extendida*<sup>3</sup> proveniente de un punto objeto, la cuál degrada fuertemente la calidad de la imagen en algunas técnicas de microscopía como las fluorescentes y las dirigidas a formar imágenes 3D. Dicha luz extendida es el resultado de la difracción por parte de la muestra y los elementos del sistema. Así, un modelo computacional de la extensión debida a la difracción, basado en la convolución de un punto fuente y su PSF, puede usarse para reasignar la luz a su origen. Estos procesos son ampliamente utilizados para mejorar la calidad de imagen de sistemas de imagen 3D como microscopios confocales, multifotónicos o de disco rotante [43].

La convolución, describe la relación matemática entre la muestra -objeto real- y su imagen -formada por el sistema. Cada punto en la muestra es representada por una imagen difractada del mismo (su PSF) en el plano imagen. De esta manera, y cumplidas las anteriores condiciones, la imagen final,  $I(\vec{r})$ , consiste en la suma de cada PSF

*El conocimiento de la PSF es útil para el procesamiento de la imagen obtenida.*

<sup>3</sup> Se ha optado por expresar *luz extendida* como calificativo alternativo de lo que coloquialmente sería descrito como *desenfocado*, para evitar ambigüedades en el uso del lenguaje.

Un punto en la imagen final es la convolución del punto objeto de la muestra y la PSF que lo representa

multiplicada por una función,  $O(\vec{r})$ , que representa la intensidad de la luz proveniente de cada punto de la muestra:

$$I(\vec{r}) = \int_{-\infty}^{\infty} O(\vec{r} - \vec{r}') \cdot \text{PSF}(\vec{r}') \, d\vec{r}' \quad (1.5)$$

que puede ser vista como

$$I(\vec{r}) = O(\vec{r}) \otimes \text{PSF}(\vec{r}) \quad (1.6)$$

Finalmente, en algunos algoritmos de procesamiento de imagen es conveniente expresar la relación anterior en el dominio de frecuencias espaciales empleando la transformada de Fourier. Este espacio queda caracterizado por la Función de Transferencia (OTF), transformada de Fourier de la PSF (figura 1.4). Para cada componente de frecuencia espacial en la intensidad del objeto, determina el peso y fase de la correspondiente componente en la imagen [47].

Es importante señalar que en un microscopio el peso relativo de las frecuencias bajas es mayor, mientras que las intermedias son atenuadas y las mayores a  $2\text{AN}/\lambda$  son excluidas. Por esta razón, los algoritmos de deconvolución son necesarios para aumentar las componentes de frecuencias espaciales altas.

## 1.2 MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA

Debido a que esta sección se basa en el contenido de los primeros dos capítulos de esta referencia, se invita al lector interesado a consultar [25] para obtener mayor detalle.

### 1.2.1 Fluorescencia y fluoróforos

La fluorescencia es el fenómeno que ocurre cuando algunos átomos y moléculas absorben luz de una longitud de onda específica y después de un brevísimo intervalo de tiempo, llamado *tiempo de vida de fluorescencia*, reemiten luz de una longitud de onda mayor. La fluorescencia requiere una fuente de energía externa y las sustancias que la presentan son llamados *fluoróforos*.

En la fluorescencia la luz emitida es de una energía menor a la absorbida.

La absorción de un fotón de frecuencia  $\nu$  por un fluoróforo es un fenómeno discreto. Solo tiene lugar a energías específicas dadas por la relación de Plank:  $E = h\nu$ . Cada molécula fluorescente sólo puede absorber luz de un rango de longitudes de onda determinadas, conocido como *banda de absorción*. La emisión de fluorescencia también ocurre a longitudes de onda específicas, pero éstas son menos energéticas que la máxima energía absorbida.

La absorción del fluoróforo tiene lugar entre varios niveles de energía vibracionales y rotacionales brevemente espaciados. Un diagrama de Jablonski (figura 1.5) muestra los diferentes niveles de energía que están involucrados en la absorción y emisión de la luz. Físicamente, el

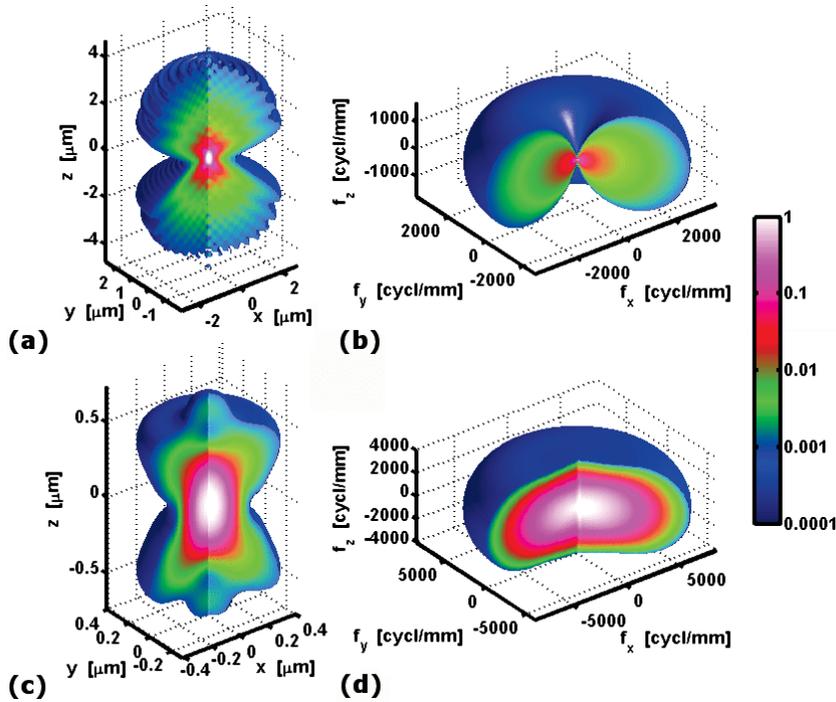


Figura 1.4: Función de Transferencia. Modelos tridimensionales de la PSF (a,c) y su correspondiente OTF (b,d) para un microscopio de iluminación de campo extendido (a,b) e iluminación confocal (c,d). En el modelo simulado, en ambos casos la AN del objetivo es 1.49 y  $n = 1.52$ . La longitud de onda de la luz emitida es 600 nm y, en el caso confocal, la luz de excitación es de 500nm con polarización circular. La barra de color indica la intensidad (a,c) y la densidad espectral normalizada aal máximo valor. La OTF se suele normalizar a la unidad para las frecuencias de frecuencia espacial cero [47]. Imagen tomada de la referencia [49]

proceso de absorción ocurre muy rápido (del orden aproximado de  $10^{-15}\text{s}$ ) y corresponde a la excitación del fluoróforo desde su estado base,  $G_0$ , a un estado excitado. Seguido de esto ocurre una relajación al estado excitado más bajo del singlete, conocido como *conversión interna*, que ocurre en aproximadamente  $10^{-11}\text{s}$ , como una transición térmica al ambiente y sin emisión de luz. La molécula permanece en este estado por un periodo del orden de nanosegundos. La relajación desde este estado (el singlete excitado más bajo,  $S_1$ ) al estado base con la emisión de un fotón es, físicamente, a lo que se refiere como fluorescencia. Cada molécula fluorescente puede repetir este proceso de excitación/emisión muchas veces (30,000 en el caso del Isotiocianato de fluoresceína (FITC)).

Además de la fluorescencia, las moléculas que residen en  $S_1$  pueden sufrir un cruzamiento al estado triplete, desde el cual una emisión más

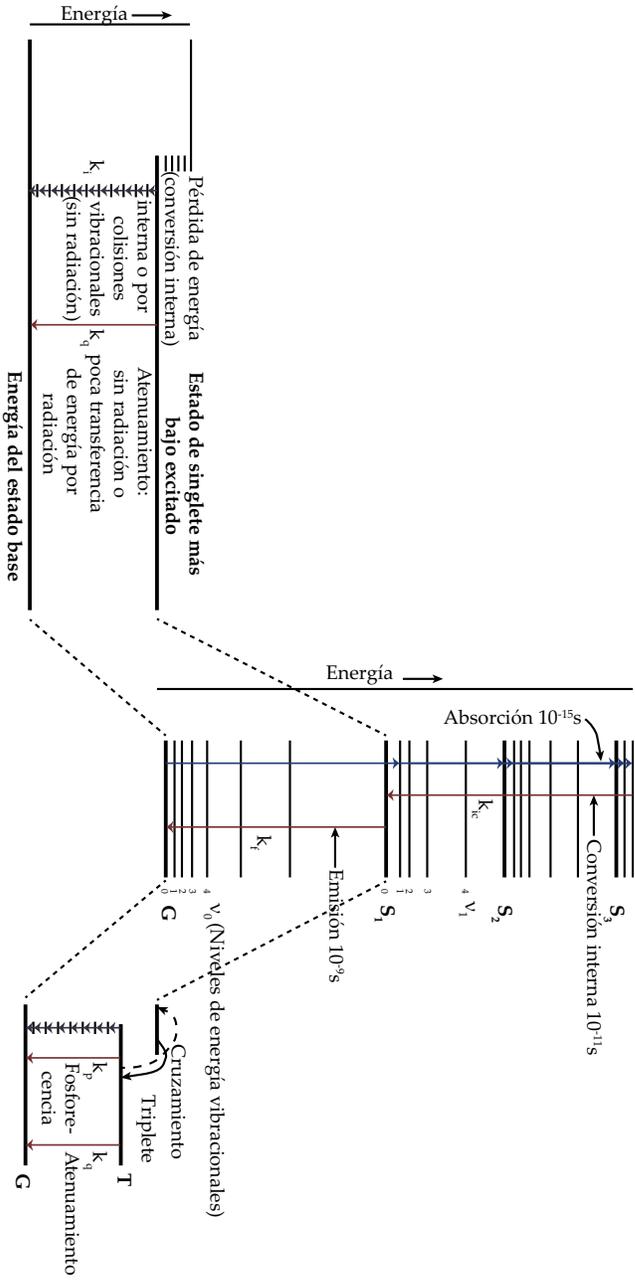


Figura 1.5: Diagrama de Jablonski para la fluorescencia. Se ilustran los tiempos de vida de las transiciones electrónicas y los procesos que compiten con la fluorescencia,  $k_{rr}$  en la desactivación del estado excitado:  $k_i$ = conversión interna,  $k_q$ =atenuamiento,  $k_p$ T=cruzamiento hacia el estado triplete y  $k_p$  = fosforescencia.  $\nu_0$  y  $\nu_1$  representan los estados de energía vibracional (véase figura 1.6). Imagen adaptada de la referencia [25]

duradera ocurre. Afortunadamente, este es un evento relativamente raro.

### 1.2.2 Espectro de absorción, excitación y emisión

La cantidad de energía que tiene que absorber el fluoróforo depende del estado en el que se encuentre de entre los posibles estados vibracionales y rotacionales del estado base. Son más favorecidas o probables las transiciones de los niveles energéticos que tengan mayor grado de similitud con los correspondientes estados vibracionales y rotacionales del estado excitado,  $S_1$ , es decir, aquellas en las que la probabilidad de la posición del electrón en el estado base y excitado se superponen (figura 1.6).

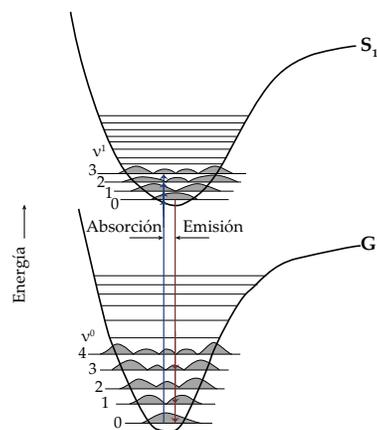


Figura 1.6: Diagrama de energía para una transición fluorescente. Las áreas sombreadas representan la probabilidad de la posición del electrón en los estados de energía vibracional base ( $v_0$ ) y excitados ( $v_1$ ). Las transiciones al estado excitado ocurren en un tiempo tan corto ( $10^{-15}$ s) que la molécula no se puede mover. Por lo tanto, las únicas transiciones que pueden ocurrir son aquellas donde la probabilidad de la posición del electrón en los estado base y el excitados se superponen más. Imagen adaptada de la referencia [40].

El que la energía de absorción para cada estado difiera, da lugar a una *banda o espectro de absorción* con múltiples picos (figura 1.7a). Esta banda indica cuáles longitudes de onda son absorbidas por el fluoróforo.

Dada la banda de absorción se estudian las longitudes de onda con las cuáles el fluoróforo se excita y las longitudes de onda que emite. Para el primer caso se varían las energías de excitación (barriando la banda absorción) buscando cuales hacen que el fluoróforo emita una longitud de onda específica, y se obtiene el *espectro de excitación*. En el segundo caso la energía de excitación se mantiene constante

*La variedad de estados energéticos en los que ocurren las transiciones producen un espectro de excitación y emisión.*

y se aprecia cuáles longitudes de onda emite el fluoróforo con ésta, obteniendo el *espectro de emisión* (figura 1.7b). El espectro de excitación señala las longitudes de onda con las cuales el fluoróforo produce fluorescencia; el espectro de emisión indica cuáles longitudes de onda emite.

La probabilidad con la que el estado de un electrón regrese a un estado vibracional y rotacional del estado base, es similar a la probabilidad de la transición del estado base al estado excitado. Esto hace que el espectro de emisión sea una imagen espejo del espectro de absorción (figura 1.7b). Por otra parte, al corrimiento que el espectro de emisión presenta respecto al espectro de absorción (debido a la conversión interna y otros fenómenos de relajación sin emisión) es conocido como corrimiento de Stokes .

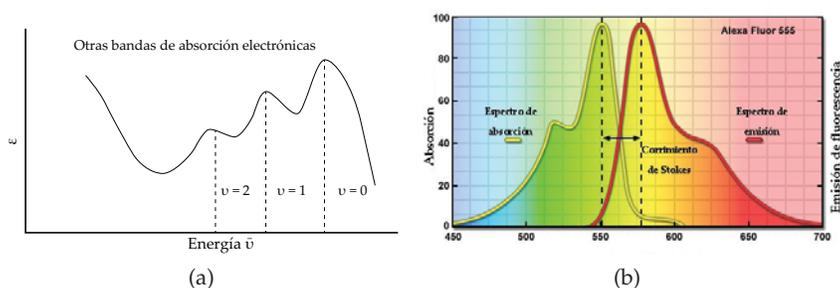


Figura 1.7: (a) Bandas electrónicas de absorción de un fluoróforo hipotético donde hay una pequeña separación entre los niveles de energía vibracionales del estado base. Imagen adaptada de la referencia [40]. (b) Espectro de excitación y emisión típico de un fluoróforo (Alexa Fluor 555). La probabilidad de un electrón de regresar a un estado vibracional de energía del estado base se relaciona con la probabilidad de la posición del electrón en el estado base antes de la excitación. Esto resulta en que el espectro de emisión es una imagen espejo del espectro de absorción. Imagen adaptada de la referencia [42].

### 1.2.3 Tiempo de vida de fluorescencia y atenuación

El tiempo de vida de fluorescencia,  $\tau$ , se define como el tiempo característico que una molécula permanece en estado excitado antes de regresar al estado base. Si una población uniforme de moléculas fluorescentes se excita con un pulso de luz, el decaimiento de la intensidad de la fluorescencia está descrito por la función:

$$I(t) = I_0 e^{(-t/\tau)} \quad (1.7)$$

donde  $I(t)$  es la intensidad medida al tiempo  $t$ , e  $I_0$  es la intensidad inicial inmediatamente después del pulso de excitación. El tiempo de fluorescencia también se define como el tiempo que la intensidad

tarda en decaer a  $1/e$  de la intensidad inicial (aproximadamente 37% de  $I_0$ ).

Existen varios fenómenos que pueden causar una relajación de los estados excitados al estado base sin radiación. Debido a que estos efectos ocurren sin emisión de fotones, son llamados *de atenuación* o *quenching* en inglés. Por ejemplo, la colisión entre las moléculas fluorescentes con su entorno que resulta en una transmisión de energía se denomina *atenuación dinámica*. Tales tipos de fenómenos atenuantes reducen el tiempo de vida del estado excitado,  $\tau$ , y la eficiencia del fluoróforo de absorber y emitir. Un fenómeno de atenuación importante de este tipo es el *fotoblanqueamiento*. Al estar expuesto a continuas excitaciones, el fluoróforo sufre de una alteración fotoquímica, debido a una transición cruzada del estado excitado singlete al estado triplete. Lo anterior resulta en una degradación de su eficiencia para producir fluorescencia, lo cual causa problemas para detectar la luz de la muestra en las técnicas de microscopía que funcionan en largos intervalos de tiempo.

Un segundo tipo de fenómenos atenuantes, denominado estático o de atenuación compleja, hace referencia a fenómenos que causan la desactivación de una parte de la población de fluoróforos excitados, y por tanto reducen la emisión de fluorescencia pero sin alterar  $\tau$ .

Cuando los fluoróforos en una molécula cambian de un estado a otro, la probabilidad de que permanezcan en un estado decrece exponencialmente con la intensidad de la luz de excitación. Se define la intensidad de saturación,  $I_s$ , como la intensidad umbral a la cual la transición tiene lugar en la mayoría de moléculas (por ejemplo el 50%), y es inversamente proporcional al tiempo de vida de ambos estados. Cuando la intensidad de la luz de excitación es mayor a este umbral, es más probable que ocurra la transición. Los fluoróforos con tiempos de vida largos en sus estados excitados y desexcitados, tienen un mayor rango de intensidades para excitarse y a veces exhiben mayores niveles de fatiga (una medida de la capacidad que tiene para hacer transiciones antes de ser destruido). En la microscopía de alta resolución se usan fluoróforos cuyos tiempos de vida difieren tanto como la intensidad de saturación necesaria para invocar las transiciones [20].

*Existen procesos de relajación del estado excitado que no emiten luz.*

#### 1.2.4 Microscopios de fluorescencia

La microscopía de fluorescencia fue desarrollada a principios del siglo XX, y es una poderosa herramienta que permite la visualización espacial y temporal de materiales fluorescentes en especímenes microscópicos, ya sea que presenten una fluorescencia intrínseca (llamada fluorescencia primaria o autofluorescencia), o que hayan sido previamente tratados con moléculas fluorescentes extrínsecas e ellos (fluorescencia secundaria). La combinación de un fluoróforo adecuado

con la sensibilidad de un microscopio de este tipo, ha resultado en la capacidad de detectar pequeñísimas cantidades de material con una alta precisión y sensibilidad.

Este tipo de microscopio ofrece múltiples ventajas:

**ESPECIFICIDAD.** Los espectros de emisión y absorción característicos de cada fluoróforo se pueden aprovechar de manera selectiva para el análisis de estructuras complejas.

**SENSIBILIDAD.** La detección es posible con un pequeño número de moléculas fluorescentes, y si se discrimina correctamente la autofluorescencia de la fluorescencia específica, la detección a un alto nivel de la segunda es posible.

**CUANTIFICACIÓN.** Ofrece medidas cuantitativas, pues la fluorescencia está directamente relacionada con la eficiencia de los fluoróforos.

**ALTA RESOLUCIÓN TEMPORAL.** Las mediciones de fluorescencia se pueden usar para detectar cambios moleculares y químicos en la muestra muy rápidos.

**ALTA RESOLUCIÓN ESPACIAL.** La fluorescencia puede medirse para moléculas -de la muestra- individuales que contengan un número suficiente de fluoróforos (aproximadamente entre 10 y 50 por  $\mu\text{m}^3$ )

Su funcionamiento básico es dar energía suficiente para excitar fluoróforos en la muestra y separar la luz -mucho más débil- producida por fluorescencia de la luz proveniente de la excitación. Haciendo esto, solo la luz emitida llega al detector y se puede generar una imagen con alto contraste. Aunque existen varios arreglos para lograr la iluminación necesaria para este propósito, el más utilizado es el llamado iluminación Ploem, de luz incidente o epi-iluminación (figura 1.8). En ella, la luz de excitación se refleja hacia la apertura trasera del objetivo (que actúa también como condensador) mediante un espejo dicromático divisor de haz. La fluorescencia se recolecta por el objetivo y la luz que forma la imagen atraviesa dicho espejo hacia la cámara o ocular. Dado que la longitud de onda de emisión es menos energética que la de excitación, el espejo está diseñado para reflejar luz de longitudes de onda más cortas pero transmite las longitudes de onda más largas. Este espejo también refleja cualquier luz de excitación reflejada o refractada, permitiendo solo a la luz emitida por fluorescencia pasar y llegar al detector.

Los principales componentes de un microscopio de fluorescencia son: (1) fuente de luz de excitación; (2) dispositivos selectores de longitud de onda; (3) objetivos; y (4) detectores. Una breve descripción de cada uno de ellos es dada a continuación:

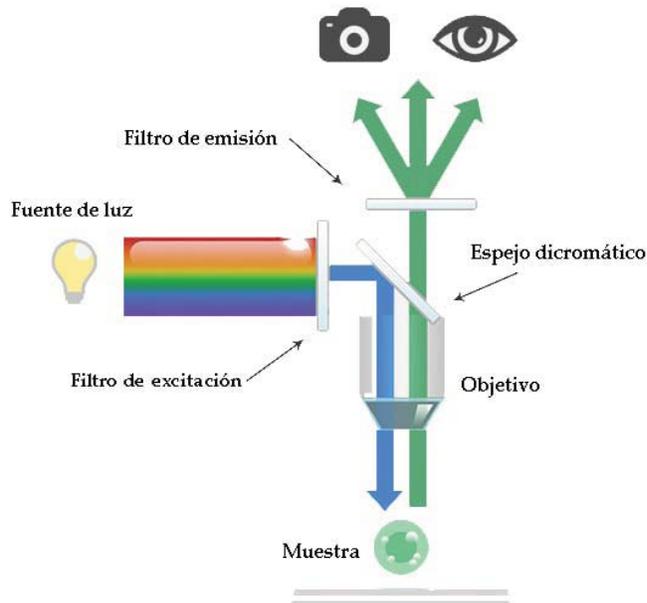


Figura 1.8: Sistema de epi-iluminación. En este arreglo, el objetivo también actúa como objetivo. El área de la muestra que se ilumina es el área que se observa y la AN completa del objetivo es usable. Imagen adaptada de la referencia [46]

**FUENTE DE LUZ DE EXCITACIÓN.** Para iluminación reflejada o transmitida, consiste de lámparas de tungsteno o halógeno; para la epi-iluminación se usan lámparas de haluro metálico o luz láser. La selección de la fuente depende del fluoróforo a usar.

**DISPOSITIVOS SELECTORES DE LONGITUD DE ONDA.** Se han desarrollado una variedad de dispositivos que seleccionan las longitudes de onda de excitación y emisión. Estos incluyen láseres, monocromadores, filtros pasa-bandas y filtros acusto-ópticos y de cristal líquido. También se utilizan filtros para seleccionar partes específicas a transmitir. En la práctica, la luz de excitación proveniente de lámparas de arco de Hg o Xe, o de láseres, se aísla usando un *filtro de excitación*, se refleja sobre la muestra con el espejo dicroico divisor de haz, y la fluorescencia es vista a través de un *filtro de barrera*, que bloquea las longitudes de onda que están por debajo de un conjunto de longitudes de onda deseadas. Ambos filtros se señalan en la figura 1.8. Los filtros pueden adaptarse al propósito deseado mediante el uso de ciertos recubrimientos y grosores de estos, logrando que transmitan, reflejen o bloqueen conjuntos específico -grandes o pequeños- de longitudes de onda.

**OBJETIVOS.** Pueden usarse una variedad de objetivos en la microscopía de fluorescencia. La elección depende del propósito particular, pues hay objetivos diseñados para usos específicos.

**DETECTORES.** Estos permiten la visualización de fluorescencia a bajos niveles. Los detectores van desde tubos fotomultiplicadores, usados para medidas cuantitativas, a detectores de imagen, que permiten la adquisición de imágenes bidimensionales. Las consideraciones clave para elegir un detector son la sensibilidad requerida, el nivel de ruido inherente al detector, la resolución espacial versus la resolución temporal, distorsión geométrica, sensibilidad espectral y linealidad.

Varias son las técnicas de microscopía de que utilizan los principios de funcionamiento anteriores. Destacan entre ellas: la de fluorescencia multifotónica, **PALM**, **STORM**, **4Pi** y **STED**, algunas de la cuáles serán detalladas a continuación.

### 1.3 MICROSCOPIA ÓPTICA DE SÚPER-RESOLUCIÓN

*La microscopía óptica de súper resolución vence el límite de difracción.*

En términos de resolución espacial muchas técnicas como la Termografía por Emisión de Positrones (**PET**), la Imagen por Resonancia Magnética (**MRI**) y la Tomografía de Coherencia Óptica (**OCT**) son capaces de crear imágenes de animales con tamaños entre los 10 cm y las 10 $\mu$ m, mientras que las técnicas **SEM** y **SPM** ofrecen la más alta resolución aproximándose a la escala atómica y molecular. Es entre estos dos extremos donde se han desarrollado una serie de metodologías agrupadas bajo el nombre de *técnicas de Súper Resolución Óptica (SRO)*. El rasgo común de éstas es que pueden resolver características de la muestra más allá del límite de difracción [20].

Es importante destacar la existencia de dos clases diferentes de técnicas de súper-resolución óptica: las de Microscopía Óptica de Campo Cercano (**NSOM**) y las de campo lejano. La diferencia radica tanto en el tamaño de la zona de la muestra que se ilumina como en la distancia que hay de ésta al objetivo.

En las técnicas de campo cercano una pequeñísima sonda con una abertura recorre la superficie a estudiar, iluminando la muestra dentro de un radio mucho más pequeño que la longitud de onda utilizada y aprovechando el fenómeno de ondas evanescentes. Si bien es posible alcanzar resoluciones laterales de hasta 20nm y axiales de hasta 2nm con estos métodos, la exploración de la muestra se limita a su superficie (que no debe ser accidentada) y no es útil en general para estudios intracelulares, por ejemplo. Cabe mencionar que en la última década se están desarrollando estrategias de súper-resolución en campo cercano basadas en el uso de súper-lentes con base en la refracción negativa, pero esto aún está lejos de convertirse en instrumentos prácticos [33]. Las técnicas de campo cercano están limitadas por el tamaño de la

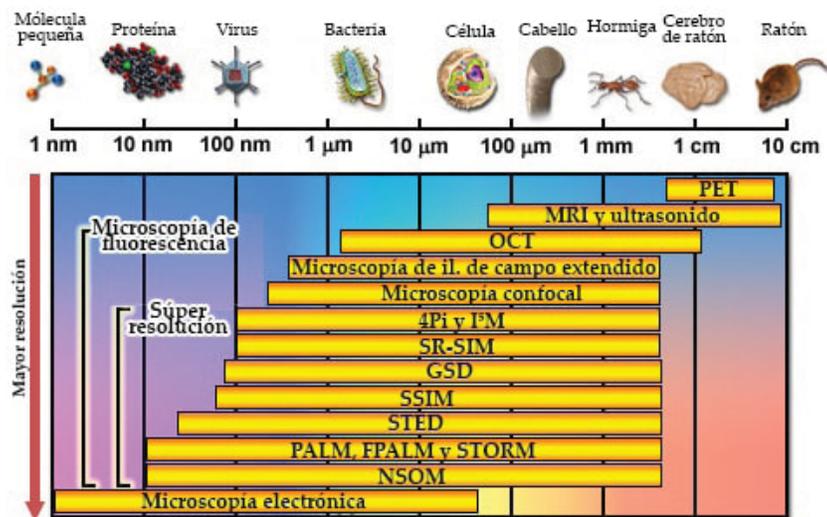


Figura 1.9: Comparación de resoluciones alcanzadas y tamaños de imagen creados por diferentes técnicas de microscopía. Imagen adaptada de la referencia [20].

apertura de la sonda, mientras que la microscopía de campo brillante, de contraste de fase, multifotónica, confocal y de campo extendido, que son técnicas de campo lejano, están limitadas por difracción.

Los avances más significativos que se tienen se han logrado en la parte de la microscopía de campo lejano. Estas técnicas generalmente funcionan con dos tipos de métodos: ya sea activando y desactivando estocásticamente fluoróforos de moléculas individuales secuencialmente en el tiempo para luego grabar las correspondientes emisiones, o bien, usando la activación y desactivación controlada de fluoróforos y/o modificando la PSF del sistema. Las técnicas más importantes del primer tipo son conocidas bajo los acrónimos PALM y STORM, mientras que las más importantes del segundo tipo son STED, GSD, y SSIM. También existen otros métodos que aprovechan la fluorescencia y la interferencia de la luz, como I<sup>3</sup>M, el microscopio 4Pi o la SR-SIM. Existen arreglos refinados de los anteriores y combinaciones para mejorar aún más la resolución.

*La microscopía SRO de campo lejano se divide en técnicas RESOLFT y estocásticas.*

### 1.3.1 Técnicas de súper-resolución lateral

Técnicas como la Microscopía de Localización por Foto-Activación (PALM) y la Microscopía por Reconstrucción Óptica Estocástica (STORM) pertenecen al grupo de la Microscopía de Localización de Moléculas Individuales (LMI). Funcionan iluminando la muestra y, de manera estocástica, activando los fluoróforos de algunas moléculas mientras que los de la mayoría de ellas permanecen desactivados. Sin embargo solo la emisión de algunas moléculas de la muestra distribuidas al azar

*Las técnicas LMI forman la imagen a partir de luz emitida por moléculas individuales.*

se estudia y se registra su posición. Cuando la emisión cesa, se repite el procedimiento con otra molécula para finalmente construir una imagen uniendo todos los registros. Como la activación de diferentes moléculas a observar se hace en distintos instantes, es posible localizar moléculas que estén cercanas entre sí más allá del límite de Abbe, siempre que suficientes fotones sean detectados y la emisión de moléculas vecinas dentro de un radio aproximado de 200nm no se asemeje a la de la molécula estudiada. Cabe aclarar que la potencia requerida para la iluminación es baja, y se hace sobre una parte extensa de la muestra, por lo que este tipo de técnicas ofrece un campo de visión más grande que las descritas más adelante. La resolución lograda con estos métodos es de entre los 10 y 20nm en el plano lateral, siendo el principal reto a afrontar el minimizar el ruido de fondo y maximizar la emisión de fotones del fluoróforo<sup>4</sup>.

Por otra parte, los principios necesarios para obtener resoluciones más allá del límite de difracción fueron planteados por Stefan Hell (1962-...) y asociados con la idea de las Transiciones de Fluorescencia Óptica Saturables y Reversibles (RESOLFT). El esquema general de esta idea se basa en la capacidad de los fluoróforos para cambiar de un estado A a un estado B y en la condición de que ésta debe permitir también la transición de manera reversible. Estos dos estados pueden ser el estado base y los estados singlete excitados (S<sub>0</sub> y S<sub>1</sub> descritos en la sección 1.2) como en la microscopía STED, el estado singlete excitado y los estados triplete oscuros usados en la microscopía GSD, etc.

Las diferencias más notorias entre el concepto de técnicas RESOLFT y las de LMI son tanto el mecanismo exacto de cómo tienen lugar las transiciones, como la intensidad de la luz usada para inducir las. En general la energía requerida en las técnicas RESOLFT es mayor. Además, para obtener la posición de las moléculas fluorescentes y formar la imagen, las técnicas RESOLFT escanean zonas específicas de la muestra, mientras que el principio de funcionamiento de las técnicas LMI permiten hacerlo a través de un campo de visión mucho más grande. Los diferentes factores involucrados en estas metodologías dictan los parámetros experimentales, tales como la velocidad del procesamiento de imagen, la complejidad del instrumento, y la sensibilidad de la detección.

Para finalizar, cabe destacar otra manera ingeniosa con la cuál pueden alcanzarse resoluciones laterales entre los 100 y 120 nm. Se trata de la Microscopía de Súper-Resolución por Iluminación Estructurada (SR-SIM), en la cual se utiliza iluminación láser estructurada acoplada a un microscopio de fluorescencia de campo extendido. Los frentes de onda provenientes de la iluminación estructurada hacen que la información de alta resolución de la muestra esté disponible en forma de franjas de Moiré que contienen frecuencias armónicas

*Las técnicas RESOLFT requieren más energía que las LMI.*

<sup>4</sup> La precisión de la localización se escala con el inverso del cuadrado del número de fotones detectados.

del espécimen que son inaccesibles en la microscopía de fluorescencia convencional. Entonces, si se superponen dos patrones de forma multiplicativa, se formará un patrón de estas franjas en su producto. En este caso, los patrones son la distribución espacial de los fluoróforos en la muestra y la intensidad de la iluminación estructurada. Uniendo y procesando todo el conjunto de imágenes obtenidas al rotar  $360^\circ$  el patrón de iluminación en el plano lateral, se obtiene la información de alta resolución.

#### 1.3.1.1 STED 2D

La primera de las técnicas **RESOLFT** en tener éxito en el estudio de adquisición de imágenes biológicas fue la Microscopía de Desactivación por Emisión Estimulada (**STED**). En esta técnica, un punto de la muestra es iluminada con 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 de mayor longitud de onda, conocido como haz **STED** (ver figura 1.10). Generalmente, el pulso de excitación es de una menor duración que el producido por el haz **STED** (aunque ambos pulsos oscilan entre los 10 y 300ps). El uso de láseres pulsados presenta una ventaja sobre las escalas de tiempo de relajación molecular y la interferencia de la luz coherente para producir zonas de desactivación radialmente simétricas. Los fluoróforos que están dentro del nodo del haz **STED** pueden fluorescer tras su exposición al haz de excitación, mientras que aquellos fluoróforos expuestos al haz **STED** son desactivados mediante emisión estimulada a su estado no fluorescente. La desactivación no lineal del estado excitado fluorescente debido al haz **STED** constituye la base para adquirir imágenes con resolución debajo de la barrera de difracción. Finalmente, la imagen se compone de la luz obtenida al escanear toda la muestra con el proceso de iluminación antes descrito. Este requisito de escanear la muestra es la razón por la cuál las transiciones **RESOLFT** deben ser reversibles: las moléculas en un estado deben de ser capaces de regresar a su otro estado cuando son escaneadas por el nodo de intensidad cero.

La técnica **STED** modifica la forma de la **PSF** de excitación 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** es modificado por un modulador de fase para obtener una estructura con un nodo de intensidad cero en el centro del foco. Esta configuración estructura el haz con una geometría de dona que rodea el punto focal central y la **PSF** del haz de excitación. Solo en el centro del foco, la intensidad del haz **STED** es cero. La longitud de onda del haz **STED** 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. La desactivación de los fluoróforos ocurre en todo el volumen focal ocupado por el haz **STED**- excepto en el centro del foco. Es en las po-

*La microscopía STED requiere de un haz de activación y un haz de desactivación para iluminar un punto de la muestra.*

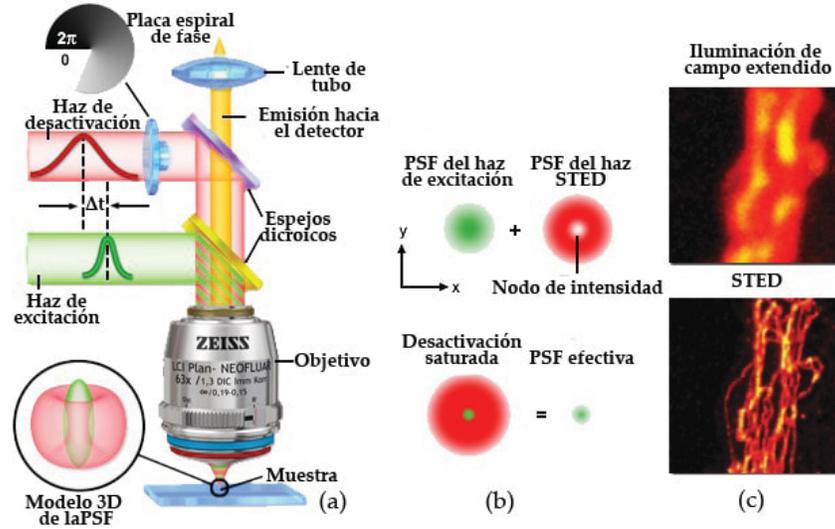


Figura 1.10: Concepto de microscopía STED. (a) diagrama de un microscopio STED. (b) Proceso de la PSF resultante, (c) comparación de imagen obtenida con microscopía STED y un microscopio de campo extendido. Imagen adaptada de la referencia [20].

tencias altas del haz STED (que usualmente exceden los  $250\text{MW}/\text{cm}^2$ ) donde los fluoróforos son llevados casi instantáneamente a su estado base. Si se reduce considerablemente esta potencia, se forman otros estados no fluorescentes como los vistos en la sección 1.2.

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  $20\text{nm}$  en dirección lateral [23] (hasta 10 veces más que la obtenida con un microscopio confocal convencional [5]). La manipulación para obtener esta PSF efectiva es equivalente a expandir el filtro pasabandas de la frecuencia espacial del microscopio. Para tener una imagen completa, los haces escanean todo el espécimen, de una manera similar a como se hace en la microscopía confocal. Entre los beneficios que tiene STED se tiene que la resolución efectiva que se alcanza depende completamente de la configuración experimental y las potencias de los láseres aplicados. Además el tiempo de adquisición de la imagen se aproxima a la velocidad de cualquier microscopio confocal láser. La resolución efectiva aumenta con la potencia del haz STED, pero puede haber problemas con potencias extremadamente altas que resultan en un fotoblanqueamiento rápido y la destrucción de los fluoróforos. A pesar de eso, varios fluoróforos sintéticos y naturales han sido exitosamente usados con esta técnica.

La resolución Ancho Entero a la Mitad del Máximo (FWHM) para la PSF de la microscopía STED está dada por la siguiente expresión [23]:

$$\Delta x = \frac{\lambda}{2AN\sqrt{1 + \alpha(I_{\max}/I_s)}} \quad (1.8)$$

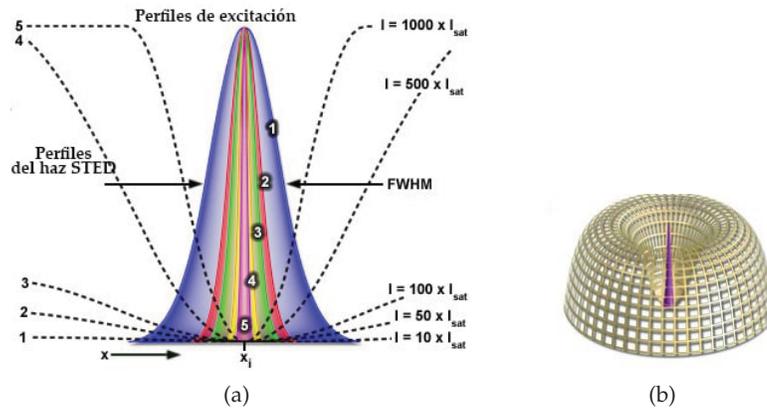


Figura 1.11: PSF efectiva de la microscopía STED. En (a) se muestra en colores la región donde los fluoróforos existen en su estado excitado. Al aumentar la intensidad del haz STED (mostrado en líneas punteadas) esta región disminuye, incrementando la resolución lateral del microscopio. (b) Modelo tridimensional de las intensidades del haz STED (cuadrículado) y la PSF efectiva del microscopio. Imágenes adaptadas de la referencia [20].

donde  $\lambda$  es la longitud de onda del haz de excitación. La variable  $u$  es un parámetro que toma en cuenta la estructura del haz de desactivación.  $I_{\max}$  es el pico de intensidad del haz de desactivación y  $I_s$  es la intensidad de saturación del fluoróforo usado. Cuando  $I_{\max}$  es cero, la ec (1.8) se reduce a (1.3). 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  $I_{\max}/I_s = 100$ , el incremento en la resolución es de 10. La resolución de todos los métodos RESOLFT está gobernada por la Ec. (1.8). No hay un límite teórico de la mejoría que puede tener la resolución en STED, únicamente restricciones prácticas como la potencia de los láseres, el fotoblanqueamiento de la muestra y aberraciones ópticas de la configuración que causen una desviación de cero del mínimo central de los haces de desactivación. 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 [41].

Finalmente la Microscopía de Desactivación al Estado Base (GSD) y la Microscopía de Iluminación Saturada Estructurada (SSIM) son técnicas que tienen el esquema inverso al usado por STED, es decir, se desactiva el estado oscuro mediante una excitación saturada y se obtienen imágenes de puntos negros sobre un fondo brillante, además de que SSIM usa distribuciones de luz con múltiples nodos y un detector extendido, siempre y cuando los nodos estén espaciados entre si una distancia mayor que el límite de difracción. En estos casos,

*A mayor potencia del haz STED, mayor resolución.*

se obtiene una imagen "negativa" de la muestra que se procesa para mostrar el objeto real.

### 1.3.2 Súper-resolución axial

Debido a que la resolución axial es menor, al menos por un factor de dos, que la resolución lateral, mucho de los esfuerzos en la última parte del siglo XX estuvieron dirigidos a la mejora de esta parte. Aunque técnicas como PALM y STORM han demostrado ser técnicas extremadamente precisas para localizar posiciones de fluoróforos en dos dimensiones, alcanzar una resolución similar en la dirección axial ha supuesto un reto, por lo que se han implementado adaptaciones y/o combinaciones de técnicas de súper-resolución lateral, así como otros diseños, para superarlo.

Por ejemplo, la versión tridimensional de STORM (3D-STORM) adapta una lente cilíndrica para moldear la parte lateral de la PSF de la emisión de una molécula dependiendo de su posición axial. Una adaptación de PALM emplea una configuración tal que proyecta la imagen de una sola molécula en dos diferentes planos. La Microscopía de PSF de doble Hélice (DH-PSF) moldea la PSF del microscopio en dos lóbulos, los cuáles se rotan respecto a la imagen dependiendo de su posición axial. Finalmente, una variante de PALM con interferometría (iPALM) recibe la luz emitida mediante dos objetivos yuxtapuestos, la recombina, y usa la interferencia de los fotones en el plano focal para determinar la posición axial. Aún así, el desempeño de la mayoría de estas técnicas queda por debajo de su desempeño en resolución lateral. De hecho, solo iPALM es capaz de mejorar la resolución que su diseño bidimensional tiene, logrando  $\Delta z = 10 - 20\text{nm}$  [2].

Es curioso que el primer avance significativo que se tuvo en la microscopía de campo lejano para vencer el límite de difracción sucedió a mediados de los años 90 con la introducción de dos técnicas: la Microscopía de Interferencia de Imagen ( $I^2M$ ) y la Microscopía 4Pi (4Pi) que, de hecho, mejoran la resolución axial sin afectar la resolución lateral. Ambas técnicas también utilizan objetivos de alta apertura numérica yuxtapuestos tanto en configuración de iluminación de campo extendido como de iluminación confocal láser para alcanzar resoluciones axiales incluso abajo de 100nm. El usar dos objetivos incrementa la apertura numérica del sistema, resultando en un aumento de la resolución. En el caso ideal, el uso de dos objetivos contrapuestos resultaría en una PSF simétrica en la dirección axial y lateral. Por otra parte, como los patrones usados por estas técnicas se deforman conforme atraviesan la muestra, su uso se limita a especímenes delgados tales como células adherentes.

Las técnicas  $I^2M$  usan los objetivos para mapear el mismo plano de la muestra. La versión más sencilla de estos métodos es la  $I^2M$ , en la que dos objetivos capturan la emisión fluorescente y la recombinan

*Microscopios como el 4Pi incrementan la resolución aumentando su AN.*

en el detector. Dado que la luz proveniente de cada objetivo tiene la misma longitud de camino óptico, la recombinación resulta en una interferencia que origina un patrón característico en el plano imagen (nótese la diferencia con la iluminación usada en [SR-SIM](#)). Luego se cambia de plano de la muestra y se repite el proceso, para finalmente procesar la serie de imágenes y obtener la información de alta resolución. La versión  $I^5M$ , combinación de la  $I^2M$  y la  $I^3M$  es capaz de triplicar la resolución de éstas en modo de iluminación confocal y de mejorarla siete veces en el modo de campo extendido. Sin embargo como los planos de observación de la muestra cambian en pasos entre 35nm y 45nm, el análisis total de la muestra puede tomar varios minutos.

A diferencia de la  $I^5M$ , la  $4Pi$  hace converger los frentes de onda de la emisión en un punto común en el plano focal o del detector. Como resultado de la interferencia constructiva de estos frentes de onda, la resolución axial es de aproximadamente 100nm, más aún, la  $PSF$  generada es hasta 1.5 veces más estrecha en el plano lateral que en la microscopía confocal común, y hasta 7 veces más pequeña en la dirección axial. Aún cuando su nombre sugiere una simetría perfecta en la  $PSF$  generada (puesto que una esfera tiene un ángulo sólido de  $4\pi$ ), esta geometría no se logra en la práctica, pues ángulos de apertura numérica  $\alpha$  de entre  $64^\circ - 74^\circ < 90^\circ$  son apenas alcanzados [23]. De hecho, debido a que los frentes de onda no son perfectamente esféricos, la  $PSF$  muestra un lóbulo anterior y posterior al plano focal en la dirección axial.

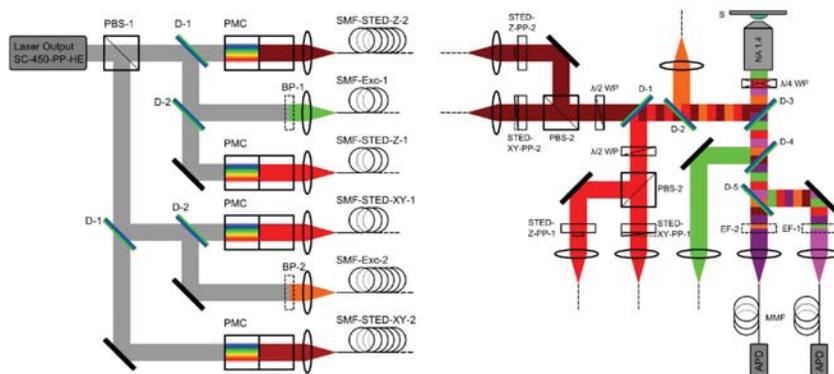
#### 1.3.2.1 *STED 3D*

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

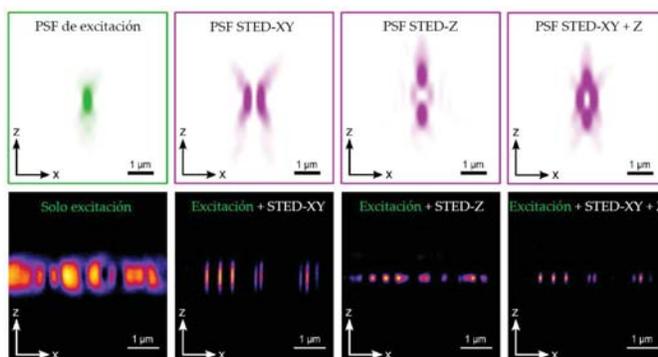
El primero de estos arreglos, también propuesto por el grupo de trabajo de S. Hell, basa su diseño en una configuración similar al microscopio  $4Pi$ , implementando dos haces de desactivación [STED](#) (uno para el eje  $x$  y otro para el eje  $z$ ). Este arreglo ha permitido mejoras tanto en  $\Delta x$  como  $\Delta z$ . Debido a que la  $PSF$  generada por el arreglo esta 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 [23].

Otra configuración utiliza un láser súper-continuo para obtener mapeos 3D en dos colores [36]. Aunque esta configuración requiere de muchos otros elementos ópticos entre los que destacan fibras ópticas para gestionar las diferentes longitudes de onda provenientes del láser (figura 1.12a), 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 [36].



(a)



(b)

Figura 1.12: 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 [36].

## HACES BESSEL

---

En este capítulo se describe la naturaleza de los haces Bessel, partiendo de las ecuaciones de Maxwell, la ecuación de onda y la ecuación de Helmholtz con sus respectivas condiciones. También se estudian y describen los campos ópticos que satisfacen dichas ecuaciones con las debidas aproximaciones. Posteriormente se explora el concepto de Campos Ópticos Invariantes en Propagación (COIPs), conjunto del cual los haces Bessel forman parte. Finalmente, se describen algunos métodos experimentales para generar el haz Bessel de orden cero,  $J_0(k_t \rho)$ , de fundamental importancia en el desarrollo de esta tesis.

El lector familiarizado con los temas de este capítulo puede prescindir de su lectura, aunque es recomendable leer al menos la última sección del capítulo.

### 2.1 PRELIMINARES

#### 2.1.1 La ecuación de onda

La teoría electromagnética clásica describe a la luz como el acoplamiento de un campo eléctrico,  $\mathbf{E} = \mathbf{E}(\mathbf{r}, t)$ , y un campo magnético,  $\mathbf{B} = \mathbf{B}(\mathbf{r}, t)$ , que se propaga en forma de onda. El comportamiento de estos campos queda gobernado por las ecuaciones de Maxwell.

En un medio dieléctrico libre de fuentes, estas ecuaciones se escriben [19]:

$$\nabla \cdot \mathbf{D} = 0, \quad (2.1)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{B} = 0, \quad (2.2)$$

$$\nabla \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t}, \quad (2.3)$$

$$\nabla \times \mathbf{H} = \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t}. \quad (2.4)$$

Además, si el medio es lineal, el desplazamiento eléctrico  $\mathbf{D}$  y el campo  $\mathbf{H}$  se expresan:

$$\mathbf{D} = \epsilon \mathbf{B}, \quad \mathbf{H} = \frac{1}{\mu} \mathbf{B}, \quad (2.5)$$

donde  $\epsilon$  es la permitividad eléctrica (o constante dieléctrica) del material y  $\mu$  su permeabilidad magnética.

Añadiendo que el medio donde tiene lugar la propagación de la onda es homogéneo, isotrópico y no dispersivo, es consecuencia natural

de estas ecuaciones que ambos campos satisfagan la relación conocida como *ecuación de onda*<sup>1</sup> [17, 19]:

$$\nabla^2 \mathbf{u}(\mathbf{r}, t) - \frac{1}{v^2} \frac{\partial^2 \mathbf{u}(\mathbf{r}, t)}{\partial t^2} = 0, \quad (2.6)$$

donde  $\mathbf{u}(\mathbf{r}, t)$  puede representar tanto a  $\mathbf{E}(\mathbf{r}, t)$  como a  $\mathbf{B}(\mathbf{r}, t)$ .

La velocidad de dicha onda electromagnética es:

$$v = \frac{1}{\sqrt{\epsilon\mu}} = \frac{c_0}{n}, \quad (2.7)$$

donde  $c_0$  es la velocidad de la luz en el vacío, y  $n$  el índice de refracción del medio dado por:

$$n \equiv \sqrt{\frac{\epsilon\mu}{\epsilon_0\mu_0}} \quad (2.8)$$

con  $\epsilon_0$  y  $\mu_0$  la permitividad eléctrica y permeabilidad magnética del vacío, respectivamente.

Como la ecuación de onda se satisface para cada campo, también se satisface para cada una de sus componentes ( $E_x, E_y, E_z, B_x, B_y, B_z$ , en el caso de coordenadas rectangulares). Puede entonces resumirse el comportamiento de toda la onda mediante una sola ecuación escalar [17]:

$$\nabla^2 u(\mathbf{r}, t) - \frac{1}{v^2} \frac{\partial^2 u(\mathbf{r}, t)}{\partial t^2} = 0, \quad (2.9)$$

donde ahora  $u(\mathbf{r}, t)$  puede representar al campo eléctrico, magnético, o cualquiera de sus componentes linealmente polarizada.

La Ec. (2.9) es una aproximación de la ecuación exacta (2.6), válida cuando de manera general, la estructura con la que la luz interactúa es mucho más grande que su longitud de onda<sup>2</sup> [14, 17].

A pesar de la existencia de acoplamientos entre  $\mathbf{E}$  y  $\mathbf{B}$  debido a situaciones como las condiciones de frontera en el material donde se propaga la onda y el acoplamiento debido a la difracción por una apertura (aunque solo en el borde de ésta y dentro de una distancia de pocas longitudes de onda), la aproximación escalar sigue siendo válida. Su uso implica cierto grado de error, pero la poca pérdida de precisión que se tiene es compensada por la gran simplicidad que se logra [17].

Una solución física a (2.9) es la onda monocromática y armónica en el tiempo, que puede expresarse por la función [44]:

$$u(\mathbf{r}, t) = a(\mathbf{r}) \cos(2\pi\nu t + \phi(\mathbf{r})). \quad (2.10)$$

*Aproximación  
escalar de la  
ecuación de onda.*

*Onda  
monocromática real.*

<sup>1</sup> Más precisamente, *ecuación de onda vectorial*.

<sup>2</sup> De hecho, esta aproximación es confiable únicamente dentro de un régimen paraxial. En el caso general, el comportamiento del campo electromagnético está determinado por una solución rigurosa de la Ec. (2.6). Además, ésta permite estudiar diferentes estados de polarización [53]. Para mayor información respecto al tema, puede consultarse [29].

No obstante, por comodidad en el manejo matemático conviene representar (2.10) en términos de la siguiente función compleja:

$$U(\mathbf{r}, t) = U(\mathbf{r}) \exp(-j2\pi vt), \quad (2.11)$$

de tal manera que  $u(\mathbf{r}, t) = \text{Re}\{U(\mathbf{r}, t)\}$ .

Al término independiente del tiempo  $U(\mathbf{r}) = a(\mathbf{r}) \exp(\phi(\mathbf{r}))$ , se le conoce como *amplitud compleja*. Dada cualquier posición,  $U(\mathbf{r})$  es una variable compleja cuya magnitud  $|U(\mathbf{r})| = a(\mathbf{r})$  es la amplitud real de la onda, y cuyo argumento  $\arg\{U(\mathbf{r})\} = \phi(\mathbf{r})$  es su fase.

Actualmente no existen detectores sensibles a las frecuencias extremadamente grandes de las oscilaciones ( $\nu > 10^{14}$  Hz) del campo eléctrico óptico. En lugar de detectar tales frecuencias, los detectores ópticos responden al promedio temporal de la magnitud del campo al cuadrado. Por lo tanto, una cantidad de considerable interés es la *irradiancia*, que se define como [17, 52]:

$$I(x, y) = U(x, y)U(x, y)^* = |U(x, y)|^2, \quad (2.12)$$

en donde se ha supuesto la detección en un plano transversal al eje  $z$ . La irradiancia es un término radiométrico para la potencia por unidad de área en el plano de observación. Es una cantidad que en otras referencias de láseres y óptica de Fourier es llamada *intensidad*.

Para que (2.11) satisfaga la ecuación de onda (2.9), la amplitud  $U(\mathbf{r})$  también debe de satisfacer [44]:

$$(\nabla^2 + k^2)U(\mathbf{r}), \quad (2.13)$$

conocida como *ecuación de Helmholtz*<sup>3</sup>, donde

$$k = \frac{2\pi n \nu}{c_0} = \frac{\omega}{c_0} = \frac{2\pi}{\lambda}, \quad (2.14)$$

es conocido como número de onda [17] y representa la magnitud del vector de onda  $\mathbf{k}$ , asociado con la dirección de propagación.

### 2.1.2 Aproximación paraxial de la ecuación de onda

Resulta de utilidad solucionar (2.13) en aquellas situaciones en las que la luz viaja aproximadamente paralela al eje óptico, es decir, un régimen *paraxial*. Más aún, desde el desarrollo de la tecnología láser, ha sido de interés encontrar soluciones del tipo *haces de luz*, donde la luz es altamente dirigida y de una extensión transversal finita [14, 53].

Considérese la amplitud compleja de una onda plana [44, 48]:

$$U(\mathbf{r}) = A(\mathbf{r}) \exp(-j \mathbf{k} \cdot \mathbf{r}), \quad (2.15)$$

<sup>3</sup> Debido a que esta ecuación es en realidad la parte espacial de la ecuación de onda (2.9), en la literatura se le suele referir también como *ecuación de onda* o *ecuación de onda independiente del tiempo*.

*Onda monocromática compleja.*

*Intensidad del campo óptico.*

Suponiendo por simplicidad que la onda se propaga a lo largo del eje  $z$ , (2.15) puede escribirse:

$$U(x, y, z) = A(x, y, z) \exp(-jk_z z). \quad (2.16)$$

Para que (2.16) cumpla la ecuación de Helmholtz (2.13), la envolvente  $A(x, y, z)$  debe satisfacer a su vez:

$$\frac{\partial^2 A}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 A}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 A}{\partial z^2} - 2jk \frac{\partial A}{\partial z} = 0. \quad (2.17)$$

Una manera de construir una onda paraxial, es modificar la amplitud que describe el perfil transversal  $A(x, y, z)$  de (2.16). La variación de  $A(x, y, z)$  en  $z$  debe ser lenta comparada con  $\lambda$  y las variaciones transversales debidas al ancho finito del haz [48] (figura 2.1a), *i. e.*:

$$\left| \frac{\partial^2 A}{\partial z^2} \right| \ll \left| 2jk \frac{\partial A}{\partial z} \right| \text{ o } \left| \frac{\partial^2 A}{\partial x^2} \right| \text{ o } \left| \frac{\partial^2 A}{\partial y^2} \right|. \quad (2.18)$$

Por lo que despreciando el tercer término en (2.17) se puede trans-

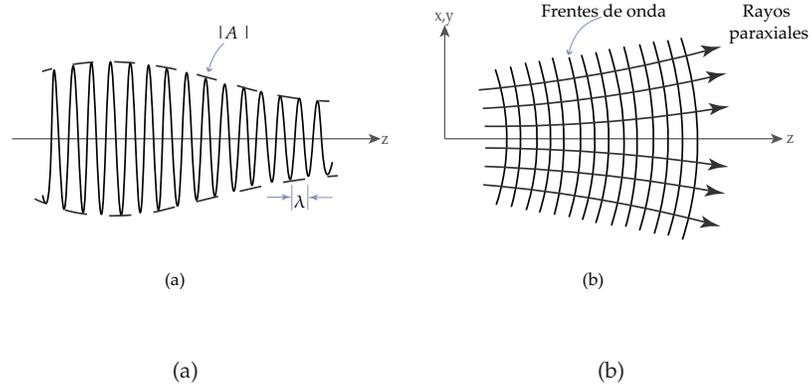


Figura 2.1: Onda paraxial. (a) Ilustración cualitativa de la amplitud de una onda paraxial. La envolvente  $A$  debe variar mucho más lento que el tamaño de  $\lambda$  al propagarse en la dirección  $z$ . (b) Los frentes de onda y sus normales.

formar esta condición de onda exacta en una *ecuación de onda paraxial*:

$$\frac{\partial^2 A}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 A}{\partial y^2} - 2jk \frac{\partial A}{\partial z} = 0, \quad (2.19)$$

que de manera general se puede escribir:

$$\nabla_t A(\mathbf{s}, z) - j2k \frac{\partial A(\mathbf{s}, z)}{\partial z} = 0, \quad (2.20)$$

donde  $\mathbf{s}$  hace referencia a las coordenadas transversales  $\mathbf{s} = (x, y)$  o  $\mathbf{s} = (\rho, \varphi)$ , dependiendo del sistema coordenado (rectangular o cilíndrico)

que se use.  $\nabla_{\perp}$  es el operador laplaciano transversal correspondiente. La Ec. (2.20) es conocida como *ecuación paraxial de Helmholtz* o *ecuación paraxial de onda*.

La validez de de la aproximación paraxial permite una separación de los haces de hasta  $\sim 30^\circ$  del eje de propagación antes de que deban hacerse correcciones significativas [44].

Cuando se resuelve (2.20) en coordenadas rectangulares se obtiene un conjunto completo de soluciones<sup>4</sup> conocidas como haces Hermite-Gaussianos [38] o Modos Transversal Eléctrico y Magnético ( $TEM_{nm}$ )<sup>5</sup>, y del cual el  $TEM_{00}$  o Haz Gaussiano (HG) es llamado *modo fundamental*. Al resolver la misma ecuación, pero en coordenadas cilíndricas circulares, se obtiene otro conjunto completo de soluciones conocido como haces Laguerre-Gaussianos o  $TEM_{pl}^*$ . La solución de orden más bajo de este conjunto es también el HG [44, 48]. Los modos de órdenes más alto de ambos conjuntos son considerablemente importantes en aplicaciones prácticas como el láser y el análisis de haces ópticos [48].

Los haces HG y LG son solución a la ecuación de Helmholtz en coordenadas rectangulares y cilíndricas circulares, respectivamente

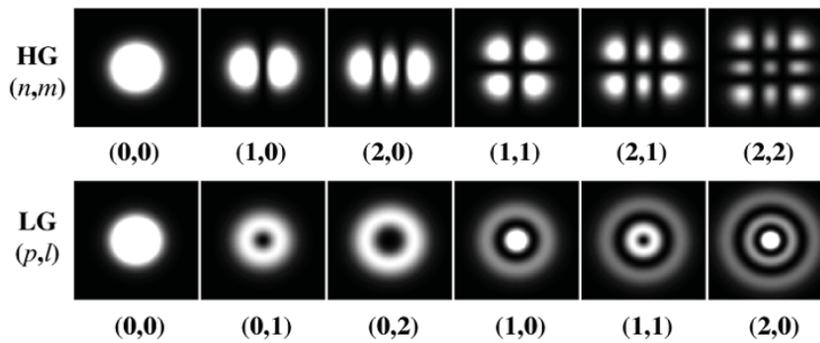


Figura 2.2: Variaciones en el plano transversal  $z = 0$  de diferentes modos de haces HG y LG. Imagen tomada de la referencia [45].

## 2.2 EL HAZ BESSEL IDEAL

### 2.2.1 Campos Ópticos Invariantes en Propagación

Las soluciones más simples de la ecuación de Helmholtz en un medio homogéneo son la onda plana y la onda esférica, cuando se resuelve en coordenadas rectangulares y esféricas, respectivamente.

Fue a partir de 1987 cuando comenzó a estudiarse teórica y experimentalmente la solución a la ecuación de onda en coordenadas cilíndricas circulares desde el punto de vista de la propagación de

<sup>4</sup> Es un *conjunto completo* en el sentido que cualquier otra solución a (2.20) puede construirse como una combinación lineal de ellas [4].

<sup>5</sup> Toman este nombre debido a sus diferentes dependencias en las coordenadas transversales y porque los campos  $\mathbf{E}$  y  $\mathbf{B}$  oscilan aproximadamente en dirección perpendicular al eje de propagación [22, 53]

modos [14]. Desde entonces, dicha solución fue conocida como Haz Bessel (HB). La característica principal que tiene este tipo de solución es que idealmente el haz puede propagarse distancias infinitas sin sufrir alteraciones en su sección transversal. Las soluciones que comparten dicha característica, como los haces Mathieu en coordenadas cilíndricas elípticas [21], los haces Weber en coordenadas cilíndricas parabólicas [8] y la onda plana en coordenadas cartesianas rectangulares, han sido agrupadas bajo el término común de COIPs.

Por ser el HB un COIP y con la finalidad de conocer más sobre éste, se procederá a detallar brevemente la naturaleza de este tipo de soluciones.

La condición para que un haz sea COIP se escribe [14]:

$$I(x, y, z \geq 0) = I(x, y, z = 0), \quad (2.21)$$

lo que significa que el perfil de intensidad del haz en  $z = 0$  se reproduce exactamente en cualquier otro plano normal al eje óptico con  $z \geq 0$ .

Para encontrar la forma general de este tipo de campos, se puede proceder a escribir  $U(\mathbf{r})$  en términos de su transformada de Fourier<sup>6</sup>:

$$U(\mathbf{r}) = \iiint_{-\infty}^{\infty} \tilde{U}(\mathbf{r}) \exp\{i(k_x x + k_y y + k_z z)\} dV_{\mathbf{k}}, \quad (2.22)$$

donde la integración se hace en todo el espacio de frecuencias. Sin embargo al suponer armónica la dependencia temporal del campo, la magnitud del vector de onda se restringe al valor  $k = \omega/v$ , limitando el espacio de integración a una esfera de radio  $|\mathbf{k}| = \sqrt{k_x^2 + k_y^2 + k_z^2}$  (figura 2.3). Haciendo  $\tilde{U}(\mathbf{r}) = \tilde{A}(\phi, \theta)\delta(|\mathbf{k}| - \omega/v)$ , donde  $\phi$  y  $\theta$  representan el ángulo azimutal y polar, respectivamente, y  $\delta(|\mathbf{k}| - \omega/v)$  la función delta de Dirac, se obtiene la esfera unitaria requerida.

Con las condiciones mencionadas, (2.22) se puede reescribir como:

$$U(\mathbf{r}) = \iiint_{\Omega} \tilde{A}(\phi, \theta) \exp\{ik[\sin\theta(x\cos\phi + y\sin\phi) + z\cos\theta]\} k^2 d\Omega, \quad (2.23)$$

donde  $d\Omega$  es el elemento de integración,  $\Omega$  el volumen requerido, y donde se han usado las relaciones  $k_x = k \sin\theta \cos\phi$ ,  $k_y = k \sin\theta \sin\phi$ , y  $z = k \cos\theta$ .

Para que este campo cumpla la definición (2.21), deben separarse las dependencias transversales y longitudinales de  $U(\mathbf{r})$ . La única forma de lograr esto es hacer  $\theta = \theta_0$ , un valor constante. Esta condición limita la esfera de integración a un cono dentro de ella, el cual proyecta sobre ésta una circunferencia de radio  $k_t = k \sin\theta_0$ . Análogamente al paso anterior, se obtiene la superficie requerida utilizando la versión en

<sup>6</sup> Es importante señalar que este análisis está limitado al caso de campos electromagnéticos armónicos linealmente polarizados, *i.e.*, haciendo uso de la aproximación escalar de la ecuación de onda [14].

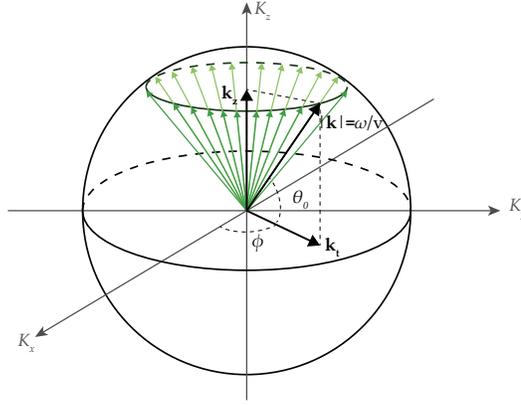


Figura 2.3: Esfera de McCutchen [31]. El tamaño finito de  $\mathbf{k}$  restringe el espacio de integración a una esfera unitaria. Ésta representa las frecuencias del espectro de Fourier de un campo monocromático.

coordenadas esféricas de la función delta de Dirac [4]. Escribiendo  $\tilde{A}(\theta, \phi) = 1/k^2 \delta(\cos \theta - \cos \theta_0) A(\phi)$ , (2.23) queda:

$$U(\mathbf{r}) = e^{ik_z z} \int_0^{2\pi} A(\phi) \exp\{ik_t(x \cos \phi + y \sin \phi)\} d\phi, \quad (2.24)$$

con  $A(\phi)$  una función compleja representando la modulación azimutal en el espacio de frecuencias. Dependiendo de su forma explícita, pueden obtenerse diferentes familias de COIPs. Por ejemplo,  $A(\phi) = \text{cte.}$  corresponde al caso simple de un HB de orden cero [14].

Aunque exacta, la representación integral de un COIP (2.24), no permite obtener fácilmente información sobre los frentes de onda ni los modos de la onda viajera [11]. Para tal propósito conviene resolver directamente la ecuación de Helmholtz (2.13) sujeta a la condición (2.21), por lo que se propone una solución que separe sus dependencias:

$$U(\mathbf{r}) = T(s_1, s_2)Z(z), \quad (2.25)$$

con  $s_1$  y  $s_2$  un par de coordenadas transversales generalizadas.

La sustitución directa en la ecuación de Helmholtz produce a su vez dos ecuaciones:

$$(\nabla_t + k_t^2) T(\mathbf{s}) = 0, \quad (2.26)$$

$$\frac{d^2 Z}{dz^2} + k_z^2 Z = 0. \quad (2.27)$$

La única solución a (2.27) que satisface la condición de invariancia en propagación es:  $Z(z) = \exp\{ik_z z\}$ , llevando a una solución general de la forma:

$$U(\mathbf{r}) = T(\mathbf{s}) \exp\{ik_z z\}, \quad (2.28)$$

reduciendo el problema inicial al de resolver una ecuación de Helmholtz bidimensional.

Solución azimutal de la ecuación de Helmholtz en coordenadas cilíndricas circulares.

Al proponer  $T(\rho, \phi) = R(\rho)\Phi(\phi)$  en coordenadas cilíndricas circulares, se encuentra que:

$$\Phi(\phi) = \exp\{\pm il\phi\}, \quad (2.29)$$

un término responsable de la existencia de vórtices ópticos (y que aparece también en las soluciones de haces Laguerre-Gaussianos). Por otro lado, la parte radial de la ecuación resulta ser la ecuación de Bessel de orden- $l$  [4]:

Ecuación de Bessel.

$$\rho^2 \frac{d^2 R}{d\rho^2} + \rho \frac{dR}{d\rho} + (k_t^2 \rho^2 - l^2)R = 0 \quad (2.30)$$

La solución completa a (2.30) está dada en términos de las funciones de Hankel de primer y segundo tipo de orden- $l$ :

$$H_l^{(1)}(k_t \rho) = J_l(k_t \rho) + iN_l(k_t \rho), \quad (2.31)$$

$$H_l^{(2)}(k_t \rho) = J_l(k_t \rho) - iN_l(k_t \rho), \quad (2.32)$$

donde  $J_l(k_t \rho)$  y  $N_l(k_t \rho)$  son la función de Bessel de primera clase de orden- $l$ , y la función de Neumann, respectivamente.

Para obtener información acerca de los frentes de onda, considérese la expansión asintótica de las funciones anteriores [4]:

$$H_l^{(1,2)}(k_t \rho) \approx \sqrt{\frac{2}{\pi k_t \rho}} \exp\left\{\pm \left[k_t \rho - \frac{\pi}{4}(2l+1)\right]\right\}. \quad (2.33)$$

La Ec. (2.33) corresponde con la amplitud y fase de una onda cilíndrica, la cuál se vuelve cónica al incluir el término de fase axial. De esta manera, la función  $H^{(1)}(k_t \rho)$  está asociada con ondas divergentes, mientras que  $H^{(2)}(k_t \rho)$  con ondas convergentes. En el caso de los haces Bessel, existe una superposición de ambos tipos de ondas, dando lugar a la solución no singular:  $J_l(k_t \rho) = \frac{1}{2} \{H^{(1)}(k_t \rho) + H^{(2)}(k_t \rho)\}$ .

Por tanto, la solución final de un haz invariante en propagación en coordenadas cilíndricas circulares es:

Haz invariante en propagación en coordenadas cilíndricas circulares.

$$U(\rho, \phi, z, t) = J_l(k_t \rho) \exp\{i(l\phi + k_z z - \omega t)\}, \quad (2.34)$$

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

Finalmente, (2.34) también puede obtenerse escogiendo  $A(\phi) = e^{-il\phi}$  (Ec. (2.29)) en la representación integral (2.24) y utilizando algunas identidades matemáticas.

## 2.2.2 Propagación de campos ópticos

Una manera de describir el campo óptico en un plano transversal al eje de propagación, es a partir de su valor en un plano transversal

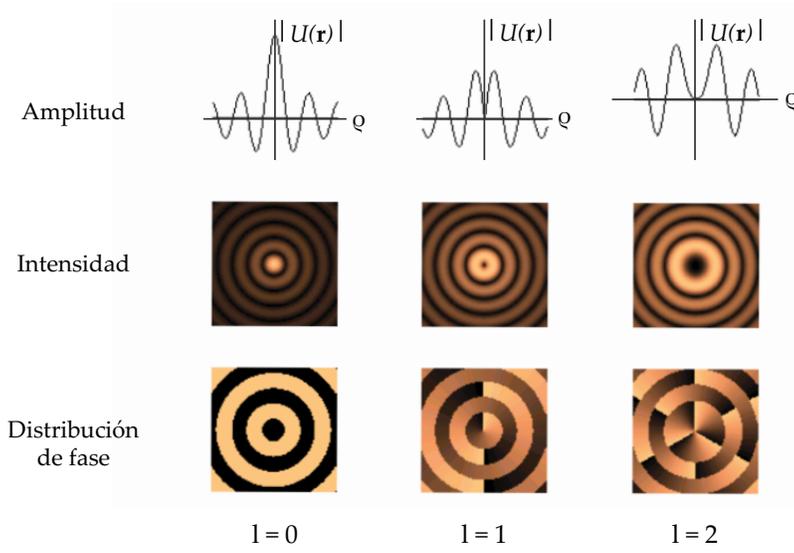


Figura 2.4: Variaciones transversales de amplitud, intensidad y distribución de fase de haces Bessel con diferentes números  $l$ . En las distribuciones de fase, la región más oscura y más brillante en el caso  $l = 0$  corresponden a la fase  $0$  y  $\pi$ , respectivamente; y corresponden a  $0$  y  $2\pi$  para los casos de  $l = 1, 2$ . Imagen adaptada de la referencia [33].

anterior. Dicha descripción tiene como base la integral de difracción de Fresnel [17, 52]:

$$U(x, y) = \frac{e^{jkz}}{j\lambda z} \iint_{-\infty}^{\infty} U(\xi, \eta) \exp \left\{ j \frac{k}{2z} [(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2] \right\} d\xi d\eta, \quad (2.35)$$

donde  $(\xi, \eta)$  denotan las coordenadas del *plano fuente*, separado una distancia  $r_{12}$  del *plano de observación*.

Esta expresión también es una convolución de la forma (1.5), donde el kernel de la convolución o respuesta al impulso del sistema óptico es:

$$h(x, y) = \frac{e^{jkz}}{j\lambda z} \exp \left\{ j \frac{k}{2z} (x^2 + y^2) \right\} \quad (2.36)$$

con la correspondiente función de transferencia:

$$H(f_x, f_y) = e^{jkz} \exp \left\{ -j\pi\lambda z (f_x^2 + f_y^2) \right\}. \quad (2.37)$$

Otra manera útil de expresar (2.35) se obtiene al mover la fase cuadrática que es función de  $x$  y  $y$  fuera de la integral:

$$U(x, y) = \frac{e^{jkz}}{j\lambda z} e^{j \frac{k}{2z} (x^2 + y^2)} \iint_{-\infty}^{\infty} \left\{ U(\xi, \eta) e^{j \frac{k}{2z} (\xi^2 + \eta^2)} \right\} e^{-j \frac{2\pi}{\lambda z} (x\xi + y\eta)} d\xi d\eta. \quad (2.38)$$

La utilidad de esta versión recae en reconocer que ésta es una transformada de Fourier multiplicada por términos afuera de la integral,

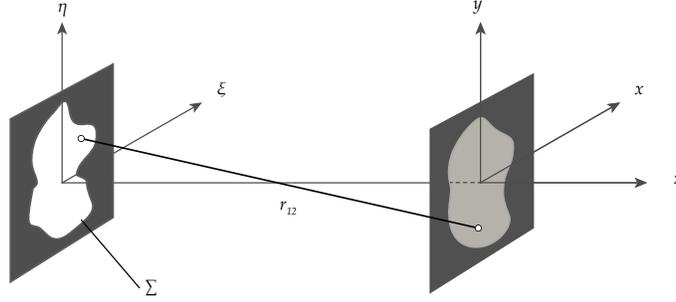


Figura 2.5: Sistema de referencia para la propagación de Fresnel. Se han incorporado los límites de la apertura,  $\Sigma$ , en la definición de  $U(\xi, \eta)$ , por lo que los límites de integración corren sobre todo el espacio.

donde la sustitución de las siguientes variables de frecuencia se usan para la transformada:

$$f_{\xi} \rightarrow \frac{x}{\lambda z'}, \quad f_{\eta} \rightarrow \frac{y}{\lambda z'}, \quad (2.39)$$

El uso de estas integrales queda limitado al modelado de la difracción de campos escalares y dentro de un régimen paraxial. Un criterio para su aplicación es el siguiente:

$$z^3 \gg \left( \frac{\pi}{4\lambda} [(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2]^2 \right)_{\max}, \quad (2.40)$$

donde "max" indica el valor máximo de interés para un plano de observación y un plano fuente dados.

### 2.2.3 Transformada de Fourier de un haz Bessel

Para el propósito de esta tesis es de interés conocer la distribución de intensidad del campo en el foco de una lente delgada. Esta lente se representa con la siguiente función de transmitancia de amplitud [17]:

$$t_1(x, y) = P(x, y) \exp \left\{ -j \frac{k}{2f} (x^2 + y^2) \right\}, \quad (2.41)$$

donde  $P(x, y)$  es una función que describe el tamaño físico de la lente, llamada *función de pupila* y  $f$  es la distancia focal de la lente.

Si el campo incidente en la lente es  $U(\xi, \eta)$ , entonces el campo saliendo de ella es:  $U(\xi, \eta)t_1(\xi, \eta)$ . Sustituyendo esto en (2.38) y cambiando  $z = f$ , se obtiene:

$$U(x, y) = \frac{e^{jkf}}{j\lambda f} e^{j \frac{k}{2f} (x^2 + y^2)} \iint_{-\infty}^{\infty} \{U(\xi, \eta)P(\xi, \eta)\} e^{-j \frac{2\pi}{\lambda z} (x\xi + y\eta)} d\xi d\eta. \quad (2.42)$$

Nótese que el factor de fase cuadrático de (2.38) se cancela con el factor cuadrático introducido por la transmitancia de la lente. Si además se considera que la distribución de la luz entrando a la lente es más pequeña que su tamaño de apertura, la función  $P(x, y)$  puede ser ignorada. Prescindiendo además del factor de fase constante  $\exp\{jkf\}$ , se puede abreviar la ecuación anterior como:

$$U(x, y) = \frac{e^{j\frac{k}{2f}(x^2+y^2)}}{j\lambda f} \iint_{-\infty}^{\infty} \{U(\xi, \eta)\} e^{-j\frac{2\pi}{\lambda f}(x\xi+y\eta)} d\xi d\eta. \quad (2.43)$$

Considérese la parte espacial de un haz Bessel de la forma descrita en (2.34). La ecuación análoga a (2.43) se puede obtener aplicando las siguientes transformaciones de coordenadas:

$$\begin{aligned} x &= \rho \cos \varphi, \\ y &= \rho \sin \varphi, \\ \xi &= \rho' \cos \varphi', \\ \eta &= \rho' \sin \varphi'. \end{aligned}$$

Consecuentemente el campo en el plano focal de la lente será:

$$\begin{aligned} U(\rho, \varphi) &= \frac{ke^{j\frac{k}{2f}\rho^2}}{j2\pi f} \\ &\times \int_0^{2\pi} \int_0^{\infty} \{U(\rho', \varphi')\} e^{\{-j\frac{k}{f}\rho\rho'\cos(\varphi'-\varphi)\}} \rho' d\rho' d\varphi', \end{aligned} \quad (2.44)$$

donde se ha usado que:  $\cos \varphi \cos \varphi' + \sin \varphi \sin \varphi' = \cos(\varphi' - \varphi)$  y  $k = \frac{2\pi}{\lambda}$ . Al sustituir el HB, evaluado en el plano inicial  $z = \text{cte}$ , en la expresión anterior se obtiene:

$$\begin{aligned} U(\rho, \varphi) &= \frac{ke^{j\frac{k}{2f}\rho^2}}{j2\pi f} e^{jk_z z} \\ &\times \int_0^{2\pi} \int_0^{\infty} J_1(k_t \rho') e^{j\varphi'} e^{\{-j\frac{k}{f}\rho\rho'\cos(\varphi'-\varphi)\}} \rho' d\rho' d\varphi'. \end{aligned} \quad (2.45)$$

Definiendo

$$\kappa \equiv -\frac{k\rho}{f}, \quad \phi' \equiv \varphi' - \varphi, \quad (2.46)$$

se puede reescribir (2.45) como:

$$\begin{aligned} U(\rho, \varphi) &= \frac{ke^{j\frac{k}{2f}\rho^2}}{j2\pi f} e^{j\varphi} e^{jk_z z} \\ &\times \int_0^{2\pi} e^{j\varphi'} e^{\{j\kappa\rho'\cos\phi'\}} d\phi' \int_0^{\infty} J_1(k_t \rho') \rho' d\rho', \end{aligned} \quad (2.47)$$

en donde se ha separado explícitamente las dependencias radial y azimutal del campo.

Por otra parte, es útil escribir la función de Bessel en una representación integral [4, 18]:

$$J_l(\kappa\rho) = \frac{1}{2\pi j^l} \int_0^{2\pi} e^{j^l\phi} e^{j\kappa\rho \cos\phi} d\phi, \quad (2.48)$$

para reescribir la Ec. (2.47) como:

$$U(\rho, \varphi) = \frac{j^{l-1}}{f} e^{j\frac{\kappa}{2f}\rho^2} e^{j^l\varphi} e^{jk_z z} \int_0^\infty J_l(k_t\rho') J_l(\kappa\rho') \rho' d\rho'. \quad (2.49)$$

Como las funciones de Bessel forman una familia de funciones ortogonales, se cumple [4]:

$$\int_0^\infty J_l(k_1\rho) J_l(k_2\rho) \rho d\rho = \frac{1}{k_1} \delta(k_1 - k_2), \quad (2.50)$$

donde  $\delta$  es la función Delta de Dirac.

Al utilizar las propiedades de corrimiento y escalamiento de la función  $\delta$ , y la definición de  $\kappa$ , (2.49) finalmente se reduce a:

$$U(\rho, \varphi, z) = \frac{j^{l-1}}{k_t} e^{j\frac{\kappa}{2f}\rho^2} e^{j^l\varphi} e^{jk_z z} \delta(\rho - \rho_0). \quad (2.51)$$

A partir de (2.51) puede concluirse que, sin importar el número  $l$ , todos los haces Bessel enfocados por una lente delgada, exhiben como patrón de intensidad un anillo de radio [50]:

*Todos los haces  
Bessel se enfocan en  
un anillo de radio  $\rho_0$ .*

$$\rho_0 \equiv f \frac{k_t}{k}, \quad (2.52)$$

que también puede expresarse en términos del ángulo  $\theta_0$  formado por  $k$  y el eje óptico como:

$$\rho_0 = f \sin \theta_0. \quad (2.53)$$

La Ec. (2.53) 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. A continuación, se describirán algunos métodos experimentales a partir de los cuales puede generarse el haz Bessel.

### 2.3 MÉTODOS DE GENERACIÓN EXPERIMENTAL

La Ec. (2.24) puede ser interpretada físicamente como la superposición de ondas planas cuyos vectores de onda están sobre la superficie de un cono (véase figura 2.3). A lo largo de la dirección axial todas estas ondas permanecen en fase, pues el corrimiento de fase axial debido a la propagación por una distancia  $\Delta z$  es la misma para todas las componentes, es decir:  $k_z \Delta z$ . Por otro lado, aunque la magnitud de todas las componentes transversales de los vectores de onda es la

misma, cada una difiere en su ángulo azimutal. Esto significa que en dirección transversal (*i. e.* el plano  $XY$ ), las ondas planas generan un patrón estacionario de interferencia, el cual no experimenta cambios en su propagación.

Las características anteriores de  $\mathbf{k}$  sugieren métodos experimentales para generar aproximaciones muy cercanas a COIPs. Ya que es de particular interés general el haz Bessel de orden cero, a continuación será descrito el primero de estos métodos.

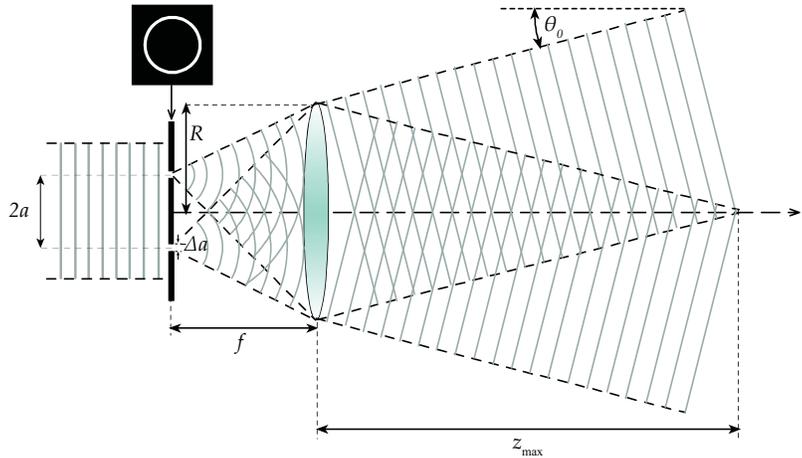


Figura 2.6: Configuración experimental para generar un haz Bessel mediante un anillo de radio  $a$  y grosor  $\Delta a$  (vista lateral, todos los elementos mostrados tienen simetría circular respecto al eje  $z$ ). Las ondas provenientes del anillo cruzan la lente e interfieren generando un haz Bessel con frentes de onda cónicos. La zona de interferencia tiene una extensión de  $z_{\max}$ . Imagen tomada de la referencia [53].

Considérese la configuración de la figura 2.6, donde una pantalla opaca con una apertura circular delgada está frente a una lente, centrada exactamente en el plano focal. Idealmente, al iluminar la placa con luz colimada de longitud de onda  $\lambda$ , cada punto en el anillo actuará como fuente puntual de ondas que la lente transformará en ondas planas. Todas las ondas planas generadas estarán inclinadas un ángulo fijo  $\theta_0$  respecto al eje de propagación, formando una región cónica de interferencia [15] que, de acuerdo a la óptica geométrica, se extiende una distancia máxima de:

$$z_{\max} = \frac{R}{\tan \theta_0} = \frac{fR}{a}, \quad (2.54)$$

donde  $R$  es el radio de apertura de la lente,  $f$  la distancia focal y  $a$  el radio del anillo sobre la placa. Un COIP ideal a un tamaño de apertura  $R \rightarrow \infty$ , y por tanto se propaga infinitamente. Cabe señalar que en la práctica existen efectos de difracción sobre la amplitud del campo debido al tamaño finito del anillo y la apertura de la lente.

*Generación de  $J_0$  mediante una placa con un anillo delgado.*

Esta modulación es despreciable dentro de la apertura siempre que  $\Delta a \ll \lambda f/R$ .

Generación de  $J_0$   
mediante un axicón.

Otra manera de generar un  $J_0$  es mediante una lente cónica conocida como *axicón* [26, 39]. 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 2.7. Para calcular el ángulo que los vectores de onda de las ondas planas salientes del axicón forman con el eje óptico se utiliza la óptica geométrica y la aproximación paraxial  $\tan \theta \approx \sin \theta \approx \theta$ . De este modo:

$$\theta_0 \approx (n - 1)\gamma, \quad (2.55)$$

donde  $n_a$  y  $\gamma$  son el índice de refracción y el ángulo interno del axicón, respectivamente.

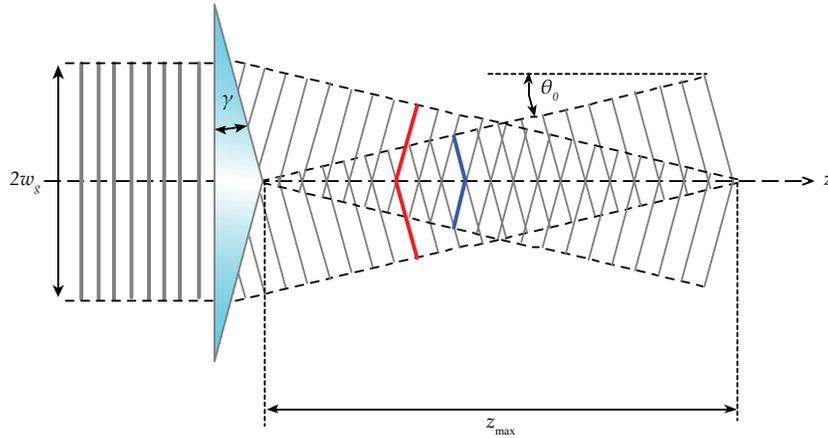


Figura 2.7: Configuración experimental para generar un haz Bessel mediante un axicón de ángulo interno  $\gamma$  (vista lateral, todos los elementos mostrados tienen simetría circular respecto al eje  $z$ ). Un haz de radio  $w_g$  ilumina el axicón. A su salida se forma una zona de interferencia donde se generan frentes de onda cónicos y el haz Bessel. 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. Imagen tomada de la referencia [53].

Con este método, la distancia máxima de propagación (también dada por la óptica geométrica) es:

$$z_{\max} = \frac{w_g}{\tan \theta_0}, \quad (2.56)$$

donde  $w_g$  es el radio del haz que ilumina. Dentro de un régimen de aproximación paraxial, esta distancia es:

$$z_{\max} = \frac{w_g}{(n - 1)\gamma}. \quad (2.57)$$

Cabe enfatizar que la generación mediante el axicón es el método más eficaz para generar el HB, en términos de la potencia total del haz que ilumina. Por otro lado, se ha demostrado que cuando un axicón es iluminado con un haz LG de orden  $l$  y  $p = 0$ , éste genera un haz Bessel de la misma helicidad. Esto es debido al axicón, ya que su forma cónica afecta la fase radial y longitudinal del haz incidente, pero deja la fase azimutal intacta [33].

Para finalizar este capítulo, se mencionan algunos otros métodos de generación de haces Bessel además de la configuración de anillo y el axicón. Por ejemplo, pueden formarse con elementos desarrollados con técnicas fotolitográficas [27], hologramas generados por computadora [51] y utilizando un Modulador Espacial de Luz (SLM).



## Parte II

### SIMULACIONES NUMÉRICAS

En esta parte se presentan y analizan los resultados numéricos obtenidos al simular computacionalmente sistemas ópticos que generan y enfocan un haz Bessel,  $J_0(k_t \rho)$ . El primero de ellos (presentado en el capítulo 3) genera el haz mediante un axicón y después lo enfoca con una lente delgada que simula un objetivo de microscopio; otro (capítulo 4) añade un de telescopio entre el axicón y la lente para amplificar el perfil transversal del haz. El lector interesado puede consultar los detalles técnicos de las simulaciones, así como el código desarrollado en Mat Lab<sup>®</sup> en el apéndice A.



## ANÁLISIS DEL CAMPO PRODUCIDO POR UN HAZ BESSEL ENFOCADO

---

En este capítulo se presentan los resultados de simular un sistema óptico compuesto de un axicón para generar un HB que se enfoca con una lente delgada. En la primera sección se describirán los parámetros que afectan la distribución de intensidad del haz en el foco y alrededor del plano focal de lente. Seguidamente se hará una caracterización detallada del campo, la cuál incluye el análisis de sus dimensiones laterales y axiales, y como dependen éstas de los parámetros de control. Finalmente se explora como la posición de la lente de enfoque afecta de manera global la forma del haz enfocado.

### 3.1 PARÁMETROS DE CONTROL

Se definen como *parámetros de control* a las cantidades que influyen en los resultados obtenidos, en particular en aquellas cantidades que caracterizan el HB enfocado. Es importante distinguir los parámetros de control de aquellos que no lo son, para identificar un método efectivo y ordenado de caracterizar el haz enfocado y obtener resultados congruentes.

Debido a la cantidad de variables involucradas en el sistema, es conveniente identificar su posición y a qué hacen referencia. El sistema (figura 3.1) está formado por un axicón de ángulo interno  $\gamma$  e índice de refracción  $n_a$ , iluminado por un HG de cintura  $w_G$ . Con esta iluminación se genera una luz muy parecida a un HB (sección 2.3), 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.

El interés de la simulación recae en estudiar el campo generado en el foco y alrededor del plano focal del objetivo. Debido a que en esta zona la luz se enfoca en una forma que asemeja una superficie cuyo interior es oscuro, también será usada la expresión *botella de luz* como sinónimo de *haz Bessel enfocado*.

La característica de importancia en la botella de luz es su distribución de intensidad, pues son las cantidades relacionadas a ésta las que son relevantes en un haz de desactivación en la microscopía STED (véase sección 1.3.1.1). El objetivo de la simulación es por tanto hallar los valores de los parámetros de control que permitan la formación de una botella de luz pequeña y de distribución de luz homogénea con el fin de emular la PSF de un haz STED.

*El objetivo de la simulación es hallar los valores de los parámetros de control que optimicen la botella de luz.*

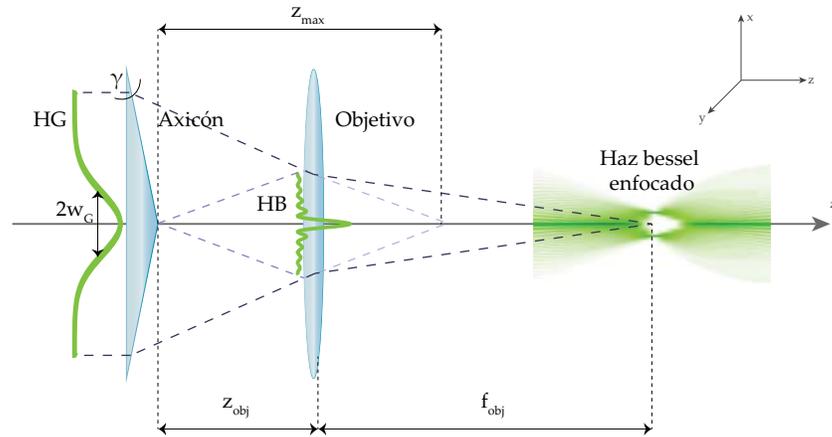


Figura 3.1: Sistema óptico para generar un haz Bessel y enfocarlo. Un axicón de ángulo interno  $\gamma$  iluminado por un HG de cintura  $w_G$  genera una región de luz HB (entre guiones claros) que se enfoca con un objetivo de distancia focal  $f_{obj}$  colocado a una distancia  $z_{obj}$  del axicón. En trazo de guiones oscuros se muestra la trayectoria de los rayos provenientes del HG hasta que éstos son enfocados. La dirección de propagación es el eje  $z$ , alrededor del cual el sistema tiene simetría cilíndrica.

A primera vista parecieran ser muchas las variables en el sistema que afectan el comportamiento de la botella, pero son sólo las cuatro presentadas en la tabla 3.1 las que la alteran de manera significativa.

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

Tabla 3.1: Parámetros de control en el sistema simulado del axicón y el objetivo.

En el desarrollo de las siguientes secciones se justificará la importancia de tales cantidades como parámetros de control al mismo tiempo que se describen sus efectos.

### 3.2 CARACTERIZACIÓN DEL CAMPO PRODUCIDO EN FUNCIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CONTROL

La botella de luz queda caracterizada por las cantidades espaciales y de intensidad mostradas en la tabla 3.2 y señaladas en la figura 3.2. Como el sistema posee simetría de rotación alrededor del eje  $z$ , las magnitudes de las intensidades pueden escribirse como  $I(\rho, z)$ , donde  $\rho = \sqrt{x^2 + y^2}$ .

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.	$I(\rho_0, f_{obj})$
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 3.2: Cantidades características del haz Bessel enfocado en el sistema del axicón.

La referencia para el tamaño lateral de la botella de luz se ha tomado sobre el plano focal de la lente, en donde la botella tiene su mayor anchura. Es además en este plano donde se forma un anillo de luz de radio  $\rho_0$  (ec (2.53)), cuyo grosor es  $d\rho$  (ver figura 3.2).

Para el tamaño axial de la botella se ha tomado como referencia la distancia entre los valores  $z = \zeta_1$  y  $z = \zeta_2$ , definidos como las coordenadas sobre el eje óptico en las que la distribución de intensidad alcanza los máximos  $I(0, \zeta_1)$  e  $I(0, \zeta_2)$ , respectivamente.

En las siguientes dos subsecciones se detallará la caracterización del haz enfocado variando los parámetros de control y estudiando sus efectos en las cantidades características de la botella. Atendiendo al objetivo último perseguido por esta tesis, se ha decidido dividir el estudio en dos secciones: la caracterización lateral y la caracterización axial. A menos que se especifique otra cosa, únicamente se varía el parámetro de control señalado, mientras que el resto permanece constante.

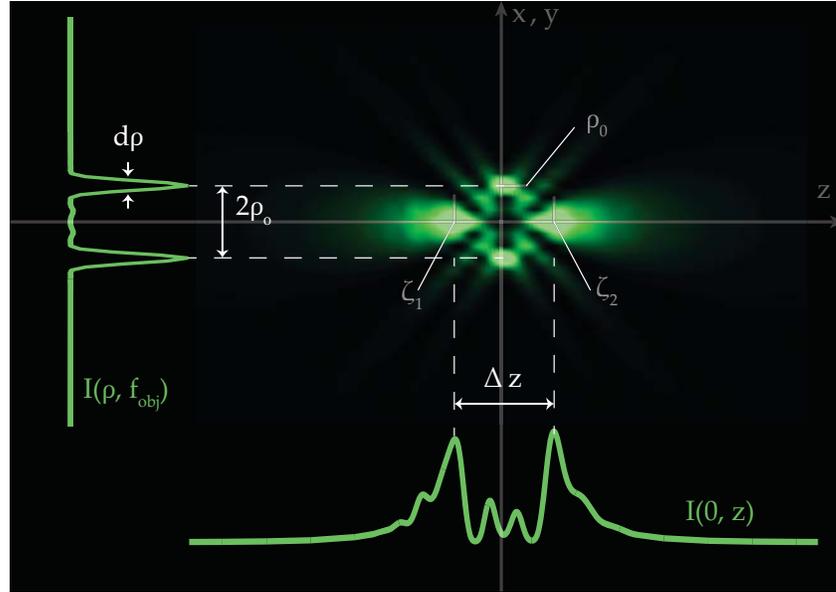


Figura 3.2: Diagrama del haz Bessel enfocado. Se señalan las cantidades que caracterizan la botella de luz. La imagen del haz enfocado corresponde a una simulación.

### 3.2.1 Caracterización lateral

Ya que las dimensiones laterales de la botella están referidas sobre el plano de Fourier del objetivo, se detallará a continuación cómo los parámetros de control afectan las cantidades características ahí, a saber:  $\Delta x$ ,  $d\rho$ , e  $I(\rho_0, f_{obj})$ .

Se empezará describiendo el anillo formado en el plano focal del objetivo. El radio de este anillo viene dado por la ecuación (2.53) de la página 40:

$$\rho_0 = f_{obj} \sin \theta_0,$$

sobre la cual puede aplicarse la aproximación paraxial del ángulo formado por los vectores de onda salientes del axicón con el eje de propagación,  $\theta_0$  (ec (2.55)):

$$\theta_0 \approx (n_a - 1)\gamma,$$

para obtener:

$$\rho_0 = f_{obj}(n_a - 1)\gamma, \quad (3.1)$$

con  $n_a$  el índice de refracción del axicón.

La figura 3.3a muestra imágenes de la botella a lo largo de  $z$  (arriba) y el correspondiente anillo en el plano de Fourier (abajo) para diferentes valores de ángulo interno del axicón, en donde puede confirmarse la relación (3.1). Este comportamiento es aún más claro en la figura 3.3b, donde logra obtenerse un tamaño lateral de  $\Delta x = 65.92\mu\text{m}$  para  $\gamma = 0.2^\circ$ . Para este mismo valor de ángulo se observa un remanente

de luz en el centro de la botella de una intensidad aproximadamente de la mitad del máximo.

*Existe intensidad remanente en el interior de la botella para  $\gamma$  pequeño.*

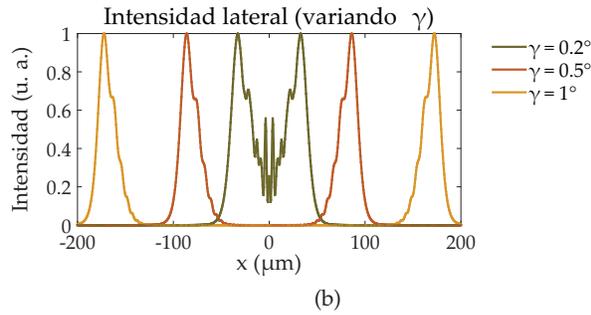
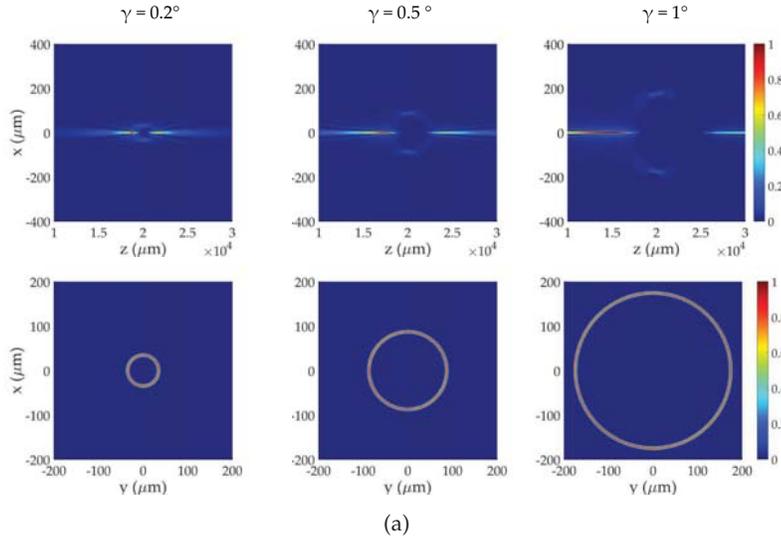


Figura 3.3: Simulaciones de la distribución de intensidad de la botella de luz al variar  $\gamma$ . (a) HB enfocado, variación axial (arriba) y cortes transversales en el plano de Fourier (abajo). (b) Intensidades en el plano de Fourier del objetivo. Para facilidad de comparación cada imagen presentada y las gráficas están normalizadas respecto a su correspondiente máximo. Todas las simulaciones fueron hechas con  $w_G = 1500\mu\text{m}$ ,  $z_{\text{obj}} = 0.55z_{\text{max}}$ ,  $f_{\text{obj}} = 2\text{cm}$  y  $M = 2^{12}$  muestras en una ventana de cómputo de 7.5mm por lado.

Por otra parte, en la parte de abajo de la figura 3.4a se observa que conforme el tamaño del HG crece, el ancho del anillo decrece, manteniéndose los picos de intensidad en la posición indicada por la ec (3.1) (figura 3.4b). Por lo tanto:

$$d\rho \propto \frac{1}{w_G}. \tag{3.2}$$

Este comportamiento se debe a que al incrementar el valor de la cintura del HG, la iluminación que recibe el axicón es más parecida a la de una onda plana. Consecuentemente, la luz a su salida se asemeja

*Iluminar el axicón con una onda plana produce un anillo muy delgado.*

más a la de un HB ideal, cuya transformada de Fourier es un anillo de grosor infinitesimal (subsección 2.2.3).

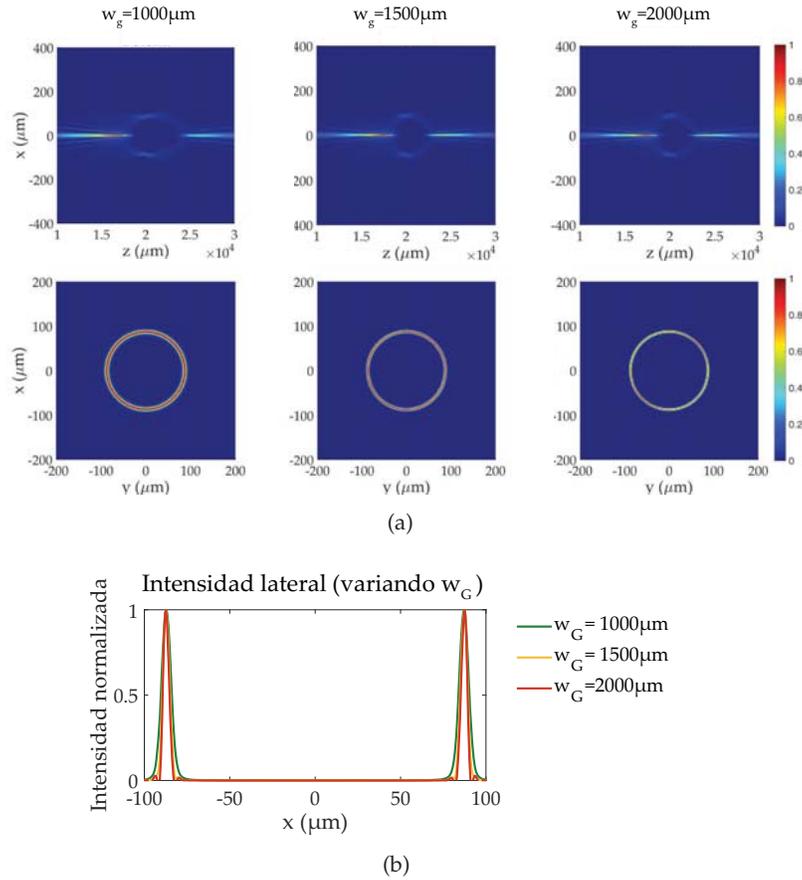


Figura 3.4: Simulaciones de la distribución de intensidad de la botella de luz al variar  $w_G$ . (a) HB enfocado, variación axial (arriba), anillo de luz en el plano de Fourier (abajo). (b) perfiles de intensidad en el plano de Fourier. Para facilidad de comparación, todas las imágenes mostradas y gráficas están normalizadas respecto a su máximo correspondiente. Todas las simulaciones fueron hechas con  $\gamma = 0.5^\circ$ ,  $z_{\text{obj}} = 0.55z_{\text{max}}$ ,  $f_{\text{obj}} = 2\text{cm}$  y  $M = 2^{12}$  muestras en una ventana de cómputo de 7.5mm por lado en los primeros dos casos, y de 10mm en el último.

En la primera fila de la figura 3.4a se aprecia otro cambio: la variación de  $w_G$  afecta también la morfología general de la botella. Pueden apreciarse ligeros cambios tanto en la magnitud de intensidad en ambas direcciones como en su tamaño axial (se estrecha en valores grandes de  $w_G$ ).

Aunque la relación analítica de proporcionalidad entre  $d\rho$  y  $w_G$  es desconocida, este comportamiento confirma también la importancia de  $w_G$  como un parámetro de control.

Además de afectar la distribución espacial de la botella,  $\gamma$  y  $w_G$  tienen efectos importantes en la magnitud de su intensidad. De hecho

ésta aumenta y hace que el haz enfocado se vea más homogéneo conforme  $w_G$  crece y  $\gamma$  decrece. Las figuras 3.5 y 3.6 son perfiles de intensidad en el plano de Fourier del objetivo que comparan las magnitudes absolutas de intensidad de las botellas de luz simuladas en las figuras 3.4 y 3.3, respectivamente.

*Una botella más homogénea se logra con  $w_G$  y  $\gamma$  pequeñas.*

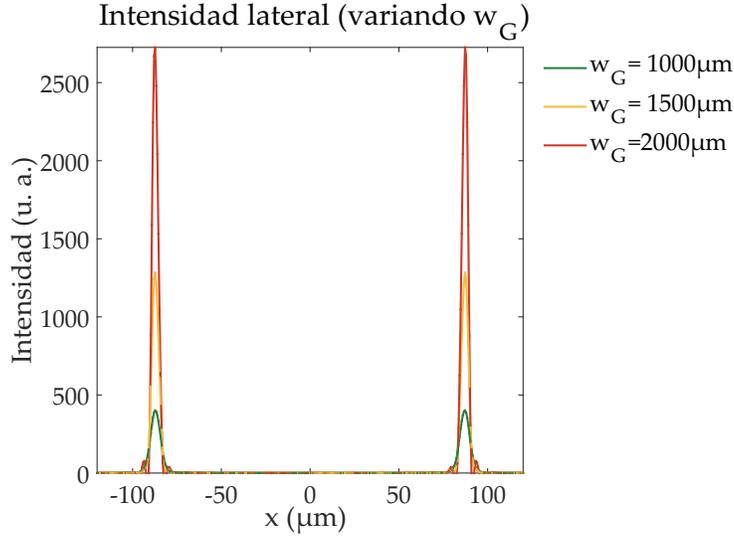


Figura 3.5: Comparación de intensidades en el plano de Fourier del objetivo para diferentes valores de  $w_G$ . Gráficas obtenidas de la simulación de la figura 3.4.

A partir del comportamiento mostrado en las gráficas pueden concluirse la siguientes relaciones:

$$I(\rho_0, f_{\text{obj}}) \propto w_G \quad (3.3)$$

$$I(\rho_0, f_{\text{obj}}) \propto \frac{1}{\gamma}. \quad (3.4)$$

### 3.2.2 Caracterización axial

Las tres cantidades de la tabla 3.2 que caracterizan a la botella de luz en esta dirección se encuentran definidas sobre el eje de propagación: el tamaño axial  $\Delta z$  y las intensidades  $I(0, \zeta_1)$  e  $I(0, \zeta_2)$ . En gran medida, el comportamiento de estas cantidades queda gobernado por los parámetros de control:  $\gamma$  y  $w_G$ .

La figura 3.7 compara las intensidades sobre el eje axial para tres diferentes valores de  $\gamma$  (los mismos de la subsección anterior). En cuanto a la distribución espacial, es fácil ver que:

$$\Delta z \propto \frac{1}{\gamma} \quad (3.5)$$

La distribución de intensidad como función de  $\gamma$  merece una descripción más detallada. Es notorio que un menor ángulo interno del

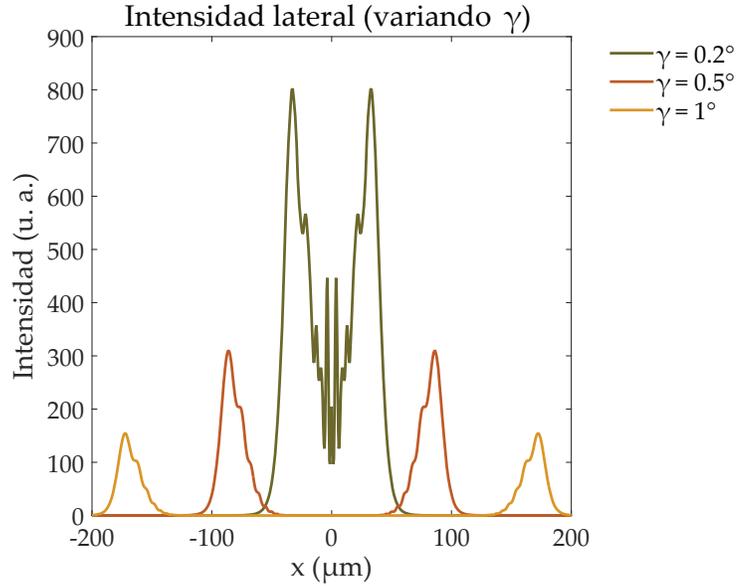


Figura 3.6: Comparación de intensidades en el plano de Fourier del objetivo para diferentes valores de  $\gamma$ . Gráficas obtenidas de la simulación de la figura 3.3.

*Disminuir  $\gamma$   
concentra más luz  
hacia el plano focal.*

axición, va acompañado de una distribución de intensidad con valores pico mayores y que decrecen más rápidamente hacia los extremos, que para valores mayores de  $\gamma$ . Esto significa que una mayor cantidad de luz proveniente del HB constituye el cuerpo de la botella, pues se concentra en una zona más cercana al plano focal del objetivo. De lo anterior se concluye que:

$$I(0, \zeta_1), I(0, \zeta_2) \propto \frac{1}{\gamma}. \quad (3.6)$$

Es importante notar que en el centro de todas las curvas de la figura 3.7 se alcanzan valores de intensidad muy cercanos a cero (como los también mostrados en las figuras 3.3b y 3.6 para  $\gamma = 0.5^\circ, 1^\circ$ ), lo cual es una característica deseable en un PSF destinada a ser un haz de desactivación STED. No obstante, el que hubiese luz en estas regiones (como para  $\gamma = 0.2^\circ$ ) no representa un problema mayor que el de cuidar que su valor de intensidad no sobrepase el umbral para el cual se induce la desactivación de los fluoróforos (véase subsección 1.3.1.1 de la página 23).

Como se adelantó en la sección anterior, la botella se encoge ligeramente cuando el parámetro de control  $w_G$  crece. Este cambio puede apreciarse en la figura 3.8, correspondiente a la comparación de los perfiles de intensidad axial de la simulación descrita en la figura 3.4.

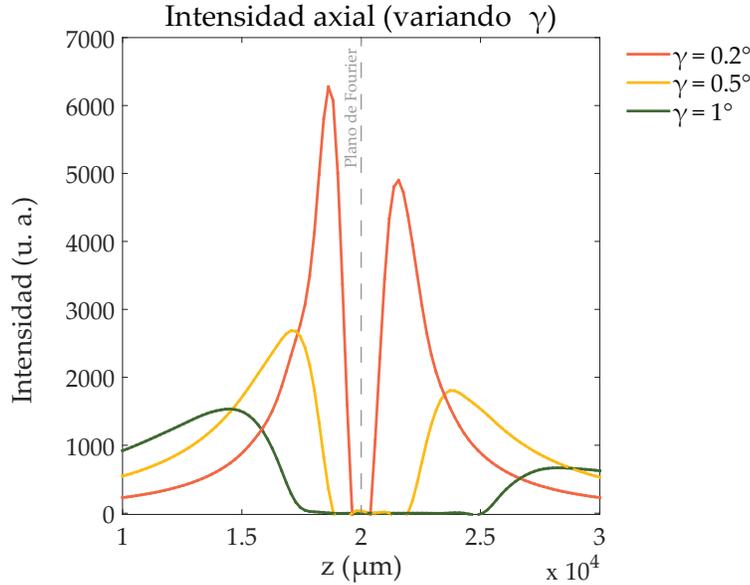


Figura 3.7: Comparación de intensidades en el eje axial del haz enfocado para diferentes valores de  $\gamma$ . Gráficas obtenidas de la simulación de la figura 3.3. La intensidad aumenta con  $\gamma$  pequeños, y la distancia entre picos decrece.

La figura exhibe también que cuando el tamaño del haz de iluminación aumenta, lo hace también el valor de la intensidad. Es decir:

$$I(0, \zeta_1), I(0, \zeta_2) \propto w_G. \quad (3.7)$$

En base a lo descrito en el párrafo anterior, conviene puntualizar que aunque al aumentar  $w_G$  la intensidad crece, es más efectivo disminuir  $\gamma$ , porque además de que con ello la intensidad crece, más luz se concentra en la botella, con el beneficio adicional de reducir  $\Delta z$ .

*Disminuir  $\gamma$  tiene un gran peso en la optimización de la botella.*

### 3.3 POSICIÓN DE LA LENTE DE ENFOQUE

Hasta ahora se ha descrito la manera en que cuatro parámetros de la tabla 3.1 afectan la botella de luz. A continuación será descrito el notorio efecto que tiene el último parámetro,  $z_{\text{obj}}$ , al enfocar el haz .

La extensión de la *región de formación HB* a la salida del axicón queda descrita por la ecuación (2.57) de la página 42:

$$z_{\text{max}} = \frac{w_G}{(n_a - 1)\gamma}.$$

No obstante, la simulación muestra que esta región se extiende más allá de, incluso,  $2z_{\text{max}}$  (figura 3.9a). Más aún, esta región no se extiende con la geometría de rombo regular, sino más bien de un romboide cuyo eje menor se contrae para valores pequeños de  $\gamma$  (figura 3.9b).

*La región de formación HB se extiende más allá de lo señalado por la óptica geométrica.*

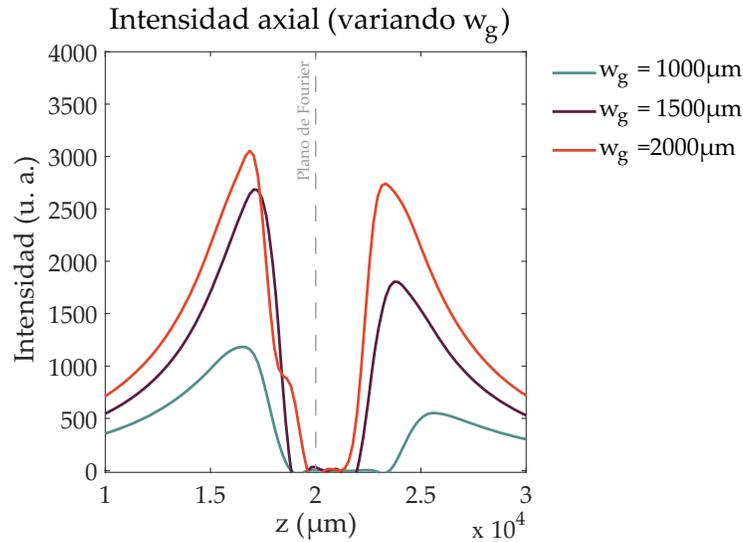


Figura 3.8: Comparación de intensidades en el eje axial del haz enfocado para diferentes valores de  $w_G$ . Gráficas obtenidas de la simulación de la figura 3.4.

La figura 3.9c muestra el perfil transversal en diferentes posiciones de la curva mostrada en (a) para el caso  $\gamma = 0.5^\circ$ . Se aprecia como el haz Bessel conserva su estructura (véase 2.2.1) al menos hasta una distancia desde el axicón de  $z_{\text{max}}$  y como ésta va perdiendo su calidad conforme se acerca a  $2z_{\text{max}}$ .

Debido a la longitud de la región de formación Bessel, resulta de interés explorar el resultado de enfocar el haz en distintos puntos a lo largo de su extensión. De esta forma la botella de luz será formada a partir de haces Bessel de diferentes intensidades y, en menor parte, calidades. Para no perder de vista la información brindada por la óptica geométrica y representar una referencia apropiada, las distancias a las que se colocará la lente enfocante para realizar esta exploración estarán dadas en múltiplos de  $z_{\text{max}}$ .

Los resultados de enfocar el HB al explorar la región antes descrita están resumidos en la figura 3.10 para el caso de  $\gamma = 0.5^\circ$ , aunque un comportamiento prácticamente idéntico también se obtuvo para ángulos internos de axicón de  $0.2^\circ$  y  $1.0^\circ$ . En (a) se aprecia como la distribución de intensidad depende fuertemente de la posición a la que se coloque el objetivo. Conforme éste se coloca a una distancia cada vez más alejada del axicón, una mayor concentración luz se mueve en la misma dirección, hasta llegar al caso extremo donde la geometría de la botella desaparece en distancias cercanas a  $2z_{\text{max}}$ . Este peculiar comportamiento de desplazamiento de luz conforme también

*La luz en la botella se carga hacia la izquierda o derecha dependiendo de  $z_{\text{obj}}$ .*

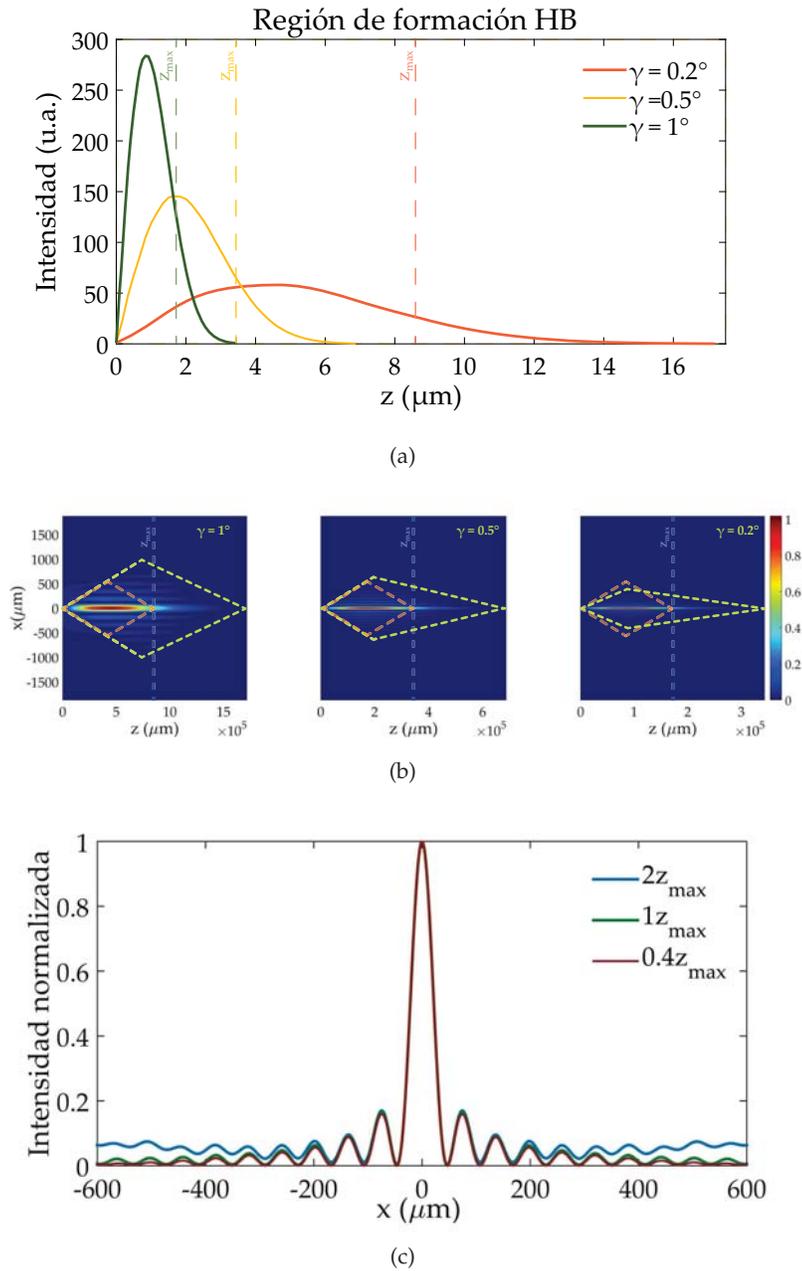


Figura 3.9: Regiones de formación HB para diferentes  $\gamma$ . (a) perfiles de intensidad axial a lo largo de la región de formación HB. (b) región estimada de formación HB. Se muestra con guiones naranja una aproximación de la región de formación HB prevista por la óptica geométrica y en amarillo una estimación de la región obtenida en la simulación. (c) perfil de intensidad transversal del HB a distintas distancias del axicón para  $\gamma = 0.5^\circ$ . Las figuras en (b) y las gráficas en (c) están normalizadas respecto a su máximo para facilitar la comparación.

se desplaza el objetivo puede apreciarse cuantitativamente en los perfiles de intensidad axial mostrados en (c).

La dependencia de la morfología de la botella con  $z_{\text{obj}}$  no afecta únicamente el ámbito de la intensidad, sino que también el de sus dimensiones espaciales. Un cambio, tanto en  $\rho_0$  como  $\Delta z$  es apreciable. Cuando  $z_{\text{obj}}$  crece, el radio del anillo en el plano de Fourier también lo hace; contrariamente la dimensión axial de la botella disminuye.

Por otra parte, es una característica deseable del haz enfocado que su distribución de intensidad lateral y axial sea lo más homogénea posible, tanto en magnitud como en simetría. Ya que el sistema tiene simetría cilíndrica (figura 3.1) la intensidad lateral también la tiene respecto a su centro, pero no ocurre lo mismo en la dirección axial.

Una manera de caracterizar la simetría de la intensidad axial es hallar el cociente del valor de intensidad pico mayor con el valor de intensidad pico menor, es decir:

$$I(\zeta_1)/I(\zeta_2) \text{ o } I(\zeta_1)/I(\zeta_2). \quad (3.8)$$

Así el cociente vale 1 cuando los picos son del mismo valor y tiende a 0 conforme más difieren.

Con las simulaciones se encontró que valores de  $I(0, \zeta_1)/I(0, \zeta_2)$  cercanos a 1 resultan de colocar el objetivo en una posición  $z_{\text{opt}}$  tal que:

$$0.5z_{\text{max}} \leq z_{\text{opt}} \leq 0.6z_{\text{max}}, \quad (3.9)$$

para cualquier ángulo  $\gamma$ . En particular para el caso mostrado en la figura 3.10 (c), este valor es de  $I(0, \zeta_1)/I(0, \zeta_2) = 0.95$  con  $z_{\text{obj}} = 0.6z_{\text{max}}$ .

Finalmente, se hace notar que los valores de intensidad absolutos en ambas direcciones difieren en más de un orden de magnitud. Esto complica la definición una intensidad de desactivación, pues ésta se vería limitada siendo a lo más el valor pico de la intensidad en el plano de Fourier  $I(\rho_0, f_{\text{obj}})$ , lo cual supone una dificultad ya que un haz de desactivación requiere de intensidades altas. Una solución a este problema es abordada en el próximo capítulo como efecto colateral de intentar disminuir la luz remanente en el centro de la botella al tratar con ángulos internos de axición pequeños.

*Posición óptima de la lente objetivo.*

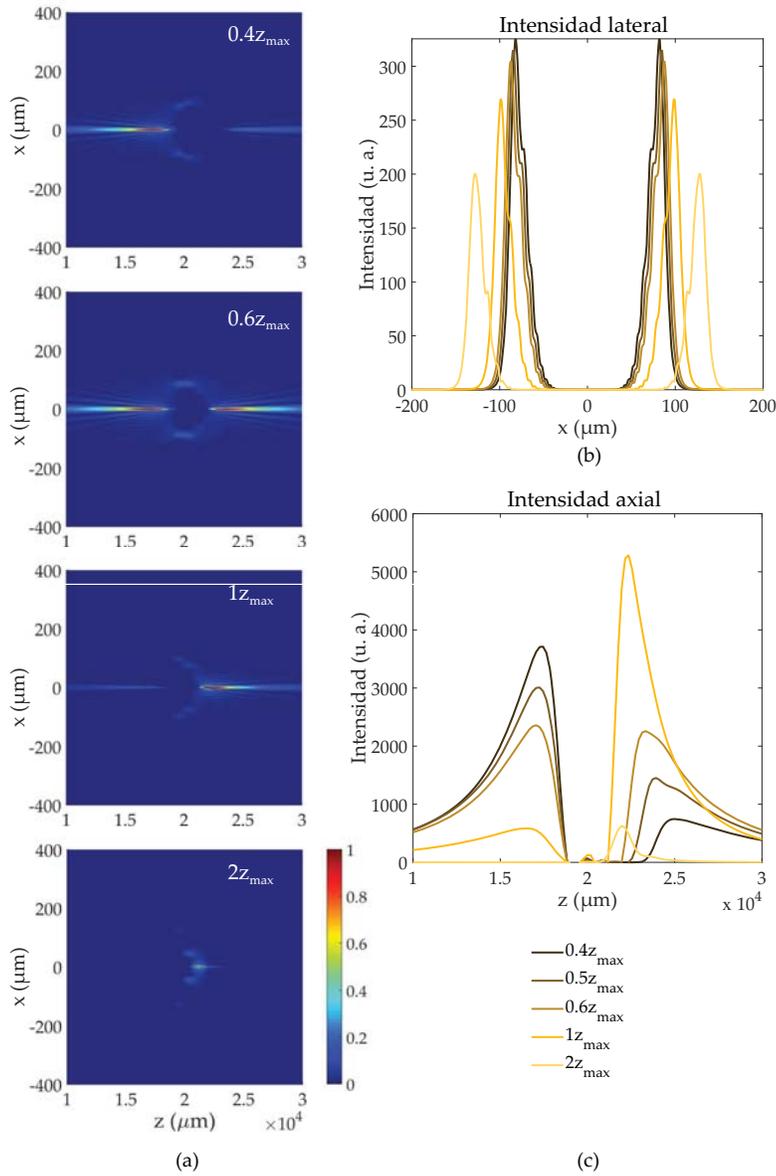


Figura 3.10: Simulaciones de la distribución de intensidad de la botella de luz al variar  $z_{\text{obj}}$ . En (a) HB enfocado desde diferentes posiciones del objetivo. (b) Perfiles de intensidad en el plano de Fourier. (c) perfiles de intensidad axial. Simulaciones hechas con  $w_G = 1500\mu\text{m}$ ,  $f_{\text{obj}} = 2\text{cm}$  y  $M = 2^{12}$  muestras en una ventana de cómputo de 7.5mm por lado.



## SISTEMA DE AXICÓN Y TELESCOPIO

Los resultados del capítulo 3 sugieren que las características del HB enfocado mejoran con la variación de  $w_g$  y  $\gamma$ , aunque todavía se encuentran lejos de poseer las características deseadas de un haz STED. Particularmente, la calidad de la botella de luz mejora sustancialmente con  $\gamma$  pequeños (menores a  $0.5^\circ$ ). En la práctica no existen axicones de tales ángulos, por lo que es necesario encontrar la manera de acceder a los valores efectivos de  $\gamma$  requeridos<sup>1</sup>.

En este capítulo se estudia la adición de un telescopio en el sistema de propagación como solución al problema mencionado. Posteriormente se encuentra la equivalencia de este nuevo sistema con uno que no tiene telescopio, pero que está caracterizado por valores efectivos. Esta equivalencia resulta conveniente en términos de eficiencia computacional y trabajo experimental.

Hacia la parte final del capítulo se estudia el efecto de la introducción de un diafragma para controlar la luz incidente en el objetivo y que conlleva mejoras sustanciales en la morfología de la botella.

### 4.1 MAGNIFICACIÓN DE UN HAZ BESSEL POR UN TELESCOPIO: NUEVOS PARÁMETROS DE CONTROL Y ANÁLISIS NUMÉRICO

Resulta de utilidad volver la atención al HB y explorar los efectos que tendría su magnificación. El haz será descrito en función del radio de su lóbulo central,  $\rho_B$ , caracterizado a su vez por  $a_1$ : el valor del argumento de la función  $J_0(k_t \rho)$  en donde ésta tiene su primer cero (a saber: 2.4048 [1]). Entonces:

$$\begin{aligned}\rho_B &= \frac{a_1}{k_t} \\ &= \frac{a_1}{k \sin \theta_0} \\ &= \frac{a_1 \lambda}{2\pi \sin \theta_0},\end{aligned}$$

Al hacer la aproximación de la Ec. (2.55) de la página 42 se obtiene:

$$\rho_B = \frac{a_1 \lambda}{2\pi(n_a - 1)\gamma}. \quad (4.1)$$

Es decir, con valores pequeños de  $\gamma$ , se obtienen haces Bessel más anchos (figura 4.1). Más aún, ya que  $\gamma$  es proporcional al tamaño

<sup>1</sup> Una alternativa es la generación de axicones deseados con un SLM. Aunque pausable, su precio y manejo en comparación con los de un axicón, alejan esta opción de una posible aplicación práctica.

lateral de la botella (Ec. (3.1) de la página 50), puede concluirse de (4.1), que entre más ancho sea el HB, la botella que resulte de enfocararlo será más angosta lateralmente<sup>2</sup>.

*A  $\gamma$  pequeños corresponden HB más anchos.*

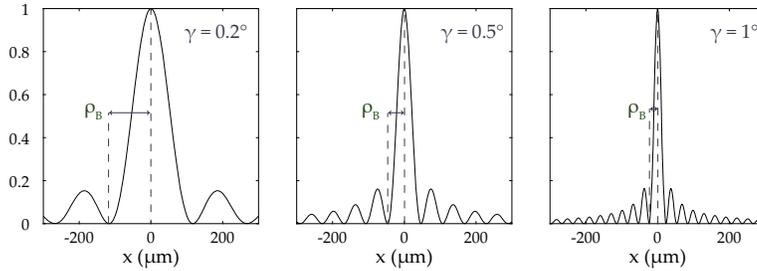


Figura 4.1: Variación del ancho del haz Bessel en función del tamaño del ángulo interno del axicón.

Este hecho motiva la implementación de un método para ensanchar el HB saliente del axicón. La forma más directa de conseguirlo es colocando un arreglo de telescopio de magnificación lateral<sup>3</sup>:

$$m_L = \frac{f_2}{f_1}, \tag{4.2}$$

entre el axicón y la lente objetivo. Este esquema se muestra en la figura 4.2.

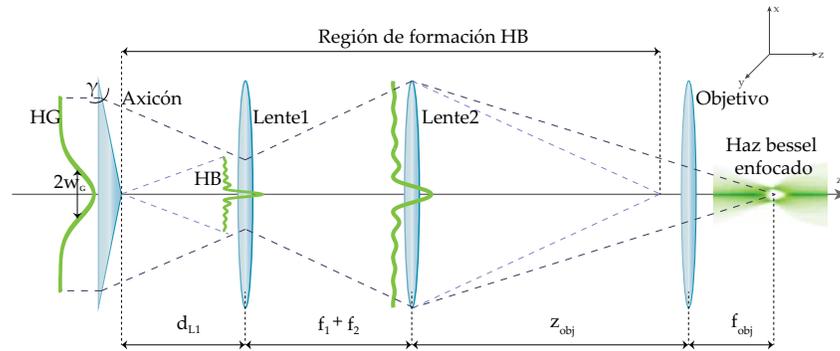


Figura 4.2: Sistema óptico simulado para generar un haz Bessel, ensancharlo y enfocararlo. Al implementar un telescopio, además de ensanchar lateralmente el HB, la región donde se forma también se extiende (ilustrada entre guiones claros).

Al simular un sistema con dos lentes más, tres parámetros de control se añaden a los ya conocidos:  $d_{L1}$ ,  $f_1$  y  $f_2$  (véase tabla 4.1).

<sup>2</sup> Esto es consecuencia de la transformada de Fourier.  
<sup>3</sup> Debido a la simetría cilíndrica del sistema y porque no interfiere en el análisis presentado, se omitirá el signo "—" en la definición de  $m_L$ , pues solo hace referencia a la inversión de la imagen resultante del telescopio.

CANTIDAD	SÍMBOLO
Ángulo interno del axicón.	$\gamma$
Cintura del HB que ilumina el axicón.	$w_g$
Posición del objetivo respecto a la segunda lente del telescopio.	$z_{obj}$
Distancia focal del objetivo.	$f_{obj}$
Distancia focal de la lente <sub>1</sub> del telescopio.	$f_1$
Distancia focal de la lente 2 del telescopio.	$f_2$
Posición de la lente <sub>1</sub> del telescopio respecto al axicón.	$d_{L1}$

Tabla 4.1: Parámetros de control en el sistema simulado del axicón con telescopio.

La descripción del tamaño lateral del HB magnificado es sencilla, pues esta viene dada por la expresión:

$$\rho_B^{eff} = m_L \rho_B. \quad (4.3)$$

Por otro lado, la descripción del HB en la dirección axial es compleja, pues los nuevos parámetros de control juegan papeles relevantes que serán estudiados a continuación.

Como una imagen ilustrativa, se muestra en la figura 4.3 el efecto deseado sobre el haz.

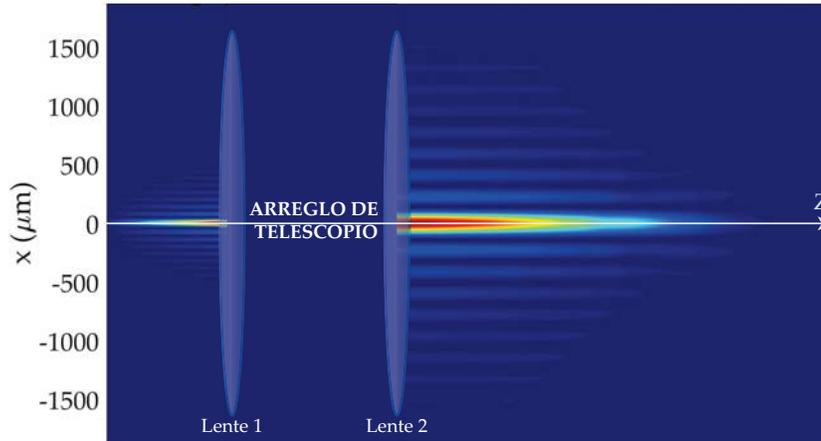


Figura 4.3: Ilustración de la propagación del HB a través de un telescopio. A la izquierda de la primera lente, la propagación saliente de un axicón con  $\gamma = 0.5^\circ$  hasta una distancia  $d_{L1} = 0.55z_{max}$ . A la derecha de la segunda lente, la propagación del HB hasta una distancia que permita apreciar su extensión. Imagen compuesta de una simulación con  $m_L = 2.5$ .

#### 4.1.1 Magnificación axial del haz Bessel

Debe tenerse claro que la estructura y extensión de la curva de intensidad axial del haz a la salida del telescopio es desconocida. La única parte que se tiene caracterizada en estructura, intensidad y extensión, es la región de formación HB anterior al telescopio (sección 3.3). Es por ello que las observaciones y resultados descritos a continuación se orientan a caracterizar el haz a la salida de éste.

La primera característica a notar es que el perfil de intensidad a la salida de la segunda lente del telescopio (en adelante, *perfil posterior*) se encuentra una especie de continuación del perfil de intensidad que va del axicón a la primera lente (en adelante, *perfil anterior*). Véase la figura 4.4a.

El perfil posterior se extiende una distancia mucho mayor que la que se habría de extender la sección homóloga del perfil anterior si no existiese telescopio. Consecuentemente, el valor máximo que alcanza es menor.

El HB saliente del telescopio es una "continuación corrida" de la sección homóloga a la que éste tendría sin el telescopio.

Pese a la similitud, calificar al perfil posterior como "continuación" del perfil anterior es incorrecto, porque su forma no corresponde con exactitud al de ésta. Esto es, el punto de inicio del perfil posterior no corresponde al punto final del perfil anterior al telescopio, sino más bien, pareciera corresponder a un punto anterior al final.

El lector puede convencerse de esto al observar el resto de las gráficas de la figura 4.4, donde se varía la posición de la primera lente del telescopio ( $d_{L1}$ ) utilizando dos magnificaciones laterales. Sin importar la magnitud de estos dos valores, esta característica de *corrimiento* se manifiesta.

El corrimiento tampoco se relaciona con la distancia,  $f_1 + f_2$ , entre las lentes del telescopio, como se aprecia en la figura 4.5, donde el perfil posterior correspondiente a una magnificación  $m_L = 1.5$  se mantiene prácticamente con la misma forma independientemente de las distancias focales con las que se consiga dicha magnificación.

En la figura 4.6 se muestran en trazo continuo los perfiles de intensidad anteriores, mientras que los posteriores a un telescopio con  $m_L = 1.33$ , se muestran con guiones. Es fácil darse cuenta que los tres perfiles posteriores no se sobrepone. Esto lleva a la conclusión de que en realidad, no existe una única curva de intensidad que, para una magnificación dada, describa el HB a la salida del telescopio, sino más bien, existen múltiples curvas dependientes del parámetro de control  $d_{L1}$ . Obviamente, como también se aprecia en las figuras 4.4b, 4.4c, y 4.4d, estas curvas también son dependientes del valor  $m_L$  (y por tanto de los parámetros de control  $f_1$  y  $f_2$ ). Por tanto:

$$I_{\text{Posterior al telescopio}} = I_{\text{Posterior al telescopio}}(d_{L1}, m_L) \quad (4.4)$$

Como el perfil posterior al telescopio es algo muy parecido a la sección homóloga que continuaría del perfil anterior, y pensando en

El perfil de intensidad axial a la salida del telescopio, depende de la posición y la magnificación que tenga.

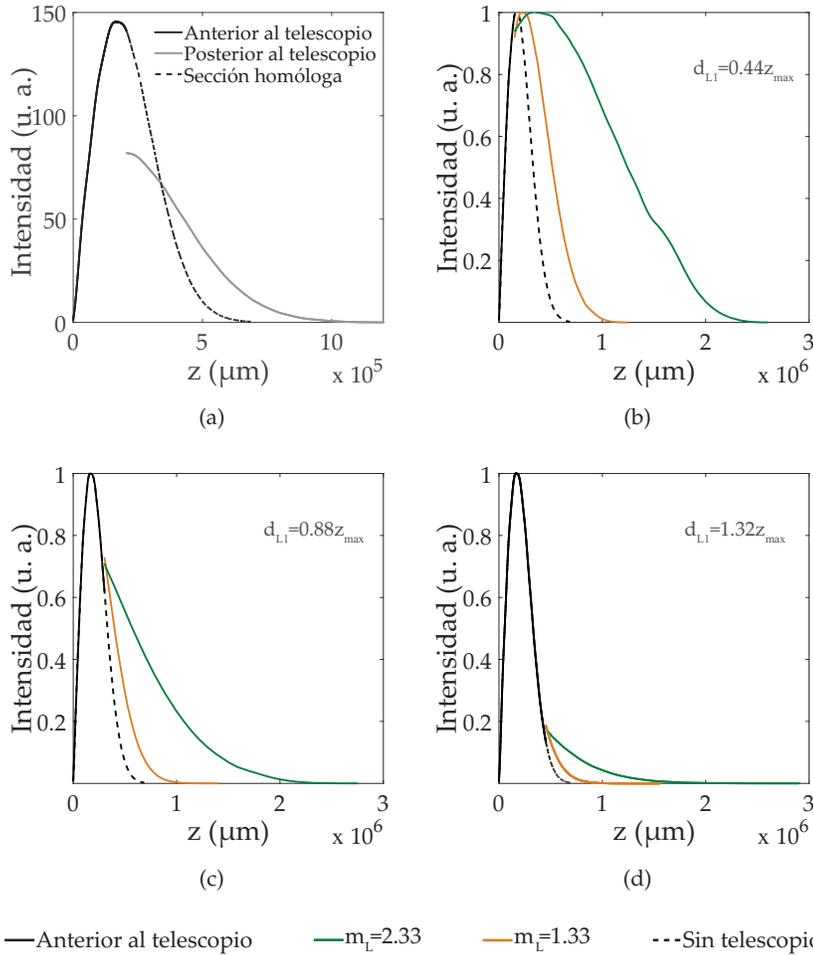


Figura 4.4: Perfiles axiales de intensidad a la salida del telescopio variando  $d_{L1}$ . En (a) el perfil de intensidad de la propagación anterior y posterior al telescopio en valores absolutos, para  $d_{L1} = 0.5z_{\max}$ . En (b), (c) y (d), se aprecia un aparente corrimiento del punto de continuación del perfil posterior, para diferentes posiciones de la lente 1, con dos valores de  $m_L$ . Nótese que los perfiles posteriores al telescopio se extienden distancias del orden de metros.

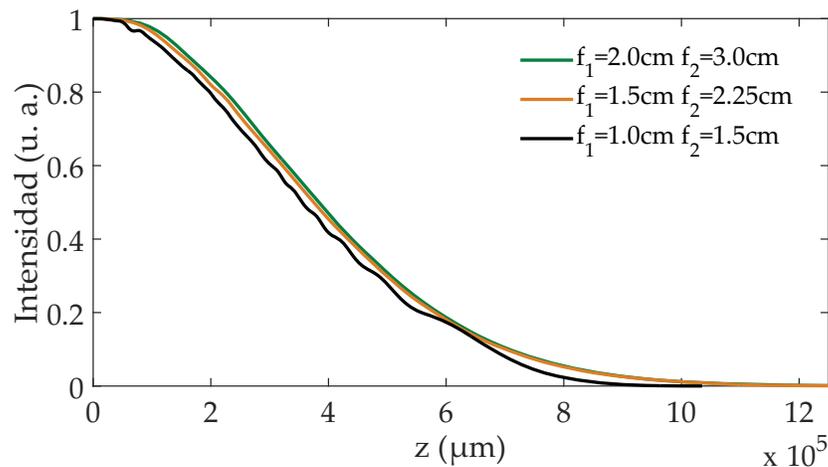


Figura 4.5: Perfil de intensidad axial posterior al telescopio de magnificación  $m_L = 1.5$  variando  $f_1$  y  $f_2$ . Simulación hecha para  $d_{L1} = 0.55z_{\text{max}}$

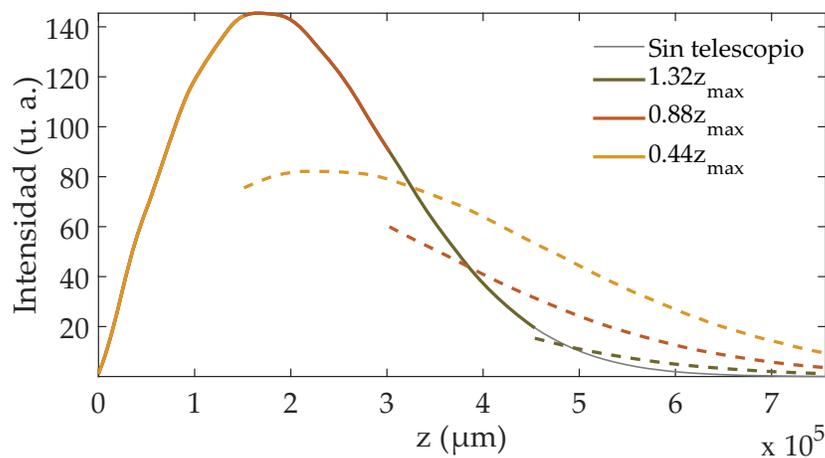


Figura 4.6: Comparación de perfiles axiales de intensidad posteriores al telescopio, para diferentes  $d_{L1}$ , con el perfil anterior. Los trazos continuos forman el perfil correspondiente a la propagación entera del HB sin telescopio. Los trazos con guiones muestran el perfil posterior correspondiente a diferentes  $d_{L1}$  (identificados con el mismo color para ambos tipos de línea). Gráficas generadas de una simulación con  $\gamma = 0.5^\circ$  y  $m_L = 1.33$ .

que el corrimiento presentado es constante, podría intentarse caracterizar pensándolo como éste último magnificado por un factor de magnificación axial,  $m_A$ , tal que:

$$m_A \equiv \frac{CT}{ST} = \frac{\text{longitud del perfil posterior al telescopio}}{\text{longitud de la sección homóloga sin telescopio}}, \quad (4.5)$$

esto es, el cociente de la longitud de la línea gris y la línea punteada de la figura 4.4a.

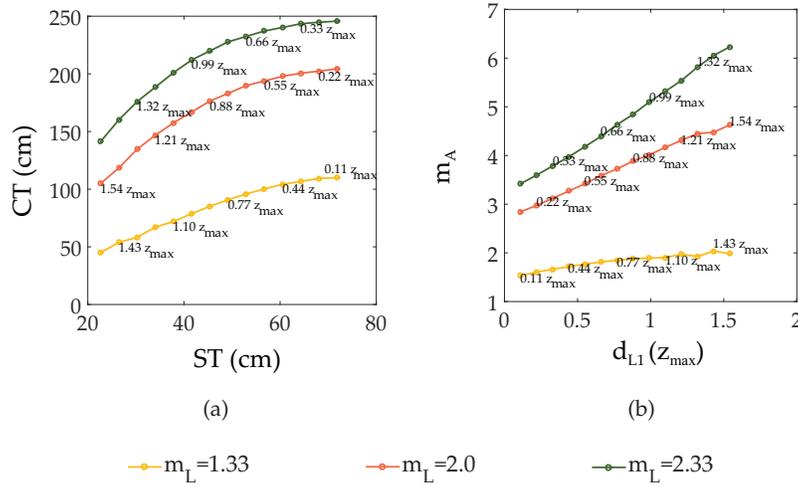


Figura 4.7: Magnificación axial en función de la posición de la primera lente del telescopio:  $m_A$  vs  $d_{L1}$ . En (a) un intento por obtener la intensidad axial como pendiente de la recta esperada de acuerdo a (4.5). En (b) se ilustra la dependencia de  $m_A$  con respecto a  $d_{L1}$  y  $m_L$ . Las etiquetas señalan la posición  $d_{L1}$ . Gráficas hechas con base en simulaciones de sistemas de axición-telescopio con  $\gamma = 0.5^\circ$ .

Cabría esperar que el cociente 4.5 fuera constante, y que por tanto la curva  $CT = CT(ST)$  (figura 4.7a) fuera una recta de pendiente  $m_A$ , pero esto no es así. Más bien, la magnificación axial cambia en función de donde se coloque la primera lente del telescopio (figura 4.7b), además de la magnificación lateral que éste tenga.

La importancia de caracterizar el haz a la salida del telescopio recae en reconocer en éste la posición a la cuál habría de colocarse la lente enfocante para generar una botella de luz óptima (análogo a lo hecho en la sección 3.3). Esta caracterización se intenta hacer mediante el parámetro  $m_A$  (ecuación 4.5). Sin embargo, debido a que  $m_A$  es diferente para cada  $d_{L1}$ , podría suponerse conveniente hacer un último intento de caracterización dirigido a un caso particular.

Aprovechando el fenómeno de corrimiento antes mencionado y la cota inferior de posición óptima para colocar la lente de enfoque del HB (Ec. (3.9) de la página 58), una posición útil para continuar el análisis es  $d_{L1} = 0.55z_{max}$ .

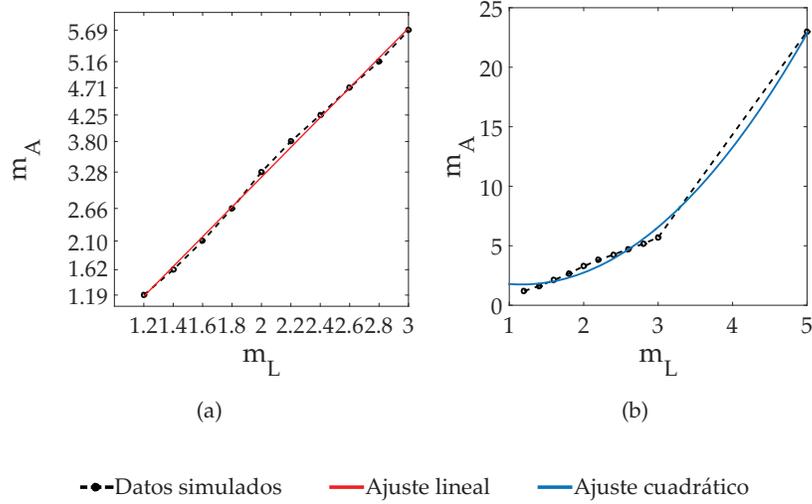


Figura 4.8: Comportamiento de  $m_A$  para el caso particular de  $\gamma = 0.5^\circ$  con  $d_{L1} = 0.88z_{\max}$ . En (a) se señalan  $m_L \leq 3$ , en (b)  $m_L \leq 5$ .

En la figura 4.8 se muestran los valores calculados de  $m_A$  para 10 sistemas simulados, como función de  $m_L$ . En 4.8a se aprecia que esta dependencia pareciera ser lineal con valores de  $m_L$  de hasta 3, pero la correlación cambia si se intenta con valores de  $m_L$  superiores (figura 4.8b), dejando este último intento de caracterización como una tarea todavía más compleja y laboriosa.

Aunque podría ser muy útil para los propósitos de esta tesis, se omite la tarea de conocer la forma analítica de  $m_A$ . Basta con señalar que, si pudiera definirse una magnificación axial para las situaciones simuladas, ésta sería tal que:

$$m_A = m_A(d_{L1}, m_L). \quad (4.6)$$

Como se estudiará en la sección siguiente, esfuerzos en otras direcciones pueden ser hechos para evitar las complicaciones que surgen de no conocer en su totalidad el HB a la salida del telescopio.

#### 4.2 COMPARACIÓN CON UN SISTEMA EQUIVALENTE

Reconsiderése la Ec. (4.1), donde el tamaño del HB (sin telescopio),  $\rho_B$ , está en función del valor  $\gamma$  que tiene el axicón que se posee. Como al introducir el telescopio se cambia  $\rho_B$  por un valor  $\rho_B^{\text{eff}}$  que puede controlarse a través de  $m_L$  (Ec. (4.3)), (4.1) puede reinterpretarse, esta vez poniendo al ángulo interno del axicón como variable dependiente del ancho efectivo del HB:

$$\gamma^{\text{eff}} = \frac{\alpha_1 \lambda}{2\pi(n_a - 1)\rho_B^{\text{eff}}}. \quad (4.7)$$

Es decir, si se quisiera un ancho de HB en particular ¿qué ángulo interno de axicón,  $\gamma^{\text{eff}}$ , lo generaría?

Debe prestarse atención a las sutilezas del razonamiento anterior. La Ec. (4.7) define el ángulo efectivo de un axicón que generaría un HB deseado, pero lo hace en un sistema que no posee telescopio, sino solamente axicón (como el de la figura 2.7). Se define este sistema como un *sistema equivalente* al sistema de axicón-telescopio.

Para fortalecer la validez de un sistema equivalente, habría que corroborar que ambos sistemas se comportan de manera similar. En la figura 4.9 se muestra la gráfica de  $\gamma$  en función del ancho de HB que generarían sistemas conformados únicamente del axicón. Superpuestos en círculos rojos, se encuentran los valores de anchos de HB de 12 sistemas axicón-telescopio simulados, cada uno con diferente magnificación lateral.

Esta gráfica demuestra dos importantes hechos: el primero de ellos es que, en efecto, los sistemas con telescopio siguen el modelo paraxial que gobierna los sistemas que solo tienen axicón; y el segundo, es que a cada sistema con telescopio le corresponde un sistema equivalente con un valor  $\gamma^{\text{eff}}$  que depende de la magnificación lateral que tengan.

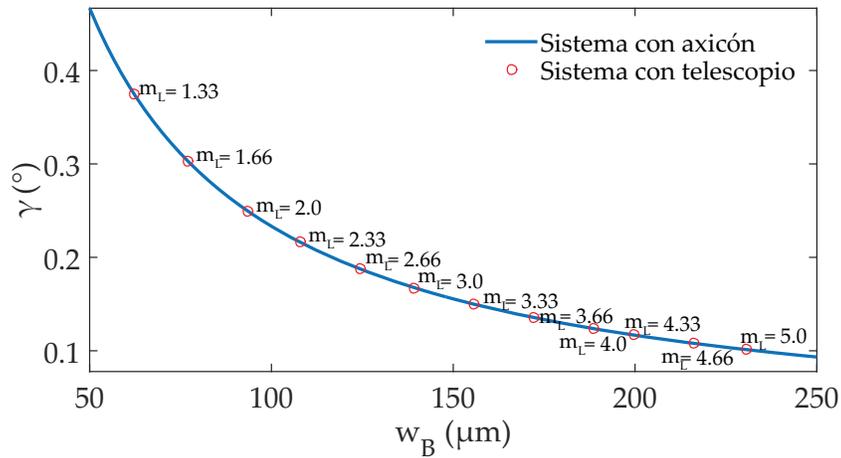


Figura 4.9: Ancho de Bessel en función del ángulo interno del axicón:  $w_B$  vs  $\gamma$ , correspondencia de una  $m_L$  para cada valor de  $\gamma$ .

Teniendo presente lo anterior, de la Ec. (4.7) se sigue que

$$\gamma^{\text{eff}} = \frac{\alpha_1 \lambda}{2\pi(n_a - 1)m_L \rho_B},$$

donde  $\rho_B$  se relaciona con el  $\gamma$  que lo genera (perteneciente al axicón al que se le suma el telescopio) mediante la Ec. (4.1). Con lo cual:

$$\gamma^{\text{eff}} = \frac{\alpha_1 \lambda}{2\pi(n_a - 1)} \frac{2\pi(n_a - 1)\gamma}{m_L \alpha_1 \lambda}.$$

Por lo tanto, el axicón del sistema equivalente al sistema con telescopio tiene un ángulo efectivo,  $\gamma^{\text{eff}}$ , de:

$$\gamma^{\text{eff}} = \frac{\gamma}{m_L} \quad (4.8)$$

En la figura se 4.10, se compara la propagación de un sistema equivalente con un axicón con  $\gamma^{\text{eff}}$  hasta una distancia donde iría colocada la primera lente del telescopio (columna izquierda) con la propagación del sistema con telescopio correspondiente (en la columna de la derecha). Puede observarse como la figura 4.10a y 4.10b parecen ser continuación una de la otra. Desde luego, esto se debe a que el ancho del HB que se propaga hasta donde iría la primera lente ( $\rho_B$ ) es igual al ancho del HB inmediatamente a la salida de la segunda lente ( $\rho^{\text{eff}}$ ) (figuras 4.10e y 4.10f). Los perfiles de intensidad axial 4.10c, 4.10d también parecen empalmar.

La implementación de un sistema equivalente tiene dos utilidades. La primera de ellas es evitar las complicaciones expuestas en la subsección 4.1.1 derivadas del desconocimiento de la estructura y extensión del haz Bessel a la salida del telescopio. La segunda utilidad se aprecia mejor si se piensa que en un laboratorio es complicado contar con un rango de axicones de ángulos internos óptimos que permitan generar el HB con las características deseadas, sino que es más probable contar con un espectro suficiente de lentes de distancias focales  $f_1$  y  $f_2$  para añadir un telescopio al sistema óptico del axicón con el que se cuenta (referido en adelante también como el “sistema con telescopio”). Es ahí donde, mediante un estudio numérico del sistema equivalente, el sistema con telescopio puede caracterizarse con el beneficio adicional de tener total control en los parámetros evaluados y reducción del tiempo de computo<sup>4</sup>.

Un buen parámetro para estimar la calidad del sistema equivalente, es apreciar qué tan parecida es a la curva del sistema simulado a partir de la distancia a la cual se colocaría la primera lente del telescopio, con la curva del *perfil posterior* del sistema axicón-telescopio.

En la figura 4.11 se muestra la curva de intensidad axial correspondiente al sistema con telescopio en color verde, siendo el trazo de guiones el correspondiente a la sección anterior al telescopio y la de trazo continuo la posterior a éste. En amarillo se muestra el perfil de intensidad axial del sistema equivalente.

Si el sistema fuera totalmente equivalente, la curva amarilla sería idéntica en forma a la de color verde *de trazo continuo*. Tanto en 4.11a como en 4.11b, la curva del sistema equivalente decae más rápido que la del sistema real.

<sup>4</sup> De hecho, es esta última razón la que motivo la búsqueda de un sistema equivalente como solución a la dificultad técnica de simular el HB propagándose por las dos lentes del telescopio más la lente objetivo, pues se hubiera requerido de mayor poder de computo (véase apéndice A).

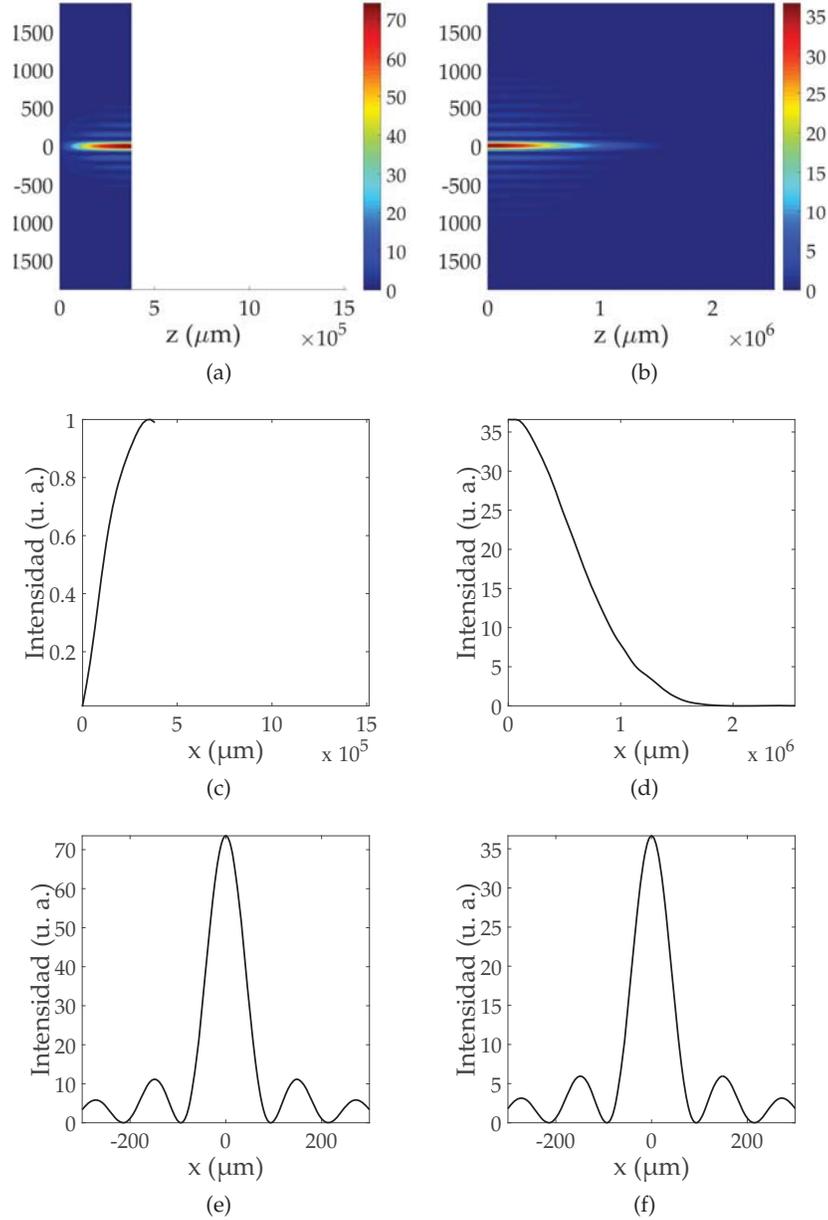


Figura 4.10: Comparación de perfiles de intensidad axial anterior y posterior para un sistema de ángulo interno de axicón  $\gamma^{\text{eff}}$  ((a) y (c)) y un sistema con telescopio ((b) y (d)). En (e) se muestra el perfil lateral de intensidad del HB a una distancia de propagación que correspondería a la posición  $d_{L1}$ ; en (f) el perfil correspondiente a la salida inmediata del sistema con telescopio. Figura compuesta en base con una simulación con  $\gamma = 0.5^\circ$  ( $\gamma^{\text{eff}} = 0.25^\circ$ ) y un telescopio de  $m_L = 2$  con  $d_{L1} = 0.55z_{\text{max}}$

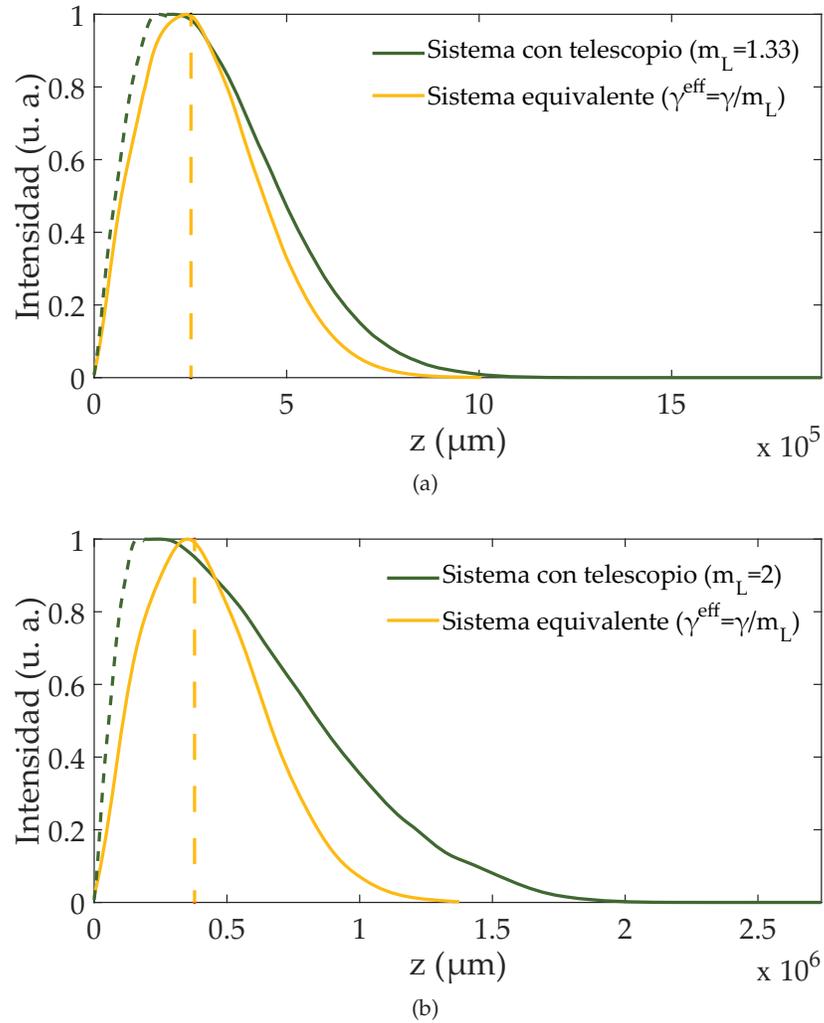


Figura 4.11: Comparación de curvas de intensidad axial de un sistema de axicón-telescopio y un sistema equivalente con  $\gamma^{\text{eff}}$ . En guiones se representa la parte de la propagación del sistema con telescopio correspondiente del axicón a la primera lente. Para las curvas del sistema equivalente se señala en trazo de guiones largos el punto a partir del cual comparar la propagación con el trazo verde continuo. Para el sistema de axicón-telescopio, la simulación fue hecha con  $\gamma = 0.5^\circ$  y  $d_{L1} = 0.55z_{\text{max}}$ .

Para mejorar la calidad de similitud, conviene mirar a la Ec. (2.57). Debido a que hace falta extender la propagación del haz del sistema equivalente, podría optarse por definir un valor de haz de iluminación  $w_G^{\text{eff}}$  que fuera mayor a  $w_G$ . De hecho, esta aproximación tiene sentido, porque al implementar un telescopio en un sistema de axicón como el de la figura 4.2, sería aproximadamente lo mismo que iluminar el sistema con un HG de una cintura más ancha. Entonces, puede definirse  $w_G^{\text{eff}}$  simplemente como:

$$w_G^{\text{eff}} = m_L w_G. \quad (4.9)$$

La figura 4.12 muestra las gráficas de la figura 4.11 para las mismas magnificaciones laterales, añadiendo la curva del sistema que considera tanto el  $\gamma^{\text{eff}}$  como  $w_G^{\text{eff}}$  definidos en 4.7 y (4.9), respectivamente. Puede apreciarse como en este caso, la curva se asemeja más a la verde que lo que lo hace la amarillo. De hecho son prácticamente idénticos hasta que decaen un 80%. Será este último sistema que considera el cambio en estas dos cantidades, el que en adelante será referido como *sistema equivalente*.

*El sistema axicón-telescopio tiene una equivalencia con un sistema de axicón con un  $\gamma^{\text{eff}}$  iluminado por un HG de cintura  $w_G^{\text{eff}}$ .*

#### 4.3 DIAFRAGMA DE APERTURA: UNA BOTELLA DE LUZ OPTIMIZADA

El modelo propuesto de sistema equivalente emula en buena aproximación el comportamiento de un sistema de axicón-telescopio, por lo que se procederá a trabajar con éste en lo que resta del capítulo. El objetivo es intentar optimizar el HB enfocado a la luz de los resultados del capítulo 3.

Como se mencionó en la sección 3.3, uno de los inconvenientes de utilizar ángulos internos de axicón pequeños fue la luz espuria que se forma dentro de la botella. Así que con el fin de regular la cantidad de luz que interfiere en esta zona y aminorar su intensidad lo más posible, se propone añadir al sistema equivalente un diafragma en la parte anterior al objetivo.

Los parámetros de control de este nuevo sistema se resumen en la tabla 4.2 y algunos quedan señalados en la figura 4.13.

Para aprovechar el efecto de corrimiento mostrado en 4.1.1, la posición del objetivo en el sistema equivalente,  $z_{\text{obj}}$ , será tomada como si éste estuviera situado muy cercano<sup>5</sup> a la salida del telescopio, pensando en que la primera lente de este último esté cercana a la posición  $z_{\text{opt}}$  (como en las figuras 4.11 y 4.12).

La figura 4.14 muestra 3 casos de botellas obtenidas con un sistema equivalente al de un axicón con  $\gamma = 0.5^\circ$  y un telescopio de magnifica-

<sup>5</sup> Debido a que el perfil posterior se extiende una distancia del orden de metros, esta cercanía puede traducirse en la práctica en distancias del orden de cm, por lo que, en principio, la manipulación del objetivo no representa mayor inconveniente.

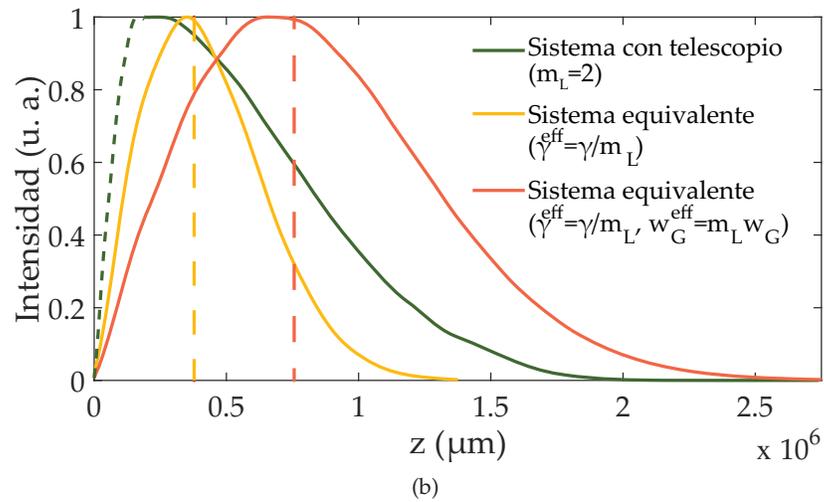
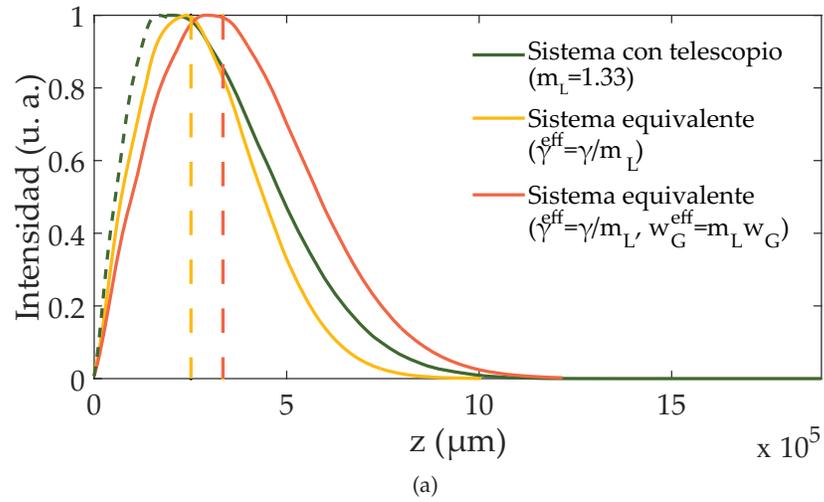


Figura 4.12: Comparación de curvas de intensidad axial de un sistema de axicón-telescopio y un sistema equivalente con  $\gamma^{\text{eff}}$  y  $w_G^{\text{eff}}$ . En guiones largos se señala el punto a partir del cuál hacer la comparación de los perfiles. Para el sistema de axicón-telescopio, la simulación fue hecha con  $\gamma = 0.5^\circ$  y  $d_{L1} = 0.55z_{\text{max}}$ .

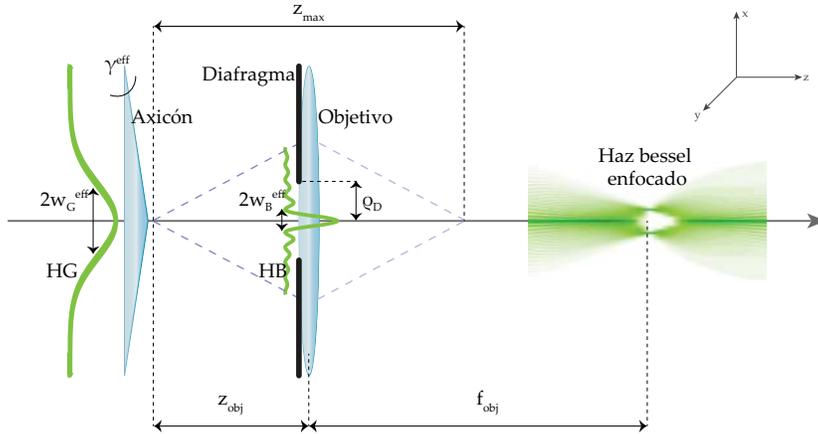


Figura 4.13: Sistema óptico para generar un haz Bessel y enfocarlo, equivalente a un sistema de axicón-telescopio. El axicón de ángulo interno  $\gamma^{eff}$  al iluminarse por un HG de cintura  $w_G^{eff}$  equivale en buena aproximación a un sistema de axicón-telescopio. Se añade también un diafragma en la parte anterior a la lente objetivo para regular la cantidad de luz que se propagan a través de él. El radio de apertura del diafragma es  $\rho_D$ .

ción  $m_L$ . El radio de apertura del diafragma del objetivo,  $\rho_D$ , es tal que deja pasar luz del HB hasta aproximadamente su tercer mínimo, como se aprecia en las figuras de la columna izquierda. La distancia de la lente que simula el objetivo es de  $f_{obj} = 2\text{mm}$  y está colocada a una distancia  $z_{opt} = 0.55z_{max}$ .

A simple vista, los cambios en la morfología de la botella parecen ser significativos. Los más notables son la distribución de intensidad, más homogénea que en las botellas mostradas en el capítulo 3, y una concentración más eficiente de la energía, pues la intensidad alcanza valores de al menos dos ordenes de magnitud mayores que el máximo del HB que enfocan.

Para inspeccionar con mayor detalle las cantidades características de la botella (tabla 3.2), se recurre al estudio de los respectivos perfiles de intensidad lateral y axial, mostrados en la figura 4.15.

Para todos los casos se aprecia una muy buena simetría en el perfil axial, de hecho en el mejor de los casos  $I(0, \zeta_1)/I(0, \zeta_2) \approx 0.99$  (véase la Ec. 3.8 de la página 58).

Tanto los perfiles de intensidad lateral como axial, tienen máximos del mismo orden de magnitud, haciendo que la botella se constituya por luz de aproximadamente la misma intensidad.

Sin embargo, remanentes de luz en el centro de la botella, en dirección lateral ( $I_{rem(x)}$ ) y axial ( $I_{rem(z)}$ ), continúan presentándose. De hecho, la magnitud de la intensidad es considerable en la dirección axial, como en la figura 4.15d, y aún se cuenta con un caso extremo en

CANTIDAD	SÍMBOLO
Ángulo interno del axicón efectivo.	$\gamma^{\text{eff}}$
Cintura del HG efectivo que ilumina el axicón.	$w_G^{\text{eff}}$
Posición del objetivo respecto al axicón (equivalente a la posición de la lente <sub>1</sub> del telescopio respecto al axicón $d_{L1}$ ).	$z_{\text{obj}}$
Distancia focal del objetivo.	$f_{\text{obj}}$
Distancia focal de la lente <sub>1</sub> del telescopio.	$f_1$
Distancia focal de la lente 2 del telescopio.	$f_2$
Radio del diafragma de apertura.	$\rho_D$

Tabla 4.2: Parámetros de control en el sistema simulado equivalente al sistema axicón-telescopio, con diafragma.

el que la intensidad remanente es mucho mayor que en el resto del eje (figura 4.15e).

Un cambio significativo en la luz remanente sucede si se apertura el objetivo con un tamaño diferente. La figura 4.16 muestra las botellas de luz generadas con un tamaño  $\rho_D$  ligeramente mayor a la distancia cubierta por el tercer mínimo del HB, como se aprecia en la columna izquierda de la figura. Las imágenes de la columna derecha indican una mayor concentración de energía, e incluso, una ligera contracción axial, en comparación con el tamaño de apertura anterior.

Los perfiles de intensidad de las botellas correspondientes a este radio de apertura, se muestran en la figura 4.17. El hecho de que la intensidad remanente en 4.15d haya disminuido hasta un 24 % en 4.17d (en relación a los valores pico respectivos), y de manera similar en dirección lateral, confirman que la regulación del tamaño del diafragma en el objetivo es un parámetro de control muy relevante en la búsqueda de la optimización. Más aún, demuestran la existencia un tamaño de apertura óptimo para el cual la luz remanente dentro de la botella se minimice lo más posible, con el beneficio adicional de que determinar este valor es una tarea sencilla de realizar experimentalmente, en un laboratorio.

Lamentablemente, el poder computacional del equipo usado junto con las condiciones de muestreo requeridas (véase apéndice A), no permitieron la simulación del sistema con esta última apertura para el caso de  $m_L = 2^6$ .

*La botella de luz mejora y la luz remanente puede reducirse al colocarse un diafragma en el objetivo.*

<sup>6</sup> De hecho, aunque estas condiciones permitieron la propagación para  $m_L = 1$  y  $m_L = 1.5$ , en la figura 4.16c ya puede apreciarse un fenómeno de solapamiento (*aliasing* en inglés) en los extremos del HB.

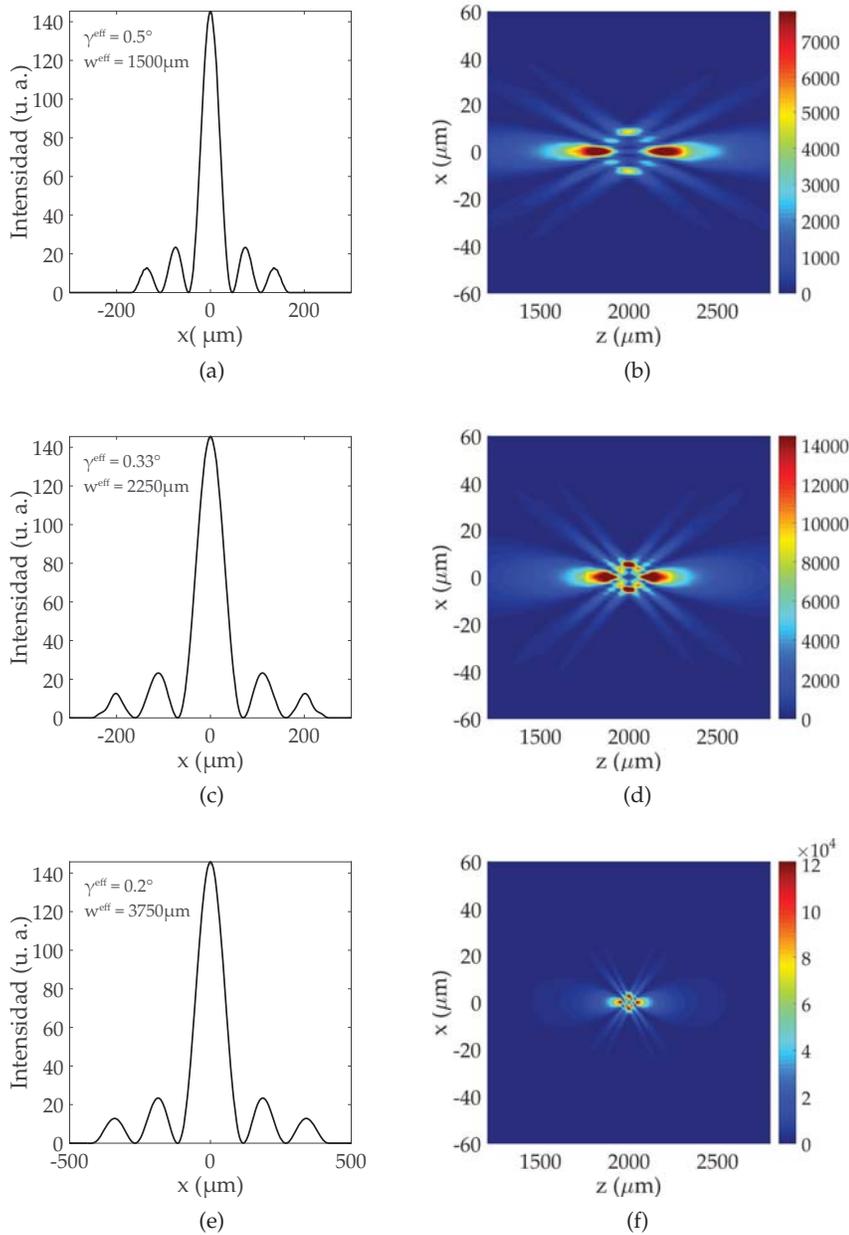


Figura 4.14: Haces Bessel enfocados en el sistema equivalente al sistema axic3n-telescopio, con diafragma aperturado hasta el tercer m3nimo del HB. A la izquierda los HB justo a la entrada del objetivo (n3tense el tama3o de su extensi3n lateral), con  $f_{\text{obj}} = 2\text{mm}$ , colocado en  $z_{\text{opt}} = 0.55z_{\text{max}}$  y una magnificaci3n de  $m_L = 1$  (a),  $m_L = 1.5$  (c) y  $m_L = 2.5$  (e). A la derecha se muestra la botella de luz correspondiente. Los tres casos simulan la equivalencia de un sistema axic3n-telescopio con  $\gamma = 0.5^\circ$  y  $w_G = 1500\mu\text{m}$ . Los detalles t3cnicos del muestreo requerido para esta simulaci3n pueden consultarse en el ap3ndice A.

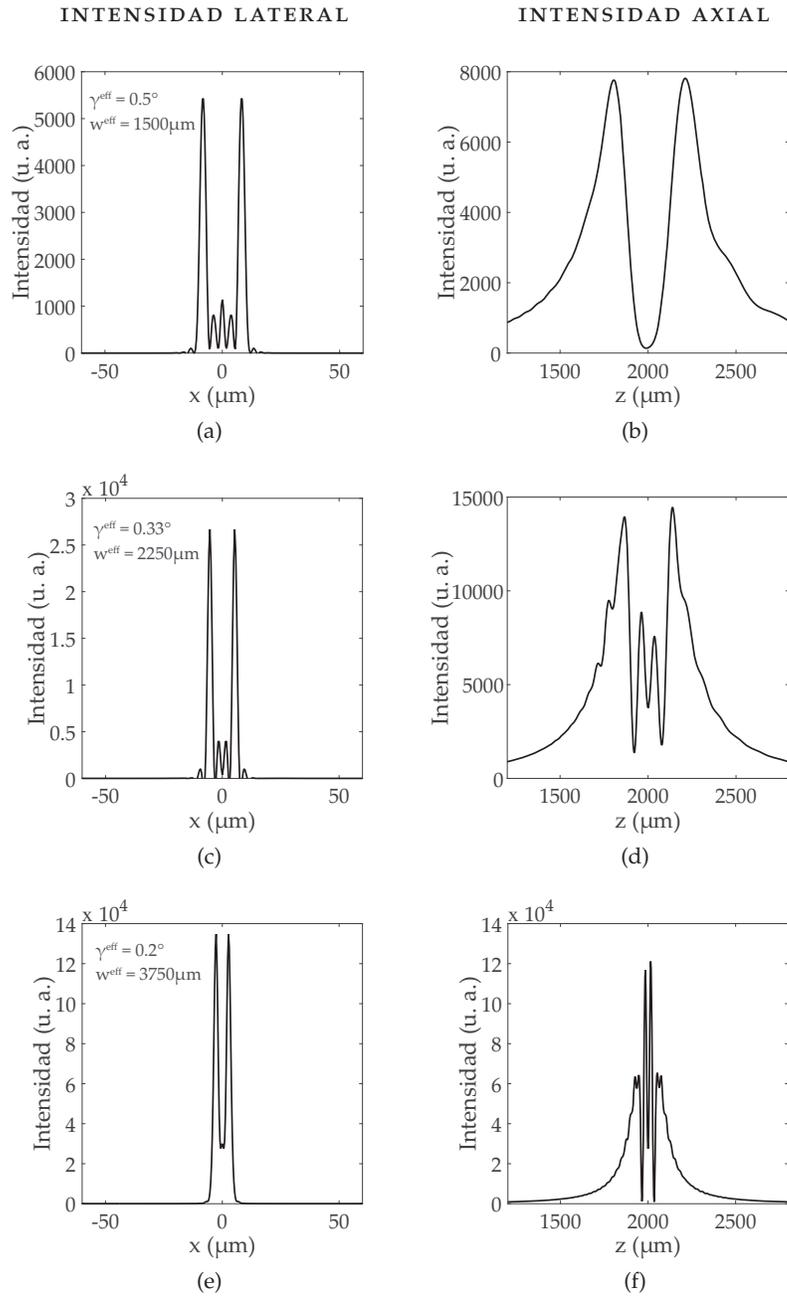


Figura 4.15: Perfiles de intensidad lateral y axial del sistema equivalente, aperturado hasta el tercer mínimo del HB. Gráficas correspondientes a la simulación mostrada en la figura 4.14.

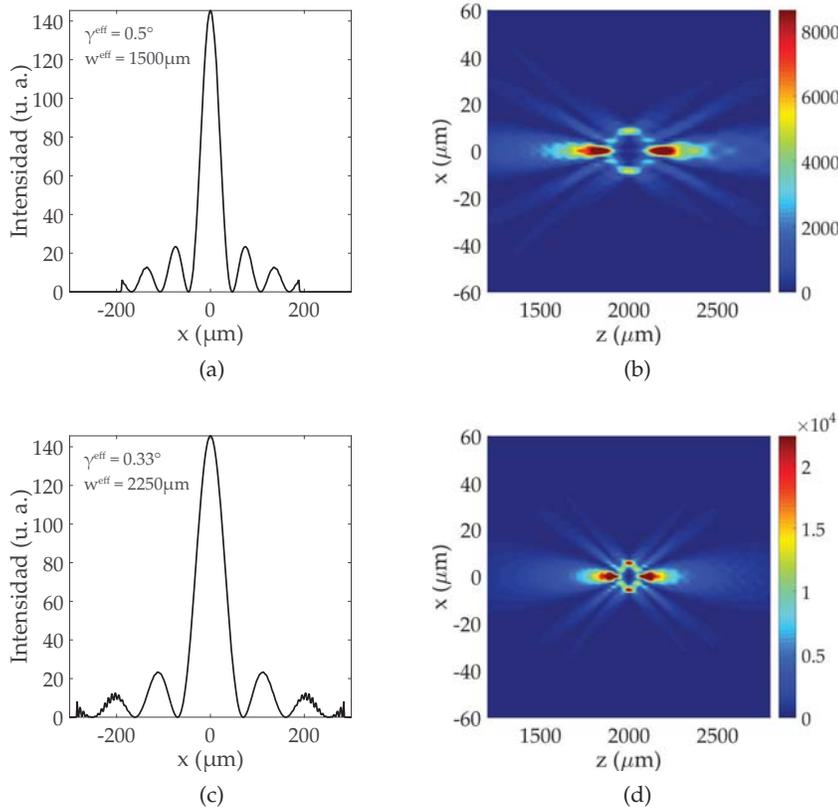


Figura 4.16: Haces Bessel enfocados en el sistema equivalente al sistema axic3n-telescopio, con diafragma aperturado m3s all3 del tercer m3nimo del HB. A la izquierda los HB justo a la entrada del objetivo (n3tense el tama3o de su extensi3n lateral), con  $f_{\text{obj}} = 2\text{mm}$ , colocado en  $z_{\text{opt}} = 0.55z_{\text{max}}$  y una magnificaci3n de  $m_L = 1$  (a),  $m_L = 1.5$  (c). Los casos presentados simulan la equivalencia de un sistema axic3n-telescopio con  $\gamma = 0.5^\circ$  y  $w_G = 1500 \mu\text{m}$ . Las condiciones de muestreo del programa usado no permitieron simular el caso  $m_L = 2$  (figuras 4.14e y 4.14f).

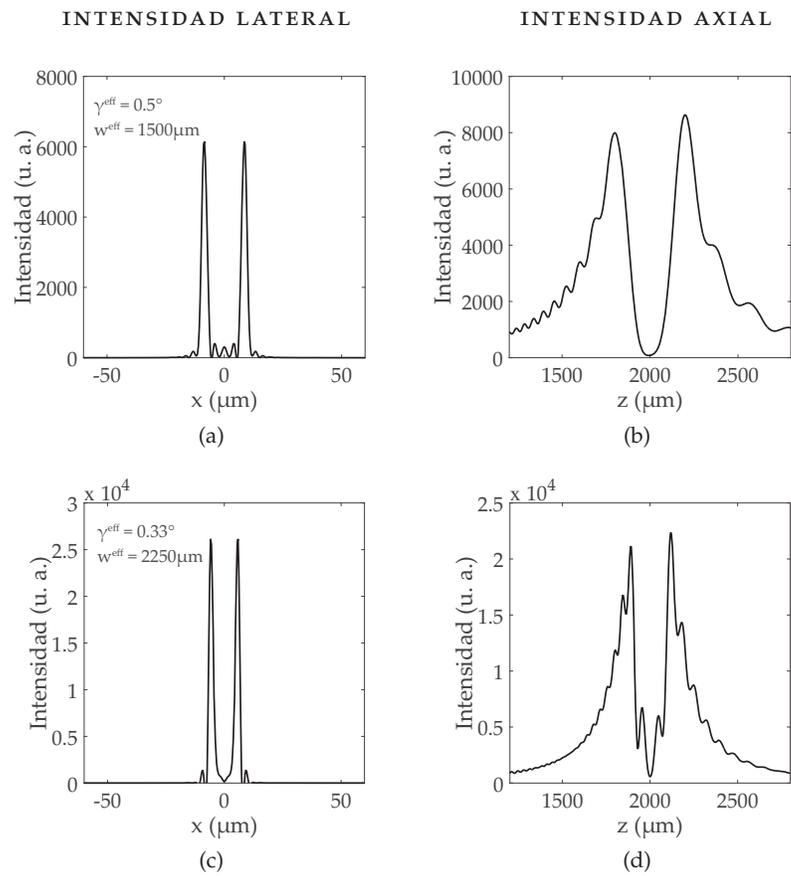


Figura 4.17: Perfiles de intensidad lateral y axial del sistema equivalente, aperturado más allá del tercer mínimo del HB. Gráficas correspondientes a la simulación mostrada en la figura 4.16.

Las tablas 4.3 y 4.4 resumen las cantidades características y parámetros de control involucrados en la generación de las botellas generadas en esta sección, además de algunas otras cantidades útiles.

PARÁMETROS DE CONTROL			
$\gamma^{\text{eff}}$	$0.50^\circ$	$0.33^\circ$	$0.20^\circ$
$w_G^{\text{eff}}$	1500	2250	3750
$z_{\text{obj}}$	$0.55z_{\text{max}}$	$0.55z_{\text{max}}$	$0.55z_{\text{max}}$
$f_{\text{obj}}$	2mm	2mm	2mm
$m_L(f_2/f_1)$	1	1.5	2.5
$\rho_D$	168.5	252.75	421.25
CANTIDADES CARACTERÍSTICAS			
$2\rho_0$	16.20	10.60	5.28
$\Delta z$	400	275	30
$d\rho$	3.00	2.15	2.15
$I(\rho_0, f_{\text{obj}})$	$5.43 \times 10^3$	$2.67 \times 10^4$	$1.35 \times 10^5$
$I_{\text{rem}(x)}$	$1.14 \times 10^3$	$3.98 \times 10^3$	$3.00 \times 10^4$
$I(0, \zeta_1)$	$7.76 \times 10^3$	$1.39 \times 10^4$	$1.17 \times 10^5$
$I(0, \zeta_2)$	$7.81 \times 10^3$	$1.45 \times 10^4$	$1.21 \times 10^5$
$I_{\text{rem}(z)}$	-	$8.87 \times 10^3$	$2.75 \times 10^4$

Tabla 4.3: Parámetros de control y cantidades características del HB enfocado en el sistema equivalente al sistema axicón-telescopio, aperturado hasta el tercer mínimo del HB. Las longitudes están en  $\mu\text{m}$  y la intensidad en unidades arbitrarias. Datos correspondientes a las figura 4.15.

PARÁMETROS DE CONTROL		
$\gamma^{\text{eff}}$	0.50°	0.33°
$w_G^{\text{eff}}$	1500	2250
$z_{\text{obj}}$	0.55 $z_{\text{max}}$	0.55 $z_{\text{max}}$
$f_{\text{obj}}$	2mm	2mm
$m_L(f_2/f_1)$	1	1.5
$\rho_D$	190.0	285.0
CANTIDADES CARACTERÍSTICAS		
$2\rho_0$	16.93	11.77
$\Delta z$	400	230
$d\rho$	2.74	2.11
$I(\rho_0, f_{\text{obj}})$	$6.15 \times 10^3$	$2.62 \times 10^4$
$I_{\text{rem}(x)}$	$4.12 \times 10^2$	$1.61 \times 10^2$
$I(0, \zeta_1)$	$7.99 \times 10^3$	$2.12 \times 10^4$
$I(0, \zeta_2)$	$8.63 \times 10^3$	$2.24 \times 10^4$
$I_{\text{rem}(z)}$	-	$6.75 \times 10^3$

Tabla 4.4: Parámetros de control y cantidades características del HB enfocado en el sistema simulado equivalente al sistema axicón-telescopio, aperturado más allá del tercer mínimo del HB. Las longitudes están en  $\mu\text{m}$  y la intensidad en unidades arbitrarias. Datos correspondientes a las figura 4.17.

La elección de los tamaños de diafragma elegidos se basó en aprovechar dos hechos de la estructura del HB,  $J_0(k_t\rho)$ .

El primero de ellos se basa en que la fase de cada anillo concéntrico del haz difiere en  $\pi$  de la fase de los anillos adyacentes (ilustrado en la figura 2.4 de la página 37).

El segundo hecho tiene que ver con la amplitud que el lóbulo central y los anillos concéntricos poseen. Una medida de la energía que esta estructura tiene, desde el origen del plano XY hasta un radio  $\rho$ , puede modelarse mediante la función:

$$M(\rho) = \int_A J_0(k_t\tilde{\rho})dA, \quad (4.10)$$

donde la región  $A$  es un círculo de radio  $\rho$  centrado en el origen. En coordenadas circulares planas, la Ec. (4.10) se escribe:

$$M(\rho) = 2\pi \int_0^\rho \tilde{\rho} J_0(k_t\tilde{\rho})d\tilde{\rho}. \quad (4.11)$$

Al usar la identidad:  $\frac{d}{dx} [xJ_1(x)]$  [4], con el correspondiente cambio de variable y recordando que  $k_t = \frac{2\pi}{\lambda}(n_a - 1)\gamma$  la Ec. (4.10) puede reescribirse como:

$$M(\rho) = \frac{\lambda}{(n_a - 1)\gamma} \rho J_1(k_t\rho). \quad (4.12)$$

A partir de esta ecuación es claro que la amplitud de la estructura del HB, medida desde el origen, suma cero en círculos de radio  $\rho$  donde la función  $J_1(k_t\rho)$  tiene sus ceros.

En otras palabras, considerando ambos hechos, es posible hacer que la estructura del anillo que se enfoca experimente interferencia destructiva total, si se permite que pase la cantidad de luz correcta.

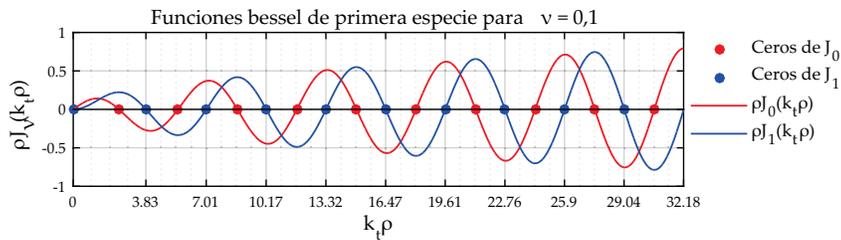


Figura 4.18: Comparación de la amplitud de  $\rho J_0(k_t\rho)$  con  $\rho J_1(k_t\rho)$ . Gráfica simulada para los parámetros de un haz con  $\lambda = 532\text{nm}$

Como los ceros de la función  $J_1(k_t\rho)$  no coinciden con los de  $J_0(k_t\rho)$  (véase figura 4.18), el diafragma ha de cortar la estructura anillada no en secciones enteras de los anillos, sino más bien en secciones parciales. Es por ello que para ejemplificar ambos casos, se aperturó el diafragma hasta un mínimo de intensidad (un cero de  $J_0(k_t\rho)$ ) y después se aperturó una distancia un poco mayor (en un cero de  $J_1(k_t\rho)$ ) que incluyera una sección del tercer anillo.



### Parte III

## TRABAJO EXPERIMENTAL

Se presenta el arreglo experimental y los resultados obtenidos en laboratorio que corroboran las simulaciones hechas en la parte [ii](#).



## GENERACIÓN Y CARACTERIZACIÓN EXPERIMENTAL DEL HAZ BESSEL ENFOCADO

Debido a que el fin último de la propuesta hecha en este trabajo es una aplicación factible a un sistema [STED](#), es de mucho interés generar el haz Bessel de manera experimental y caracterizar la botella de luz resultante.

Éste es un capítulo breve, donde se describe el procedimiento usado para enfocar el [HB](#), los instrumentos usados y las complicaciones enfrentadas. Las mediciones se hicieron con la mejor calidad posible. Los resultados confirman comportamientos parecidos a los descritos en la parte [ii](#) de este trabajo.

### 5.1 MONTAJE Y METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

En la figura [5.1](#) se muestra el esquema del sistema óptico con el que se trabajó. La fuente de luz fue un láser Coherent® Verdi-V5, que emitía un  $TEM_{00}$  a una longitud de onda de 532 nm. El axicón utilizado tenía un ángulo interno  $\gamma = 0.5^\circ$ .

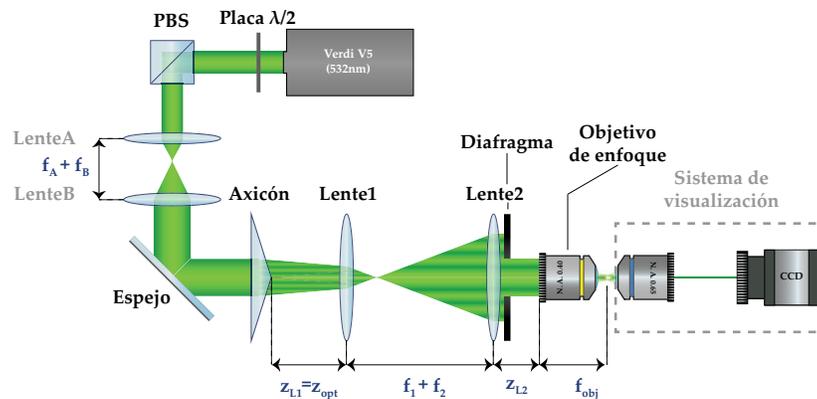


Figura 5.1: Esquema del sistema óptico experimental para generar un haz Bessel, ensancharlo y enfocar. A la salida del láser hay una placa  $\lambda/2$  que en combinación con un cubo polarizador divisor de haz (PBS), es usada para regular la intensidad. Inmediatamente se encuentra un telescopio para ensanchar el [HG](#). El haz ensanchado pasa después por el axicón para generar el [HB](#), que pasa por otro telescopio para después enfocarse y generar la botella de luz. El sistema de visualización consiste en una cámara CCD que recolecta la luz proveniente de un objetivo yuxtapuesto al de enfoque, y de una [AN](#) mayor que éste.

Como es deseable que la iluminación del axicón sea lo más parecida a la de una onda plana para poder generar un HB ideal (véase sección 2.3), el HG proveniente del láser se expandió con un telescopio. La primera lente de este arreglo (*lente A*) tenía una distancia focal de 5cm, mientras que la segunda (*lente B*) de 10cm. De esta manera, el HG que a la salida del láser tuviera una cintura de aproximadamente  $1125\mu\text{m}$ , llegó al axicón con un radio aproximado de  $w_G = 2.25\text{mm}$ .

*Se montaron dos telescopios: el primero de ellos para aproximar iluminación de onda plana; el segundo para ensanchar el HB.*

Los siguientes elementos fueron montados sobre carritos que se deslizaban sobre un riel graduado, debido a la facilidad técnica proporcionada para su manipulación (véase fotografía de la figura 5.2a). En el extremo anterior del riel se colocó el axicón. A una distancia  $z_{L1}$  de éste se montó la *lente 1* (de distancia focal  $f_1 = 20\text{mm}$ ) y 42cm después la *lente 2* ( $f_2 = 400\text{mm}$ ). Este par de lentes formaron un telescopio de magnificación lateral  $m_L = 20X$ , cuya relevancia se estudió en el capítulo 4.

Posterior al último telescopio, y aún sobre el riel, se colocó el objetivo de microscopio con el que se enfocaría el haz Bessel expandido (figura 5.2b). Este objetivo tenía una magnificación lateral  $10X$ ,  $AN=0.40$  y una distancia de trabajo de 17mm [54]. La magnitud de la distancia entre éste y la lente 2 ( $z_{L2}$  en la figura 5.1) resultó irrelevante por razones que serán explicadas en la siguiente sección.

Aunque más que deseable, la magnificación del telescopio no pudo ser tan grande como se hubiera deseado. La razón es que el haz expandido hubo de enfocarse con un objetivo de microscopio, que a diferencia de la lente usada en las simulaciones, tenía una apertura posterior finita de un diámetro aproximado de 14.45mm. Esto significaba que la extensión lateral del HB había de ser de tal tamaño, que una porción suficiente de su estructura anillada cupiera dentro de la apertura posterior del objetivo. Este hecho limitó el tamaño de magnificaciones al que podía accederse y motivó la búsqueda de valores de  $f_1$  y  $f_2$  adecuados para una manipulación conveniente del HB<sup>1</sup>.

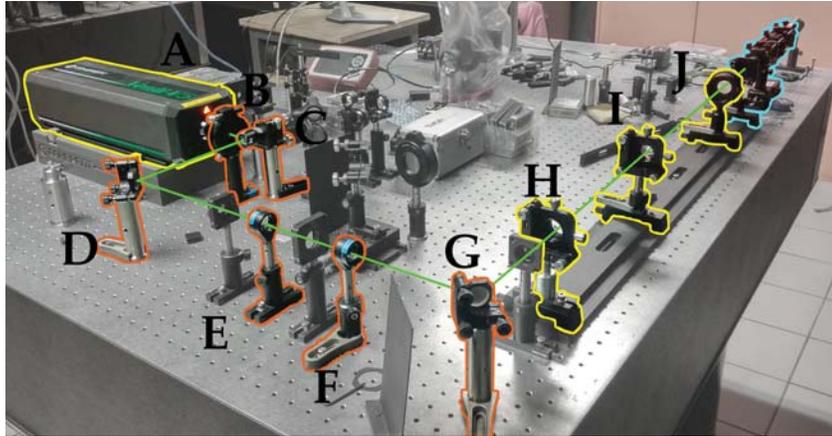
Para poder regular la cantidad de luz que entró al objetivo y corroborar los resultados de la sección 4.3 para optimizar la botella, se usó un diafragma. Por practicidad éste se dispuso en la parte posterior de la lente 2 (sobre la misma montura, véase figura 5.2b, elemento [L]).

El tamaño de la apertura del diafragma,  $\rho_D$ , tomó valores distintos en función de la luz remanente que se observó en el plano de Fourier del objetivo.

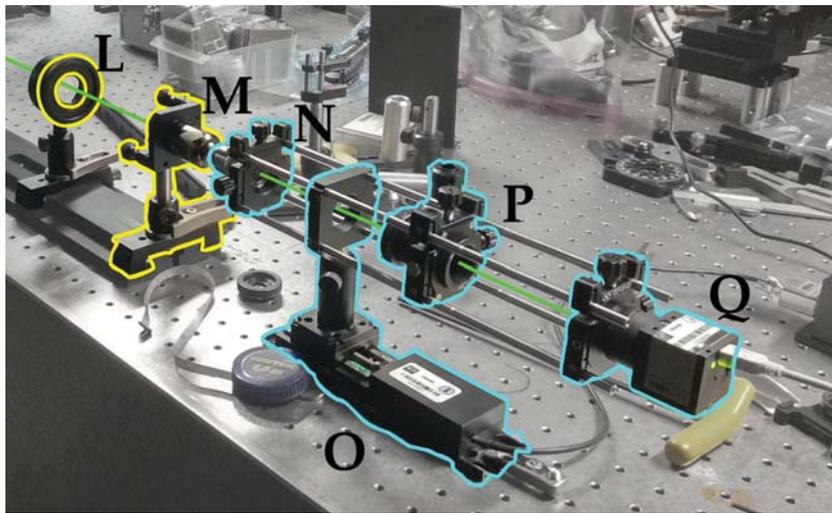
*Un microscopio fue montado para observar el haz enfocado.*

Como las botellas de luz halladas fueron de dimensiones microscópicas, para su observación fue necesario implementar un arreglo de microscopio (siluetas azules en la figura 5.2b). Así que otro objetivo de magnificación lateral  $40X$  y  $AN=0.65$ , se colocó yuxtapuesto al primero. La luz saliente de dicho objetivo pasó por una lente de tubo para

<sup>1</sup> En la práctica, esto siempre será una limitante, ya que objetivos de mayor AN como los usados en STED tienen una apertura posterior aún más reducida que la que se usó aquí, de modo que el HB incidente deberá ser incluso menor. Ésto deberá optimizarse de acuerdo a las condiciones experimentales específicas.



(a)



(b)

Figura 5.2: Sistema experimental. La silueta de los elementos usados en el experimento se resaltan en colores y se ilustra toda la trayectoria del haz. En (a) una vista global del sistema: [A]-láser, [B]-placa  $\lambda/2$ , [C]-PBS, [D]-espejo, [E]-lente A, [F]-lente B, [G]-espejo, [H]-axicón, [I]-lente 1, [J]-lente2; (b) muestra el detalle del diafragma sobre la lente 2 [L], la posición del objetivo de enfoque [M], y el sistema de visualización: [N]-objetivo, [O]-motor micrométrico, [P]-lente de tubo y [Q]-cámara CCD.

evitar aberraciones (aunque sus contribuciones fueron imperceptibles), y fue colectada por una cámara CCD conectada a una computadora, en donde la imagen formada pudo ser procesada.

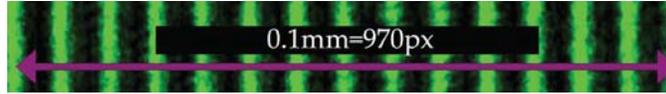


Figura 5.3: Rejilla de Ronchi usada para medir distancias laterales. La rejilla se colocó donde se formaría el anillo del HB enfocado. El patrón usado corresponde a uno de 150 líneas por mm [56], que se tradujo a 0.1mm por cada 970 píxeles de la cámara CCD.

El propósito general del experimento fue corroborar los resultados presentados en los dos capítulos anteriores, a saber:

1. Caracterizar el HB con y sin el arreglo de telescopio.
2. Caracterizar la botella de luz formada por el objetivo de microscopio (dimensiones e intensidades en dirección lateral y axial).

La consecución de 2 requirió desplazar el sistema de observación a distintas distancias del objetivo de enfoque usando un motor micrométrico (mostrado en la figura 5.2b) y tomar fotografías de los planos transversales de la botella de luz.

Las longitudes laterales reportadas se obtuvieron mediante la comparación del número de píxeles de las fotografías tomadas con el de una fotografía de una rejilla Ronchi. Esta rejilla tenía un tamaño de patrón conocido y fue iluminada por el objetivo de enfoque (figura 5.3), en la posición donde el anillo del HB enfocado sería formado.

Para la caracterización del HB saliente del axicón, el telescopio fue retirado y se procedió análogamente a lo ya descrito usando la cámara CCD, haciendo fotografías sobre toda la extensión del riel, con el fin de obtener las curvas de intensidad axial correspondientes sin telescopio y a la salida de éste.

## 5.2 CARACTERIZACIÓN DE LOS HACES BESSEL

Primero se caracterizó el haz Bessel generado por el axicón (sin el telescopio formado por la lente 1 y la lente 2).

En este caso, la extensión de la región de formación HB (en el esquema de la aproximación paraxial), está dada por la Ec. (2.57) de la página 42:

$$\begin{aligned} z_{\max} &= \frac{w_G}{(n_a - 1)\gamma} \\ &= \frac{2.25\text{mm}}{(1.5 - 1)(0.0087)}, \end{aligned} \quad (5.1)$$

que son aproximadamente 52cm.

La figura 5.4 muestra fotografías hechas con el CCD del plano transversal a lo largo del eje de propagación. A distancias muy cercanas al

axicón, como en 5.4a (a 12cm del axicón), aún no se exhibe la estructura deseada de la luz. Progresivamente los anillos que conforman el haz se manifiestan, como en 5.4b (a 24cm) y 5.4c (32cm), hasta que se logra mantener la estructura anillada característica de un HB<sup>2</sup>. Las fotografías se tomaron hasta donde el extremo posterior del riel lo permitió (aproximadamente a 90cm del axicón.)

Aún a distancias mayores a la calculada en la Ec. (5.1) (correspondiente a la figura 5.4d), la estructura anillada se conserva. Tal comportamiento fue observado en las simulaciones (subsección 3.3).

Paulatinamente, la estructura del haz degenera en su espectro de campo lejano: el anillo correspondiente a su transformada de Fourier (subsección 2.2.3 de la página 38). La figura 5.4e es una fotografía a una distancia de 88cm del axicón ( $\approx 1.7z_{\max}$ ) que ilustra como la luz se intensifica hacia la orilla que formará el anillo.

Las fotografías tomadas fueron procesadas mediante un *script* hecho en MATLAB<sup>®</sup>. Con éste se obtuvieron los perfiles de intensidad (como el de la figura 5.4f) y las longitudes relevantes correspondientes.

Puesto que el tamaño del pixel de la cámara del CCD especificado por el fabricante es de  $4.65\mu\text{m}$  [55], un cálculo simple arroja un tamaño transversal del Bessel (véase sección 4.1) de:

$$\rho_B = 80\mu\text{m} \quad (5.2)$$

y un FWHM de aproximadamente  $60\mu\text{m}$ .

El procedimiento para caracterizar la intensidad axial del HB y obtener curvas parecidas a las de la figura 3.9a de la página 57, hubiese sido simple: bastaba con hacer mediciones de la intensidad del área de interés con un potenciómetro, o en su defecto, utilizar los valores máximos de los perfiles de intensidad que hubieran de obtenerse con el script. Sin embargo existieron dificultades técnicas que impidieron proceder de cualquiera de estas formas.

Debido a que la región de interés es muy pequeña (Ec. (5.2)), el potenciómetro que hubiera de usarse habría de tener a lo más, una zona de detección de 0.16mm de diámetro. Lo anterior con el fin de que al tomar la medición se considerase únicamente el lóbulo central del HB y no los anillos adyacentes. Como el potenciómetro con el que se contó tenía una zona de detección con un diámetro de 1.44mm, las mediciones de la curva de intensidad axial estuvieron fuera de toda posibilidad práctica.

Una dificultad distinta se enfrenta al intentar obtener la misma información usando los perfiles obtenidos con MATLAB<sup>®</sup>. Cada fotografía se obtuvo con un tiempo de exposición e intensidad del haz diferentes, pues el sensor del CCD no puede cubrir todo el espectro de intensidades en la región de formación HB sin saturarse. Por lo tanto, no

*No se pudo caracterizar la intensidad axial del HB ni con el potenciómetro ni a partir de fotografías.*

<sup>2</sup> En la figura se nota un efecto de cambio de escala con  $z$ . Esto puede deberse a una deformación de la punta del axicón (tal vez estaba redondeada). Esto también permite explicar por qué el HB no se empieza a formar inmediatamente a la salida del axicón, como predice la óptica geométrica y las simulaciones.

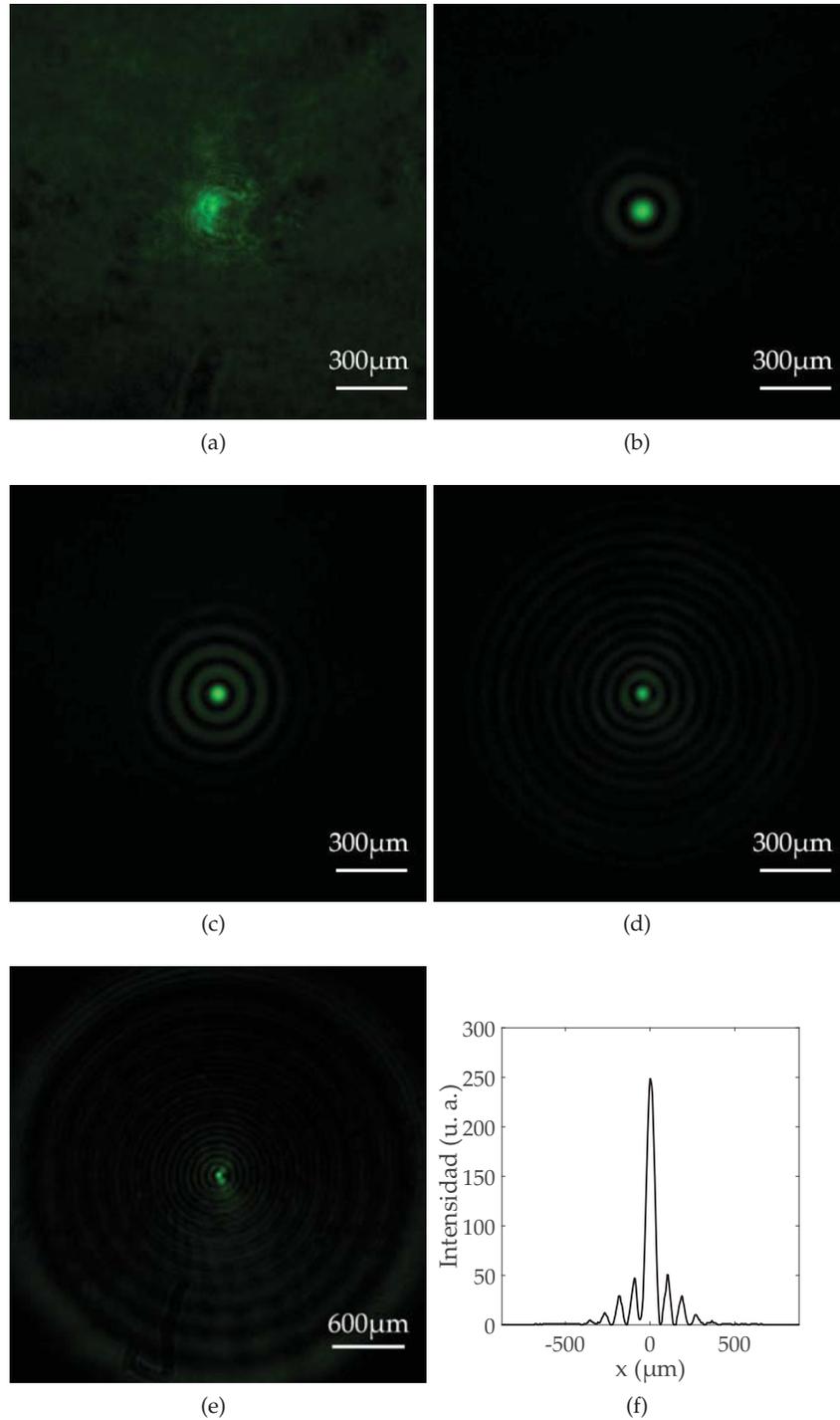


Figura 5.4: Haz Bessel generado con el axicón. Las fotografías fueron tomadas a diferentes distancias desde el axicón: (a) 12cm  $\approx 0.2z_{\max}$ , (b) 24cm  $\approx 0.5z_{\max}$ , (c) 32cm  $\approx 0.6z_{\max}$ , (d) 52cm  $\approx z_{\max}$  y (e) 88cm  $\approx 1.7z_{\max}$ . El perfil mostrado en (f) fue extraído de la fotografía (c).

todos los perfiles obtenidos en cada fotografía son comparables entre sí, y el número de perfiles que sí lo es, es insuficiente para ofrecer la caracterización de alguna sección de longitud relevante de la curva entera.

Determinado el tamaño  $\rho_B$ , se procedió a colocar el telescopio e intentar caracterizar el HB expandido junto con su curva de intensidad axial. Para la primera de estas tareas, la cámara CCD fue remplazada por una cámara CANON® EOS Rebel T3i.

La figura 5.5 es una fotografía del haz correspondiente proyectado sobre una hoja de papel milimétrico que se apoya sobre la montura de la lente 2 (mostrada en línea de guiones).

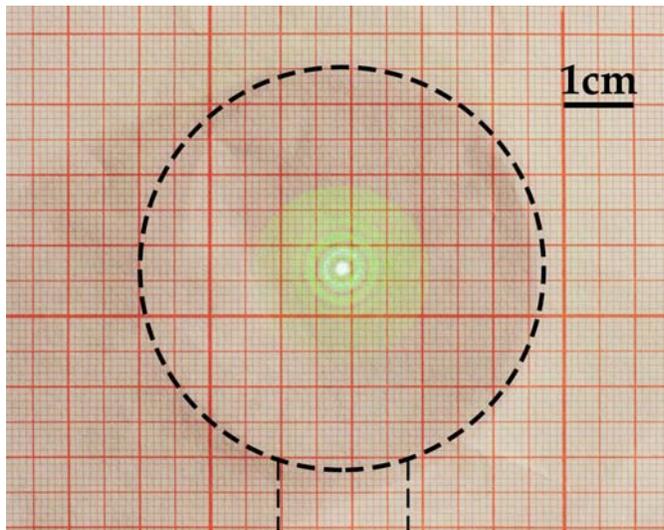


Figura 5.5: Haz Bessel generado con el axicón y magnificado. En guiones se señala la forma de la montura de la lente 2.

En este caso el tamaño transversal del HB expandido (véase Ec. (4.1) de la página 61) fue de:

$$\rho_B^{\text{eff}} \approx 1.5\text{mm}, \quad (5.3)$$

lo cuál es consistente con la expresión de magnificación lateral, Ec. (4.3).

Al haber sido la longitud de la Ec. (5.3) asequible para el potenciómetro que se tenía, la obtención de la curva de intensidad axial en este caso, también hubiera sido una tarea sencilla. Sin embargo el obtenerla careció de cierta importancia. La razón es que el HB expandido mantuvo un valor de intensidad sobre el eje, que variaba muy poco a lo largo de una distancia muy grande. Esto es, la intensidad obtenida inmediatamente a la salida del telescopio decayó poco menos del 10% dentro de una distancia de 1.70m.

La obtención de toda la curva de intensidad axial posterior al telescopio (como las mostradas en la figura 4.4) hubiera implicado hacer

*Tampoco se obtuvo la intensidad axial del HB expandido.*

*El objetivo de enfoque puede colocarse a una distancia práctica del telescopio.*

mediciones a distancias que difícilmente podrían llevarse a la práctica en el laboratorio dadas las circunstancias técnicas (como el tamaño y espacio disponible de la mesa óptica), así que se decidió omitir esta medición. Por lo tanto, parte del objetivo 1 del experimento no se satisfizo.

El resultado anterior aseguró que, sin importar donde se colocase el objetivo de enfoque, la intensidad de la luz disponible para la formación de la botella sería prácticamente la misma. Es por ello que, como se adelantaba, la distancia  $z_{L2}$  señalada en el diagrama 5.1 resultó irrelevante. Por comodidad y practicidad, se optó porque esta distancia fuera a escasos centímetros de la salida del telescopio.

### 5.3 HAZ ENFOCADO

Ya conocidas las extensiones laterales de los haces Bessel anterior y posterior al telescopio, se posicionó la lente 1 en  $z_{opt} = 0.6z_{max}$  (aproximadamente a 31.2cm del axicón).

Para empezar la caracterización de la botella primero fue necesario conocer, *grosso modo*, su extensión axial a partir del objetivo de enfoque. Se movió el sistema de visualización a lo largo del eje de propagación para que se pudieran identificar tres planos de referencia: el plano de Fourier donde se formó el anillo (figura 5.6b) y los dos “extremos” de la botella que conformaron sus “tapas” (figura 5.6a y 5.6c).

Las últimas dos referencias fueron calificadas de *extremos* porque, al comenzar la exploración en la dirección de propagación (o en la contraria) a partir del plano del anillo, éste se iba reduciendo hasta convertirse eventualmente en un *spot*. Estos *spots*, y las distancias de los planos en los que se formaban, son los que fueron considerados como “extremos” o “tapas” de la botella de luz. Para confirmar la posición de dichas referencias, se hizo una exploración fina de  $0.5\mu\text{m}$  alrededor de ellas.

Como resultado del examen anterior, se decidió explorar una región de  $100\mu\text{m}$  de extensión, que contemplara las tres referencias teniendo como centro el plano focal del objetivo. El tamaño de paso fue de  $2\mu\text{m}$ .

En la figura 5.7 se muestran los perfiles de intensidad lateral y axial de la botella al usarse dos tamaños de diafragma. En la columna izquierda se encuentra el perfil extraído de la fotografía correspondiente al plano de Fourier del objetivo. Ésta formó parte de un grupo de 50 fotografías tomadas en diferentes planos laterales a lo largo de la dirección axial. En los dos casos presentados, el rango de colores del dispositivo CCD permitió capturar la imagen de cada fotografía sin la necesidad de variar ni la intensidad de la fuente láser ni el tiempo de exposición para evitar que se saturase (con excepción de algunas correspondientes hacia los puntos finales de la figura 5.7b). Por lo tanto, cada perfil obtenido, para un tamaño de diafragma dado, fue

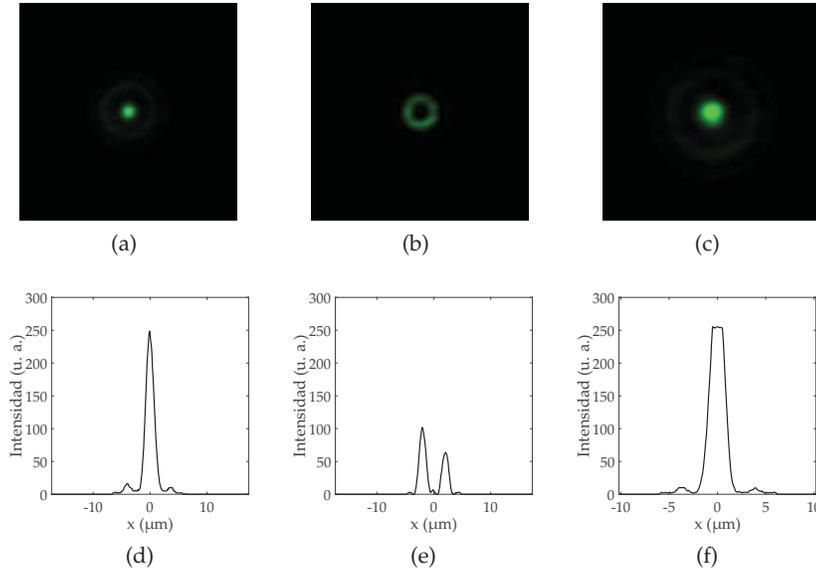


Figura 5.6: Referencias para la extensión axial del HB enfocado. Al hacer una exploración de la extensión del HB enfocado a partir del objetivo, se encuentra la tapa anterior (izquierda), luego el plano de Fourier del objetivo (centro), y la tapa posterior (derecha). Los perfiles de intensidad mostrados en la fila debajo son comparables entre sí. Fotografías tomadas para un tamaño de apertura de diafragma óptimo.

comparable entre sí (con los perfiles del mismo tamaño de diafragma), y la construcción de las gráficas de la columna derecha fue posible.

En la primera fila de la figura,  $\rho_D = 45.5\text{mm}$ , de tal manera que el lóbulo central, el primer anillo y parte del segundo lograsen entrar por la apertura del objetivo. En este caso, se calificó el tamaño de la apertura como uno en el que la botella se formó de manera óptima, pues presenta poca intensidad remanente en eje tanto en el plano focal como a lo largo del eje de propagación. Más aún, la distribución de intensidad en esta última dirección es muy simétrica, aunque cabe señalar que su intensidad máxima supera por más del doble la intensidad lateral máxima.

Las figuras 5.7c y 5.7d representan la botella formada con un tamaño menor que el anterior. Este caso fue calificado como no óptimo debido a que la intensidad central remanente en dirección lateral es muy grande. Respecto a la dirección axial llama la atención la ausencia de luz remanente, y más todavía la curva. Pues aunque el telescopio se mantuvo en la misma posición todo el tiempo -la posición óptima- y se esperarían curvas axiales simétricas (como la de la figura 5.7b), la obtenida en este caso recuerda más bien a la que se obtendría con una posición de la lente 1 anterior a la óptima (véase sección 3.3, figura 3.10). Lo último puede deberse a varios errores sistemáticos, entre los

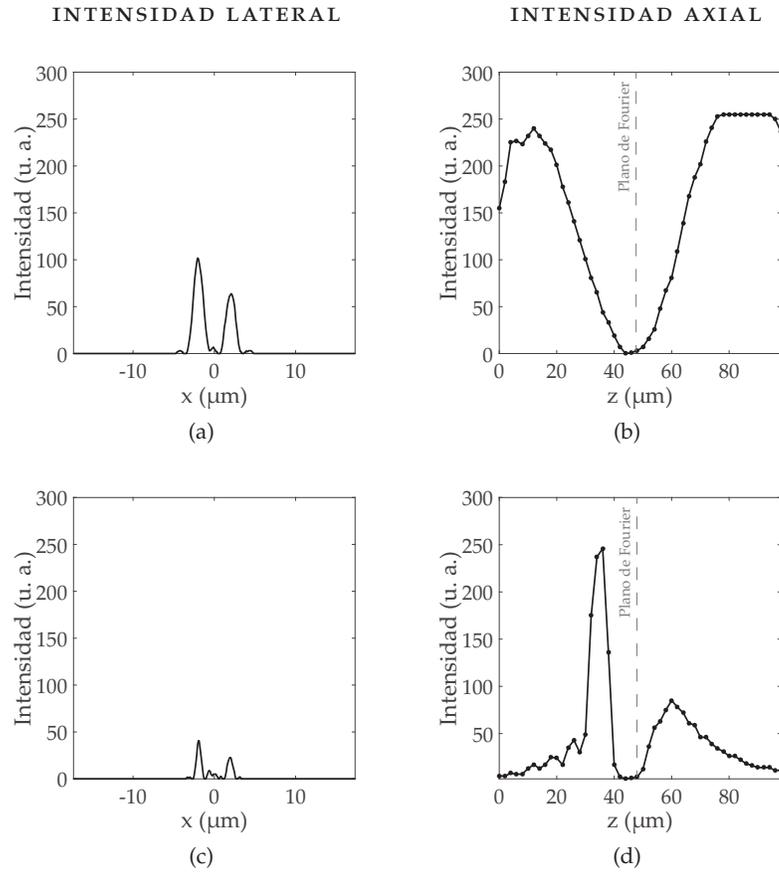


Figura 5.7: Perfiles de intensidad lateral y axial experimentales del HB enfocado. En (a), (b), los perfiles correspondientes a un tamaño de apertura de diafragma óptimo; en (c) y (d) a un tamaño no óptimo. Los perfiles laterales corresponden a la sección señalada como Plano de Fourier.

que destaca la extrema sensibilidad del sistema de visualización con el movimiento del motor, y fluctuaciones en la sensibilidad del CCD.

También llama la atención que el tamaño axial en la botella para el segundo caso, sea menor que en el primer caso, al que se calificó de “óptimo”.

La tabla 5.1 resume las cantidades relevantes en el conjunto de mediciones recién descrito.

Finalmente, en la figura 5.8 se muestran imágenes compuestas de las fotografías tomadas para el caso óptimo, usando el software ImageJ. En 5.8a se aprecia un modelo tridimensional de la PSF obtenida, y en 5.8b un corte de ella en dirección axial, sobre el eje. Esta última imagen es el homólogo experimental de figuras como las de las botellas simuladas (figuras 4.16b de la página 79 por ejemplo), o las imágenes superiores de la figura 1.12b de la página 28.

$\rho_D$	$\Delta x$	$\Delta z$
45.5 mm	3.95 $\mu\text{m}$	74 $\mu\text{m}$
35.0 mm	3.712 $\mu\text{m}$	24 $\mu\text{m}$

Tabla 5.1: Dimensiones del haz Bessel enfocado experimental

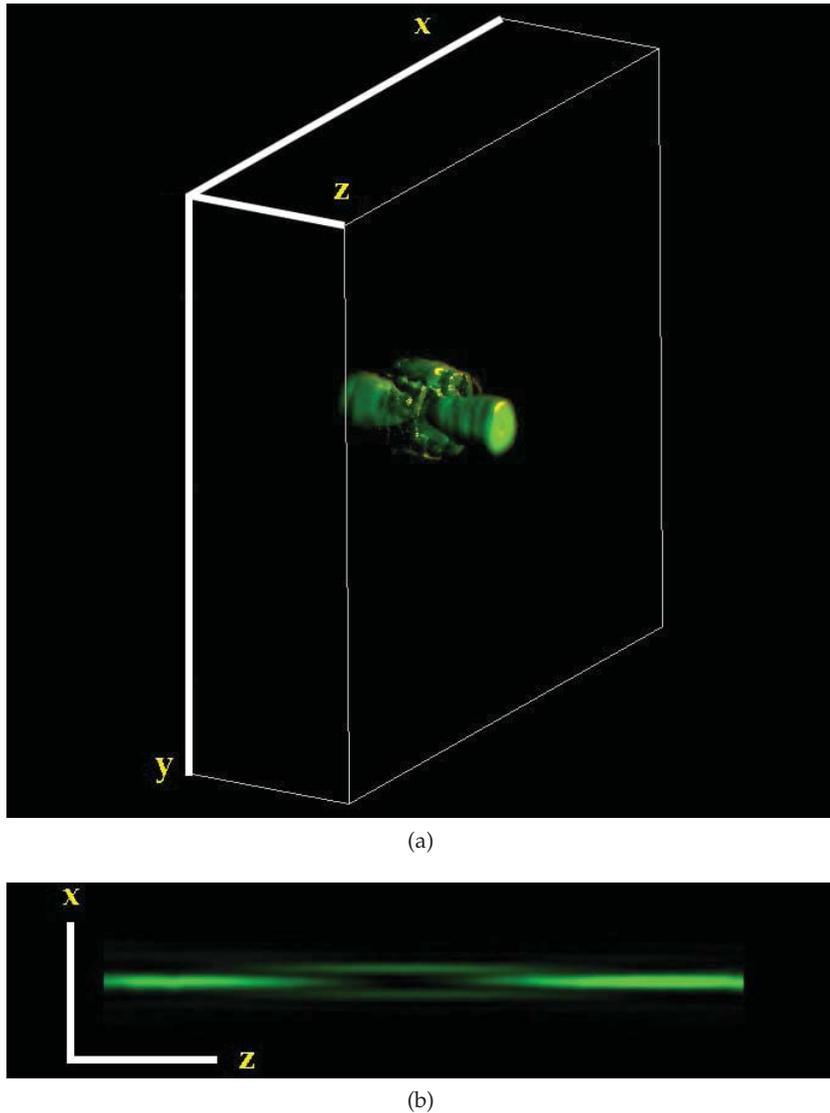


Figura 5.8: PSF experimental. En (a) un modelo tridimensional. En este caso la relación de aspecto entre el eje  $x$  (o  $y$ ) y  $z$  es  $1 : 1/10$ , es decir, que en realidad la PSF es 10 veces más larga en la dirección  $z$  que lo mostrado. En (b) se muestra una “rebanada” de la PSF hecha sobre el eje  $z$ . En este caso la relación de aspecto de cada eje es la real. Las figuras fueran compuestas a partir de las fotografías tomadas para el caso óptimo, usando el software ImageJ en su versión 1.8.0.



Parte IV

**CONCLUSIONES**



## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES

---

En las tres partes que componen este trabajo se presentaron los fundamentos y los resultados teóricos y experimentales que buscaron la consecución del objetivo general de la investigación: la caracterización del campo producido al enfocar un Haz Bessel (HB) generado por un axicón.

En el primer capítulo de la parte **i** se señalaron los aspectos y definiciones básicas del ámbito de la Microscopía Óptica (MO), su evolución y el funcionamiento de técnicas que aprovechan fenómenos como la fluorescencia para vencer el límite de difracción. En particular, se describió la Microscopía de Desactivación por Emisión Estimulada (STED) (subsección 1.3.1.1), cuyo esquema de funcionamiento motivó la propuesta de esta tesis. En el segundo capítulo se detalló la naturaleza de los haces Bessel y se describieron algunos métodos para su generación (sección 2.3).

En la parte **ii** se presentaron los aspectos esenciales para la caracterización del HB enfocado y se discutieron los parámetros relevantes para encontrar un campo optimizado. Los resultados hallados fueron corroborados más tarde en el experimento discutido en la parte **iii**.

Es importante recordar que aunque la microscopía STED fue el estimulante principal del trabajo, la investigación no se enmarcó en el contexto de la microscopía, sino más bien en el de la luz estructurada, pues fue la caracterización de esta última lo que se desarrolló.

Tanto en las simulaciones numéricas como en el experimento, el HB fue generado con un axicón iluminado por un Haz Gaussiano (HG), y posteriormente se enfocó con un objetivo de microscopio. El resultado fue la generación de una distribución de intensidad que puede ser descrita como una superficie de luz cuyo interior es oscuro (*botella de luz*). La elección de este sistema óptico se debió 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 (subsección 1.3.2.1), particularmente, para formar parte de la Función de Dispersión de Punto (PSF) del haz de desactivación.

La morfología de la botella de luz queda caracterizada por las siguientes cantidades (véase tabla 3.1 de la página 48): 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 éstas cambian al variar otras cantidades, definidas como *parámetros de control*.

En particular, al estudiar numéricamente el sistema compuesto del axicón y la lente objetivo (capítulo 3) se hallaron cuatro parámetros de

control (véase tabla 3.1 de la página 48): 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  $\gamma$  (Ec. (3.1) de la página 50).
2. El grosor del anillo,  $d\rho$  disminuye entre mayor sea el tamaño del haz de iluminación,  $w_G$  (Ec. (3.2) de la página 51).
3. La magnitud de la intensidad aumenta con valores mayores de  $w_G$  y valores menores  $\gamma$  (Ec. (3.3) y Ec. (3.4) de la página 53).

Mientras que en la dirección axial:

1. El tamaño de la botella,  $\Delta z$  se reduce entre menor sea el valor de  $\gamma$  (Ec. 3.5) y mayor el de  $w_G$  (página 54).
2. La magnitud de la intensidad aumenta con valores mayores de  $w_G$  y valores menores de  $\gamma$  (Ec. (3.7) de la página 55 y Ec. (3.6) de la página 54, respectivamente).
3. La simetría en la magnitud de la intensidad axial depende la posición de la lente de enfoque,  $z_{obj}$  (sección 3.3).

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. (3.1), 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 (Ec. (3.9) de la página 58):  $0.5z_{max} \leq z_{opt} \leq 0.6z_{max}$ , donde  $z_{max}$  es la extensión máxima del HB.

Un ejemplo más de esta optimización fue la utilización de valores  $\gamma$  muy pequeños y de  $w_G$  grandes. Este hecho motivó la adición de un telescopio al sistema anterior, al que se refirió como *sistema de axicón-telescopio* (capítulo 4). Con la implementación de este telescopio, logró encontrarse que un sistema caracterizado por las cantidades efectivas:  $\gamma^{eff}$ ,  $w_G^{eff}$  (y consecuentemente  $\rho_B^{eff}$ ), conformado por un axicón, es equivalente con un sistema de axicón-telescopio (sección 4.2).

El sistema equivalente emula ángulos de axicón,  $\gamma^{eff}$  tan pequeños como se desee (en principio), imposibles de obtener comercialmente. Además permite la manipulación del grosor del anillo de luz al

escoger valores  $w_G^{\text{eff}}$  adecuados. Estos parámetros efectivos quedan relacionados con los parámetros previos vía la magnificación lateral del telescopio (Ec. (4.8) de la página 70 y Ec. (4.9) de la página 73, respectivamente). Por otra parte, la equivalencia permitió un estudio numérico más eficiente (en términos de poder de computo) y la implementación de un sistema experimental versátil, compuesto de elementos asequibles en un laboratorio.

Aún habiendo optimizado las dimensiones de la botella de luz, se encontró que luz remanente permanecía en su interior. Más aún, la diferencia en el orden de magnitud de la intensidad lateral y axial era muy notoria (página 58). Estas problemáticas fueron resueltas al implementar, de manera numérica y experimental, un diafragma de tamaño de apertura  $\rho_D$ , que controlara la cantidad de luz del HB incidente en el objetivo (sección 4.3). Su uso se basó en la idea de hacer interferir destructivamente secciones de intensidad del HB que presentarán una diferencia de fase de  $\pi$  (página 83).

Sumar un telescopio y un diafragma al sistema óptico, añade como parámetros de control el radio de apertura  $\rho_D$ , y las distancias focales de las lentes usadas para crear el telescopio (tabla 4.2).

Por lo tanto, a la luz de los resultados presentados, es posible concluir que:

- Logró generarse numérica y experimentalmente un campo óptico cuya estructura puede describirse como una superficie de luz cuyo interior es oscuro.
- Se lograron hallar los parámetros que controlan la calidad del HB enfocado.
- La regulación de la cantidad de luz del HB juega un papel relevante en la cantidad de luz remanente al interior de la botella, y en el orden de magnitud de la intensidad lateral y axial.
- Logró optimizarse el HB enfocado.

No obstante, los valores encontrados de los parámetros de control, aunque optimizan la morfología de la botella de luz, no logran hacer que sus dimensiones sean lo suficientemente pequeñas como lo requiere un haz STED.

Este último hecho, aunque concluyente para el presente trabajo, no lo es para el fin último de lo propuesto. Es decir, la presente investigación constituye apenas un primer paso en la caracterización del campo estudiado, realizado únicamente con el propósito de hallar los parámetros que controlan la calidad del haz Bessel enfocado, además de investigar la posibilidad de optimizarlo. Más pasos han de hacerse para acercarse a una aplicación más plausible a STED.

## TRABAJO A FUTURO

La botella de luz constituye solamente una parte de la PSF efectiva de un microscopio STED (subsección 1.3.1.1), por lo cual sería de utilidad futura comparar, tanto en simulaciones como experimentalmente, la distribución de intensidad (en extensión espacial y magnitud) de ésta con la PSF del haz de excitación (un HG) en el mismo sistema que da origen a la botella. Es decir, en este trabajo quedaría pendiente:

- Comparar el HB enfocado con un HG enfocado en el mismo sistema<sup>1</sup>.

Este texto constituye un estudio preliminar de lo que podría llegar a ser la PSF de un haz de desactivación STED. En este sentido, la investigación fue desarrollada bajo ciertas condiciones globales, *e.g.*, las simulaciones fueron hechas en el régimen paraxial para poder aplicar la teoría escalar de difracción (sección 2.1 de la página 29), utilizando herramientas de la óptica de Fourier como la propagación de Fresnel (subsección 2.2.2 de la página 36); y el experimento se realizó usando una iluminación de campo extendido, proveniente del láser. Adicionalmente, el cálculo numérico fue hecho con el máximo esfuerzo computacional con el que se contaba.

Habiendo encontrado los parámetros que gobiernan el comportamiento del HB enfocado, esfuerzos en dirección a obtener un campo en otras condiciones tanto de no paraxialidad, como de iluminación, podrían hacerse para continuar la investigación. Una aproximación más cercana a la aplicación final, hacen conveniente también practicar experimentos futuros con objetivos de alta Apertura Numérica (AN), como los utilizados en la microscopía confocal y moléculas fluorescentes (sección 1.2). Es decir, parte del trabajo a futuro habría de ser:

- Obtener la PSF en condiciones no paraxiales, además de utilizar iluminación confocal y elementos fluorescentes propios de este tipo de técnicas de microscopía.

Finalmente, la utilidad de la caracterización presentada no tiene porque residir únicamente en el campo de la MO, por lo que también se podría:

- Buscar otras aplicaciones del HB enfocado. Por ejemplo la exploración de trampas ópticas para manipulación de partículas, como las descritas en [7].

---

<sup>1</sup> Con "mismo sistema" quiere decirse, el sistema compuesto del telescopio, el objetivo de enfoque y el diafragma (figura 4.2), menos el axicón (porque este cambia la estructura del HG por la del HB).



## PROGRAMAS DESARROLLADOS Y SOFTWARE UTILIZADO

---

A continuación se presenta el código fuente de los programas creados en Matlab® para hacer las simulaciones de la parte [ii](#) y el análisis de perfiles de fotografías de la parte [iii](#).

Cada programa se encuentra suficientemente comentado para ser entendido dentro de la práctica y habiendo comprendido el breve preámbulo al inicio de su presentación.

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.

### A.1 SIMULACIONES

El programa [A.1](#) es el programa principal de la simulación. Éste llama al resto de programas de esta sección cuando es necesario.

Es en `principal21.m` donde el usuario define el sistema óptico y los parámetros de control (véase sección [3.1](#) de la página [47](#) y [4.1](#) de la página [61](#)) con los que la simulación se ejecutará.

El programa se divide en tres bloques básicos: la definición de parámetros de la simulación, la simulación del sistema óptico elegido y el despliegue de gráficas y salvado de datos generados.

Es importante señalar que todas las gráficas mostradas en la parte [ii](#) (con excepción de las que muestran la propagación de la botella de luz) son hechas de interpolaciones de los cálculos resultantes de la simulación.

Programa A.1: `principal21.m`

```
1 %***** Propaga HG en 3 sistemas diferentes
   %*****
2 %{
3 % NOTAS:
4 % * Primero se declaran las variables de computo y cantidades fisicas
5 % basicas. Despues se pide el sistema especifico sobre el cual propagar.
   De
6 % acuerdo a la entrada, estos sistemas son:
7 %   0 - Axicon con opcion de telescopio (sin lente enfocante)(S0).
8 %   1 - Sistema equivalente: axicon efectivo mas lente enfocante (S1).
9 %   2 - Salir.
10 % * Cuando el programa finaliza de propagar el sistema elegido, pregunta
    si
```

```

11 % se desean salvar los datos generados.
12 % * Para cada grafica se generan dos versiones (o mas, si la informacion
    se
13 % interpola): con valores absolutos y normalizadas.
14 % * Todas las graficas generadas se salvan automaticamente.
15 % * Todas las dimensiones estan en micras.
16 % * HG - Haz Gaussiano
17 % * HB - Haz Bessel
18 % * Dependiendo de los parametros de control usados (gamma, wg, f_obj,
19 % z_lente-de-enfoque), hay que modificar los limites de las graficas.
20 %}
21 %%
22 tic
23 %----Ventana de computo original (usada solo en S0)
24 L0=7500; %tamano fisico de ventana = 2.5*wg
25 pot=12;M0=2^(pot); %numero de muestras
26 dx0=L0/M0; %tamano de muestreo
27 x0=-L0/2:dx0:L0/2-dx0; %vector de coordenadas espaciales
28 [X0,Y0]=meshgrid(x0);
29 [-,R]=cart2pol(X0,Y0);
30 fx=-1/(2*dx0):1/L0:1/(2*dx0)-1/L0; %vector coordenadas de frecuencias
31 [FX,FY]=meshgrid(fx);
32 %
33 %----Telescopio
34 %{
35 % NOTAS:
36 % * El valor 'Mag_L' sirve para definir las cantidades '*_eff' usadas en
    S1.
37 % * Propagar en S1 con 'Mag_L = 1' equivale a propagar en un sistema sin
38 % telescopio, ie, a propagar con axicon real de angulo 'gamma', al igual
    que
39 % con iluminacion real de ancho 'wg'.
40 % * Si se quiere iluminar diferentes axicones con la misma iluminacion
    hay
41 % que poner: 'Mag_L = 1' y variar 'gamma'.
42 %}
43 f1=1;%15000; % distancia focal de lente 1 del
    telescopio
44 f2=1;%20000; % distancia focal de lente 2 del
    telescopio
45 Mag_L=f2/f1;
46 %
47 %----Haz Gaussiano (HG) real
48 lambda=0.532; %longitud de onda
49 k=2*pi/lambda; %numero de onda
50 wg=1500; %radio de la cintura
51 u0=exp(-(R/wg).^2); %campo a propagar
52 %
53 %----Haz gaussiano equivalente (usado en S1)
54 wg_eff=Mag_L*wg; %radio de la cintura
55 u0_equ=exp(-(R/wg_eff).^2); %campo a propagar
56 %
57 %----Axicon real
58 n=1.5; %indice de refraccion
59 grad=0.5; %angulo interno
60 gamma=deg2rad(grad);
61 %

```

```

62 %----Axicon equivalente (usado en S1)
63 gamma_eff=gamma/Mag_L;
64 %
65 %----Multiplo de la distancia de formacion de HB
66 %{
67 NOTAS:
68 * La distancia maxima de formacion HB (dada por la optica geometrica)
69 equivale a 'm=1'.
70 * Este multiplo equivale a la distancia a la cual se pone la 'lente1' del
71 telescopio en S0, o la lente enfocante en S1.
72 %}
73 m=0.55;
74 %
75 %%
76 %----Eleccion de sistema a propagar
77 instruccion='Seleccionar sistema de propagacion:\n 0 - Axicon con opcion
78 de telescopio (sin lente enfocante)(S0).\n 1 - Sistema equivalente:
79 axicon efectivo mas lente enfocante (S1).\n 2 - Salir.\n Opcion: ';
80 %
81 ELEC=input(instruccion);
82 if ELEC == 0
83 %%
84 %: ::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::
85 %: :::::::::::::: S0 - PROPAGACION POR AXICON ::::::::::::::::::::
86 %: ::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::::
87 sistema='0';
88 %
89 zmax=wg/((n-1)*gamma); %dist max de formacion HB (opt geo)
90 dmax=2.0*zmax; %dist max de propagacion
91 %
92 zfinal=m*zmax; %distancia de propagacion (axicon-
93 lente1)
94 zsteps=15; %numero de pasos para propagar [impar]
95 dz=zfinal/zsteps; %tamano de paso
96 %
97 z0=0:dz:zfinal; %eje de propagacion
98 dlente1=zfinal; %distancia a la que estaria lente1
99 %
100 %--Apodizador
101 aps=tukeywin(M0,0.15);
102 [apsx,apsy]=meshgrid(aps);
103 aps=apsx.*apsy;
104 aps=fftshift(aps);
105 %
106 %--Propagador
107 prop=exp(-1i*pi*lambda*dz*(FX.^2+FY.^2));
108 prop=fftshift(prop);
109 %
110 %--Propagacion
111 u0=axicon(u0,k,R,n,gamma); %gaussiana pasa por axicon
112 [a,b,c,B,~,~]=condiciones(u0,zfinal,lambda,L0,M0,aps);
113 if (dx0 >= a && (B <= b))|(dx0 < a && (B <= c))
114 [u1,W_axicon,Wxy_axicon,Wz_axicon]=propagacion(u0,prop,aps,dz,
115 zsteps,M0);
116 else
117 disp('Revisar condiciones de muestreo (propagacion axicon). ')

```



```

170     aps=fftshift(aps);
171     %
172     %--Propagador
173     prop=exp(-1i*pi*lambda*dz*(FX.^2+FY.^2));
174     prop=fftshift(prop);
175     %
176     %--Propagacion
177     u1=lente(u1,k,R,f1);           %campo pasa por lente1
178     [a,b,c,~,B,D]=condiciones(u1,zfinal,lambda,L1,M1,aps);
179     %
180     if abs(f1) >= D/(2*lambda*(b-B))
181         if (dx1 >= a && (B <= b)) || (dx1 < a && (B <= c))
182             [u2,~,~,~]=propagacion(u1,prop,aps,dz,zsteps,M1);
183         else
184             disp('Revisar condiciones de muestreo (propagacion lente1
185                 ). ')
186         end
187     else
188         disp('Revisar condiciones de muestreo (distancia focal
189             lente1). ')
190     end
191     %
192     %--Propagacion por lente2
193     -----
194     zfinal=69*f2;
195     zsteps=3;           %debe ser numero impar
196     dz=zfinal/zsteps;
197     %
198     z1=0:dz:zfinal;
199     dfinal_tel=zfinal;
200     %
201     %--Propagador
202     prop=exp(-1i*pi*lambda*dz*(FX.^2+FY.^2));
203     prop=fftshift(prop);
204     %
205     %--Propagacion
206     u2=lente(u2,k,R,f2);           %campo pasa por lente1
207     [a,b,c,~,B,D]=condiciones(u2,zfinal,lambda,L1,M1,aps);
208     %
209     if abs(f2) >= D/(2*lambda*(b-B))
210         if (dx1 >= a && (B <= b)) || (dx1 < a && (B <= c))
211             [~,W_real,~,Wz_real]=propagacion(u2,prop,aps,dz,zsteps,M1
212             );
213         else
214             disp('Revisar condiciones de muestreo (propagacion lente2
215                 ). ')
216         end
217     else
218         disp('Revisar condiciones de muestreo (distancia focal
219             lente2). ')
220     end
221     %
222     %--interpolando la curva de intensidad sobre el eje z
223     z1_i=0:dz/4:zfinal;
224     Wz_real_i=interp1(z1,Wz_real,z1_i,'spline');
225     %

```

```

220 %--Hallando el maximo y minimo de la propagacion despues del
      telescopio
221 MAX_Bessel_real=max(Wz_real_i);
222 index=indice(Wz_real_i,MAX_Bessel_real,MAX_Bessel_axicon,
      MIN_Bessel_axicon);
223 MIN_Bessel_real=Wz_real_i(index);
224 %
225 %--Calculando la magnificacion axial
226 long_sT=dmax-m*zmax; %longitud del espectro cuando no hay
      telescopio
227 long_cT=z1_i(index); %longitud del espectro cuando hay
      telescopio
228 Mag_a=long_cT/long_sT; %magnificacion axial
229 %
230 error_long_cT=abs((Wz_real_i(index)-Wz_real_i(index-1)))/2;
231 error_long_sT=abs((Wz_axicon(1)-Wz_axicon(2)))/2;
232 error_Mag=(error_long_cT/long_sT)/2;
233 %
234 %--Visualizacion de la propagacion
235 path1=['TELESCOPIO-Mag_L',num2str(Mag_L),'-gamma',num2str(grad),'
      -m',num2str(m)];mkdir(path1);
236 %
237 grafica1('Propagacion lente2-objetivo (S0)',...
238 W_real,x1,z1,0,zfinal,-1875,1875,...
239 'z (\mum)','x (\mum)',MAX_Bessel_real,path1);
240 grafica2('Bessel en salida de lente2 (S0)',...
241 W_real(1,:),x1,'x (\mum)',...
242 -300,300,max(W_real(1:)),path1);
243 grafica2('Intensidad sobre el eje z (sin interpolar) (S0)',...
244 Wz_real,z1,'z (\mum)',...
245 0,inf,MAX_Bessel_real,path1);
246 grafica2('Intensidad sobre el eje z (S0)',...
247 Wz_real_i,z1_i,'z (\mum)',...
248 0,inf,MAX_Bessel_real,path1);
249 %
250 end
251 %
252 elseif ELEC == 1
253 %:~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~:
254 %:~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~:
255 %:~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~::~:
256 sistema='0';
257 %
258 %-----PROPAGACION AXICON
      -----
259 %--Se crea otra ventana de computo
260 %{
261 % NOTAS
262 % * El campo que se propaga en esta parte del programa es 'u0_equ'.
      Tambien
263 % se usa el axicon con 'gamma_eff'.
264 % * Las cantidades '*2' hacen referencia a la parte del sistema
      equivalente
265 % correspondiente a la propagacion por el axicon.
266 % * Las excepciones en nomenclatura son fx, FX, FY.
267 % * Debe cambiarse L2 a conveniencia. Usualmente 'L2=2.5*wg_eff' no
      funciona

```

```

268 % para propagar con objetivo aperturado (pero si funciona si no se
      apertura),
269 % debe ser ms grande para evitar errores de muestreo.
270 %}
271 L2=L0; %7500;
272 pot=12;M2=2^(pot);
273 dx2=L2/M2;
274 x2=-L2/2:dx2:L2/2-dx2;
275 [X2,Y2]=meshgrid(x2);
276 [~,R]=cart2pol(X2,Y2);
277 fx=-1/(2*dx2):1/L2:1/(2*dx2)-1/L2;
278 [FX,FY]=meshgrid(fx);
279 %
280 zmax_equ=wg_eff/((n-1)*gamma_eff);
281 dmax_equ=2.0*zmax_equ;
282 %
283 zfinal=m*zmax_equ;
284 zsteps=1; %debe ser numero impar
285 dz=zfinal/zsteps;
286 %
287 z2=0:dz:zfinal; %eje de propagacion
288 dobjetivo=zfinal; %distancia a la que estaria el
      objetivo
289 %
290 %----Apodizador
291 aps=tukeywin(M2,0.15);
292 [apsx,apsy]=meshgrid(aps);
293 aps=apsx.*apsy;
294 aps=fftshift(aps);
295 %
296 %----Propagador
297 prop=exp(-1i*pi*lambda*dz*(FX.^2+FY.^2));
298 prop=fftshift(prop);
299 %
300 %----Propagacion
301 u0_equ=axicon(u0_equ,k,R,n,gamma_eff);
302 [a,b,c,B,~,~]=condiciones(u0_equ,zfinal,lambda,L2,M2,aps);
303 %
304 if (dx2 >= a && (B <= b)) || (dx2 < a && (B <= c))
305     [u3,W_equ,Wxy_equ,Wz_equ]=propagacion(u0_equ,prop,aps,dz,zsteps,
      M2);
306 else
307     disp('Revisar condiciones de muestreo (propagacion axicon
      equivalente). ')
308 end
309 %
310 MAX_Bessel_equ=max(Wz_equ); %max alcanzado en la propagacion hecha
311 MIN_Bessel_equ=min(Wz_equ); %min alcanzado en la propagacion hecha
312 %
313 %---Visualizacion de la propagacion
314 path2=['AXICON-EQ-gamma',num2str(grad),'-Mag_L',num2str(Mag_L),'-m',
      num2str(m)];mkdir(path2);
315 %
316 grafica1('Propagacion tras axicon (S1)',...
      W_equ,x2,z2,0,dmax_equ,-1875,1875,...
      'z (\mum)','x (\mum)',MAX_Bessel_equ,path2);
317
318 grafica2('Bessel tras propagacion (S1)',...

```

```

320         Wxy_equ,x2,'x (\mum)',...
321         -300,300,max(Wxy_equ),path2);
322     grafica2('Intensidad sobre el eje z (S1)',...
323         Wz_equ,z2,'z (\mum)',...
324         0,dmax_equ,MAX_Bessel_equ,path2);
325 %
326 %-----PROPAGACION POR EL OBJETIVO
327 %-----
328 %
329     fobj=20000;                %distancia focal del objetivo
330 %
331     instruccion3='Aperturar objetivo con diafragma? (si=1/no=0)\n';
332     continuar=input(instruccion3);
333 %
334 % NOTAS:
335 % * Si se apertura el objetivo, se hace un proceso de refinamiento de
336 % muestreo. Si no se apertura el objetivo, este refinamiento no es
337 % posible
338 % porque deberia interpolarse una matriz u3 demasiado grande
339 %}
340     if continuar == 1
341         %radio de puila (centro mas 2 anillos)
342         rp=423*Mag_L;          %gamma=0.2 grad
343         rp=168.5*Mag_L;       %gamma=0.5 grad
344         rp=84.23*Mag_L;       %gamma=1 grad
345 %
346 % --Se refina la ventana de computo
347 %
348 % NOTAS:
349 % * Para obtener una mejor resolucion, la ventana de la propagacion
350 % anterior
351 % se reduce y sobre esta se interpolan 'pp' puntos mas. Esto no hace
352 % perder
353 % informacion, pues recuerdese que se tiene un diafragma que corta por si
354 % mismo el campo de entrada u3.
355 %}
356     L3=0.5*L2;
357     pp=3000; %numero de puntos a interpolar
358     M3=M2+pp;
359     dx3=L3/M3;
360     x3=-L3/2:dx3:L3/2-dx3;
361     [X3,Y3]=meshgrid(x3);
362     [~,R]=cart2pol(X3,Y3);
363     fx=-1/(2*dx3):1/L3:1/(2*dx3)-1/L3;
364     [FX,FY]=meshgrid(fx);
365 %
366 % --Se anaden puntos al campo en la nueva ventana de computo
367 %
368 % NOTAS:
369 % Para obtener el resultado de refinamiento de muestreo deseado, primero se
370 % interpola el area de interes (ventana L2) usando la informacion de todo
371 % el
372 % HB (campo u3 proveniente del axicon), despues se corta el area de interes
373 % usando el diafragama.
374 %}
375     u3=interp2(X2,Y2,u3,X3,Y3,'spline');

```

```

372     u3=circ(R/rp).*u3; %campo pasa por diafragma
373     else
374         L3=L2;
375         M3=M2;
376         dx3=dx2;
377         x3=x2;
378         X3=X2;
379         Y3=Y2;
380     end
381     %
382     zfinal=2*fobj;
383     zsteps=1; %debe ser numero impar
384     dz=zfinal/zsteps;
385     %
386     z3=0:dz:zfinal;
387     dfinal_obj=zfinal; %distancia a la que acaba el experimento
388     %
389     %----Apodizador
390     aps=tukeywin(M3,0.15);
391     [apsx,apsy]=meshgrid(aps);
392     aps=apsx.*apsy;
393     aps=fftshift(aps);
394     %
395     %----Propagador
396     prop=exp(-1i*pi*lambda*dz*(FX.^2+FY.^2));
397     prop=fftshift(prop);
398     %
399     %----Propagacion
400     u3=lente(u3,k,R,fobj); %campo pasa por objetivo
401     [a,b,c,~,B,D]=condiciones(u3,zfinal,lambda,L3,M3,aps);
402     %
403     %----Enfocamiento directo (para obtener superficie del plano de fourier)
404     [u3_f]=propTF(u3,L3,lambda,fobj);
405
406     if abs(fobj) >= D/(2*lambda*(b-B))
407         if (dx3 >= a && (B <= b)) || (dx3 < a && (B <= c))
408             [~,W_obj,~,Wz_obj]=propagacion(u3,prop,aps,dz,zsteps,M3);
409         else
410             disp('Revisar condiciones de muestreo (propagacion objetivo).
411                 ')
412         end
413     else
414         disp('Revisar condiciones de muestreo (distancia focal
415             objetivo). ')
416     end
417
418     %
419     %---interpolando la curva de intensidad sobre eje z y plano de fourier
420     z3_i=0:dz/4:zfinal;
421     Wz_obj_i=interp1(z3,Wz_obj,z3_i,'spline');
422     %
423     mitad=(zsteps+1)/2; %índice correspondiente a la mitad de la
424     %propagacion
425     W_fourier=W_obj(mitad,:); %vector con intensidad a la mitad de la
426     %propagacion
427     x3_i=-L3/2:dx3/4:L3/2-dx3;
428     W_fourier_i=interp1(x3,W_fourier,x3_i,'spline');
429     %

```

```

425 %--Hallando maximos y minimos correspondientes
426     MAX_objetivo=max(Wz_obj_i); %de propagacion tras objetivo
427     MIN_objetivo=min(Wz_obj_i);
428     MAX_fourier=max(W_fourier_i);%del campo transversal al plano de
         fourier
429     MIN_fourier=min(W_fourier_i);
430 %%
431 %-----Visualizacion de la propagacion
         -----
432     path3=['OBJETIVO-gamma',num2str(grad),'-wg_eff',num2str(wg_eff),'-
         Mag_L',...
433           num2str(Mag_L),'-m',num2str(m),'-',num2str(continuar)];mkdir(
         path3);
434 %
435 %Perfil transversal del haz bessel inmediatamente despues del
         objetivo
436     grafica2('Bessel en salida de objetivo',...
437             W_obj(1,:),x3,'x (\mum)',...
438             -300,300,max(W_obj(1:)),path3);
439 %-----AXIAL
         -----
440 %
441 %Lmites de la grafica
442     zb_1=1000;zb_2=3000;
443 %
444 %Perfil de intensidad axial del haz enfocado (sin interpolar)
445     grafica2('Intensidad axial (sin interpolar)',...
446             Wz_obj,z3,'z (\mum)',...
447             zb_1,zb_2,MAX_objetivo,path3);
448 %Perfil de intensidad axial del haz enfocado (curva interpolada)
449     grafica2('Intensidad axial',...
450             Wz_obj_i,z3_i,'z (\mum)',...
451             zb_1,zb_2,MAX_objetivo,path3);
452 %-----LATERAL
         -----
453 %
454 %Lmites de la grafica
455     xb=100;
456 %
457 %Imagen del anillo
458     grafical('Plano de Fourier',...
459             (abs(u3_f)).^2,x3,x3,-xb,xb,-xb,xb,...
460             'y (\mum)','x (\mum)',max(max(abs(u3_f)).^2),path3);
461 %Perfil de intensidad lateral del haz enfocado (sin interpolar)
462     grafica2('Intensidad lateral(sin interpolar)',...
463             W_fourier,x3,'x (\mum)',...
464             -xb,xb,MAX_fourier,path3);
465 %Perfil de intensidad lateral del haz enfocado (curva interpolada)
466     grafica2('Intensidad lateral',...
467             W_fourier_i,x3_i,'x (\mum)',...
468             -xb,xb,MAX_fourier,path3);
469 %-----COMPLETA
         -----
470 %Vista completa del haz enfocado
471     grafical('Propagacion tras objetivo',...
472             W_obj,x3,z3,0,dfinal_obj,-L3,L3,...
473             'z (\mum)','x (\mum)',max(Wz_obj),path3);

```

```

474 %Vista enfatizada del haz enfocado
475 grafical('Botella',...
476         W_obj,x3,z3,zb_1,zb_2,-2*xb,2*xb,...
477         'z (\mum)', 'x (\mum)',max(Wz_obj),path3);
478 %
479 else
480     disp('Terminado');
481 end
482 %%
483 % LABEL FIN
484 SALV=input('Salvar datos? (s=1/n=0)\n');
485 if SALV==1
486     clear prop u0 u0_equ u1 u2 u3 u3_f aps apsx apsy fx FX FY R X3 Y3 X2
487         Y2...
488     X1 Y1 X0 Y0 a b c B D zfinal zsteps dz ans mitad
489     path4=['Data-gamma',num2str(grad),'-Mag_L',num2str(Mag_L),'-m',
490         num2str(m),...
491         '-S',num2str(ELEC),'-',num2str(continuar)];
492     data=strcat(path4,'.mat');
493     save(data)
494 end
495 %
496 toc

```

La herramienta principal con el que las simulaciones fueron hechas es un algoritmo diseñado para propagar en un número finito de pasos (elegidos por el usuario) un campo inicial (el HG), que pasa por elementos como el axicón (programa A.3) y lentes (programa A.4), utilizando la función de transferencia de la propagación de Fresnel. Este algoritmo está codificado en A.2. Para mayores detalles, se sugiere consultar las referencias [17, 52].

Programa A.2: propagacion.m

```

1 function [f,W,Wxy,Wz]=propagacion(f0,prop,aps,dz,zsteps,M)
2 % Propaga usando propagacion de Fresnel
3 % *
4 % f - campo propagado
5 % W - matriz nodriza de perfiles de intensidad
6 % Wxy - vector de perfil de intensidad en plano x-y al terminar la prop
7 % Wz - vector de perfil de intensidad axial (a lo largo del eje z)
8 % *
9 % f0 - campo a propagar
10 % prop - propagador correspondiente
11 % aps - apodizador
12 % dz - tamaño del paso de la propagacion
13 % zsteps - numero de pasos para completar la propagacion
14 % M - numero de muestras
15 W(1,:)=(abs(f0(M/2,:))).^2; %rebanadas de intensidades de u1 (en y) al
    variar z
16 f0=fftshift(f0); %campo desplazado para fft
17 j=1;
18 for z=dz:dz:zsteps*dz;
19     disp('Paso numero')
20     disp(j)
21     f0=fft2(f0); %transformada de campo desplazado

```

```

22     f0=prop.*f0;           %propagacion
23     f0=ifft2(f0);        %transformada inversa del producto
24     f0=f0.*aps;          %apodizador
25     f=ifftshift(f0);     %desplazamiento final
26
27     W(j+1,:)=(abs(f(M/2,:)).^2);
28     Wxy=W(j+1,:);
29     Wz=W(:,M/2);
30     Wz=Wz';
31
32     j=j+1;
33
34 end

```

## Programa A.3: axicon.m

```

1 function f=axicon(f0,k,r,n,gamma)
2 % Transmite por un axicon
3 % *
4 % f - campo a la salida del axicon
5 % f0 - campo que pasa por el axicon
6 % k - numero de onda del campo que pasa por el axicon
7 % r - coordenada radial(meshgrid)
8 % n - indice de refraccion del axicon
9 % gamma - angulo de apertura del axicon
10
11 taxicon=exp(-1i*k*(n-1)*r*tan(gamma)); %transmitancia del axicon
12 f=taxicon.*f0;

```

## Programa A.4: lente.m

```

1 function f=lente(f0,k,r,f)
2 % Transmite por una lente
3 % *
4 % f - campo a la salida del axicon
5 % *
6 % f0 - campo que pasa por el axicon
7 % k - numero de onda del campo que pasa por el axicon
8 % r - coordenada radial(meshgrid)
9 % f - distancia focal de la lente
10
11 tlente=exp(-1i*k*(r.^2)/(2*f)); %transmitancia del axicon
12 f=tlente.*f0;

```

Para asegurar resultados físicamente aceptables, el campo a propagar debe cumplir ciertas condiciones de muestreo (véase [52]). Tales condiciones están codificadas en los programas A.5, A.6 y A.7

## Programa A.5: condiciones.m

```

1 function [a,b,c,B0,B1,D]=condiciones(f0,zfinal,lambda,L,M,aps)
2 % Calcula parametros para garantizar buena propagacion
3 % *
4 % a,b,c - parametros para garantizar una buena propagacion
5 % D - Soporte de f0

```

```

6 % B0 - Ancho de banda de -la transformada- f0
7 % B1 - Ancho de banda efectivo (aplica segun el caso)
8 % *
9 % f0 - campo que se va a propagar
10 % zfinal - distancia a la que se va a propagar
11 % lambda - longitud de onda del campo a propagar
12 % L - tamaño físico de la ventana en donde esta el campo
13 % M - número de muestras de la ventana donde esta el campo
14 % aps - función apodizadora (ya desplazada para fft)
15 % *
16 % dx >= a----[regimen de propagacion corta] Espacio disponible para "
    buena"
17 %      observacion de: D+lambda*zfinal/dx
18 % dx < a----[regimen de propagacion larga] Ancho de banda para la fuente
    se
19 %      vuelve limitado y hay "artifacts" mas alla de L/2*lambda*
    zfinal
20 % B <= b,c --[criterio de ancho de banda]
21 % abs(f) >= D/(2*lambda*(b-B))----[criterio para propagacion en lente
    de foco f]
22 %
23 a=(lambda*zfinal/L);
24 b=M/(2*L);
25 c=L/(2*lambda*zfinal);
26 %----Ancho de banda
27 eps=0.001;           %presicion del calculo
28 Pf=0.98;            %limite de exactitud
29 B0=findB(f0,L,M,eps,Pf); %calculo de ancho de banda
30 %
31 F0=ifftshift(fft2(fftshift(f0)).*aps); %transformada del campo
32 D=findD(f0,F0,L,M,eps,Pf); %calculo de soporte
33 B1=B0+D/(2*lambda*zfinal); %ancho de banda efectivo

```

## Programa A.6: findB.m

```

1 function B=findB(f0,L,M,eps,Pot)
2 % Estima ancho de banda de una función 2D usando sumas y Parseval's theor
3 % *
4 % B - ancho de banda= lim de integracion rad en espacio de frecuencias
5 % *
6 % f0 - función (en espacio de coordenadas) con B por conocer
7 % L - tamaño físico de la ventana
8 % M - número de muestras
9 % eps - incremento del límite de integ (=precisión de B)
10 % Pot - porcentaje de potencia que encierra B
11 Pot_esp=sum(sum(abs(f0).^2)); %integral en espacio de coordenadas
12 %
13 fx=-M/(2*L):1/L:M/(2*L)-1/L; %vector coordenadas de frecuencias
14 [FX,FY]=meshgrid(fx);
15 [~,R]=cart2pol(FX,FY);
16 r=0; %radio del círculo de integracion
17 %
18 F0=ifftshift(fft2(fftshift(f0))); %transformada de u
19 %
20 %integral sobre el círculo en espacio de frecuencias, normalizada
21 Pot_freq=sum(sum((abs(F0).^2).*circ(R/r)))/numel(F0);
22 i=1;

```

```

23 %comparacion de integrales. Se ejecuta integral anterior
24 %hasta alcanzar la precision deseada
25 while (Pot_frec/Pot_esp<=Pot)
26     disp('Ejecutando ''findB'')
27     disp(i)
28     r=r+eps;
29     Pot_frec=sum(sum((abs(F0).^2).*circ(R/r))/numel(F0));
30     i=i+1;
31 end
32 B=r;

```

## Programa A.7: findD.m

```

1 function D=findD(f0,F0,L,M,eps,Pf)
2 % Estima region de soporte de una funcion usando sumas y Parseval's theor
3 % *
4 % D - soporte de funcion f0
5 % *
6 % f0 - funcion
7 % F0 - transformada de f0
8 % L - tamaño de ventana de computo
9 % M - número de muestras
10 % eps - incremento del limite de integ
11 % Pf - valor de la integral = porcentaje de potencia
12 dx=L/M;
13 x=-L/2:dx:L/2-dx;
14 [X,Y]=meshgrid(x);
15 [~,R]=cart2pol(X,Y);
16 %
17 PT=sum(sum(abs(f0).^2));
18 %
19 eps=(L/2)*eps;
20 r=eps;
21 %
22 Par=sum(sum((abs(F0).^2).*circ(R/r)));
23 g=1;
24 while (Par/PT<=Pf)
25     disp('Ejecutando ''findD'')
26     disp(g)
27     r=r+eps;
28     Par=sum(sum((abs(F0).^2).*circ(R/r)));
29     g=g+1;
30 end
31 D=r; %2*r;

```

Para mostrar las gráficas del anillo en el plano de Fourier del objetivo, se utilizó [A.8](#), el cuál se basa en el mismo principio que el programa [A.2](#)

## Programa A.8: propTF.m

```

1 function[u2]=propTF(u1,L,lambda,z);
2 % Propagacion Fresnel. aproximacion mediante la funcion de
3 % transferencia. Se suponen las longitudes de lados
4 % x y y del mismo tamaño y una muestra uniforme.
5 % u1 - campo del plano fuente

```

```

6  % L - longitud de lado de los planos fuente y de observ.
7  % z - distancia de propagacion
8  % u2 - campo del plano de observacion
9  %
10
11 [M,N]=size(u1);           %tamano del arreglo del campo de
    entrada
12 dx=L/M;
13 k=2*pi/lambda;           %numero de onda
14
15 fx=-1/(2*dx):1/L:1/(2*dx)-1/L;   %coordenadas de frec
16 [FX,FY]=meshgrid(fx,fx);
17
18 H=exp(-j*pi*lambda*z*(FX.^2+FY.^2)); %funcion de tran
19 U1=fft2(fftshift(u1)); %desplazar u1->transformar u1-> transformada
    desplazada
20 H=fftshift(H); %desplazar H
21 U2=H.*U1; %producto de desplazadas
22 u2=ifftshift(ifft2(U2)); %transformada(inversa) del
23 %producto y des-shifteo
24 end

```

Cuando se simula el sistema de axicón más telescopio (capítulo 4), es necesario establecer un modo de comparar el perfil posterior a éste con su parte homóloga en el sistema sin telescopio. El programa A.9 encuentra el índice del vector del perfil posterior cuyo valor (normalizado) más se asemeja a su valor análogo en el perfil homólogo. De esta manera puede determinarse una longitud para comparar e intentar obtener una magnificación axial (sección 4.1.1 de la página 64).

Programa A.9: indice.m

```

1  function i=indice(VECTOR2,MAXIM02,MAXIM01,MINIM01)
2  vector2=VECTOR2/MAXIM02; %se normaliza el VECTOR2
3  minimo1=MINIM01/MAXIM01; %MINIM01 normalizado
4  dif=minimo1-vector2;%vector de diferencias entre el minimo1 y los valores
    en vector2
5  ord=sort(abs(dif));%se ordenan las diferencias de menor a mayor
6  i=find(dif==ord(1));%se halla el indice donde esta la dif mas pequena

```

Finalmente, los programas A.10 y A.10 despliegan y salvan (en un directorio particular, y en formato de mapa de bits y vectores) las gráficas de superficies y de dos dimensiones de los resultados deseados. En el caso de estas últimas despliegan tanto las gráficas hechas con los datos resultantes del cálculo, como las hechas con puntos interpolados. De cada gráfica se presenta su versión en magnitud absoluta y normalizada respecto a su propio máximo.

Programa A.10: grafica1.m

```

1  function [p1,p2]=grafica1(titulo,...
2  funcion,ejey,ejex,limx1,limx2,limy1,limy2,...
3  labelx,labely,maximo,path)

```

```

4 % Grafica superficie
5 % *
6 % p1 - grafica de superficie en valores absolutos
7 % p2 - grafica de superficie normalizada respecto al maximo de toda la
8 %     propagacion
9 % *
10 % titulo - titulo de la grafica
11 % funcion - funcion a graficar
12 % ejez - coordenadas transversales en la propagacion
13 % ejex - coordenadas axiales en la propagacion
14 % lim() - limite del eje correspondiente
15 % maximo - maximo de la funcion a graficar
16 % label() - etiqueta del eje correspondiente
17 %
18 [ejey,ejex]=meshgrid(ejey,ejex);
19 %
20 p1=figure ();
21     surf(ejex,ejey,funcion)
22     ax=gca;
23     ax.FontName='Palatino Linotype';
24     ax.FontSize=25;
25     ax.Title.String = '';%titulo;
26     ax.XLabel.String = labelx;
27     ax.XLabel.FontSize = 30;
28     ax.YLabel.String = '';%labely;
29     ax.YLabel.FontSize = 30;
30     ax.XGrid = 'off';
31     ax.YGrid = 'off';
32     ax.XLim = [limx1 limx2];
33     ax.YLim = [limy1 limy2];
34     ax.View =[0,90];
35     cb= colorbar; cb.Limits = [0 maximo]; caxis([0 maximo])
36     axis square; shading interp; colormap jet
37
38 %
39 %grafica normalizada
40 p2=figure ();
41     surf(ejex,ejey,funcion/maximo)
42     ax=gca;
43     ax.FontName='Palatino Linotype';
44     ax.FontSize=25;
45     ax.Title.String = '';%titulo;
46     ax.XLabel.String = labelx;
47     ax.XLabel.FontSize = 30;
48     ax.YLabel.String = '';%labely;
49     ax.YLabel.FontSize = 30;
50     ax.XGrid = 'off';
51     ax.YGrid = 'off';
52     ax.XLim = [limx1 limx2];
53     ax.YLim = [limy1 limy2];
54     ax.View =[0,90];
55     cb= colorbar; cb.Limits = [0 1]; caxis([0 1])
56     axis square; shading interp; colormap jet
57
58
59 %-----salvado de imagenes
60 %como jpg

```

```

61 print(p1,fullfile(path,titulo),'-djpeg','-r300')
62 print(p2,fullfile(path, strcat(titulo,'-n')),'-djpeg','-r300')
63 %como pdf
64 print(p1,fullfile(path,titulo),'-dpdf')
65 print(p2,fullfile(path, strcat(titulo,'-n')),'-dpdf')
66 %como fig
67 saveas([p1,p2],fullfile(path,titulo))

```

## Programa A.11: grafica2.m

```

1 function [p1,p2]=grafica2(titulo,...
2     funcion,ejex,labelx,...
3     limx1,limx2,maximo,path)
4 % Grafica funcion 2D
5 % *
6 % p1 - grafica en valores absolutos
7 % p2 - grafica normalizada respecto al maximo de toda la propagacion
8 % *
9 % titulo - titulo de la grafica
10 % funcion - funcion a graficar
11 % eje x - eje x (contra el que se va a graficar)
12 % label x - leyenda del eje x
13 % lim() - limite del eje correspondiente
14 % maximo - maximo de la funcion a graficar
15 p1=figure();
16 p=plot(ejex,funcion);
17 ax=gca;
18 ax.FontName = 'Palatino Linotype';
19 ax.FontSize = 25;
20 ax.Title.String = '';%titulo;
21 ax.XLabel.String = labelx;
22 ax.XLabel.FontSize = 30;
23 ax.YLabel.String = '';%Intensidad (u.a.)';
24 ax.YLabel.FontSize = 30;
25 ax.XGrid = 'off';
26 ax.YGrid = 'off';
27 ax.XLim = [limx1 limx2];
28 ax.YLim = [0 maximo];
29 axis square
30 p.LineWidth=1.5;
31 p.Color=[0 0 0];
32 p.LineStyle='-';
33
34 %
35 %grafica normalizada
36 p2=figure();
37 p=plot(ejex,funcion/maximo);
38 ax=gca;
39 ax.FontName = 'Palatino Linotype';
40 ax.FontSize = 25;
41 ax.Title.String = '';%titulo;
42 ax.XLabel.String = labelx;
43 ax.XLabel.FontSize = 30;
44 ax.YLabel.String = '';%Intensidad (u.a.)';
45 ax.YLabel.FontSize = 30;
46 ax.XGrid = 'off';

```

```

47     ax.YGrid = 'off';
48     ax.XLim = [limx1 limx2];
49     ax.YLim = [0 1];
50     axis square
51     p.LineWidth=1.5;
52     p.Color=[0 0 0];
53     p.LineStyle='-';
54
55     %-----salvado de imagenes
56     %como jpg
57     print(p1,fullfile(path,titulo),'-djpeg','-r300')
58     print(p2,fullfile(path, strcat(titulo, '-n')), '-djpeg', '-r300')
59     %como pdf
60     print(p1,fullfile(path,titulo),'-dpdf')
61     print(p2,fullfile(path, strcat(titulo, '-n')), '-dpdf')
62     %como fig
63     saveas([p1,p2],fullfile(path,titulo))

```

## A.2 EXPERIMENTOS

Los programas presentados en esta sección son muy sencillos. Fueron utilizados para trabajar con precisión la información contenida en las fotografías hechas en la parte [iii](#). El programa [A.12](#) fue utilizado para cortar las fotografías, mientras que con [A.13](#) se obtuvieron los perfiles como el mostrado en las figura [5.4f](#) de la página [92](#).

Programa A.12: crop.m

```

1     %:::Calcula perfiles de intensidad de una fotografia
2     %:::longitudes en micras
3
4     clear all
5     close all
6     %
7     for ii=0:1
8         disp(ii)
9         %
10        numero_foto=ii;
11        nombre_foto='1000botella';
12        %
13        I0=imread(nombre_foto,'jpg');
14        origen_x=120; largo=440; %coordenadas de la linea horizontal
15        origen_y=115; ancho=300; %coordenadas de la linea vertical
16        I=imcrop(I0,[origen_x origen_y largo ancho]);
17        %se muestra la fotografia y el cursor para hallar perfil 'x' y 'y'
18        nombre_foto=[nombre_foto,'-c.jpg'];
19        imshow(I)
20        imwrite(I,nombre_foto);
21    end

```

Programa A.13: perfiles3.m

```

1  %:::Calcula perfiles de intensidad de una fotografia
   :::::::::::::::::::::
2  %:::longitudes en micras
   :::::::::::::::::::::
3  clear all
4  close all
5  path1='perfiles';mkdir(path1);
6  %
7  intensidad_z=zeros(1,50);
8  for ii=0:1
9      disp(ii)
10     %cadenas para nomenclatura
11     numero_foto=ii;
12     nombre_foto='1000botella-c';%['1000mW_1206'];
13     nombre_perfil=strcat(nombre_foto,'-perfil');
14     nombre_data=strcat(nombre_foto,'.dat');
15     %
16     %se lee la fotografia y se halla su maximo en el espectro verde
17     I=imread(nombre_foto,'jpg');
18     %se muestra la fotografia y el cursor para hallar perfil 'x' y 'y'
19     figure(1)
20         imshow(I)
21         [X,Y]=ginput;
22         x1=1; x2=901;%coordenadas de la linea horizontal
23         y2=1; y3=451; %coordenadas de la linea vertical
24         hold on
25         plot([x1, x2], [Y, Y],'Color',[0.80 0.80 0.80],'LineWidth',0.9)%
           linea horizontal
26         plot([X, X], [y2, y3],'Color',[0.80 0.80 0.80],'LineWidth',0.9)%
           linea vertical
27         ax=gca;
28         ax.FontSize=19;
29         ax.Title.String =[num2str(ii*2+2),'\mum (escala motor)'];
30         saveas(gcf,fullfile(path1,nombre_foto),'fig')
31         saveas(gcf,fullfile(path1,nombre_foto),'jpeg')
32     %
33     %se toman los perfiles RGB correspondientes a cada linea dibujada
34     intensidad_rgb_x=improfile(I,[x1,x2],[Y,Y]);%perfil horizontal
35     intensidad_rgb_y=improfile(I,[X,X],[y2,y3]);%perfil vertical
36     %
37     %se toman los perfiles G correspondientes a cada linea dibujada
38     intensidad_x=intensidad_rgb_x(:,2);%perfil horizontal
39     intensidad_y=intensidad_rgb_y(:,2);%perfil vertical
40     %
41     %valores sobre el eje z (donde esta el crosshair)
42     X_int=round(X);
43     intensidad_z(ii+1)=intensidad_x(X_int);
44     %
45     int_x=[nombre_foto,'_x.dat']; int_y=[nombre_foto,'_y.dat'];
46     shift_cs=[nombre_foto,'_shift_cs.dat'];
47     %
48     save (int_x,'intensidad_x','-ascii')% intensidades deseadas
49     save (int_y,'intensidad_y','-ascii')% intensidades deseadas
50     save (shift_cs,'X','Y','-ascii')% intensidades deseadas
51     %
52     %lpx=10.031micras
53     pixel_h=1:length(intensidad_x);%vector con abscisas en pixeles

```

```

54 pixel_v=1:length(intensidad_y);%vector con ordenadas en pixeles
55 tamano_pixel=0.1031;
56 eje_x=tamano_pixel*(pixel_h-X);
57 eje_y=tamano_pixel*(pixel_v-Y);
58 %
59 figure(2)
60 plot(eje_x,intensidad_x,'Color',[0 0.93 0])
61 axis square
62 ax=gca;
63 ax.FontSize=25;
64 ax.Title.String = [num2str(ii*2+2),'\mum (escala motor)'];
65 ax.XLabel.String = 'x (\mum)';
66 ax.XLabel.FontSize = 20;
67 ax.YLabel.String = 'Intensidad';
68 ax.YLabel.FontSize = 20;
69 ax.XGrid = 'on';
70 ax.YGrid = 'on';
71 % ax.XTick =eje_x(1):500:eje_x(length(eje_x));
72 ax.XLim = [-inf inf];
73 ax.YLim = [-inf 300];
74 nombre_perfil_h=strcat(nombre_perfil,'-h');
75 saveas(gcf,fullfile(path1,nombre_perfil_h),'fig')
76 print(fullfile(path1,nombre_perfil_h),'-djpeg','-r300')
77 %
78 figure(3)
79 plot(intensidad_y,eje_y,'Color',[0 0.93 0])
80 axis square
81 ax=gca;
82 ax.FontSize=25;
83 ax.Title.String = [num2str(ii*2+2),'\mum (escala motor)'];
84 ax.XLabel.String = 'Intensidad';
85 ax.XLabel.FontSize = 20;
86 ax.YLabel.String = 'y (\mum)';
87 ax.YLabel.FontSize = 20;
88 ax.XGrid = 'on';
89 ax.YGrid = 'on';
90 ax.XLim = [-inf 300];
91 ax.YLim = [-inf inf];
92 nombre_perfil_v=strcat(nombre_perfil,'-v');
93 saveas(gcf,fullfile(path1,nombre_perfil_v),'fig')
94 print(fullfile(path1,nombre_perfil_v),'-djpeg','-r300')
95 %
96 figure(4)
97 subplot(2,2,2)
98 imshow(I)
99 hold on
100 plot([x1, x2], [Y, Y],'Color',[0.98 0.98 0.98],'LineWidth'
101 ,1.3)%línea horizontal
102 plot([X, X], [y2, y3],'Color',[0.98 0.98 0.98],'LineWidth'
103 ,1.3)%línea vertical
104 subplot(2,2,1)
105 plot(intensidad_y/max(intensidad_y),pixel_v,'Color',[0 0.93
106 0])
107 ax=gca;
108 ax.FontSize=25;
109 %ax.Title.String = [num2str(i*4+12),'cm del axicon (vertical)
110 '];

```

```

107     ax.XLabel.String = 'Intensidad';
108     ax.XLabel.FontSize = 20;
109     ax.YLabel.String = 'y (\mum)';
110     ax.YLabel.FontSize = 20;
111     ax.XGrid = 'on';
112     ax.YGrid = 'on';
113     ax.XLim = [-inf 1];
114     ax.YLim = [-inf inf];
115     subplot(2,2,4)
116     plot(pixel_h,intensidad_x/max(intensidad_x),'Color',[0 0.93
117           0])
118     ax=gca;
119     ax.FontSize=25;
120     %ax.Title.String = [num2str(i*4+12),'cm del axicon (
121           horizontal)'];
122     ax.XLabel.String = 'x (\mum)';
123     ax.XLabel.FontSize = 20;
124     ax.YLabel.String = 'Intensidad';
125     ax.YLabel.FontSize = 20;
126     ax.XGrid = 'on';
127     ax.YGrid = 'on';
128     ax.XLim = [-inf inf];
129     ax.YLim = [-inf 1];
130 end
131 eje_z=0:2:49*2;
132 figure(5)
133 plot(eje_z,intensidad_z,'Color',[0 0.93 0])
134 axis square
135 ax=gca;
136 ax.FontSize=25;
137 ax.Title.String = ['perfil (eje z)'];
138 ax.XLabel.String = 'z (\mum)';
139 ax.XLabel.FontSize = 20;
140 ax.YLabel.String = 'Intensidad';
141 ax.YLabel.FontSize = 20;
142 ax.XGrid = 'on';
143 ax.YGrid = 'on';
144 ax.XLim = [-inf inf];
145 ax.YLim = [-inf 300];
146 saveas(gcf,fullfile(path1,path1),'fig')
147 print(fullfile(path1,path1),'-djpeg','-r300')
148 int_z=[path1,'_z.dat'];
149 save (int_z,'intensidad_z','-ascii')% intensidades deseadas

```

### A.3 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] Milton Abramowitz e Irene A. Stegun. *Handbook of Mathematical Functions With Formulas, Graphs, and Mathematical Tables*. New York, EUA: Dover, 1985.
- [2] Janelia Research Campus Advanced Imaging Center. *iPALM*. [Web; accedido en Mayo 2019]. URL: <https://www.aicjanelia.org/ipalm>.
- [3] Les Allen, Marco Beijersbergen, Robert Spreeuw y J P. Woerdman. "Orbital angular momentum of light and transformation of Laguerre Gaussian Laser modes". En: *Physical review. A* 45 (jul. de 1992), págs. 8185-8189. DOI: [10.1103/PhysRevA.45.8185](https://doi.org/10.1103/PhysRevA.45.8185).
- [4] George B. Arfken y Hans J. Weber. *Mathematical Methods for Physicists*. 5.<sup>a</sup> ed. EUA: Elsevier Academic Press, 2005.
- [5] 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.
- [6] S Astner y Martina Ulrich. "[Confocal laser scanning microscopy]". En: *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete* 61 (abr. de 2010), págs. 421-8.
- [7] Yareni A. Ayala, Alejandro V. Arzola y Karen Volke-Sepúlveda. "Comparative study of optical levitation traps: focused Bessel beam versus Gaussian beams". En: *J. Opt. Soc. Am. B* 33.6 (2016), págs. 1060-1067. DOI: [10.1364/JOSAB.33.001060](https://doi.org/10.1364/JOSAB.33.001060). URL: <http://josab.osa.org/abstract.cfm?URI=josab-33-6-1060>.
- [8] M. A. Bandress y col. "Parabolic nondiffracting optical wavefields". En: *Optics Letters* 29.1 (2004), págs. 44-46.
- [9] A.Ya. Bekshaev y M.S. Soskin. "Transverse energy flows in vectorial fields of paraxial beams with singularities". En: *Optics Communications* 271.2 (2007), págs. 332 -348. ISSN: 0030-4018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.optcom.2006.10.057>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0030401806011618>.
- [10] Aleksandr Bekshaev, Marat Soskin y Mikhail Vasnetsov. "Paraxial Light Beams with Angular Momentum". En: *Ukrainian J. Phys.* 2 (feb. de 2008).
- [11] S. Chávez-cerda. "A new approach to bessel beams". En: *Journal of Modern Optics* 46.6 (1999), págs. 923-930.
- [12] Arthur Conan Doyle. *A Study in Scarlet*. 1.<sup>a</sup> ed. Reino Unido: Ward Lock & Co, 1887.

- [13] Tuanjie Du, Tao Wang y Fengtie Wu. "Generation of three-dimensional optical bottle beams via focused non-diffracting Bessel beam using an axicon". En: *Optics Communications* 317 (2014), págs. 24 -28. ISSN: 0030-4018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.optcom.2013.11.059>. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0030401813011383>.
- [14] J. Durnin. "Exact solutions for nondiffracting beams. I. The scalar theory". En: *Journal of the Optical Society of America* 4.4 (1987), págs. 651-654.
- [15] J. Durnin y col. "Diffraction-Free Beams". En: *Physical Review Letters* 58.15 (1987), págs. 1499-1501.
- [16] Severin Fürhapter, Alexander Jesacher, Stefan Bernet y Monika Ritsch-Marte. "Spiral phase contrast imaging in microscopy". En: *Opt. Express* 13.3 (2005), págs. 689-694. DOI: [10.1364/OPEX.13.000689](https://doi.org/10.1364/OPEX.13.000689). URL: <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-13-3-689>.
- [17] Joseph W. Goodman. *Introduction to Fourier Optics*. 2.<sup>a</sup> ed. Cambridge: McGraw-Hill, 1996.
- [18] I. S. Gradshteyn e I. M. Ryzhik. *Table of Integrals, Series, and Products*. 7.<sup>a</sup> ed. EUA: Elsevier, 2007.
- [19] David J. Griffiths. *Introduction to electrodynamics*. 3.<sup>a</sup> ed. EUA: Prentice Hall, 1999.
- [20] Mats G. L. Gustafsson y col. *Introduction to Superresolution Microscopy*. [Web; accedido en Enero 2019]. URL: <http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/superresolution/introduction.html>.
- [21] J. C. Gutiérrez Vega y col. "Alternative formulation for invariant optical fields". En: *Optics Letters* 25.20 (2000), págs. 1493-1495.
- [22] Eugene Hecht. *Optics*. 5.<sup>a</sup> ed. Pearson, 2017.
- [23] Stefan W. Hell. "Far-Field Optical Nanoscopy". En: *Science* 316.5828 (2007), págs. 1153-1158.
- [24] 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>.
- [25] B. Herman. *Fluorescence Microscopy*. 2.<sup>a</sup> ed. EUA: Springer asociada con la Royal Microscopy Society, 1998.
- [26] G. Indebetouw. En: *Journal of the Optical Society of America* ().
- [27] S.N Khonina y col. "Trochoson". En: *Optics Communications* 91.4 (1992), págs. 158-161.

- [28] 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>.
- [29] Melvin Lax y others. "From Maxwell to paraxial wave optics". En: *Physical Review A* 11.4 (1975), págs. 1365-1370.
- [30] Christian Maurer, Alexander Jesacher, Stefan Bernet y Monika Ritsch-Marte. "Phase contrast microscopy with full numerical aperture illumination". En: *Opt. Express* 16.24 (2008), págs. 19821-19829. DOI: [10.1364/OE.16.019821](https://doi.org/10.1364/OE.16.019821). URL: <http://www.opticsexpress.org/abstract.cfm?URI=oe-16-24-19821>.
- [31] C. W. McCutchen. "Generalized Aperture and the Three-Dimensional Diffraction Image". En: *J. Opt. Soc. Am.* 54.2 (1964), págs. 240-244.
- [32] McGraw-Hill. *Encyclopedia of Science and Technology*. 5.<sup>a</sup> ed. EUA: McGraw-Hill, 1993.
- [33] Octavio Miramontes y Volke Karen. "Fronteras de la física en el siglo XXI". En: 1.<sup>a</sup> ed. Ciudad de México, México: Copit arXives, 2013. Cap. La luz sobre el micromundo: Un laboratorio en un chip.
- [34] Eleonora Nagali, Fabio Sciarrino, Francesco De Martini, Lorenzo Marrucci, Bruno Piccirillo, Ebrahim Karimi y Enrico Santamato. "Quantum Information Transfer from Spin to Orbital Angular Momentum of Photons". En: *Physical review letters* 103 (ago. de 2009), pág. 013601. DOI: [10.1103/PhysRevLett.103.013601](https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.103.013601).
- [35] John Nye y M. V. Berry. "Dislocations in Wave Trains". En: *Proc.R.Soc. Lond. A.* 336 (ene. de 1974), págs. 165-190. DOI: [10.1098/rspa.1974.0012](https://doi.org/10.1098/rspa.1974.0012).
- [36] Christian Osseforth y col. "Simultaneous dual-color 3D STED microscopy". En: *Optics Express* 22.66 (2014), págs. 7028-7039.
- [37] Carl Paterson y Robin Smith. "Higher-order Bessel waves produced by axicon-type computer-generated holograms". En: *Optics Communications* 124.1 (1996), págs. 121 -130. ISSN: 0030-4018. DOI: [https://doi.org/10.1016/0030-4018\(95\)00637-0](https://doi.org/10.1016/0030-4018(95)00637-0). URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0030401895006370>.
- [38] Frank L. Pedrotti y col. *Introduction to Optics*. 3.<sup>a</sup> ed. Pearson, 1999.
- [39] M.V. Pérez, C. Gómez-Reino y J.M. Cuadrado. "Diffraction Patterns and Zone Plates Produced by Thin Linear Axicons". En: *Optica Acta: International Journal of Optics* 33.9 (1986), págs. 1161-1176.
- [40] A.J. Pesce, C.G. Rosén y T.L. Pasby. *Fluorescence spectroscopy: an introduction for biology and medicine*. M. Dekker, 1971.

- [41] The Nobel Prize. *All Nobel Prizes in Chemistry*. [Web; accedido en Mayo 2019]. URL: <https://www.nobelprize.org/prizes/lists/all-nobel-prizes-in-chemistry/>.
- [42] Rudi Rottenfusser y col. *Introduction to Superresolution Microscopy*. [Web; accedido en Mayo 2019]. URL: <http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/superresolution/introduction.html>.
- [43] Rudi Rottenfusser y col. *The Point Spread Function*. [Web; accedido en Enero 2019]. URL: <http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/basics/psf.html>.
- [44] Bahaa E. A. Saleh y Malvin C. Teich. *Fundamental of photonics*. 2.<sup>a</sup> ed. EUA: John Wiley y Sons, 1991.
- [45] Japón Sasada Laboratory Universidad de Keio. *Light possessing orbital angular momenta*. [Web; accedido en Enero 2019]. URL: <http://www.phys.keio.ac.jp/guidance/labs/sasada/research/orbngmom-en.html>.
- [46] Thermo Fisher Scientific. *Epifluorescence Microscope Basics*. [Web; accedido en Mayo 2019]. URL: [ning-center/molecular-probes-school-of-fluorescence/fundamentals-of-fluorescence-microscopy/epifluorescence-microscope-basics.html](http://www.thermofisher.com/epifluorescence-microscope-basics.html).
- [47] Colin J. R. Sheppard, Stephan Roth, Rainer Heintzmann, Marco Castello, Giuseppe Vicidomini, Rui Chen, Xudong Chen y Alberto Diaspro. "Interpretation of the optical transfer function: Significance for image scanning microscopy". En: *Opt. Express* 24.24 (2016), págs. 27280-27287.
- [48] Anthony E. Siegman. *Lasers*. 1.<sup>a</sup> ed. Mill Valley, EUA: University Science Books, 1986.
- [49] Vettenburg T. *3DPSF 3DMTF widefield confocal*. [Web; accedido en Mayo 2019]. URL: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:3DPSF\\_3DMTF\\_widefield\\_confocal.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:3DPSF_3DMTF_widefield_confocal.png).
- [50] Pravin Vaity y Rusch Leslie. "Perfect vortex beam: Fourier transformation of a Bessel beam". En: *Optic Letters* 40.4 (2015), págs. 597-600.
- [51] Antti Vasara, Jari Turunen y Ari T. Friberg. "Realization of general nondiffracting beams with computer-generated holograms". En: *J. Opt. Soc. Am. A* 6.11 (1989), págs. 1748-1754.
- [52] David Voelz. *Computational Fourier Optics a Matlab® Tutorial*. Bellingham, Washington E.U.A.: SPIE Press, 2011.
- [53] Karen Patricia Volke Sepúlveda. "Light Beams with Angular Momentum and Applications in Optical Tweezers". Tesis doct. Sta. María Tonantzintla, Puebla, México: Instituto Nacional de Astrofísica Óptica y Electrónica, 2003.

- [54] Fluorescence microscopes. *Olympus UPlanApo 10x*. [Web; accedido en Junio 2019]. URL: <https://www.fluorescencemicroscopes.com/olympus-uplanapo-10x-0-40-infinity-microscope-objective-lens/>.
- [55] THORLABS®. *DCU223C - CCD Camera*. [Web; accedido en Junio 2019]. URL: <https://www.thorlabs.com/thorproduct.cfm?partnumber=DCU223C>.
- [56] THORLABS®. *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).