



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE INGENIERÍA**

**Integración de la señal  
óptica para obtener  
imágenes de nanotecnología**

**TESIS**

Que para obtener el título de  
**Ingeniero en Telecomunicaciones**

**P R E S E N T A**

Emilio Aguilar Mendoza

**DIRECTOR DE TESIS**

Dra. Elsi Violeta Mejía Uriarte



**Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2017**

## **Jurado**

Presidente. M. I. Raúl Ruvalcaba Morales

Vocal. Dra. Elsi Violeta Mejía Uriarte

Secretario. M. I. Juventino Cuellar González

1er. Suplente. Dr. Sergiy Khotyaintsev

2do. Suplente. Dr. Daniel Enrique Ceballos Herrera

Director de Tesis

Dra. Elsi Violeta Mejía Uriarte

---

Firma

## **Agradecimientos**

A mis padres, por el apoyo y el cariño que me dan.

A la Doctora Elsi, por darme la oportunidad y confianza en formar parte de este proyecto, junto con su apoyo y consejos en la realización de esta Tesis.

A la Facultad de Ingeniería.

A la Universidad Nacional Autónoma de México

Al Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico.

Agradezco al proyecto PAPIIT IN106216 "Estudio del efecto de la temperatura y alta presión en nanoestructuras y nanopartículas por espectroscopia óptica y Raman" de la DGAPA-UNAM, que hizo posible la realización de esta tesis.

*Con cariño a mi papá, a mi mamá y mis hermanos*

## Resumen

Esta tesis consiste en el ensamble, funcionamiento y resultados obtenidos por un Microscopio de Barrido por Luz, desarrollado en el grupo de Fotónica de Microondas del Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico de la UNAM. El Microscopio de Barrido por Luz, es un dispositivo simplificado para obtener imágenes en alta resolución, con una resolución máxima experimental de  $56\text{ nm}$  por pixel. La cual se obtiene por medio de la exploración de un barrido por luz láser de  $405\text{ nm}$  y motorización de las platinas con micro pasos que van desde  $2.5\text{ }\mu\text{m}$  a  $40\text{ nm}$ . Todo esto es controlado por medio de una tarjeta de adquisición de datos de *National Instruments* y el software *LabView*, que se encarga de la integración de la señal óptica para obtener imágenes en el orden de decenas de nanómetros.

# Índice General

Antecedentes .....	1
Introducción .....	5
1. Teoría .....	7
1.1. Óptica .....	7
1.1.1. Electromagnetismo .....	8
1.2. Óptica Geométrica .....	10
1.2.1. Espejos y Lentes .....	11
1.2.1.1. Espejos .....	11
1.2.1.2. Lentes .....	12
1.2.2. Objetivo Para Microscopio .....	13
1.2.3. Límite de Difracción .....	14
1.3. Láser .....	15
1.3.1. Colimador Láser .....	15
1.4. Detector Óptico .....	16
1.5. Motor Eléctrico .....	16
1.5.1. Motor de DC .....	17
1.5.2. Motor de Pasos .....	18
1.6. Referencias del Capítulo .....	20
2. Microscopio .....	21
2.1. Tipos de Microscopio .....	21
2.1.1. AFM .....	22
2.1.2. SNOM .....	24
2.1.3. Microscopio Confocal .....	24
2.1.4. Microscopio de Fluorescencia .....	26
2.2. Microscopia de Barrido por Luz .....	27
2.2.1. Funcionamiento .....	28
2.2.2. Sistemas que lo Componen .....	29
2.3. Referencias del Capítulo .....	30
3. Tipos de Caracterización .....	31
3.1. Espectroscopía UV-Vis .....	31
3.2. Microscopía Óptica .....	32
3.3. AFM .....	33
3.4. Tratamiento de Muestras .....	33
3.4.1. Rejilla de TEM .....	34
3.4.2. Tejido de Cebolla .....	34
3.4.3. Plantilla de Calibración .....	34
3.4.4. Circuito .....	34
3.4.5. Nanopartículas .....	35
3.4.6. Monocristal de <i>NaCl</i> Dopado con Plata .....	35

3.5. Referencias del Capítulo .....	36
4. Desarrollo Experimental .....	37
4.1. Sistema Óptico .....	37
4.1.1. Fuente Luminosa y Lentes .....	38
4.1.2. Objetivo .....	39
4.1.3. Fotodiodo .....	40
4.2. Sistema Mecánico .....	41
4.2.1. Platina .....	42
4.2.2. Motores de Pasos .....	42
4.2.2.1. Motorización de las Platinas .....	43
4.2.3. Protección .....	47
4.3. Sistema Electrónico .....	48
4.3.1. Fuentes de Alimentación .....	48
4.3.2. Tarjeta de Adquisición de Datos .....	49
4.4. Software .....	49
5. Resultados .....	53
5.1. Primeras Pruebas .....	53
5.2. Calibración del Microscopio .....	57
5.2.1. Calibración para 1 micropaso .....	58
5.2.2. Calibración para 2 micropasos .....	61
5.2.3. Calibración para 4 micropasos .....	63
5.2.4. Calibración para 8 micropasos .....	66
5.2.5. Calibración para 16 micropasos .....	68
5.2.6. Calibración para 32 micropasos .....	71
5.2.7. Calibración para 64 micropasos .....	73
5.2.8. Recopilación de Resultados .....	76
5.3. Muestras .....	80
5.3.1. Rejilla de TEM .....	80
5.3.1.1. Oro .....	80
5.3.1.2. Cobre .....	83
5.3.2. Tejido de Cebolla .....	87
5.3.3. Circuito .....	90
5.3.4. Nanopartículas .....	92
5.3.5. Monocristal de <i>NaCl</i> Dopado con Plata .....	95
5.4. Problemas y Errores .....	96
Conclusiones .....	98
Apéndices .....	100

## Antecedentes

A través de la historia, el ser humano ha tenido la curiosidad y necesidad de crear dispositivos que nos permitan ir más allá de nuestros límites físicos. Ya sea para ir más rápido, volar, comunicarse a largas distancias, o apreciar cosas que a simple vista no distinguimos, porque son cosas muy pequeñas o muy lejanas.

En ese sentido, en el siglo XVI se creó el primer prototipo de microscopio [1]. Un dispositivo capaz de observar cosas que a simple vista no se ven. El cual consistía en dos lentes convexas en los extremos de un tubo mostrando de 3 a 9 aumentos [1].

De esta manera al pasar los años, se fue mejorando el dispositivo, aumentando su capacidad de aumento y resolviendo los distintos problemas que se enfrentaban como la calidad de las lentes, o si se utilizaban lentes esféricas o hiperbólicas, cóncavas o convexas, etc. De forma general un microscopio consistía en poner distintos lentes a cierta distancia o con ciertas configuraciones para enfocar luz y tener una muestra con distintos aumentos dependiendo de la configuración [1, 2]. Sin duda hubo una gran mejora, pero en 1887 se llegó a un límite teórico en cuanto a resolución óptica llamado el límite de difracción [3], que indicaba que no se podían llegar a resoluciones más bajas y que solo podía existir aumentos máximos de  $\times 50$  ó  $\times 100$  dependiendo de la longitud de onda de la luz.

En el siglo XX se desarrollaron de forma teórica las bases de la física moderna, en donde se dieron grandes avances sobre la naturaleza de luz y su dualidad onda – partícula. Por consiguiente, se desarrollaron los primeros microscopios que eran excitados por medio de electrones [4, 5], en donde se podía alcanzar una mayor resolución debido a que tenían una menor longitud de onda. Pero a su vez se tuvieron que utilizar otros dispositivos como lentes magnéticas o pantallas fluorescentes ya que no se utilizan lentes convencionales, porque se trabaja con los campos eléctricos y magnéticos, así se desarrollaron objetivos de dicha naturaleza.

El impacto que tuvo el microscopio electrónico o microscopio de electrones fue tal que generó una gran variedad [6 – 9], con diferentes características y diversos métodos, permitiendo llegar a resoluciones muy bajas e imágenes en 3D. Tales como el Microscopio de Fuerza Atómica (AFM)<sup>1</sup>, Microscopio de Sonda de Barrido (SPM)<sup>2</sup>, Microscopio de Efecto Túnel (STM)<sup>3</sup>, entre muchos otros. Además de que con ayuda del procesamiento de imágenes se han obtenido resultados sorprendentes [10].

El microscopio tiene diversas aplicaciones en áreas como biología, medicina, química, materiales, etc. Uno de los principales problemas del microscopio electrónico es que no

---

<sup>1</sup> *Atomic Force Microscope.*

<sup>2</sup> *Scanning Probe Microscope.*

<sup>3</sup> *Scanning Tunneling Microscope.*

puede interactuar con muestras biológicas o no de la mejor manera, debido a la alta potencia que se utiliza en dichos microscopios. De esta manera, se han llegado a desarrollar métodos muy ingeniosos en donde se supera el límite de difracción [11, 12] permitiendo estudiar moléculas individuales dentro de las células, además de que las personas que desarrollaron estos dispositivos han sido galardonadas con el Premio Nobel de Química en el 2014 [13].

Como se ha indicado anteriormente, las aplicaciones son diversas, junto con el impacto que ha tenido en la vida humana es un instrumento simplemente invaluable. Ya que se desarrollan nuevos fármacos, se descubren nuevos comportamientos en algún virus o bacteria, se determina una forma más eficiente en el uso de materiales, se desarrollan nuevas tecnologías como la nanotecnología, etc. Todo esto no sería posible sin la ayuda del microscopio y aunque existe una variedad inimaginable de ellos, aún quedan nuevas y novedosas formas de seguir desarrollando estos dispositivos, tomando en cuenta las infinitas aplicaciones [14].

Las características de los diferentes tipos de microscopios dependen de su aplicación, pero una parte muy importante es la resolución que pueden alcanzar, es decir, la distancia mínima que pueden llegar a distinguir.

Por ejemplo, el Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM)<sup>4</sup> fue uno de los primeros microscopios en utilizar un haz de electrones en lugar de luz. Consiste en analizar una muestra muy delgada y al aplicar un haz de electrones, algunos atraviesan la muestra y se aprecia el aumento de la muestra por medio de lentes magnéticos o electrostáticos [15].

Un tipo de microscopia muy particular es donde se utiliza una sonda de barrido para analizar la muestra, ya sea tocando la muestra o estando a una distancia muy pequeña sobre la muestra. Estos son AFM y SPM; en donde no se hace uso de lentes que permiten ampliar la imagen, sino que se emite una señal y se mide la reflexión de dicha señal por medio de detectores. Alcanzando una resolución de 0.25 – 0.7 nanómetros [8, 16, 17]. Otra forma de SPM es el Microscopio Óptico de Campo Cercano de Barrido (SNOM)<sup>5</sup>, que consiste en una sonda puntiaguda con una abertura muy pequeña en el centro, por la cual se puede emitir luz y a su vez coleccionar un reflejo de la muestra formando una imagen. Dando una resolución en el orden de unidades de nanómetros [18].

Actualmente se desarrollan otro tipo de métodos para microscopia llamada de súper resolución donde se pretende explotar el hecho de que el límite de difracción ya no representa una barrera considerable y que la nanoscopía se pueda utilizar para diferentes aplicaciones. Estos métodos son SIM<sup>6</sup>, STORM<sup>7</sup>, PALM<sup>8</sup>, SOFI<sup>9</sup>, entre muchos otros [19 – 21].

---

<sup>4</sup> *Transmission Electron Microscope.*

<sup>5</sup> *Near-Field Scanning Optical Microscope.*

<sup>6</sup> *Structured Illumination Microscopy.*

<sup>7</sup> *Stochastic Optical Reconstruction Microscopy.*

En esta tesis se presenta un Microscopio de Barrido por Luz, con una resolución óptica aproximada de 56 nm. En la que la luz de un láser de 405 nm pasa a través de un objetivo de 100 ×. Mientras que el barrido se realiza debido al movimiento uniforme de una platina motorizada en un área determinada por el usuario. En donde a partir de la reflexión del láser en la muestra, se dirige a un detector para formar la imagen con ayuda de un software que permite la automatización del proceso a partir de parámetros introducidos por el usuario.

## Referencias

- [1] Davidson, M. W. (2009). Pioneers in Optics: Zacharias Janssen and Johannes Kepler. *Microscopy Today*, 17(6), 44. doi:10.1017/S1551929509991052
- [2] Slayter, E. M., & Slayter, H. S. (1992). *Light and electron microscopy*. Cambridge: Cambridge University Press.
- [3] Abbe, (1873). *Beiträge zur Theorie des Mikroskops und der mikroskopischen Wahrnehmung*. *Arch. Mikr.* 9, 413-468.
- [4] Johnson, R. P. (1938). Simple Electron Microscopes. *Journal of Applied Physics*, 9(8), 508. doi:10.1063/1.1710448
- [5] Martin, L. C. (1938). The Electron Microscope. *Nature*, 142(3607), 1062. doi:10.1038/1421062a0
- [6] Swift, J. A. (1970). *Electron microscopes*. London: Kogan page; New York: Barnes & Noble, 1970.
- [7] Haine, M. E. (1961). *The electron microscope: The present state of the art. including a chapter on specimen techniques and applications*. London: E. & F. N. Spon.
- [8] Birdi, K. S. (2003). *Scanning probe microscopes: applications in science and technology*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- [9] Bard, A. J., & Mirkin, M. V. (2012). *Scanning electrochemical microscopy*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- [10] Wu, Q., Merchant, F. A., & Castleman, K. R. (2008). *Microscope image processing*. Amsterdam: Elsevier/Academic.
- [11] Hell SW, Wichmann J (1994) Breaking the diffraction resolution limit by stimulated emission: Stimulated-emission-depletion fluorescence microscopy. *Opt Lett* 19:780– 782.

---

<sup>8</sup> Photo Activated Localization Microscopy.

<sup>9</sup> Super-Resolution Optical Fluctuation Imaging.

- [12] Hell SW, Kroug M (1995) Ground-state-depletion fluorescence microscopy: A concept for breaking the diffraction resolution limit. *Appl Phys B Lasers Optics* 60:495–497.
- [13] [https://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/laureates/2014/](https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2014/)
- [14] Xi, P. (2015). *Optical nanoscopy and novel microscopy techniques*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis.
- [15] Hugo, j. A., Phillips, V. A. (1965). A twin-jet technique for thinning metals for transmission electron microscopy. *Journal of Scientific Instruments*, 42354-355.
- [16] And, A. (1987). Atomic Resolution with Atomic Force Microscope. *EPL (Europhysics Letters)*, 3(12), 1281.
- [17] COSSLETT, V. E. (1967). Scanning Microscopy with Electrons and X-rays. *Journal Of Electron Microscopy*, 16(1), 51.
- [18] Pohl, D., Dürig, U., & Fischer, U. (1988). Scanning near-field optical microscopy (SNOM). *Journal of Microscopy*, 152(3), 853-861. doi:10.1111/j.1365-2818.1988.tb01458.
- [19] Schaefer, L. H., Schuster, D., & Schaffer, J. (2004). Structured illumination microscopy: artefact analysis and reduction utilizing a parameter optimization approach. *Journal Of Microscopy*, 216(Pt 2), 165-174.
- [20] Almada, P., Culley, S., & Henriques, R. (2015). PALM and STORM: Into large fields and high-throughput microscopy with sCMOS detectors. *Methods (San Diego, Calif.)*, 88109-121. doi: 10.1016/j.ymeth.2015.06.004.
- [21] Dertinger, T., Colyer, et al. (2010). Achieving increased resolution and more pixels with Superresolution Optical Fluctuation Imaging (SOFI). *Optics Express*, 18(18), 18875-18885. doi:10.1364/OE.18.018875.

## Introducción

En esta tesis se presenta el ensamble, funcionamiento y resultados obtenidos por un Microscopio de Barrido por Luz, desarrollado en el grupo de Fotónica de Microondas del Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico de la UNAM.

El Microscopio de Barrido por Luz tiene como base de funcionamiento, la unión de la resolución óptica teórica, dada por los componentes ópticos utilizados y la resolución espacial dada por motores de micropasos. Por consiguiente, este Microscopio ofrece una resolución óptica teórica aproximadamente de  $40\text{ nm}$  por pixel. La cual se encuentra por debajo del límite de difracción y que es de gran ayuda para las necesidades de diversas investigaciones que se llevan a cabo en el Laboratorio de Fotónica de Microondas.

A continuación, se describe el contenido de esta tesis:

En el Capítulo 1 se presenta la parte teórica de los componentes del Microscopio, sus conceptos y herramientas utilizadas para el desarrollo experimental del mismo.

En el Capítulo 2 se realiza una comparativa de los diferentes tipos de microscopios existentes, con algunas similitudes con el Microscopio de Barrido por Luz para poder ubicar el tipo de microscopia utilizada, junto con las ventajas que se tiene en comparación con la microscopia convencional. Se muestran las características y capacidades del Microscopio en cuanto a resolución óptica y el tipo de muestras a analizar.

En el Capítulo 3 se presentan los tipos de caracterización de materiales que se pueden realizar para poder hacer un análisis previo de las muestras a observar. Con el fin de determinar si son aptas o no para el Microscopio de Barrido por Luz. Además de que estos tipos de caracterización ofrecen cierta información para considerar en el análisis de resultados obtenidos.

En el Capítulo 4 se muestra una detallada descripción de los componentes utilizados en el microscopio, junto con la construcción experimental y el principio de operación del Microscopio de Barrido por Luz. Detallando los diferentes sistemas que lo componen: óptico, electrónico, mecánico y software.

En el Capítulo 5 se muestran las imágenes obtenidas con el Microscopio de Barrido por Luz, se hace una comparación de los valores teóricos dados por motores de micropasos y los valores experimentales obtenidos a partir de un proceso de calibración. Se realizaron diversas pruebas con diferentes tipos de muestras, tanto orgánicas como inorgánicas.

Por último, en la sección 6 se presentan las conclusiones de este trabajo, junto con reflexiones sobre optimización de este microscopio y posibles trabajos a futuro.

Es importante destacar que existe un margen de mejora muy amplio para este microscopio, el cual representa un gasto económico mucho menor en comparación al costo de equipos comerciales.

# 1. Teoría

Para el desarrollo de esta tesis se utilizaron diferentes herramientas, es importante conocer tanto el aspecto teórico como el técnico, ya que con eso se conocen las capacidades del dispositivo y la comprensión al hacer el análisis de los resultados.

## 1.1. Óptica

La óptica es el área de la física donde se estudian y analizan las propiedades de la luz, junto con los diferentes fenómenos luminosos que se manifiestan al hacer utilidad de la misma [1].

De esta manera, a lo largo de los avances de la ciencia, ha sido importante comprender de donde proviene la luz o que genera dicha luz. Para después profundizar más y tratar de explicar cómo se comporta en diferentes situaciones y poder llegar a hacer aplicaciones en diversas áreas de utilidad.

Como primeros indicios, se tiene el desarrollo de espejos a partir de metales pulidos. Mientras que, por parte de algunos griegos como Pitágoras, Empédocles, Platón, Aristóteles, entre otros; desarrollaron importantes aportaciones como la propagación de la luz en forma rectilínea y la ley de la reflexión, dada por Euclides. Para después utilizar la confección de vidrio, junto con diversos materiales utilizados como espejos para experimentar y llegar a crear dispositivos sencillos como lupas y lentes para encender fuego.

Después de esa época el desarrollo se vio un poco pausado, con pequeños pero importantes avances por parte de los árabes. Pero no fue hasta el siglo XVI y XVII que continuaron con aportaciones y experimentos que permitieron el perfeccionamiento en la fabricación de lentes y espejos que a su vez daban lugar a dispositivos como el telescopio y microscopio.

Por el lado de la parte teórica, uno de los principales aportadores fue Isaac Newton. En donde se enfocaba más en la propagación de la luz y sus componentes, además de conocer qué era la luz, es decir, un fenómeno formado por partículas o un fenómeno ondulatorio. Esta cuestión fue una de las más intensas en cuanto a debates, ya que había experimentos que indicaban la naturaleza ondulatoria de la luz.

De manera independiente, Faraday encontró una relación directa entre el electromagnetismo y la luz. Mientras que Maxwell fue quien propuso los modelos matemáticos para representar dichos fenómenos. Entonces estaba claro que la luz formaba parte de la propagación ondulatoria a través de un medio al cual se le denominaba éter en esa época, pero después pasó a ser el vacío.

El siglo XX abrió la puerta a nuevas ideas en el área de física, al romper varios paradigmas y dar un nuevo panorama a varias ideas estancadas. De esta manera, Max Planck daba las bases sobre la mecánica cuántica, y a partir de ésta, Einstein propuso que la luz consistía en pequeños paquetes de energía, a los que les llamó: “Cuantos”. Dicha energía dependía de su frecuencia y la constante de Planck. Pero a partir de estas bases, se afirmó que no sólo los fotones, sino que las partículas en general tienen una naturaleza de onda-partícula.

La óptica ha permitido maximizar nuestras capacidades en muchas áreas con diversas aplicaciones de la luz. Por ejemplo, podemos aprovechar la luz eléctrica en las noches, comunicaciones a mayor velocidad con fibra óptica, en medicina el uso de láseres para operaciones, etc. Es por eso que la óptica es un área de mucha importancia y con grandes proyecciones para el futuro en cuanto a tecnología por desarrollar.

### 1.1.1. Electromagnetismo

Debido a sus características de onda-partícula, la luz pertenece a las ondas electromagnéticas. Está formada por dos ondas perpendiculares entre sí y en fase como se muestra en la Figura 1.1. Una es perteneciente al campo eléctrico y otra al campo magnético, en donde la dirección de propagación es perpendicular a ambas ondas [1].

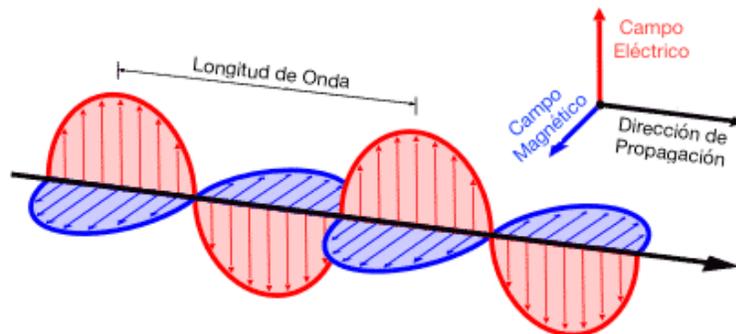


Figura 1.1. Onda Electromagnética

A partir de la frecuencia de la onda electromagnética, existen diferentes tipos de ondas, con sus respectivas características. Los diferentes tipos de onda se pueden apreciar en el espectro electromagnético. Como se aprecia en la Figura 1.2. Tomando en cuenta que existe una relación entre la longitud de onda y la frecuencia dada por:

$$\lambda = \frac{c}{f}$$

En donde C es la velocidad de la luz equivalente a  $3 \times 10^8$  m/s, aproximadamente.

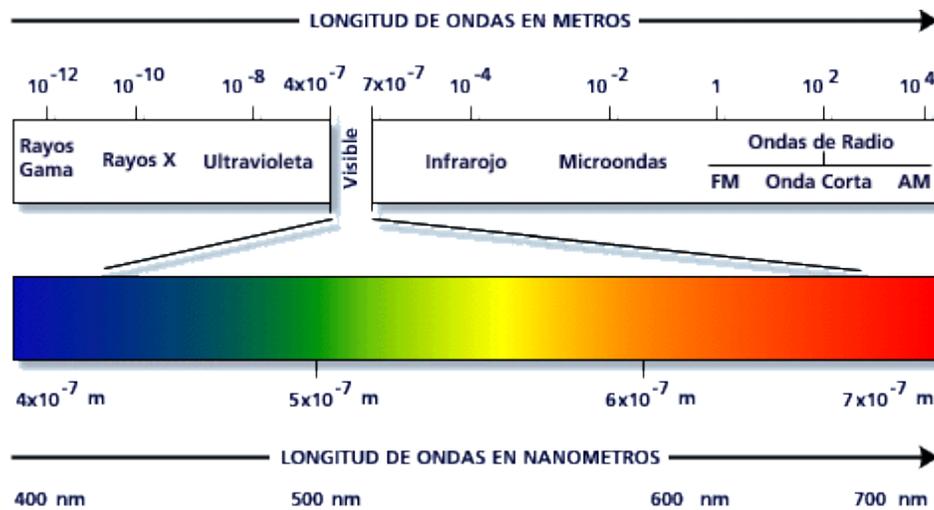


Figura 1.2. Espectro Electromagnético

Por consiguiente, se tiene que la luz solamente es una porción del espectro electromagnético que se subdivide en tres partes:

- a) Infrarrojo que se extiende aproximadamente de 1 mm a 780 nm. Que a su vez se subdivide en:
  - a. Infrarrojo cercano que va de 780 nm a 3000 nm.
  - b. Infrarrojo intermedio que va de 3000 nm a 6000 nm.
  - c. Infrarrojo lejano que va de 6000 nm a 15000 nm.
  - d. Infrarrojo extremo que va de 15000 nm a 1 mm.
- b) Luz visible que se extiende aproximadamente de 780 nm a 390 nm. Como se aprecia en la Tabla 1.1

Color	$\lambda$ (nm)
Rojo	780-622
Naranja	622-597
Amarillo	597-577
Verde	577-492
Azul	492-455
Violeta	455-390

Tabla 1.1. Longitudes de onda de la luz visible

- c) Ultravioleta que se extiende aproximadamente de 390 nm a 10 nm

Otra parte importante que se tiene que destacar es la energía de radiación de la luz, que son los fotones visto de la forma cuántica que está dada a partir de:

$$E = h\nu$$

En donde  $h = 6.6261 \times 10^{-34} J$ , que es la constante de Planck y  $\nu$  es la frecuencia a la que se encuentra la onda. Entonces la energía de los fotones es directamente proporcional a su frecuencia. En donde se tiene que a mayor frecuencia mayor energía de radiación. Es importante tomar en cuenta la energía de radiación en el caso de la región ultravioleta, rayos x y rayos gamma.

## 1.2. Óptica Geométrica

La luz se puede estudiar y analizar de diferentes maneras, principalmente depende de la aplicación a elegir la forma de estudio. Pero una de las maneras más simples y sencillas es considerar a la luz como rayo, es decir, una propagación rectilínea y uniforme, sin tomar en cuenta la naturaleza ondulatoria de la luz. Esto es posible cuando su aplicación implica objetos muy grandes en comparación con la longitud de onda.

Como primera instancia se tiene la Ley de Snell, mostrada en la Figura 1.3. En donde se tiene un rayo incidente en un medio con índice de refracción  $n_1$ , este rayo atraviesa la frontera entre dos medios con índices de refracción diferentes y cierta parte del rayo pasa al segundo medio con índice de refracción  $n_2$ , pero con un ángulo diferente al incidente respecto a la normal. Mientras que existe una reflexión en el primer medio con ángulo igual al incidente respecto a la normal. De esta forma se tiene la siguiente relación:

$$\frac{n_1}{n_2} = \frac{\sin \theta_1}{\sin \theta_2}$$

Donde:

$$n_{1,2} = \frac{c}{v_{1,2}}$$

Llamado índice de refracción e indica una relación entre la velocidad de la luz y la velocidad de fase del rayo.

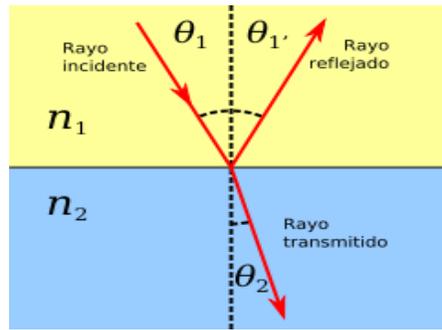


Figura 1.3. Ley de Snell

## 1.2.1. Espejos y Lentes

Una de las partes más importantes que hicieron florecer la óptica, fue la fabricación de lentes y espejos. En primera instancia para apreciar reflejos ya sea de nosotros mismos o de objetos, hasta llegar a crear señales de luz con el reflejo del sol entre muchas otras aplicaciones. Para después con ayuda de lentes, ayudar a las personas con enfermedades de la vista por medio de los anteojos. Todo esto se ha ido perfeccionando en cuanto a fabricación o diseño para darles nuevas y mejores aplicaciones [1 – 2].

### 1.2.1.1. Espejos

Un espejo es una superficie lisa, capaz de reflejar la luz, como se muestra en la Figura 1.4. De esta manera, un espejo permite direccionar la luz, dependiendo del ángulo de incidencia y cumpliendo con la Ley de Snell.

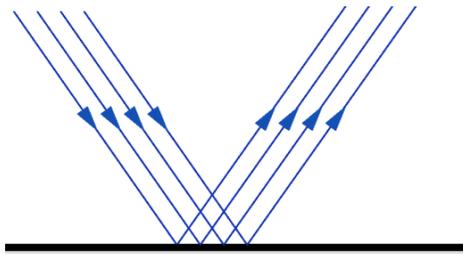


Figura 1.4. Reflexión en un espejo plano

Existen diferentes tipos de espejos, pero principalmente son:

- Planos: La superficie es plana y no deforma la imagen.
- Esféricos: La superficie es una fracción de una esfera como se muestra en la Figura 1.5 y deforma la imagen. A su vez, existen de dos formas:
  - Cóncavo: Concentran los rayos paralelos en un punto llamado foco.

- Convexo: Los rayos se concentran en un punto virtual llamado foco.

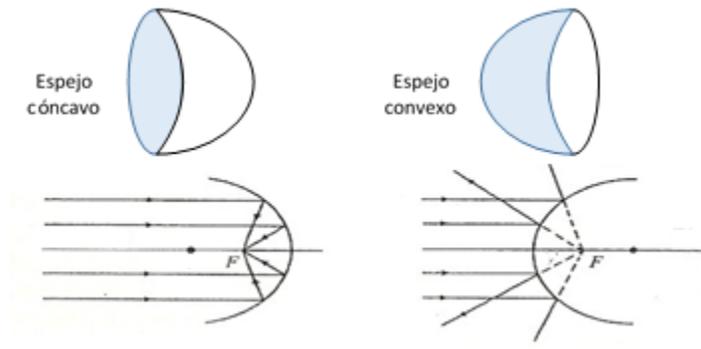


Figura 1.5. Espejos Esféricos

### 1.2.1.2. Lentes

Una lente es un dispositivo que refracta la luz, es decir, direcciona los rayos incidentes. Están formadas por al menos un espejo esférico por un lado y por el otro puede ser un espejo plano o esférico.

Existen fundamentalmente dos tipos de lentes (Véase Figura 1.6):

- Convergentes: también llamadas positivas. Generalmente son más gruesas en la parte central. Se les nombra así porque los rayos que inciden, se refractan y se concentran en un punto llamado punto focal, es decir, convergen en el punto focal.
- Divergentes: también llamadas negativas. Generalmente son más delgadas en la parte central. Se les nombra así porque los rayos que inciden, se refractan y se separan del eje horizontal de la lente, es decir, divergen.

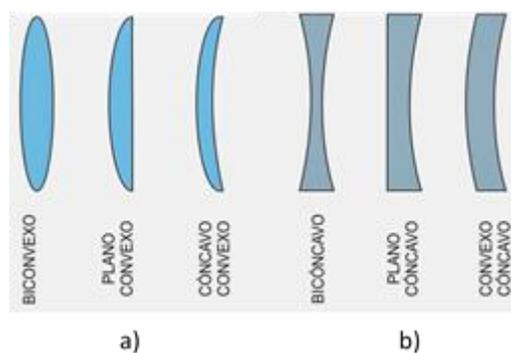


Figura 1.6. Diferentes tipos de lentes. a) Lentes Convergentes b) Lentes Divergentes

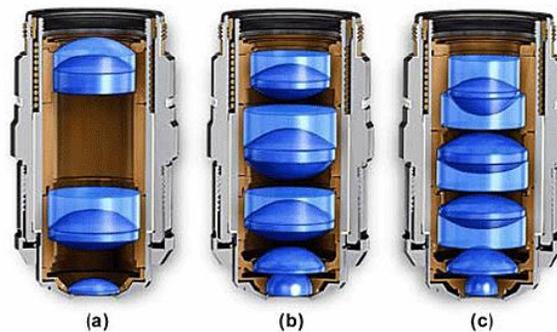
## 1.2.2. Objetivo Para Microscopio

Uno de los principales componentes de un microscopio es el objetivo, ya que es el encargado de coleccionar la luz que proviene de la muestra y mostrar una imagen aumentada de la misma [2-3].

Están constituidas por una o varias lentes, las cuales se encuentran alineadas y con distancias específicas entre ellos para formar el eje óptico del sistema. Si bien es una combinación de lentes, llegan a existir errores de imagen, llamados aberraciones. Aunque a lo largo de la historia se han podido resolver debido a métodos de fabricación. Las principales aberraciones son de tipo geométricas, en donde hay deformación de imagen, y de tipo cromáticas, en donde existen pequeños anillos de color.

La clasificación de los objetivos para microscopio es la siguiente (Véase Figura 1.7):

- Objetivos acromáticos: corrección de aberración cromática para dos colores y de aberración esférica para un color.
- Objetivos semi – apocromáticos: corrección de aberración cromática para 2 o 3 colores y de aberración esférica para dos colores.
- Objetivos apocromáticos: tienen el más alto nivel de corrección de aberraciones.



*Figura 1.7. Tipos de Objetivos. a) Objetivo Acromático b) Objetivo Semi – Apocromático c) Objetivo Apocromático*

Otra característica importante sobre los objetivos, es el medio que se encuentra entre las lentes. Pueden ser objetivo seco u objetivo de inmersión. En el primer caso, el medio es el aire con índice de refracción  $n = 1$ , mientras que en el segundo caso puede ser algún aceite con  $n = 1.51$ . Esto es importante ya que el índice refracción del vidrio es de  $n = 1.5$ , entonces en los objetivos de inmersión se disminuye la refracción de los rayos, permitiendo un aumento en la luminosidad de la imagen.

### 1.2.3. Límite de Difracción

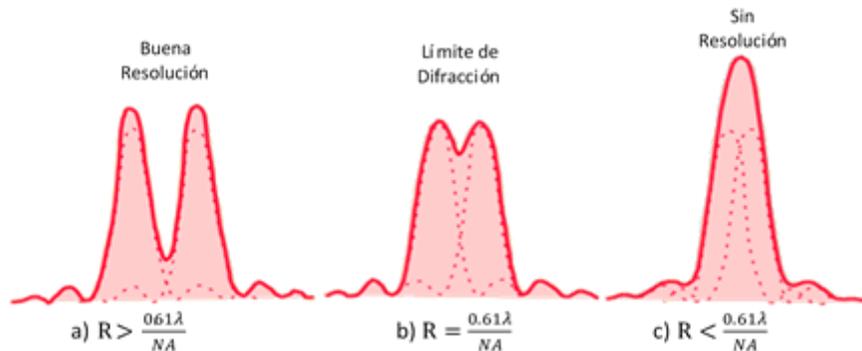
La resolución óptica se puede definir como la distancia mínima que puede llegar a distinguir un dispositivo óptico. Dicho lo anterior, en microscopia convencional, la resolución óptica depende de la Apertura Numérica (NA) y la longitud de onda ( $\lambda$ ) de la luz incidente [4].

El límite de difracción (criterio de Rayleigh), indica la máxima resolución teórica que se puede tener debido a efectos de difracción y está dada por la siguiente expresión:

$$R = \frac{1.22\lambda}{2n \sin \theta} = \frac{0.61\lambda}{NA}$$

Donde  $n$  es el índice de refracción del medio, que generalmente es el aire ( $n = 1$ ), y NA es la apertura numérica del objetivo.

Con lo anterior, el índice de difracción fue indicado por Abbe y Rayleigh (criterio de Abbe o Rayleigh), en donde se establece que en una muestra con dos puntos a una cierta distancia y con el mismo nivel de energía, se puedan distinguir de forma independiente, como se muestra en la Figura 1.8.



*Figura 1.8. Límite de Difracción a) Se cumple el criterio de Rayleigh b) Límite de Difracción c) No se cumple con el criterio de Rayleigh*

Es importante notar que cuando no se cumple el criterio de Rayleigh, las imágenes se sobreponen y se pierde la resolución. Para poder mejorar eso, existen dos soluciones simples. La primera es emplear una menor longitud de onda ( $\lambda$ ) y la segunda utilizar un objetivo que tenga una alta apertura numérica (NA).

Por otro lado, actualmente existen métodos de microscopia que permiten obtener una resolución más baja a la que indica el criterio de Rayleigh.

### 1.3. Láser

Un láser<sup>10</sup> es un tipo de fuente luminosa generada por emisión estimulada. Los elementos que lo componen son, una cavidad resonante, un medio activo en donde se produce la amplificación y el bombeo que permite excitar el medio activo [5]. Las principales propiedades de un láser son:

- Monocromaticidad: De forma teórica, un láser, emite una sola longitud de onda. Pero en realidad es un rango de longitudes de onda muy estrecho.
- Coherencia: es una característica muy singular debido a la emisión estimulada. Ya que las ondas que se generan, tienen una misma fase tanto temporal como espacial.
- Direccionalidad: la radiación se tiene en cierta dirección y con un ángulo de divergencia definido. Generalmente, el ángulo de dispersión de un láser es muy pequeño, siendo casi paralelo en la misma dirección.

Existen varios tipos de láser, pero principalmente se tienen:

- Gas: utilizan un gas como medio activo.
- Semiconductor: fabricados a partir de semiconductores.
- Estado sólido: utilizan cristales o fibras dopadas como medio activo.

El tipo de láser se selecciona dependiendo de su aplicación, Sin embargo, para esta Tesis se considera el láser de semiconductor. Debido a su bajo costo y lo compacto que puede ser. Aunque comparación con otros láseres, presenta poca coherencia y un amplio rango de longitudes de onda en su ancho espectral, como principales desventajas.

#### 1.3.1. Colimador Láser

Aunque un láser posee una alta direccionalidad, siempre es importante tener controlado el haz de un láser. Un colimador es un dispositivo que permite obtener un haz paralelo a partir de una fuente divergente. Como se muestra en la Figura 1.9.

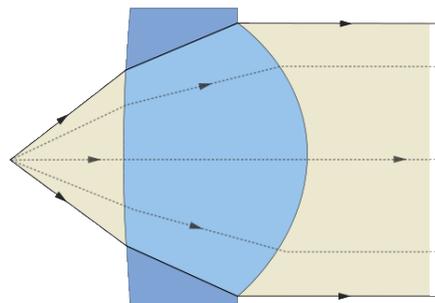


Figura 1.9. Colimador Láser

<sup>10</sup> Por sus siglas en inglés: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation

El colimador se utiliza no solo para los láseres, sino también para controlar otro tipo de radiación como electrones o rayos X. Pero para el caso de un colimador laser, generalmente está conformado por una lente esférica o parabólica. Con esto, se mejora aún más la direccionalidad del láser, en especial el caso de los láseres de semiconductor.

## 1.4. Detector Óptico

Un detector óptico, también llamado fotodetector, es un dispositivo transductor que proporciona una señal eléctrica a partir, de radiación luminosa. De esta manera, un fotodetector es capaz de modificar las propiedades de conducción eléctrica en el dispositivo debido a la incidencia de fotones en un área determinada. Por consiguiente, se genera una fotocorriente y generalmente es utilizado como sensor de energía luminosa [6].

Las principales propiedades de un fotodetector son:

- Eficiencia cuántica: de forma general, está dada por  $\eta = \frac{\text{Flujo de electrones}}{\text{Flujo de fotones incidentes}}$ . Pero se toman otros factores como reflexión del material, fotones absorbidos, etc.
- Responsividad: indica la sensibilidad del dispositivo y se expresa en [A/W].
- Tiempo de respuesta: indica el tiempo de subida y de bajada del dispositivo. Y es el periodo que toma el dispositivo en emitir o detectar la luz.
- Ruido: indica el ruido que se genera debido a corrientes no deseadas.
- Sensibilidad espectral: indica el rango de longitudes de onda de operación del dispositivo.

Los principales fotodetectores que existen son:

- Fotodiodo PN: es una unión pn.
- Fotodiodo PIN: es la unión pn, pero en medio tiene un material intrínseco o ligeramente dopado, para favorecer la absorción de fotones.
- Fototransistor: funcionamiento equivalente a un transistor NPN.
- Fotodiodo de avalancha (APD): a partir de la incidencia de un fotón, se amplifica la señal por efecto de avalancha.

## 1.5. Motor Eléctrico

Un motor eléctrico es un dispositivo que transforma la energía eléctrica en energía mecánica, por medio de interacciones electromagnéticas. De esta manera, generalmente, la principal función de un motor es girar. Existe una gran variedad de motores y generalmente dependen de su aplicación, pero se enfocará principalmente a dos tipos.

### 1.5.1. Motor de DC

Un motor de corriente directa (DC), es aquel que, al incidir una corriente eléctrica gira libremente a cierta velocidad. Lo cual hace que sea muy impreciso a la hora de girar una fracción de vuelta o una cantidad específica de vueltas. Se muestra un motor de DC en el Figura 1.10.



*Figura 1.10. Motor DC*

Una parte importante de este tipo de motor, es que la inercia mecánica toma un papel importante, ya que de forma inicial no alcanza su velocidad máxima. Al igual que al cortar la energía para detenerse, continúe con cierta inercia. Lo cual lo hace poco eficiente para varias aplicaciones.

Por otro lado, existe una configuración llamada servo, en la que a partir de engranes, el eje mecánico acoplado a un potenciómetro y circuito de control, se puede realizar ciertos movimientos en fracciones de giro, lo cual representa una utilidad importante cuando no es necesario un giro completo como en el caso de robótica. Un servo motor se muestra en la Figura 1.11.



*Figura 1.11. Servomotor*

## 1.5.2. Motor de Pasos

Un motor de pasos (PaP), no gira de forma libre como el de DC, sino que lo hace a partir de “pasos”, para conseguir una vuelta. De esta manera, tiene la capacidad de quedar estable en cierta posición de giro cuando no está girando.

Estos motores tienen varias bobinas y para su funcionamiento, es necesario un control de energía para las bobinas, pero en una secuencia de pulsos. De esta manera, es posible controlar el número de pasos y el sentido de giro de los mismos. Pero si no se tiene un control de pulsos para las bobinas, simplemente no se moverá y solo vibrará.

Los parámetros más importantes de un motor de pasos son los siguientes:

- Ángulo de paso: indica el avance angular del motor por cada pulso.
- Número de pasos: indica el número de pasos que se relajan para dar una vuelta. Evidentemente se hace a partir del siguiente cálculo: 
$$NP = \frac{360^\circ}{\text{Ángulo de paso}}$$
- Voltaje de operación
- Corriente de fase

Al igual, se pueden clasificar de la siguiente manera:

- Unipolar: están conformados por cuatro bobinas, las cuales están interconectadas en un común. Se ponen en serie de dos en dos para formar dos estatores y de esta manera con la secuencia adecuada de pulsos, se generan los pasos y el sentido de giro.
- Bipolar: están conformados por dos grupos de bobinas, y en este caso no tienen un común que las interconecte. Se ponen en dos estatores del motor y el proceso requiere mayor implementación para su control, ya que se necesitan puentes H. Sin embargo, ofrecen un mejor torque en comparación con el unipolar.

Ambos se pueden apreciar en la Figura 1.12.

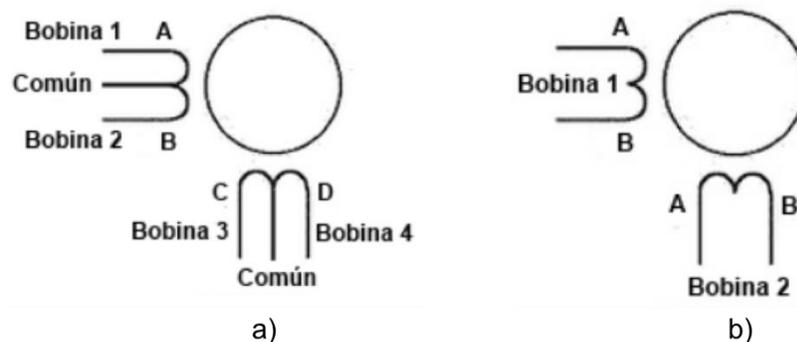


Figura 1.12. a) Unipolar b) Bipolar

Una parte muy importante para considerar, es la generación de micropasos. Esto es que un motor de pasos, pueda tener posiciones intermedias entre pasos. Por ejemplo, un motor de  $1.8^\circ$  en ángulo de paso, generando 4 micropasos, se tiene un ángulo de paso de  $0.45^\circ$ . Principalmente se utilizan dos técnicas para conseguir micropasos:

- Modulación de ancho de pulso
- Interacción seno y coseno

En el caso de este trabajo se explicará más a fondo la técnica de interacción de seno y coseno en el Desarrollo Experimental, ya que es la técnica que se implementa para la generación de micropasos.

## 1.6. Referencias del Capítulo

[1] Hecht, E., & Dal Col, R. (2000). *Óptica*. Madrid; México: Addison Wesley, [2000].

[2] Malacara, D., Malacara, Z., & Malacara, D. (2004). *Handbook of optical design*. New York: M. Dekker.

[3] Davidson, Michael W.; Abramowitz, Mortime R. *Encyclopedia of Imaging Science & Technology*, 2002 1st Edition, Vol. 2, p1106-1141, 36p

[4] Abbe E (1873) Contributions to the theory of the microscope and the microscopic perception.

[5] Orza Segade, J. M. (1986). *Láseres y sus aplicaciones*. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

[6] Pérez Conde, C. (1996). *Sensores ópticos*. Valencia: Universidad de Valencia, 1996.

## 2. Microscopio

Un microscopio<sup>11</sup>, es un dispositivo óptico que nos permite ver objetos más pequeños, de lo que nos permite nuestra resolución óptica natural. Es decir, permite ver una imagen aumentada de los objetos, con el fin de analizar y estudiar el mundo microscópico.

Desde su invención, por Zacharias Jensen a principios del siglo XVI (Véase Figura 2.1). Se han logrado una innumerable cantidad de avances en varias áreas de la ciencia como biología, química, física, materiales, medicina, etc. En los que no se hubieran logrado sin la ayuda del microscopio [1]. Así que ha llegado a formar parte muy importante del desarrollo de la ciencia y las diversas aplicaciones en muchas áreas.



*Figura 2.1. Microscopio de Zacharias Jensen*

Por otro lado, esto se consiguió a partir de la fabricación de lentes y espejos, junto con el perfeccionamiento del mismo. En donde a partir de un conjunto de lentes en cascada, se podía aumentar la resolución de la imagen. Para después llegar a los límites físicos dados por la difracción y la longitud de onda de operación (límite de difracción) [2].

Es por eso que fueron necesarios métodos innovadores como la microscopia electrónica, en donde se ha podido llegar más allá y llegar a un nivel atómico (por ejemplo, TEM<sup>12</sup>). Permitiendo obtener una mejor resolución óptica y mejores imágenes [3].

De esta manera es importante seguir profundizando en el área de microscopia, no solo para obtener mejor resolución, sino para darle otra perspectiva como la caracterización de materiales y la estructura de los mismos.

### 2.1. Tipos de Microscopio

Existe una gran diversidad de microscopios, en donde generalmente las características de los mismos dependen de la aplicación o de la muestra que se necesite analizar, ya que hay varios que no son aptos para muestras biológicas o simplemente tienen mejores resultados con ciertos materiales.

---

<sup>11</sup> Del griego “Mirar pequeño”.

<sup>12</sup> *Transmission Electron Microscope*.

Como se mencionó anteriormente, una de las principales razones por las que se encontraron novedosas formas de microscopia fue el límite de difracción, que representa un límite en la resolución óptica. Y es por eso que se intentó con otro tipo de fuentes como radiación de electrones, microondas, radiación con luz, etc.

La microscopia de barrido en general es una de las tantas opciones novedosas. En donde lo que se aprecia es un área determinada, y esta puede ser amplia o no, a partir de un “barrido” realizado por la fuente o por las platinas del microscopio con la muestra. De esta manera, dependiendo de la fuente de excitación y el sistema de detección, se formará la imagen.

En este tipo de microscopia se encuentran microscopios como el AFM, SEM, STEM, SNOM, etc. En donde la similitud es el barrido que hacen a la muestra con diferentes técnicas. Y en algunos de estos casos es importante destacar que no solo obtienen una imagen amplificada de la muestra, sino que tienen la capacidad de caracterizar materiales [4]. Otra de las ventajas que se puede tener con este tipo de microscopia, es que el análisis de resultados puede ser más profundo, ya que se puede hacer un procesamiento de imagen más fino.

### **2.1.1. AFM**

El Microscopio de Fuerza Atómica fue desarrollado en 1985 y consiste en una punta muy fina, con un radio de curvatura de 20 nm a 60 nm, capaz de detectar la fuerza atómica que puede llegar a existir entre la muestra y la punta. De forma teórica, tiene una resolución atómica, ya que “detecta átomos” y la fuerza que interactúa entre ellos [5].

El funcionamiento consiste en que la punta hace un barrido sobre la muestra, ya sea por medio de contacto directo o no. Para que después el sistema se desplace y permita obtener imágenes en 3D. De esta manera se ha llegado a fracciones de nanómetro en cuanto a resolución. Se puede ver un AFM comercial en la Figura 2.2.



Figura 2.2. AFM Comercial

Este tipo de microscopio es capaz de caracterizar materiales, ya que se pueden conocer las propiedades físicas del material como fuerza eléctrica o fuerza magnética. Además de que, al ser un barrido sobre la superficie de la muestra, se puede observar la topografía de la superficie, lo cual es de ayuda para conocer en donde existe mayor cantidad de material o la ausencia del mismo.

También tiene diferentes formas de operación como *tapping*<sup>13</sup>, contacto e imagen de fase, entre otros. En donde la punta puede estar en contacto o no contacto.

Con lo anterior, el AFM puede ofrecer resultados como los que se muestran en la Figura 2.3. En donde se muestran imágenes de topografía y fase.

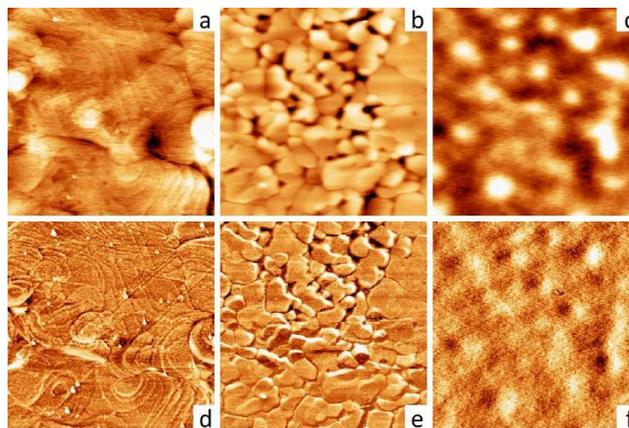


Figura 2.3. Resultados AFM

---

<sup>13</sup> Consiste en hacer oscilar la punta de prueba con el fin de obtener mejor información sobre el relieve de la muestra.

### 2.1.2. SNOM

El Microscopio Óptico de Campo Cercano de Barrido (SNOM)<sup>14</sup>, es un microscopio que utiliza una punta muy fina con un pequeño orificio con un diámetro aproximado de 100 nm, por el cual viaja luz. La cual, a partir de la reflexión de la misma, mide la luz evanescente reflejada o transmitida y forma la imagen por medio de un detector [6]. Esto se puede apreciar en la Figura 2.4.

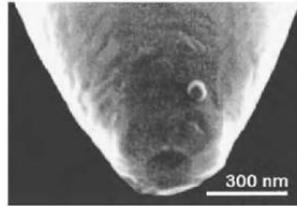


Figura 2.4. Punta SNOM

La altura a la que debe estar la punta sobre la muestra, se debe encontrar en el campo cercano dependiendo de la longitud de onda de operación. Un ejemplo de resultados que se pueden obtener con este tipo de microscopio junto con una comparativa de diferentes alturas de la punta se puede apreciar en la Figura 2.5. De esta manera se ha llegado a una resolución en el orden de nanómetros.

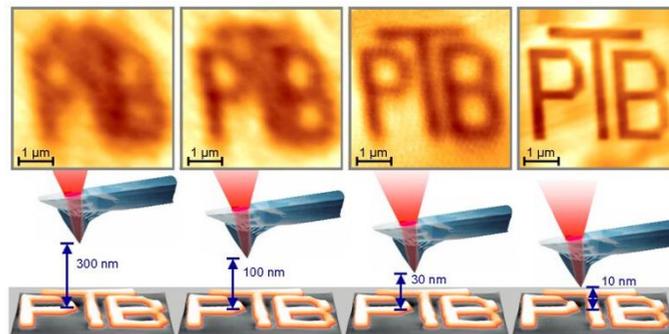


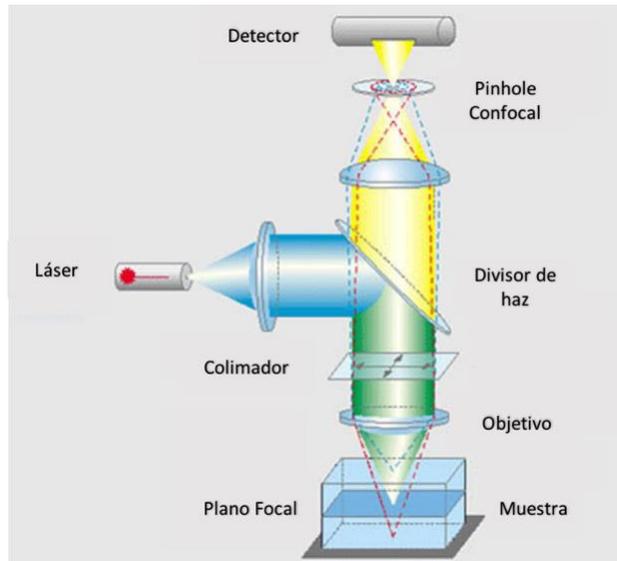
Figura 2.5. Diferentes alturas SNOM

### 2.1.3. Microscopio Confocal

El microscopio confocal, es un tipo de microscopía que permite enfocar un solo plano y de esta manera se mejora la calidad de la imagen, ya que se disminuye el ruido. Además de que permite obtener imágenes en 3D [7].

<sup>14</sup> Near-Field Scanning Optical Microscope.

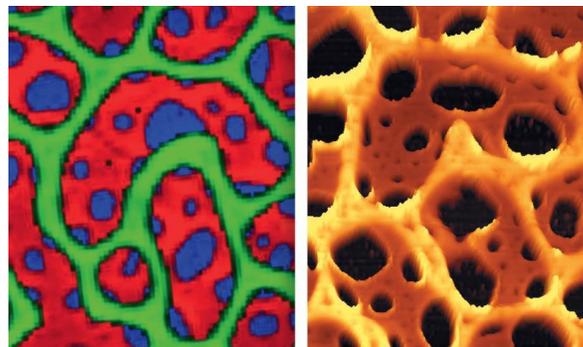
Su funcionamiento se puede apreciar en la Figura 2.6. Consiste en la iluminación por medio de un láser colimado, en donde el haz pasa a través de un objetivo de microscopio hacia la muestra. El reflejo de este haz regresa por el mismo camino, solo que no llega al láser, ya que es desviado hacia un sistema confocal. En donde por medio de una lente confocal, apertura circular y un colimador, llega a un detector para formar la imagen.



*Figura 2.6. Microscopio Confocal*

Este microscopio enfoca un solo plano focal, ya que elimina las reflexiones no deseadas debido a los planos fuera de foco. Esto se logra por medio del sistema confocal, pero principalmente por la apertura circular ya que no permite el paso de la luz fuera del plano focal.

Con lo anterior, el Microscopio Confocal permite obtener resultados como el que se muestra en la Figura 2.7. Que, con ayuda de software, permite una visualización de los resultados en 3D.

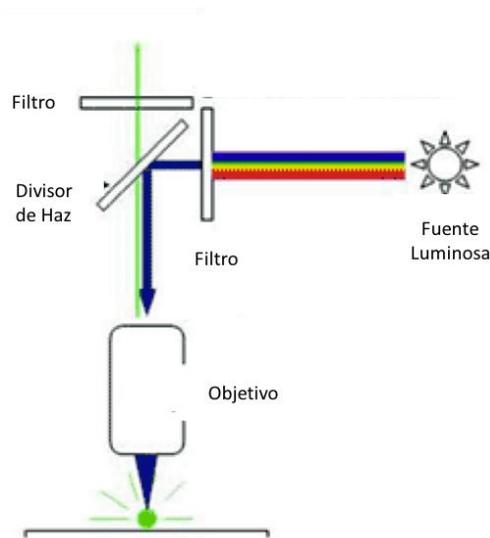


*Figura 2.7. Resultado de Microscopio Confocal*

## 2.1.4. Microscopio de Fluorescencia

Es un microscopio similar al confocal, solo que utiliza la fluorescencia como característica principal. Lo cual permite tener mejores resultados en cuanto a sensibilidad y resolución óptica [8]. Su funcionamiento se puede apreciar en la Figura 2.8.

La fluorescencia es un fenómeno luminiscente que aparece en algunos elementos químicos, en donde a partir de recibir una radiación intensa, pueden emitir luz. Esto es que absorben en una determinada longitud de onda y emiten en otra longitud de onda mayor.

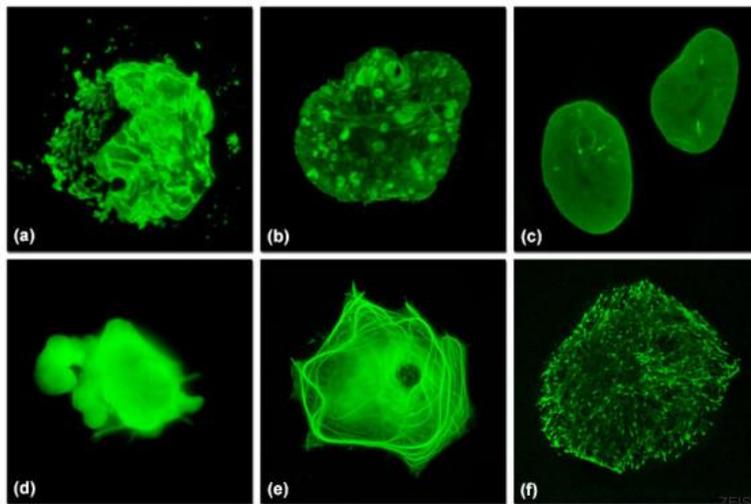


*Figura 2.8. Microscopio de Fluorescencia*

El funcionamiento de este microscopio es similar al confocal, consiste en una fuente luminosa de una longitud de onda determinada, o por medio de un filtro permitir una longitud de onda de excitación que pasa por un objetivo hacia la muestra. La reflexión de la fuente luminosa sobre la muestra será a partir de la fluorescencia de la misma. Esta reflexión pasa por un filtro que permite pasar la longitud de onda de emisión. Para después por medio de un detector obtener la imagen.

Generalmente este tipo de microscopia es muy útil para muestras que contienen elementos fluorescentes. Pero también se pueden agregar colorantes que permiten el fenómeno de fluorescencia. Como pasa en el caso de muestras biológicas o en química en donde es de los métodos de microscopía más utilizados.

Con lo anterior, el Microscopio de Fluorescencia permite obtener resultados como el que se muestra en la Figura 2.9. En donde se puede apreciar las proteínas en una célula viva.



*Figura 2.9. Resultados de Microscopio de Fluorescencia*

## **2.2. Microscopia de Barrido por Luz**

En el presente trabajo, se muestra el desarrollo de un Microscopio de Barrido por Luz. Destacando sus principales características junto con los diferentes sistemas que lo conforman y los resultados obtenidos a partir de muestras de diferente naturaleza.

El modelo básico sobre el funcionamiento de este microscopio se puede apreciar en la Figura 2.10.

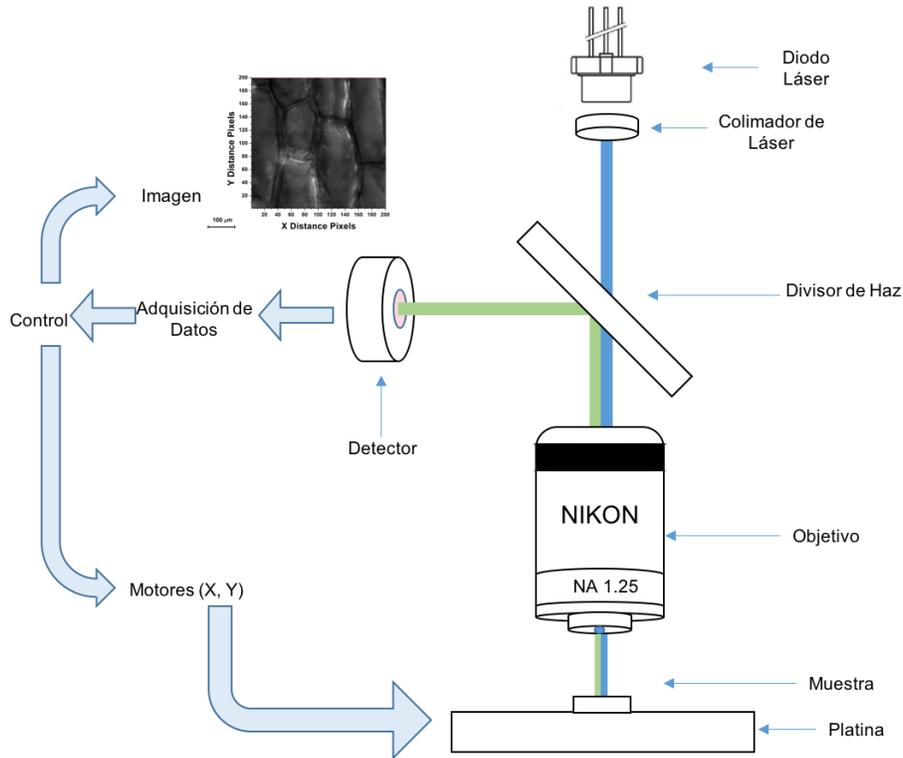


Figura 2.10. Microscopía de Barrido por Láser

### 2.2.1. Funcionamiento

El funcionamiento consiste en incidir el haz de un láser sobre un objetivo de microscopio hacia la muestra. Para que después el reflejo de la fuente luminosa sobre la muestra sea dirigido hacia un detector óptico y formar la imagen por medio de software.

Este reflejo es puntual, es decir, solo se ilumina el área que se encuentra en el foco del objetivo. Para formar la imagen completa, es necesario hacer el desplazamiento de la platina en X – Y que indica el área de análisis. Esto se logra a partir de motores de micropasos que darán lugar a la resolución de la imagen obtenida. Además de que el ajuste de la distancia focal se realiza de forma manual, ajustando la altura de la fuente luminosa.

Es importante considerar el ancho del haz luminoso después del objetivo de microscopio. Ya que es el área o punto que se está reflejando y correlacionando con el paso que avanza el motor, se indica la resolución de la imagen resultante.

De esta manera, se ha logrado alcanzar una máxima resolución de 53 nanómetros aproximadamente por pixel, los resultados obtenidos se analizan en el Capítulo 5.

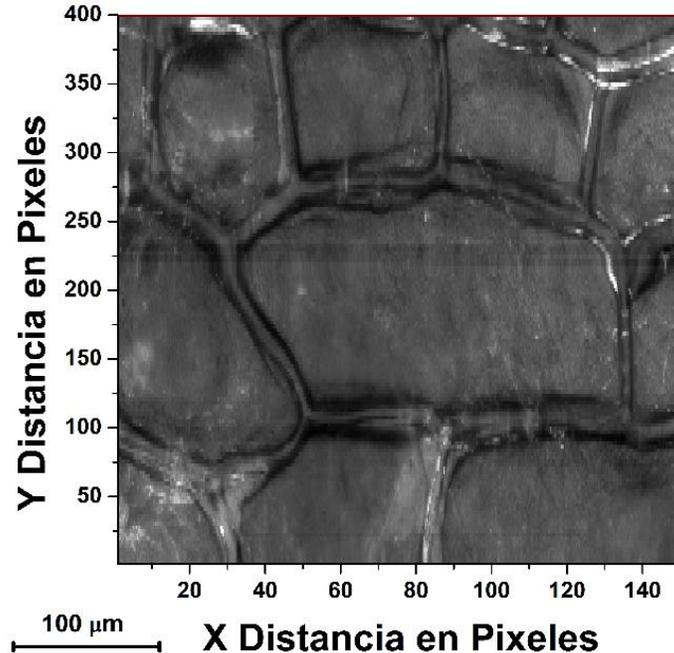
### 2.2.2. Sistemas que lo Componen

Para el desarrollo de este microscopio, se utilizaron los siguientes sistemas:

- Sistema óptico. Implica los componentes ópticos utilizados y la función que realiza en el microscopio a partir de sus características.
- Sistema mecánico. Implica la estructura del microscopio junto con la parte de las platinas y su motorización para obtener una resolución espacial.
- Sistema electrónico. Indica los circuitos utilizados y la parte de alimentación de energía tanto a los motores como la fuente luminosa.
- Software. Indica el programa utilizado para la automatización del microscopio, es decir, el controlador general para mover las platinas, tomar muestras del fotodiodo y mostrar una imagen.

Los sistemas anteriores tienen características propias, pero en conjunto conforman el microscopio de barrido por láser. Los detalles de cada uno de los sistemas se detallan más adelante en el Capítulo 4.

Con lo anterior, el Microscopio de Barrido por Luz nos permite obtener resultados como el que se muestra en la Figura 2.11, en donde se tiene una muestra del tejido epitelial de una cebolla.



*Figura 2.11. Resultado del Microscopio de Barrido por Luz*

### 2.3. Referencias del Capítulo

- [1] Davidson, M. W. (2009). Pioneers in Optics: Zacharias Janssen and Johannes Kepler. *Microscopy Today*, 17(6), 44. doi:10.1017/S1551929509991052
- [2] Abbe (1873). *Beiträge zur Theorie des Mikroskops und der mikroskopischen Wahrnehmung*. *Arch. Mikr.* 9, 413-468.
- [3] Seward, G. (2010). *Optical design of microscopes*. Bellingham, Washington: SPIE, [2010].
- [4] Slayter, E. M., & Slayter, H. S. (1992). *Light and electron microscopy*. Cambridge: Cambridge University Press.
- [5] And, A. (1987). Atomic Resolution with Atomic Force Microscope. *EPL (Europhysics Letters)*, 3(12), 1281.
- [6] Pohl, D., Dürig, U., & Fischer, U. (1988). Scanning near-field optical microscopy (SNOM). *Journal of Microscopy*, 152(3), 853-861. doi:10.1111/j.1365-2818.1988.tb01458.
- [7] Xiao, G. Q., Corle, T. R., & Kino, G. S. (1988). Real-time confocal scanning optical microscope. *Applied Physics Letters*, 53(8), 716.
- [8] Harootunian, A., Betzig, E., Isaacson, M., & Lewis, A. (1986). Super-resolution fluorescence near-field scanning optical microscopy. *Applied Physics Letters*, 49(11), 674.

### **3. Tipos de Caracterización**

Muchas veces se tiene la idea de que un microscopio solo tiene la capacidad de aumentar la imagen de una muestra o solo sirve para apreciar ciertos detalles de la misma, como pasa en la microscopía óptica convencional. Pero existen muchas otras aplicaciones en donde van más allá de simples imágenes, como la caracterización de materiales.

A partir de diversos métodos, se puede identificar los elementos o materiales que conforman una muestra. Evidentemente es útil para clasificar algún objeto según su composición, para conocer su grado de pureza o para futuras referencias del mismo, entre otros.

Es por eso que analizar algunos métodos de caracterización es importante para poder darle otro panorama al Microscopio de Barrido por Láser. Ya que, al analizar varias muestras de diferente naturaleza, se tendrá un mejor análisis de resultados como se muestra en el Capítulo 5.

#### **3.1. Espectroscopía UV-Vis**

La Espectroscopía es el análisis de la interacción entre la radiación electromagnética y la materia. De esta manera se tiene un resultado en cuanto a la emisión o absorción de la energía electromagnética radiada, en función de la longitud de onda [1].

Una de las principales funciones u objetivos de la espectroscopía, es la de conocer la estructura o composición de la materia. Ya que la configuración electrónica de los elementos químicos es diferente para cada caso, y a partir de la obtención de un espectro, se conoce a que tipo de elemento corresponde. Entonces es muy importante la espectroscopía para la caracterización de materiales analizando el espectro de emisión o absorción del material.

El tipo de espectroscopía depende del intervalo de frecuencias o longitudes de onda que interactúe con la materia. Ya que existe desde la espectroscopía de microondas hasta los rayos gamma.

En este caso es de interés la espectroscopía UV-Vis, que como el nombre lo indica, abarca las longitudes de onda del ultravioleta al visible, obteniendo el espectro de absorción o emisión de la muestra a analizar.

Para el Microscopio de Barrido por Láser, es de suma importancia ya que se utiliza una fuente luminosa monocromática y al interactuar con la muestra, una parte se absorbe y otra se emite. De esta manera es posible hacer un mejor análisis de resultados ya que se puede conocer en qué tipo de materiales se obtendrán mejores resultados que en otros.

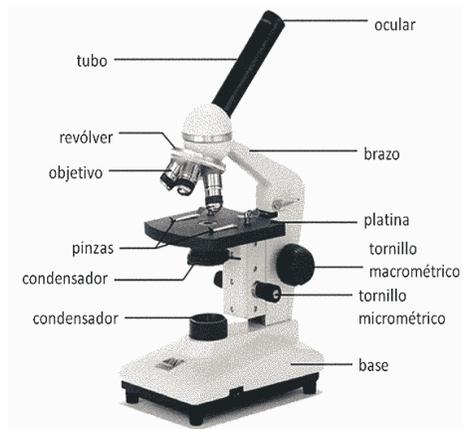
Un Espectrómetro comercial se muestra en la Figura 3.1.



*Figura 3.1. Agilent Cary 4000/5000/6000*

### **3.2. Microscopía Óptica**

La microscopía óptica, se trata de un microscopio convencional, en donde se muestra una imagen aumentada de la muestra, dependiendo del aumento que se desea [2]. Un microscopio convencional se muestra en la Figura 3.2, con las respectivas partes que lo conforman.



*Figura 3.2. Microscopio óptico convencional*

Generalmente un microscopio convencional únicamente nos ofrece una imagen en 2D o 3D, en donde no es posible obtener demasiada información sobre el tipo de muestra o la composición de la misma. Sin embargo, sigue siendo de mucha ayuda para comprender la estructura de la muestra o la forma de la misma.

Este tipo de microscopía llega a ser obsoleta en varios casos, ya que presenta limitaciones en el aumento de imagen (máximo 100x), debido al límite de difracción por los componentes ópticos. Es por eso que se ha innovado en el diseño de otro tipo de microscopía para obtener mejores resultados.

Para el Microscopio de Barrido Láser, la microscopía óptica convencional fue de mucha ayuda, ya que sirvió como tratamiento previo, orientación de la muestra y ubicación de las partes de interés dentro de la muestra. Además de punto de comparación en la obtención de imágenes.

### **3.3. AFM**

En la sección 2.1.1, se habló un poco sobre el AFM, como ejemplo de tipo de microscopía. Pero una de las características fundamentales de este dispositivo, es la capacidad de caracterización de materiales debido a la interacción de la punta en la muestra [3].

Esto se debe a que la punta del AFM, detecta la fuerza entre átomos y dependiendo de la intensidad, se puede conocer el tipo de elemento en la muestra.

De esta manera, las imágenes que se obtienen permiten mayor información de la muestra, lo cual es útil para apreciar la estructura y ofrece una mejor resolución que la microscopía convencional.

### **3.4. Tratamiento de Muestras**

Para demostrar el funcionamiento del Microscopio de Barrido por Luz, se utilizaron varias muestras de diferente naturaleza. Para lo cual era importante hacer un tratamiento previo, en el cual consistía tener a la muestra lo más plana posible. Ya que la distancia focal era constante y si había algún relieve o doblez, salía de foco y se mostraba borrosa la imagen.

En la mayoría de los casos se utilizaron porta muestras convencionales. Pero necesitaban una limpieza que consistía en un proceso de ultrasonido en acetona y después en agua destilada.

#### **3.4.1. Rejilla de TEM**

Se utilizaron 2 tipo de las rejillas de TEM, pero se manejaron de la misma forma y necesitaron el siguiente tratamiento:

- Colocar la muestra en el porta muestras. Por medio de cinta doble cara, se coloca la muestra y se pega sobre el porta muestras. Esto con el fin de evitar movimientos en la muestra, ya que es muy delgada y frágil.
- Muestra uniforme. Para poder obtener la muestra más plana posible, se somete a presión para evitar irregularidades en la rejilla y posibles burbujas de aire en la cinta. Se debe garantizar la planitud de la muestra para que las imágenes obtenidas con el microscopio no se vean afectadas por la distancia de enfoque.

### **3.4.2. Tejido de Cebolla**

Se trata de analizar las células de la cebolla del tejido epitelial de la misma, para lo cual se realizó el siguiente proceso:

- Deshidratar la muestra. El tejido epitelial de la cebolla se coloca en medio de dos hojas de papel para que estas, absorban el exceso de líquido en el tejido.
- Colocar la muestra en el porta muestras. Se debía tener cuidado, ya que se trata de un tejido delgado, fácil de romper. Por lo tanto, se tuvo cuidado al desprenderlo de las hojas para después colocarlo en el porta muestras tratando de que exista uniformidad, evitando dobleces o burbujas de aire.

### **3.4.3. Plantilla de Calibración**

La plantilla de calibración no necesitó un tratamiento como tal, ya que no se necesitaba un porta muestras. Únicamente se limpió con cuidado con un pañuelo especial para quitar algunos residuos de polvo o grasa.

### **3.4.4. Circuito**

Se trata de un circuito impreso de forma comercial. Así que se obtuvo uno de un disco duro convencional. Para lo cual se realizó el siguiente proceso:

- Obtención del circuito. El disco duro se desarmó con cuidado, y se tomó una de las agujas para obtener el circuito.
- Colocar la muestra en el porta muestras. Al ser un circuito muy pequeño, se debía tener cuidado de evitar movimientos a la hora de tomar muestras. Así que se coloca en el porta muestras con cinta adhesiva.
- Muestra uniforme. El circuito no era del todo plano, ya que tenía relieve propio de su fabricación. Así que se sometió a un poco de presión para tratar de tener la muestra lo más plana posible.

### **3.4.5. Nanopartículas**

Se trata de nanopartículas de plata en solución acuosa, para lo cual se realizó el siguiente proceso:

- Solución acuosa. Las nanopartículas se encontraban en forma de polvo, así que se disolvieron en agua destilada manteniendo una concentración moderada.
- Deposito en el porta muestras. Con un Spin Coating a 2000 rpm, y una duración de 30 segundos.

- Secado. Al depositar por medio del Spin Coating la solución acuosa se evaporaba, pero no completamente, así que se esperaba unos minutos para garantizar que no haya más líquido para que no interfiera en las imágenes.

### **3.4.6. Monocristal de *NaCl* Dopado con Plata**

Se trata de nano estructuras en un cristal, para lo cual se realizó el siguiente proceso:

- “Clivaje” del cristal. Las nano estructuras se encuentran dentro del cristal.
- Colocar la muestra en el porta muestras. El cristal no necesitaba adherirse al porta muestras, así que solo se colocaba en el porta muestras para obtener imágenes.

### 3.5. Referencias del Capítulo

[1] Jones, R. R. (1991). UV/Vis lights the way to better spectroscopy. *R & D*, (2). 62.

[2] Herman, B., & Lemasters, J. J. (1993). *Optical microscopy: Emerging methods and applications*. San Diego: Academic.

[3] And, A. (1987). Atomic Resolution with Atomic Force Microscope. *EPL (Europhysics Letters)*, 3(12), 1281.

## 4. Desarrollo Experimental

En la sección 2.2, se explicó tanto el funcionamiento como los sistemas que componen al Microscopio de Barrido por Luz. Así que se explicará de forma detallada cada una de las partes que lo componen. Junto con el procedimiento experimental para la obtención de imágenes.

El modelo general de este microscopio se muestra en la Figura 4.1.

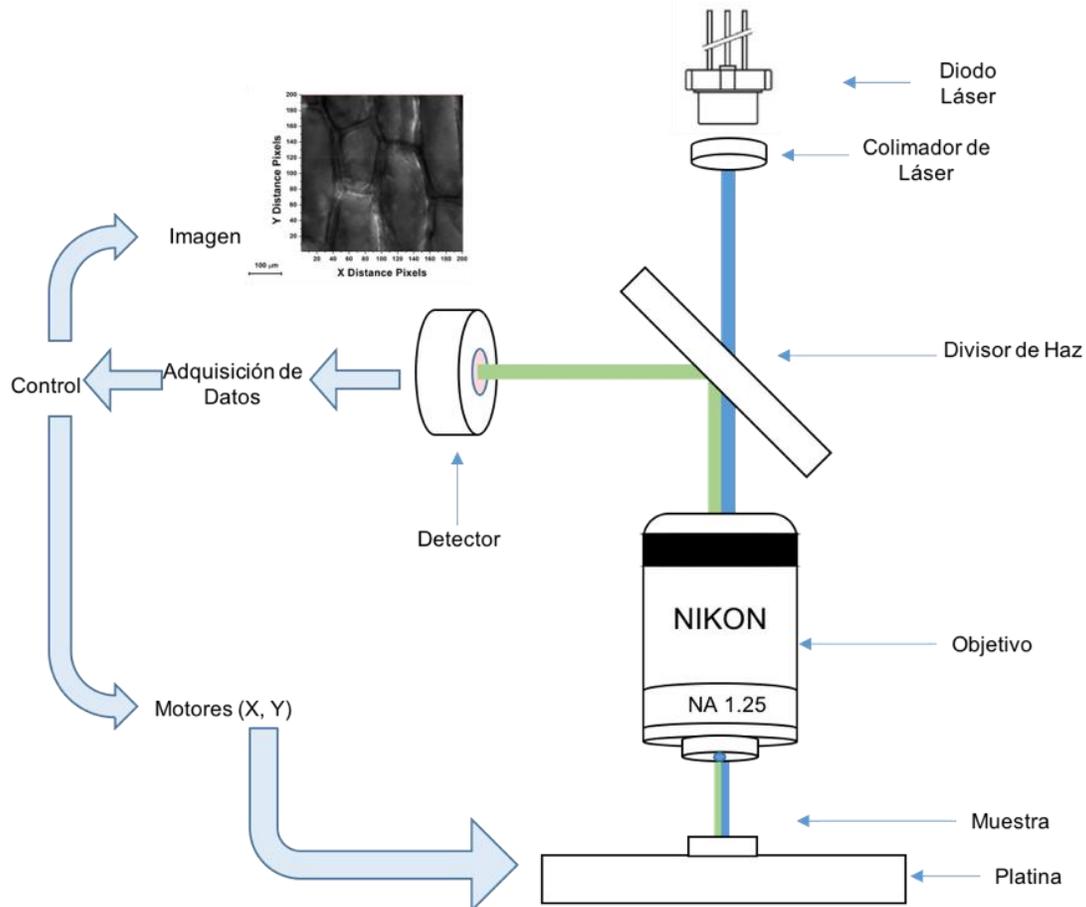


Figura 4.1. Microscopio de Barrido por Luz

### 4.1. Sistema Óptico

El sistema óptico está conformado por los diversos componentes ópticos que se utilizan para la obtención de imágenes. Desde la fuente luminosa, hasta los dispositivos ópticos que permiten coleccionar la reflexión de la luz sobre la muestra.

### 4.1.1. Fuente Luminosa y Lentes

La Figura 4.2, muestra el diodo láser DL – 5146 – 101S que se usa como la fuente (Apéndice A). El cual tiene las siguientes características:

- $\lambda = 405 \text{ nm}$
- $P_o = 40 \text{ mW}$
- $I_{OP} = 70 \text{ mA}$
- $\theta_{\parallel} = 8^\circ$ ;  $\theta_{\perp} = 19^\circ$



*Figura 4.2. Diodo Láser  
DL-5146-101S*

El diodo láser está colocado en una montura que permite la conexión hacia la fuente de alimentación. Además de que el haz es colimado por una lente esférica para tener una mejor calidad en el ancho del haz, ambos se muestran en la Figura 4.3.



*Figura 4.3. a) Montura b) Tubo colimador*

Como se aprecia en la Figura 4.1, el haz de luz, pasa a través de un divisor de haz (Beamsplitter, Figura 4.4), en donde solo pasa la mitad de la potencia hacia el objetivo, mientras que la otra mitad se pierde. En primera instancia no muestra su función, pero se encarga de desviar el haz que proviene de la reflexión de la muestra hacia el fotodiodo para formar la imagen.



*Figura 4.4. Divisor de haz  
(Beamsplitter)*

### **4.1.2. Objetivo**

Para la mayoría de las diversas técnicas de microscopía, el componente más importante es el objetivo. Ya que es el encargado de coleccionar la luz y proporcionar una imagen aumentada de la muestra.

En la Figura 4.5, se muestra el objetivo utilizado para este microscopio. Para mayores detalles véase Apéndice A.



*Figura 4.5. Objetivo*

Las características de este objetivo son las siguientes:

- Objetivo acromático
- Aumento:  $\times 100$
- Apertura Numérica (NA): 1.25
- Inmersión: aceite
- Distancia de trabajo: 0.14 mm
- Óptica finita
- Marca: Nikon

Con el objetivo del microscopio, se puede conocer la máxima resolución que permite (límite de difracción), a partir de:

$$R = \frac{1.22\lambda}{2n \sin \theta} = \frac{0.61\lambda}{NA} = \frac{(0.61)(405 \text{ nm})}{1.25} = 197.64 \text{ nm}$$

### 4.1.3. Fotodiodo

La construcción de la imagen se hace a partir del reflejo de la luz sobre la muestra. Y para coleccionar dicha luz, se utiliza un fotodiodo FD100 (Figura 4.6). Para mayores detalles véase Apéndice A.



Figura 4.6. Fotodiodo FDS100

Las características de este fotodiodo son las siguientes:

- Rango de longitudes de onda de 350 – 1100 nm.
- Responsividad en 405 nm de  $0.18 \frac{A}{W}$ . Se muestra la variación de la responsividad con respecto a la longitud de onda en la Figura 4.7.
- Área activa de  $13 \text{ mm}^2$ .
- Tiempo de respuesta de 10 ns.
- Material: Si.

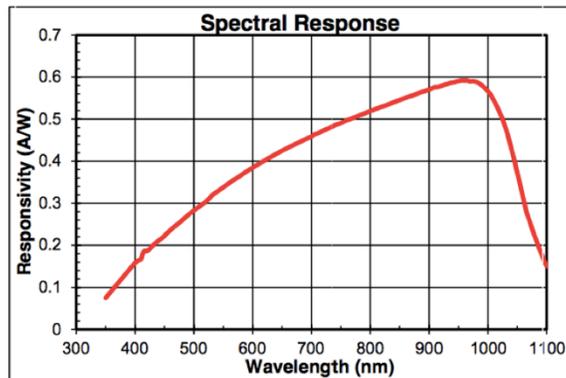


Figura 4.7. Respuesta Espectral

Este fotodiodo funciona como un transductor que genera una corriente eléctrica. Mientras que para obtener un voltaje se pone una resistencia de carga ( $R_L$ ), como se muestra en la Figura 4.8, que es el circuito para energizar al fotodiodo.

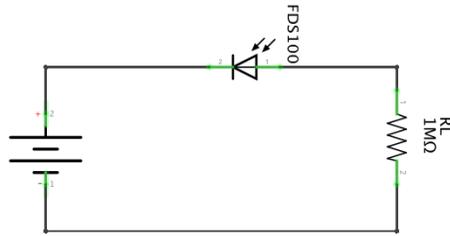


Figura 4.8. Circuito del fotodiodo

El voltaje de salida medido en la resistencia de carga está dado por:

$$V_o = P \times R \times R_L$$

Donde  $P$  es la potencia de la luz incidente en el fotodiodo,  $R$  la responsividad en la longitud de onda y  $R_L$  la resistencia de carga.

Una parte crucial que se debe cuidar, es el ruido que se genera en el circuito del fotodiodo. El fotodiodo tiene una tercera terminal, la cual permite conectar a tierra para disminuir el ruido. Además, el circuito se colocó en una caja de metal junto con una terminal BNC para facilitar su conexión con la tarjeta de adquisición de datos como se muestra en la Figura 4.9.



Figura 4.9. Circuito del fotodiodo

## 4.2. Sistema Mecánico

En este tipo de microscopia, es necesario hacer un barrido en la zona de la muestra que se desea aumentar. Entonces el barrido se puede realizar de dos formas: la primera es que la luz se mueva a lo largo de la muestra y la segunda es que la muestra se mueva, mientras que la fuente luminosa se queda estática.

En este Microscopio de Barrido por Luz, se utilizó la segunda forma. Haciendo que la platina se desplace en micropasos en dos dimensiones (X - Y). Tomando un valor de voltaje para cada punto, que permite generar una matriz y con eso una imagen resultante.

Entonces el sistema mecánico está conformado por la platina y los motores que permiten el barrido de la luz sobre la muestra.

### 4.2.1. Platina

La platina está conformada por 2 bases de translación MT1/M de Thorlabs con un desplazamiento máximo de 13 mm en forma perpendicular, para que se genere en X y Y. Dicha base se muestra en la Figura 4.10.



Figura 4.10. Platina

La base tiene integrado un micrómetro con una resolución de 10  $\mu\text{m}$ , en donde una vuelta equivale a un recorrido de 0.5 mm. Es importante destacar esto, ya que sirvió de mucha utilidad para conocer la resolución del microscopio como el área de la muestra que se deseaba analizar.

En el caso del eje Z, se utiliza otra base de translación, pero esta se encuentra junto con la fuente luminosa, el divisor de haz, y el objetivo. Es decir, dichos componentes se moverán de forma uniforme para ajustar la distancia focal.

### 4.2.2. Motores de Pasos

Se trata de un motor de pasos de imán permanente unipolar, mostrado en la Figura 4.11. Para mayores detalles véase Apéndice A.

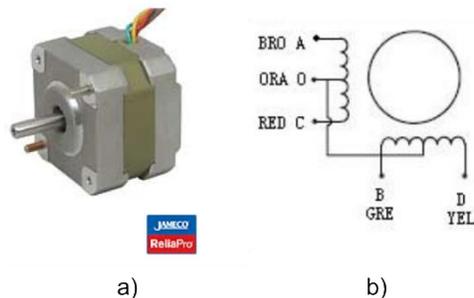


Figura 4.11. a) Motor a pasos b) Diagrama eléctrico

Las características de este motor son las siguientes:

- Ángulo de paso:  $\alpha = 1.8^\circ \pm 5\%$
- Voltaje de operación:  $V_{OP} = 12 V$
- Corriente por fase:  $I_F = 160 mA$
- Número de pasos por vuelta: 200

De esta manera, se utilizan dos motores iguales para las platinas del eje  $X$  y eje  $Y$ .

#### 4.2.2.1. Motorización de las Platinas

El movimiento que ofrece el motor, se ve reflejado en el desplazamiento de la platina. De esta manera, se controlan ambos motores para obtener una exploración uniforme en un área determinada, lo cual nos permite tener una resolución espacial.

Para la unión motor – platina, fue importante la fabricación de un par de acopladores que permitiera unir el eje del motor con el micrómetro de la platina. Lo cual fue de suma importancia y uno de los mayores problemas a la hora de obtener resultados. Ya que la alineación de dichos acopladores presentaba un ligero ángulo, el cual representaba un esfuerzo mayor al motor en cierto punto de la vuelta y en ocasiones simplemente no daba el paso y esto representa un error. Los acopladores utilizados en este microscopio se muestran en la Figura 4.12.



Figura 4.12. Acopladores motores – platina

Para el cálculo de desplazamiento de la platina junto con el motor, se toma en cuenta el número de pasos por vuelta del motor y el recorrido de la platina en una vuelta. De la siguiente manera:

$$DP = \frac{500 \mu m}{200 \text{ pasos}} = 2.5 \frac{\mu m}{\text{paso}}$$

Donde  $DP$  es la distancia que recorre la platina por un paso del motor.

A partir de  $DP$ , se utilizó la técnica de interacción de seno y coseno en las bobinas de los motores para la obtención de micropasos. En donde se obtiene una resolución espacial importante, la cual se aprecia en la Tabla 4.1.

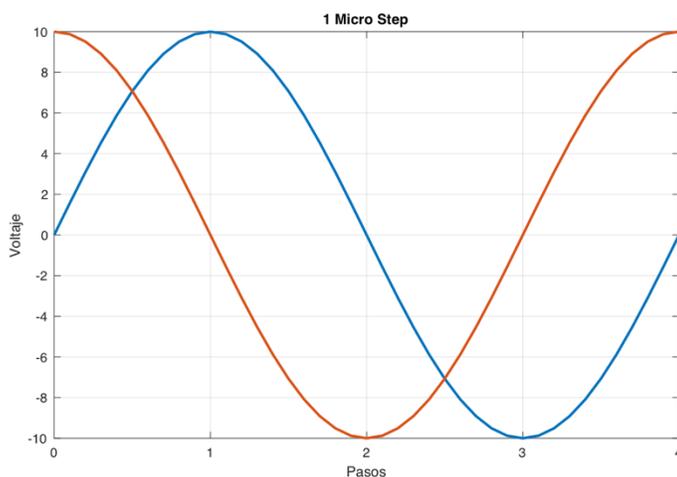
<i>Micropasos</i>	<i>Distancia</i>
1	2.5 $\mu m$
2	1.25 $\mu m$
4	625 $nm$
8	312.5 $nm$
16	156.25 $nm$
32	78.125 $nm$
64	39.0625 $nm$

*Tabla 4.1. Micropasos del motor*

Los datos mostrados en la Tabla 4.1 son teóricos, ya que en realidad son solo los pasos del motor, pero estos pasos se ven afectados en la platina debido al acoplamiento. Pero como representa una pequeña variación, se desprecia.

La técnica de interacción de seno y coseno para la obtención de micropasos, consiste en alimentar a una bobina de un motor con una señal seno, mientras que a la otra bobina con una señal coseno. Manteniendo un desfase constante de ambas señales de  $90^\circ$ .

El caso de 1 micropaso se muestra en la Figura 4.13, en donde se muestran ambas señales para las dos bobinas del motor y el valor de voltaje que se le aplica a las bobinas en cada paso. En este caso se necesitan 4 micropasos para completar un ciclo de ambas señales.



*Figura 4.13. Señales para 1 micropaso*

El caso de 2 micropasos se muestra en la Figura 4.14, en donde se muestran ambas señales para las dos bobinas del motor y el valor de voltaje que se le aplica a las bobinas

en cada paso. En este caso se necesitan 8 micropasos para completar un ciclo de ambas señales.

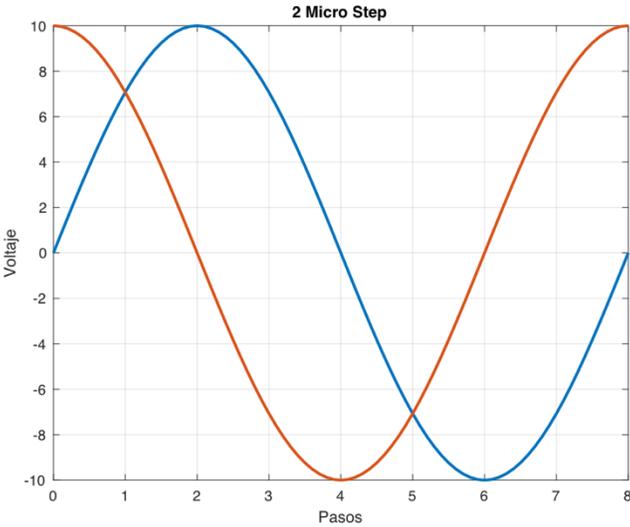


Figura 4.14. Señales para 2 micropasos

El caso de 16 micropasos se muestra en la Figura 4.15, en donde se muestran ambas señales para las dos bobinas del motor y el valor de voltaje que se le aplica a las bobinas en cada paso. En este caso se necesitan 64 micropasos para completar un ciclo de ambas señales.

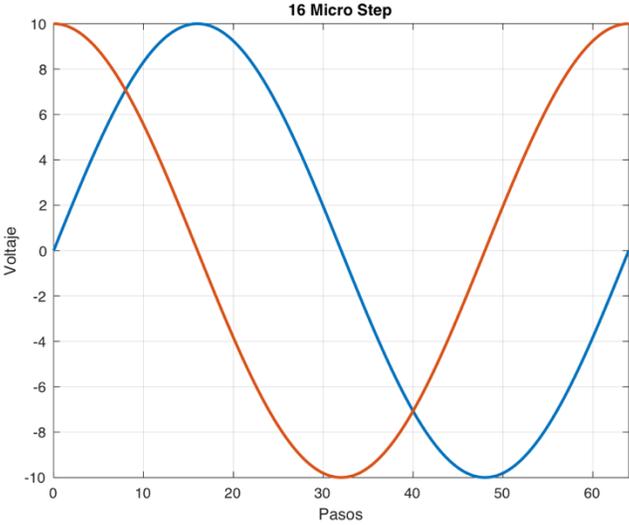
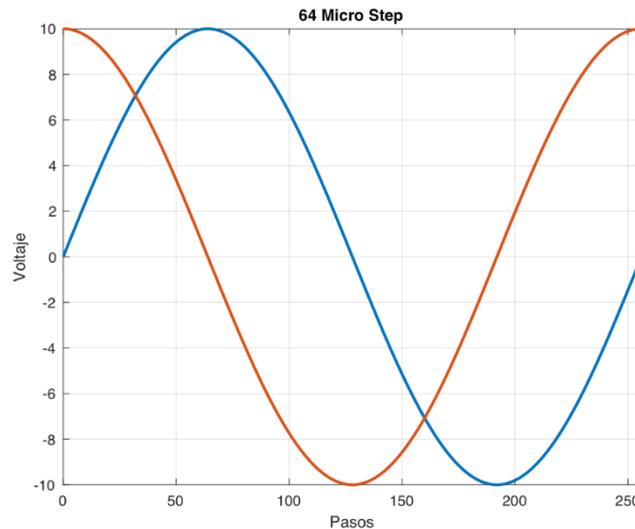


Figura 4.15. Señales para 16 micropasos

El caso de 64 micropasos se muestra en la Figura 4.16, en donde se muestran ambas señales para las dos bobinas del motor y el valor de voltaje que se le aplica a las bobinas en cada paso. En este caso se necesitan 256 micropasos para completar un ciclo de ambas señales.



*Figura 4.16. Señales para 64 micropasos*

De esta manera, la tarjeta de adquisición de datos genera dichas señales para cada paso del motor por medio del software LabView con la interfaz mostrada en la Figura 4.17, en donde se puede configurar lo siguiente:

- Número de pasos
- Número de micropasos
- Voltaje de salida
- Tiempo de espera entre pasos
- Dirección del motor
- Salidas analógicas en la tarjeta

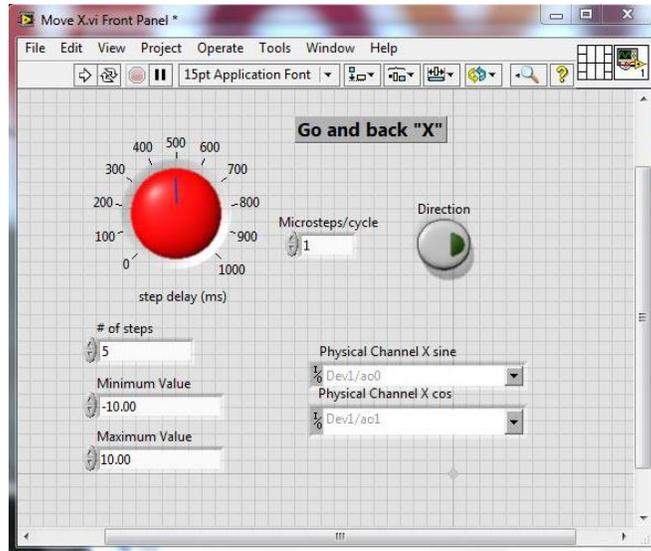


Figura 4.17. Interfaz LabView

El ajuste de los motores es fundamental para el funcionamiento general del microscopio. Ya que, si existe algún problema, los motores se traban y el desplazamiento es erróneo. Resultando una imagen cortada o simplemente no permite el avance de los motores. Es por eso que se realizaron una innumerable cantidad de ajustes en los motores y seleccionando la zona en donde el motor se encontrara en mejor alineación con el acoplador en especial a la hora de empezar a bajar la resolución espacial.

### 4.2.3. Protección

La luz ambiental significaba una alta fuente de ruido, ya que era sencillo que el fotodiodo percibiera cambios de intensidad en la luz ambiental, que se verían reflejados en una variación de voltaje en las muestras.

Es por eso que se diseñó una protección en forma de caja, que cubriera por completo al Microscopio de Barrido por Luz y disminuir, lo mejor posible, la interferencia de la luz ambiental. Dicha protección permitía cambiar de muestras y quitar la tapa superior para poder modificar la distancia focal. Se muestra al Microscopio de Barrido por Luz en la Figura 4.18

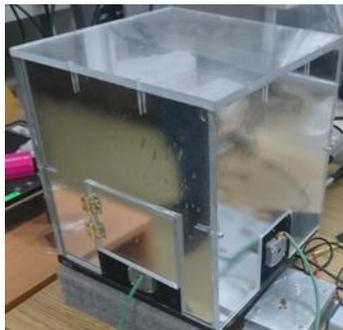


Figura 4.18. Microscopio con protección de luz ambiental

### 4.3. Sistema Electrónico

El sistema electrónico es el encargado de proporcionar energía a los diferentes componentes. Además de la tarjeta de adquisición de datos, la cual controla el funcionamiento general del microscopio.

#### 4.3.1. Fuentes de Alimentación

La alimentación es fundamental para todo el microscopio. Así que se utilizaron diferentes fuentes.

Para el diodo láser, se utilizó la fuente LDC201CU de Thorlabs (Figura 4.19).



Figura 4.19. Fuente LDC201CU

Se trata de una fuente de corriente, la cual ofrece como máximo 100 mA. Y se utilizó para alimentar al diodo láser, la cual era suficiente ya que se necesitaba como máximo 70 mA.

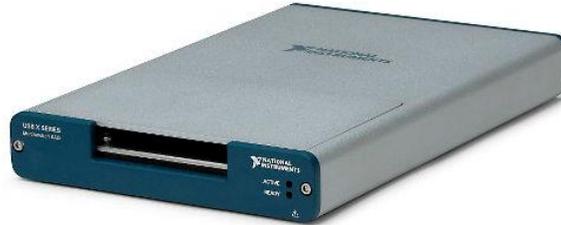
Para la alimentación de los motores, se utilizó una fuente de voltaje variable (GW Instek GPS-3303, Figura 4.20.), con dos canales independientes de capacidad, suficiente para ambos motores.



Figura 4.20. Fuente de alimentación para los motores

### 4.3.2. Tarjeta de Adquisición de Datos

El sistema electrónico más importante de todo el microscopio es la Tarjeta de Adquisición de Datos NI USB 6343 de National Instruments (Figura 4.21). Ya que, por medio de software, es la que controla el movimiento de los motores y la adquisición de datos en el fotodiodo.



*Figura 4.21. NI USB 6343*

Las características de esta tarjeta de adquisición son las siguientes:

- Bus: USB
- Entradas Analógicas: 32
- Entradas Analógicas (diferencial): 16
- Resolución de entrada: 16 bits
- Salidas Analógicas: 4
- Entrada/Salida Digital: 48
- Máxima velocidad de reloj: 1 MHz
- Salida de Voltaje:  $\pm 10$  V

Pero para el funcionamiento del microscopio se utilizaron cuatro salidas analógicas (para ambos motores) y una entrada analógica (para el fotodiodo). Junto con otras operaciones que ofrece el software para formar la imagen.

### 4.4. Software

El Software que se utilizó para automatizar el microscopio fue LabView en el que principalmente controla el movimiento de ambos motores y tomar muestras del detector para formar la imagen.

LabView es un software que permite programar en los dispositivos de National Instruments por medio de un lenguaje de programación gráfico, mostrando una interfaz de programación, que muestra el diagrama a bloques del programa y otra interfaz de usuario que muestra un panel frontal en donde se muestran los resultados y el usuario puede interactuar con los componentes del programa.

El diagrama a bloques del programa y el panel frontal del programa se muestran en la Figura 4.22.

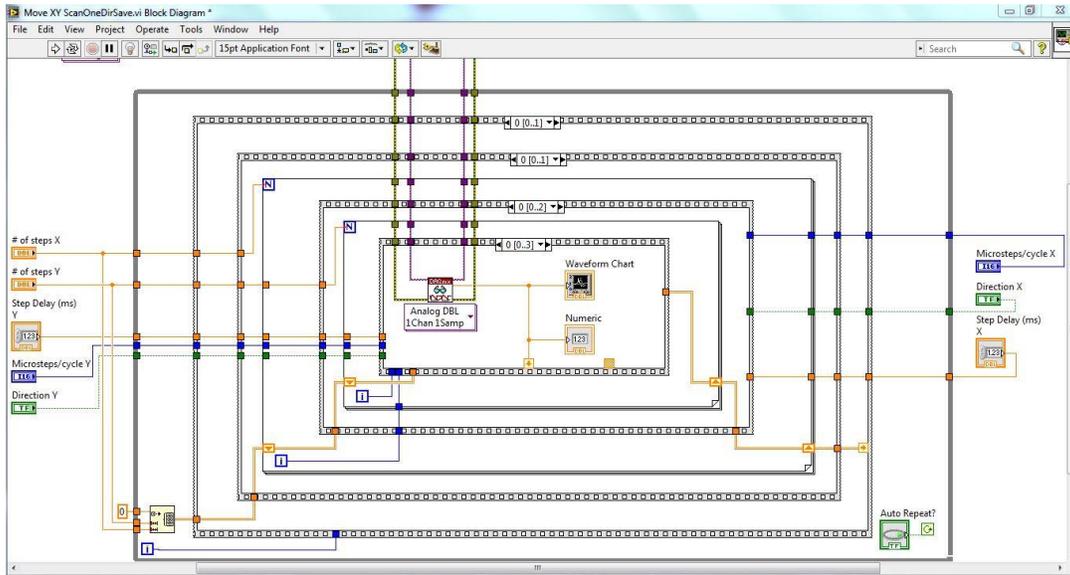


Figura 4.22. a) Diagrama de bloques

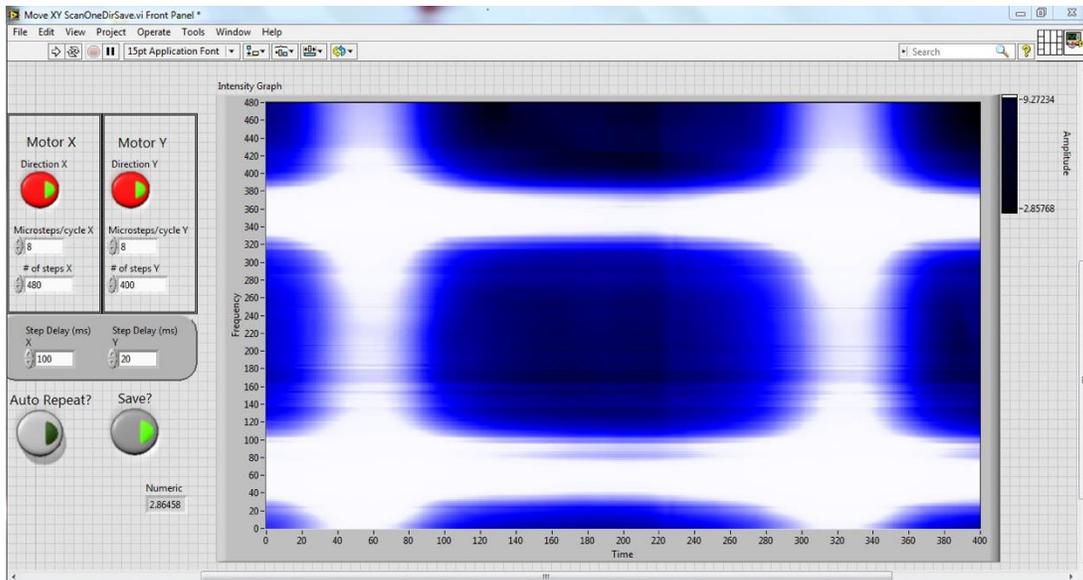


Figura 4.22. b) Panel Frontal

El funcionamiento de este programa se explica en el diagrama de flujo de la Figura 4.23 y su respectivo algoritmo:

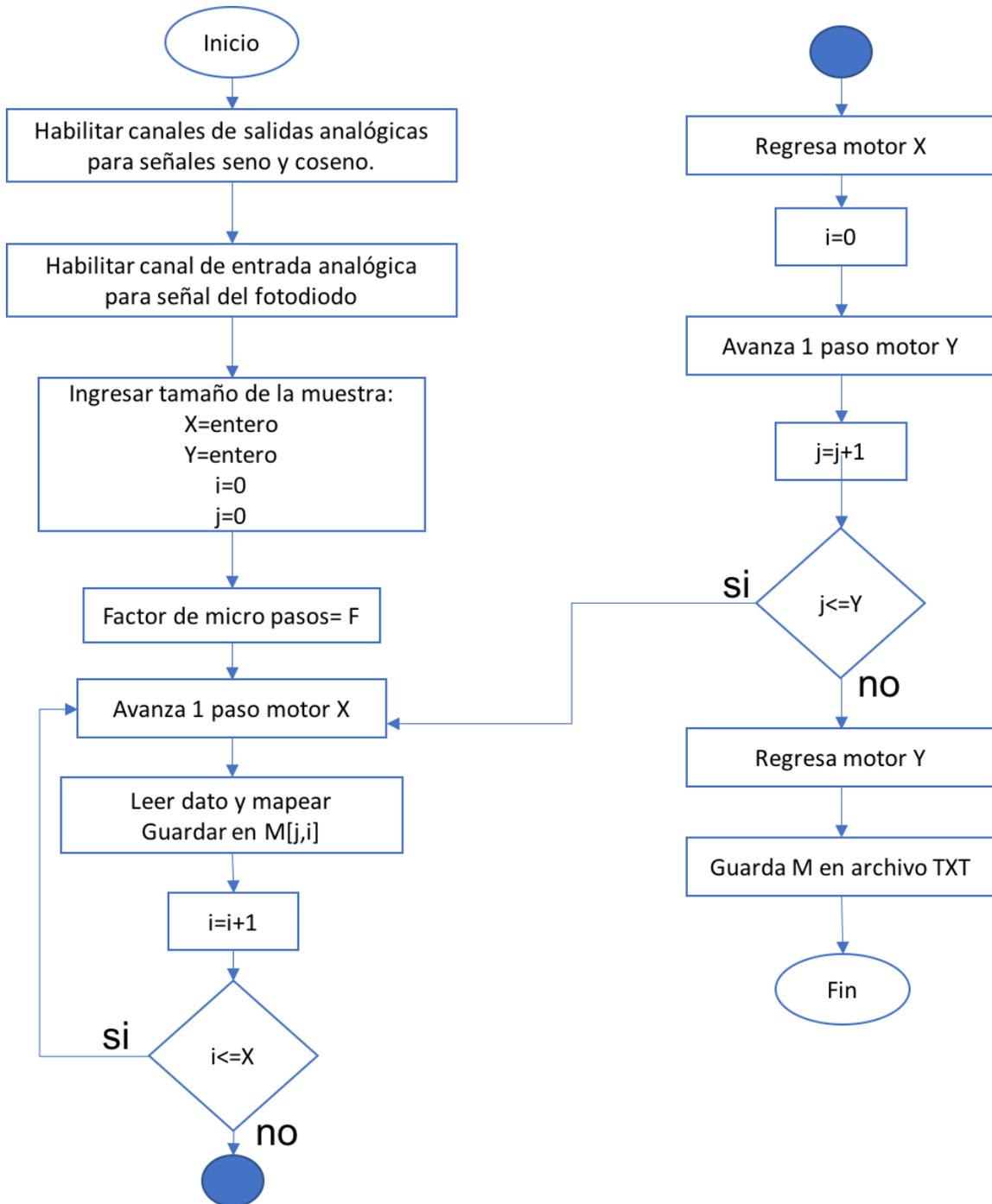


Figura 4.23. Diagrama de flujo del programa en LabView

1. Habilitar canales de salida para formar la señal seno y coseno para ambos motores
2. Habilitar el canal de entrada para la señal del fotodiodo
3. Ingresar Datos
  - a. Número de pasos en  $X$  y  $Y$
  - b. Número de micropasos en  $X$  y  $Y$
  - c. Dirección de  $X$  y  $Y$
  - d. Tiempo de espera entre pasos de  $X$  y  $Y$
4. Leer dato del fotodiodo
  - a. Guardar en una matriz y mapear en el panel frontal
5. Avanza un paso en  $X$
6. Repite 4 y 5 hasta llegar al número de pasos en  $X$
7. Regresa el número de pasos en  $X$
8. Avanza un paso en  $Y$
9. Repite 4, 5, 6, 7 y 8 hasta llegar al número de pasos en  $Y$
10. Regresa el número de pasos en  $Y$
11. Los datos guardados en la matriz, guardarlos en un archivo de texto

De esta manera se genera un barrido sobre la muestra, determinado por el número de micropasos y el número de pasos en ambos motores. En donde después de cada paso del motor se toma una muestra del fotodiodo para mapearse y guardarla en una matriz que permite guardar los datos.

De forma ideal, solo se tendrían que meter los valores solicitados en software y ajustar la muestra para el área que se pretende analizar. Sin embargo, en el proceso de toma de una muestra, se tiene que estar en constante vigilancia, ya que en la mayoría de los casos existía algún error debido a que algún motor se trababa o aparecían saltos en la imagen.

Finalmente, en la Figura 4.24 se puede apreciar el Microscopio de Barrido por Luz junto con todos los sistemas que lo conforman.



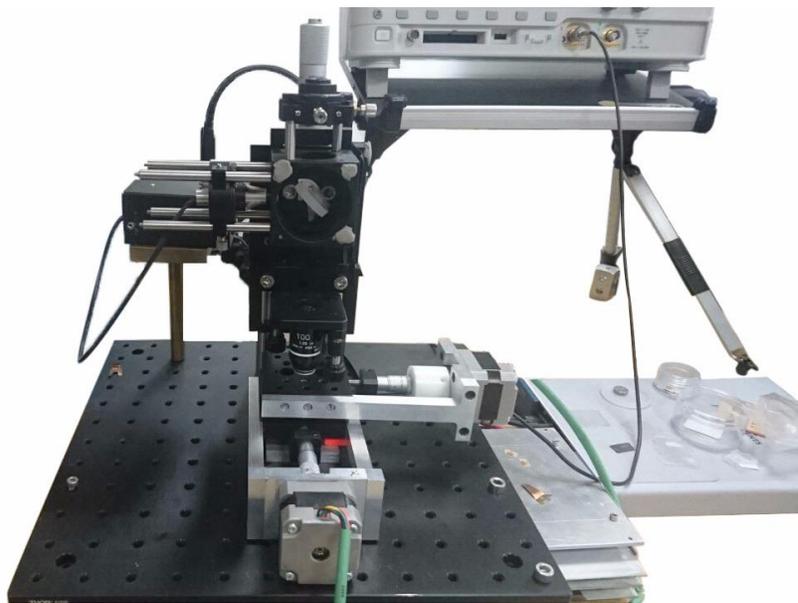
*Figura 4.24. Microscopio de Barrido por Luz*

## 5. Resultados

En esta sección se muestran los resultados obtenidos del Microscopio de Barrido con Luz, mostrando su funcionamiento y el proceso de calibración para cuantificar las dimensiones de las muestras obtenidas.

También es importante resaltar la resolución que presenta este microscopio, junto con las deficiencias del mismo para que se consideraren en futuros trabajos. Tomando en cuenta que es un dispositivo totalmente funcional como se muestra en esta sección.

Una imagen general del microscopio se muestra en la Figura 5.1.



*Figura 5.1. Microscopio de Barrido por Luz*

### 5.1. Primeras Pruebas

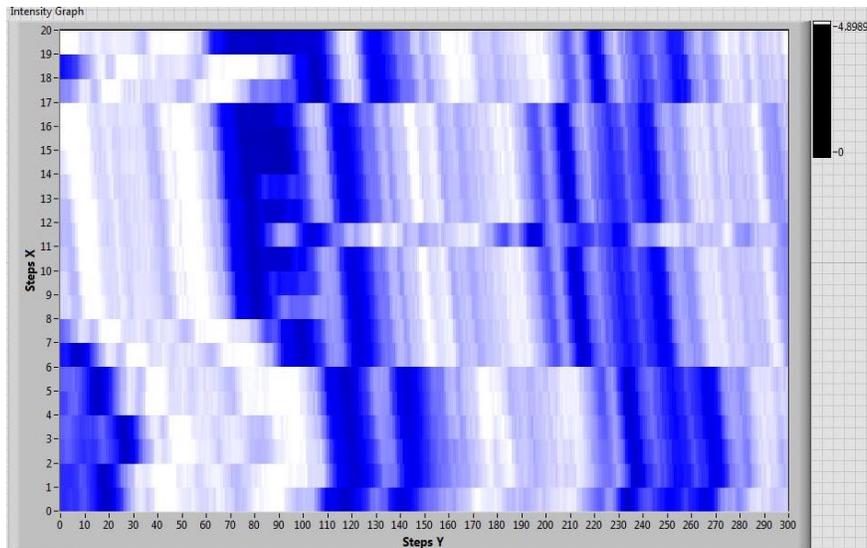
Antes de realizar las primeras pruebas, se tuvo que comprobar el funcionamiento individual de los sistemas que lo componen y se tomaron las siguientes consideraciones:

- La motorización de las platinas. Resultó fundamental para el funcionamiento general del microscopio. Por esa razón se realizaron varias pruebas para comprobar la distancia que podían recorrer las platinas junto con el máximo número de micropasos y la velocidad de giro. Ya que esta parte fue la causante del mayor número de errores a la hora de obtener resultados.
- El fotodiodo. Los ajustes fueron importantes, ya que se necesitaba la menor cantidad de ruido debido a la luz ambiental para garantizar el funcionamiento del circuito, y obtener una variación de voltaje en el rango de 0 – 9 V para formar la imagen.

- La alineación del sistema. Fue necesario ajustar la posición de la fuente luminosa, el divisor de haz y el fotodiodo para obtener un sistema alineado y que la luz que capta el fotodiodo se encuentre centrada en su zona activa. Además de tener el dispositivo en una mesa fija para evitar vibraciones.

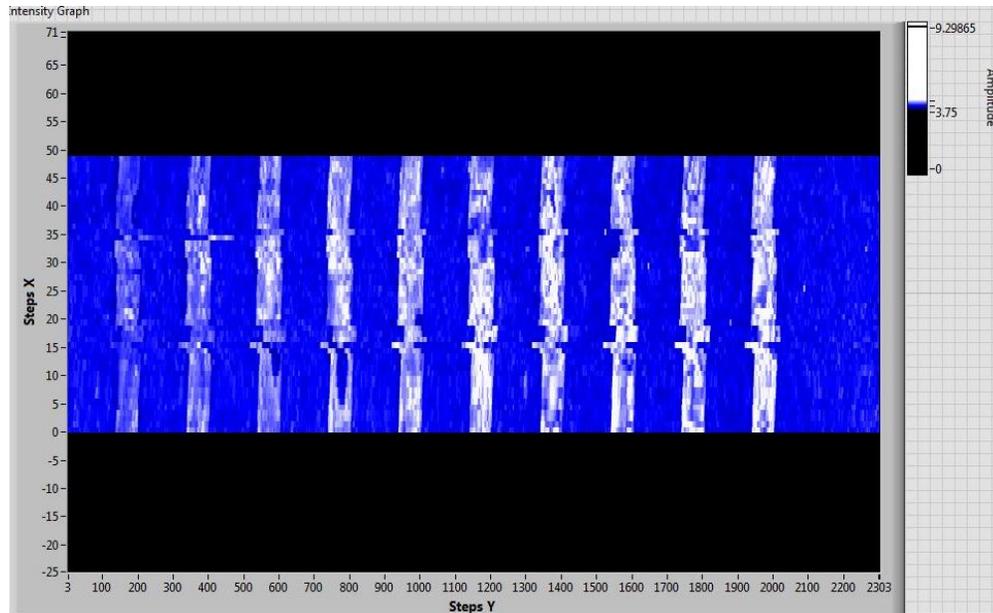
Para comprobar el funcionamiento del microscopio, se debía apreciar una variación de voltaje considerable en la detección del fotodiodo para que el software pudiera hacer una escala, en donde a cada valor de voltaje se le asigna un color para después formar un pixel de la imagen resultante.

Un primer resultado se muestra en la Figura 5.2, en donde se utilizó un circuito impreso con líneas de cobre. Las líneas en blanco son donde hay mayor reflexión que son las líneas de cobre, mientras que los tonos oscuros de azul es el sustrato del circuito impreso.



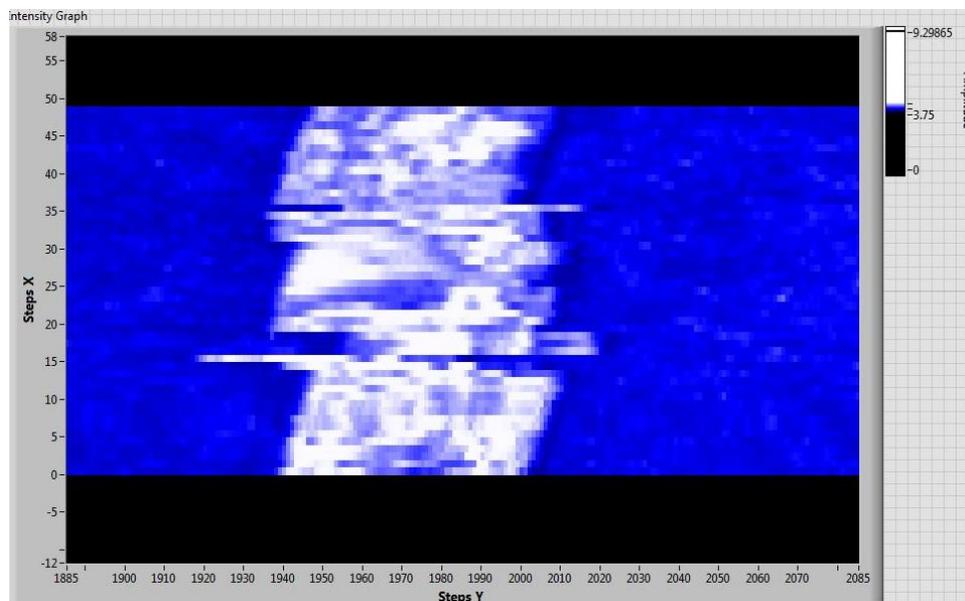
*Figura 5.2. Primera prueba*

En estas primeras pruebas era importante comprobar el funcionamiento del software en la parte de la motorización de las platinas. Es decir, que, al hacer un recorrido, la platina regrese al mismo punto. Lo cual no sucedía, como se puede ver en las Figuras 5.2 y 5.3, para cual fueron necesarios varios ajustes. Tanto en el software como en los acopladores de ambos motores.

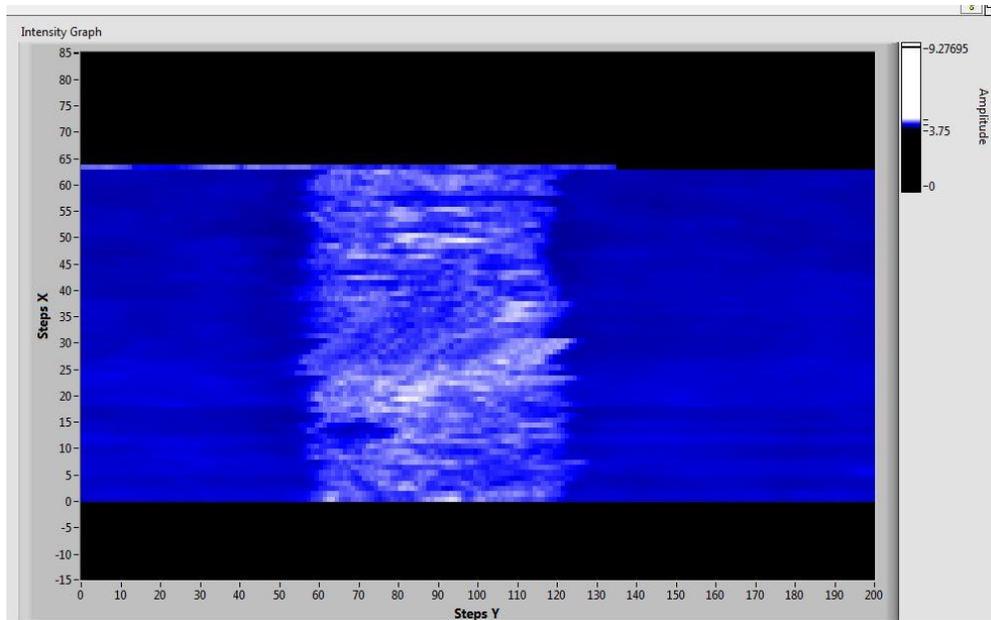


*Figura 5.3. Error en el recorrido de los motores*

Por otro lado, es importante identificar la distancia focal del objetivo de microscopio, porque si está fuera de foco se obtendrá una imagen borrosa, como se muestra en la Figura 5.4, pero si se encuentra en el foco o muy cercano a este, se tendrá una imagen con mayor definición, como se muestra en la Figura 5.5. Se debe mencionar que en ambas imágenes aún no se resolvía del todo el problema de los motores, ya que existían momentos en donde los motores no regresaban en el punto deseado y se hacía un ajuste manual. Esto se puede ver en la frontera de la línea de cobre, en donde no se aprecia uniformidad, sino pequeños saltos en algunas secciones.



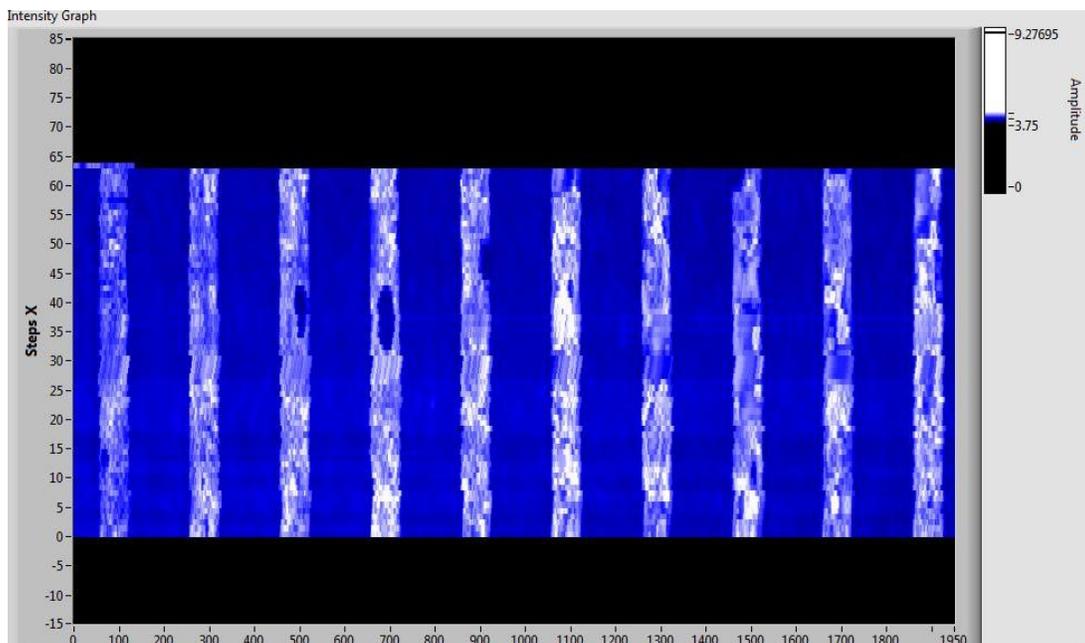
*Figura 5.4. Prueba de circuito impreso*



*Figura 5.5. Prueba en circuito impreso*

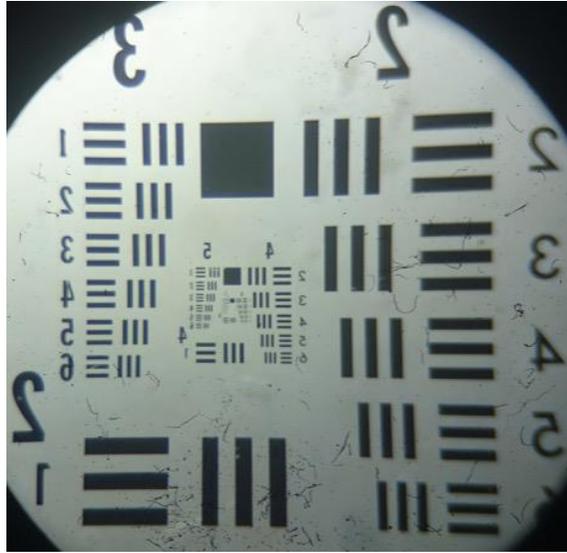
Finalmente se logró obtener buena sincronía en el movimiento de las platinas, junto con los pasos deseados en las platinas y esto se ve reflejado en la Figura 5.6, en donde se aprecia que las líneas obtenidas son casi verticales.

Es importante observar que en la Figura 5.6, se aprecian pequeñas imperfecciones en las líneas de cobre, lo cual alentó mucho a seguir con diversas muestras para analizar la máxima capacidad de este microscopio en cuanto a resolución óptica.



*Figura 5.6. Primera prueba aprobatoria*





*Figura 5.8. Plantilla disponible vista desde un microscopio convencional a 10X*

### **5.2.1. Calibración para 1 micropaso**

El proceso de la calibración de cada micropaso consiste en obtener una imagen por medio del Microscopio en el micropaso correspondiente, para después con los datos obtenidos de la imagen, se tracen las curvas del voltaje obtenido y al final realizar un promedio de dichas curvas.

De la gráfica resultante, a la mitad de la curva se toma la cantidad de pasos dados por el motor. Para después realizar una comparación con los valores de la plantilla de calibración y así obtener la distancia que recorre el motor en un paso.

En el caso de 1 micropaso, se tomaron las barras correspondientes al Grupo 4, Elemento 2. Con un ancho de barra de  $27.84 \mu m$ . La imagen obtenida del Microscopio de Barrido por Luz junto con una imagen obtenida con un microscopio convencional se muestra en la Figura 5.9.

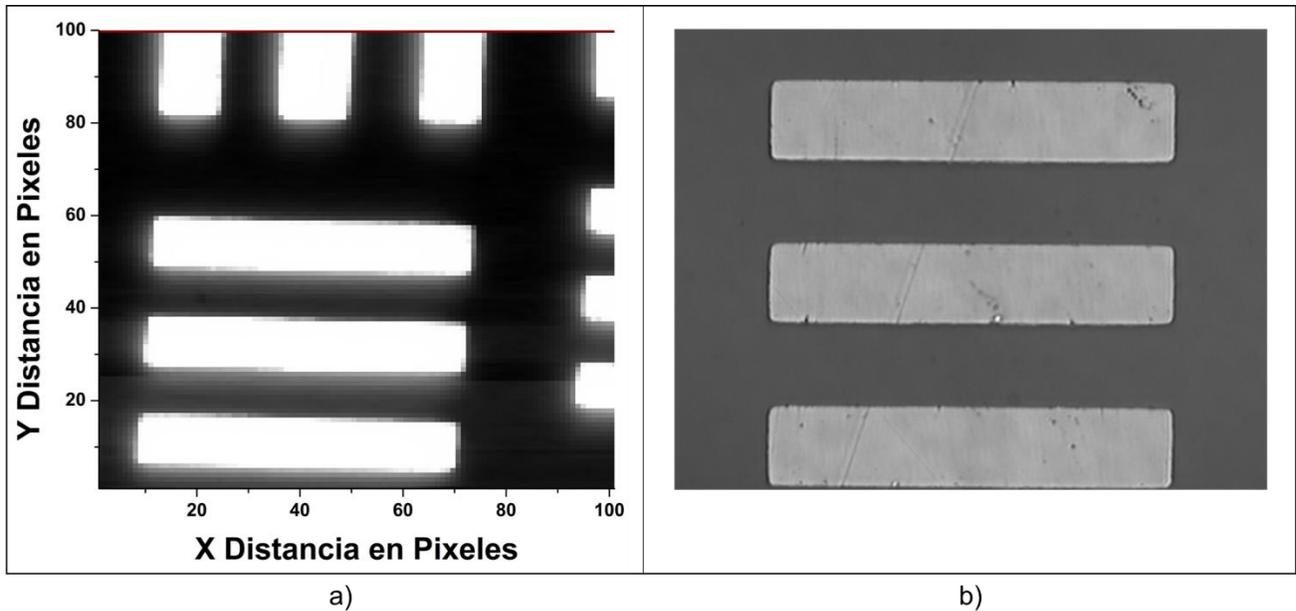
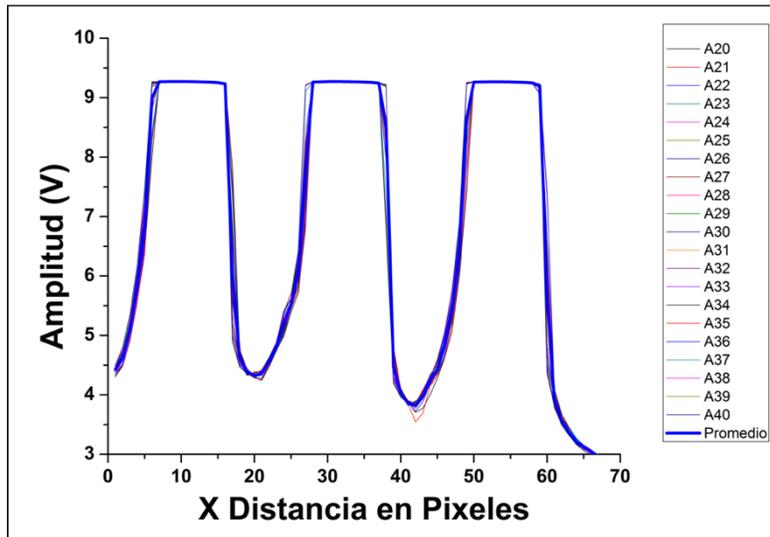


Figura 5.9. a) Imagen obtenida del Microscopio de Barrido por Luz a 1 micropaso. b) Imagen obtenida de un microscopio convencional a 20X

De la Figura 5.9, a partir de los datos obtenidos por el Microscopio, se trazan las curvas del voltaje obtenido en 20 recorridos de las tres barras, como se muestra en la Figura 5.10 a). Para después tomar el promedio de los 20 recorridos y tomar alguna de las tres curvas. En la Figura 5.10 b), se muestra la gráfica de la primera curva.



a)

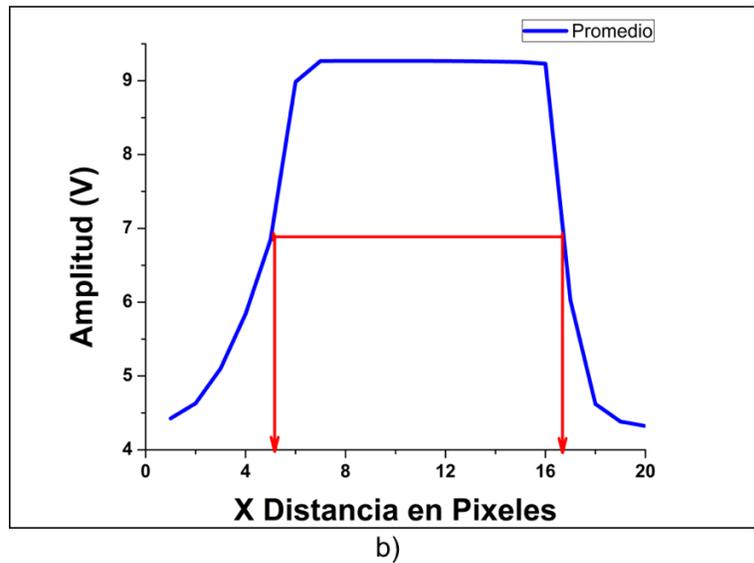


Figura 5.10. a) Curvas de voltaje para 1 micropaso. b) Cantidad de pasos dados por el motor a la mitad de la curva de voltaje

En la Figura 5.10 b), se toman los pasos que dio el motor a la mitad de curva de voltaje obtenida. Dicho lo anterior se realizan los siguientes cálculos:

$$\frac{\text{Ancho de línea}}{\text{Pasos del motor}} = \frac{27.84 \mu\text{m}}{17 - 5} = \frac{27.84 \mu\text{m}}{12 \text{ micro pasos}} = 2.32 \frac{\mu\text{m}}{\text{micro paso}}$$

Lo anterior nos indica que el paso del motor a 1 micropaso, es un recorrido de  $2.32 \mu\text{m}$ , lo cual es muy cercano al valor teórico que es de  $2.5 \mu\text{m}$  por paso.

Realizando el cálculo del porcentaje de error de la siguiente manera:

$$\%Error = \frac{|2.5 \mu\text{m} - 2.32 \mu\text{m}|}{2.5 \mu\text{m}} \times 100 = 7.2\%$$

En la Figura 5.11 se muestra la variación de la desviación estándar a cada micropaso. Haciendo notar la región en donde se obtuvo la escala.

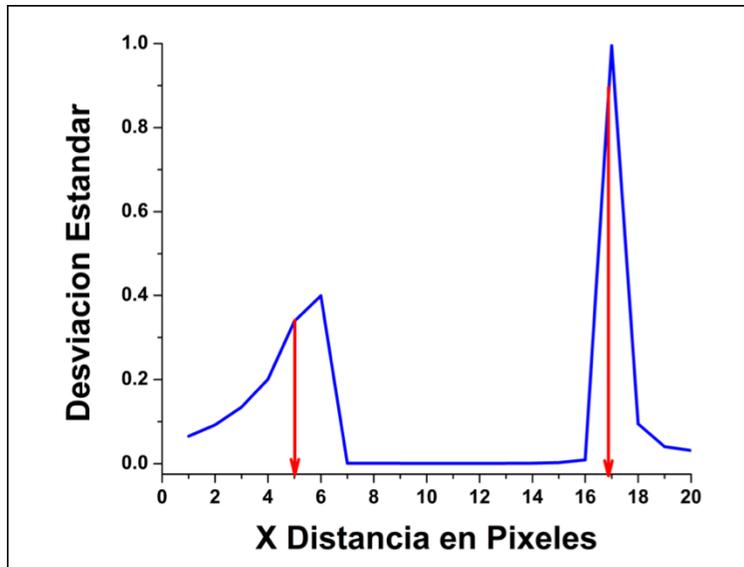


Figura 5.11. Desviación estándar a 1 micropaso

### 5.2.2. Calibración para 2 micropasos

En el caso de 2 micropasos, se tomaron las barras correspondientes al Grupo 5, Elemento 1. Con un ancho de barra de  $15.63 \mu m$ . La imagen obtenida del Microscopio de Barrido por Luz junto con una imagen obtenida con un microscopio convencional se muestra en la Figura 5.12.

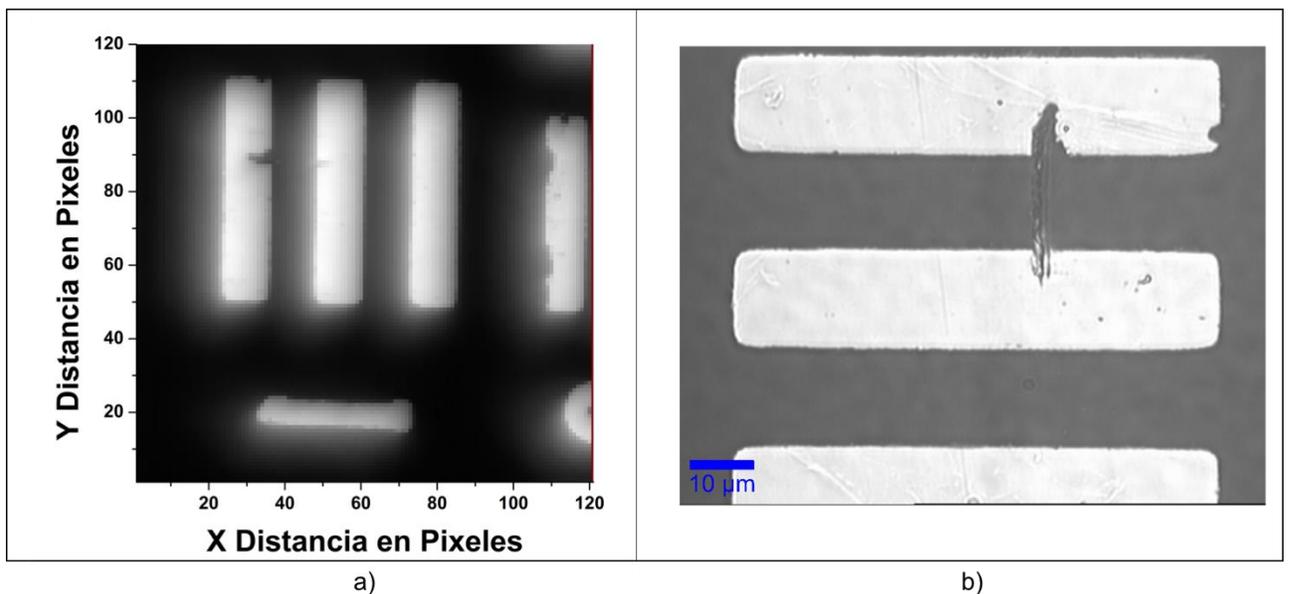
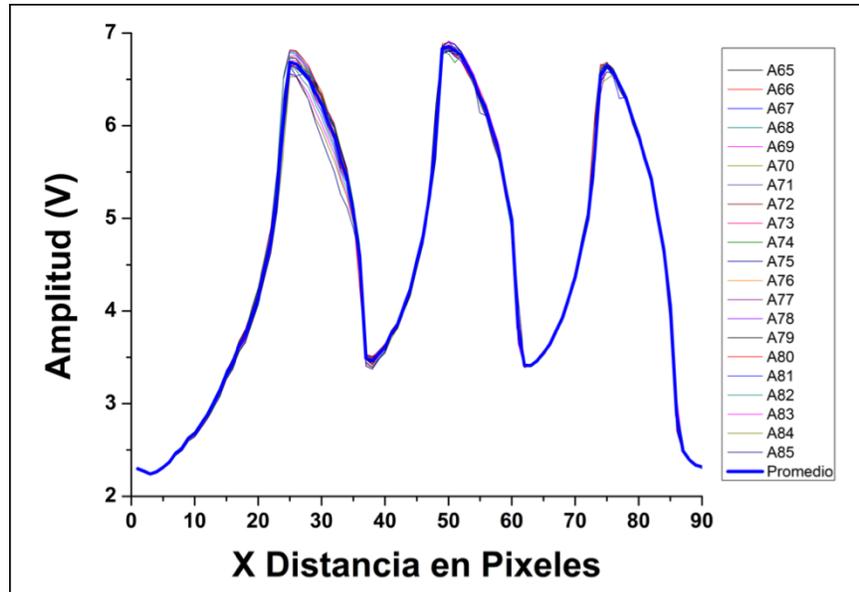
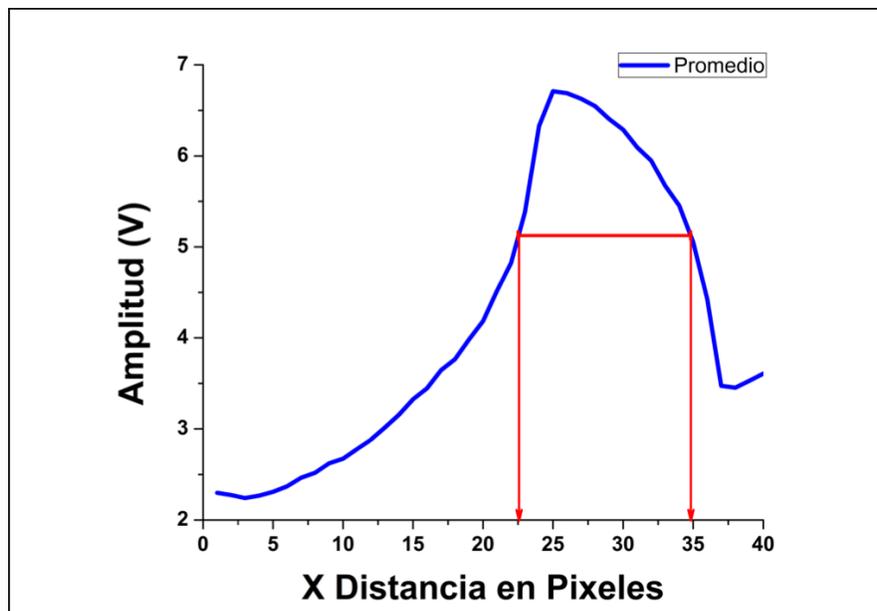


Figura 5.12. a) Imagen obtenida del Microscopio de Barrido por Luz a 2 micropasos. b) Imagen obtenida de un microscopio convencional a 50X

De la Figura 5.12, a partir de los datos obtenidos por el Microscopio, se trazan las curvas del voltaje obtenido en 20 recorridos de las tres barras, como se muestra en la Figura 5.13 a). Para después tomar el promedio de los 20 recorridos y tomar alguna de las tres curvas. En la Figura 5.13 b), se muestra la gráfica de la primera curva.



a)



b)

Figura 5.13. a) Curvas de voltaje para 2 micropasos. b) Cantidad de pasos dados por el motor a la mitad de la curva de voltaje

En la Figura 5.13 b), se toman los pasos que dio el motor a la mitad de curva de voltaje obtenida. Dicho lo anterior se realizan los siguientes cálculos:

$$\frac{\text{Ancho de línea}}{\text{Pasos del motor}} = \frac{15.63 \mu\text{m}}{35 - 23} = \frac{15.63 \mu\text{m}}{12 \text{ micro pasos}} = 1.3025 \frac{\mu\text{m}}{\text{micro paso}}$$

Lo anterior nos indica que el paso del motor a 2 micropasos, es un recorrido de  $1.3025 \mu\text{m}$ , lo cual es muy cercano al valor teórico que es de  $1.25 \mu\text{m}$  por paso.

Realizando el cálculo del porcentaje de error de la siguiente manera:

$$\%Error = \frac{|1.25 \mu\text{m} - 1.3025 \mu\text{m}|}{1.25 \mu\text{m}} \times 100 = 4.2\%$$

En la Figura 5.14 se muestra la variación de la desviación estándar a cada micropaso. Haciendo notar la región en donde se obtuvo la escala.

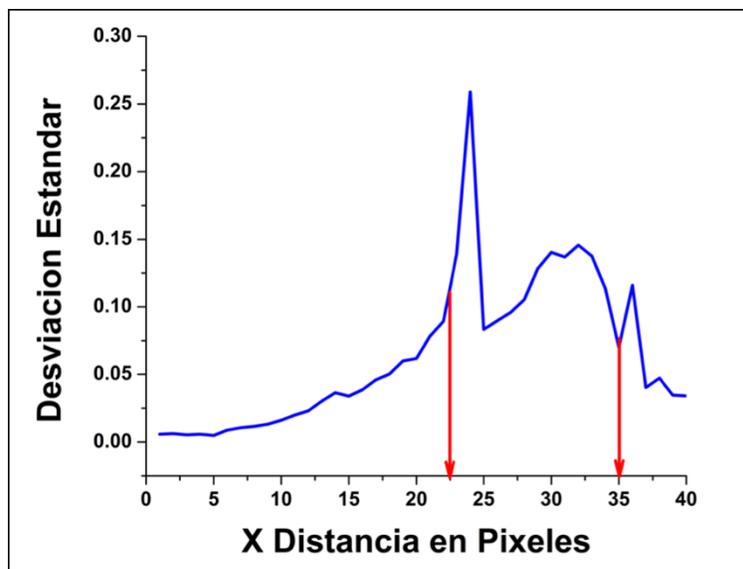


Figura 5.14. Desviación estándar a 2 micropasos

### 5.2.3. Calibración para 4 micropasos

En el caso de 4 micropasos, se tomaron las barras correspondientes al Grupo 5, Elemento 1. Con un ancho de barra de  $15.63 \mu\text{m}$ . La imagen obtenida del Microscopio de Barrido por Luz junto con una imagen obtenida con un microscopio convencional se muestra en la Figura 5.15.

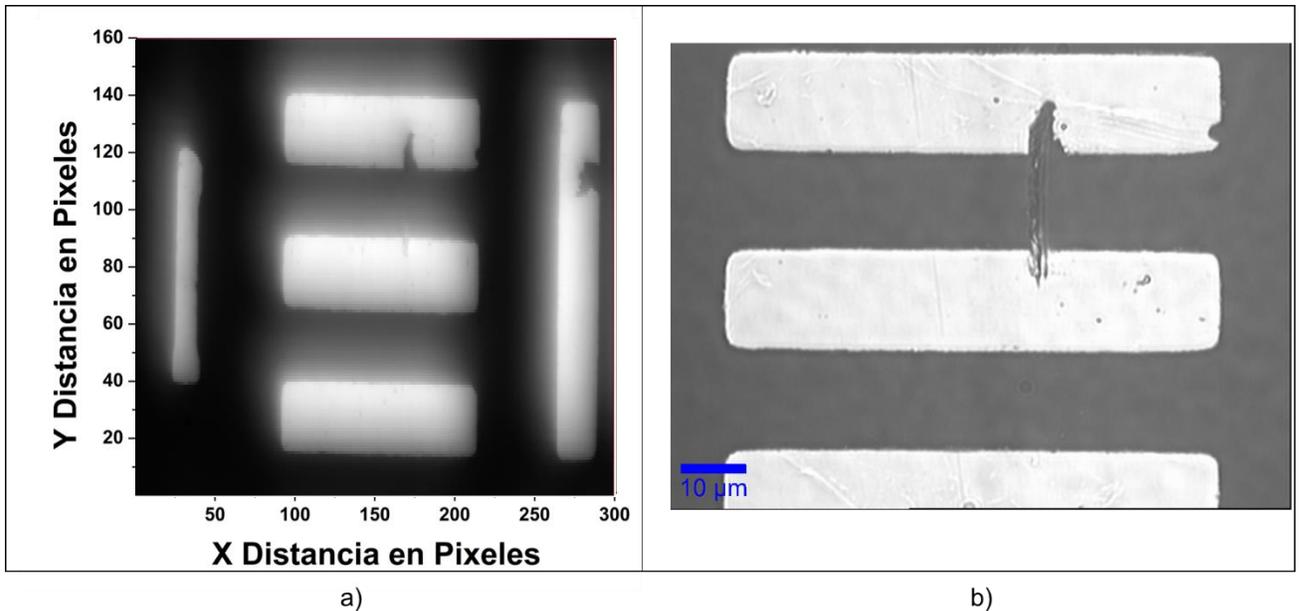
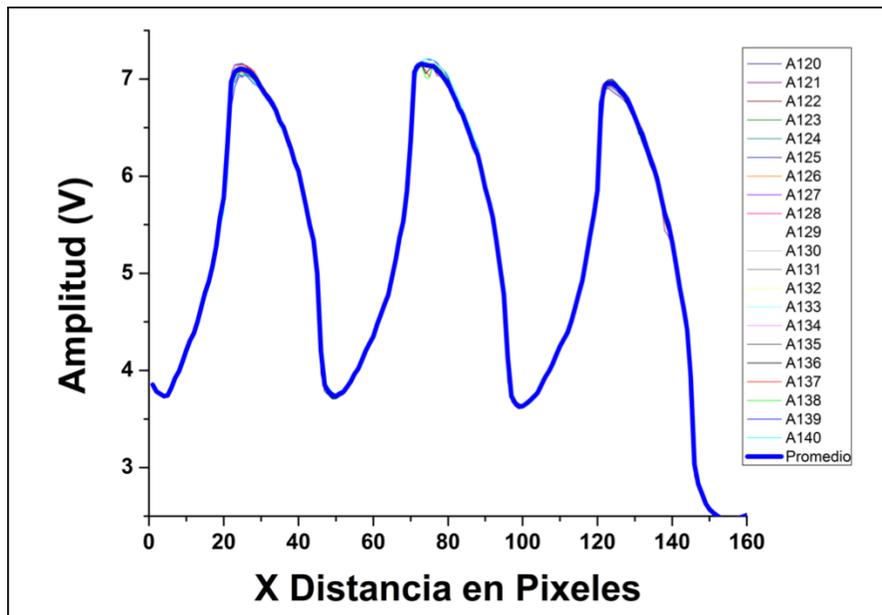
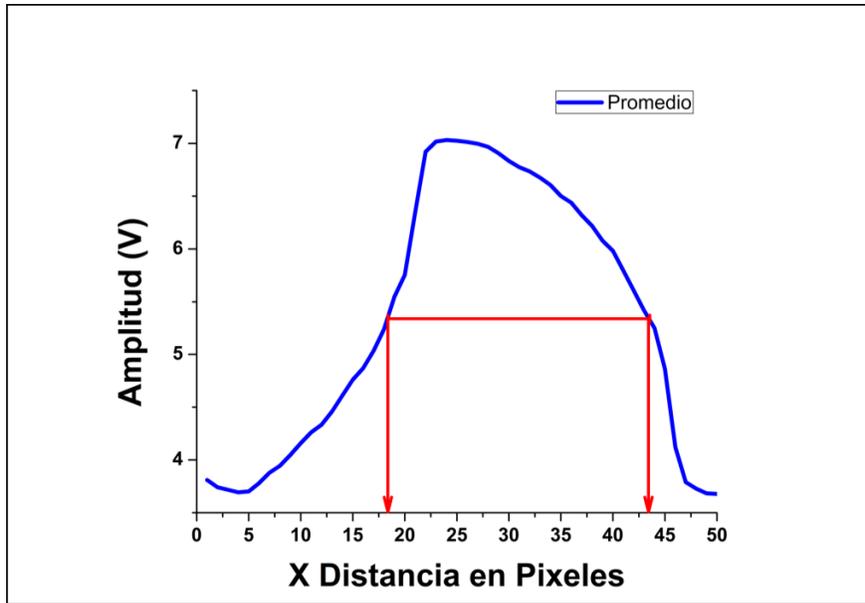


Figura 5.15. a) Imagen obtenida del Microscopio de Barrido por Luz a 4 micropasos. b) Imagen obtenida de un microscopio convencional a 50X

De la Figura 5.15, a partir de los datos obtenidos por el Microscopio, se trazan las curvas del voltaje obtenido en 20 recorridos de las tres barras, como se muestra en la Figura 5.16 a). Para después tomar el promedio de los 20 recorridos y tomar alguna de las tres curvas. En la Figura 5.16 b), se muestra la gráfica de la primera curva.



a)



b)

Figura 5.16. a) Curvas de voltaje para 4 micropasos. b) Cantidad de pasos dados por el motor a la mitad de la curva de voltaje

En la Figura 5.16 b), se toman los pasos que dio el motor a la mitad de curva de voltaje obtenida. Dicho lo anterior se realizan los siguientes cálculos:

$$\frac{\text{Ancho de línea}}{\text{Pasos del motor}} = \frac{15.63 \mu\text{m}}{43 - 18} = \frac{15.63 \mu\text{m}}{25 \text{ micro pasos}} = 625.2 \frac{\text{nm}}{\text{micro paso}}$$

Lo anterior nos indica que el paso del motor a 4 micropasos, es un recorrido de 625.2 nm, lo cual es muy cercano al valor teórico que es de 625 nm por paso.

Realizando el cálculo del porcentaje de error de la siguiente manera:

$$\%Error = \frac{|625 \text{ nm} - 625.2 \text{ nm}|}{625 \text{ nm}} \times 100 = 0.03\%$$

En la Figura 5.17 se muestra la variación de la desviación estándar a cada micropaso. Haciendo notar la región en donde se obtuvo la escala.

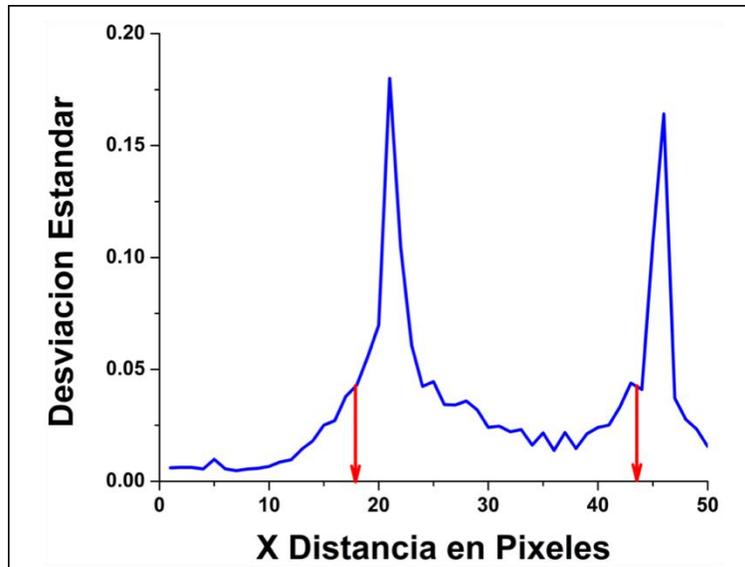


Figura 5.17. Desviación estándar a 4 micropasos

#### 5.2.4. Calibración para 8 micropasos

En el caso de 8 micropasos, se tomaron las barras correspondientes al Grupo 7, Elemento 1. Con un ancho de barra de  $3.91 \mu m$ . La imagen obtenida del Microscopio de Barrido por Luz junto con una imagen obtenida con un microscopio convencional se muestra en la Figura 5.18.

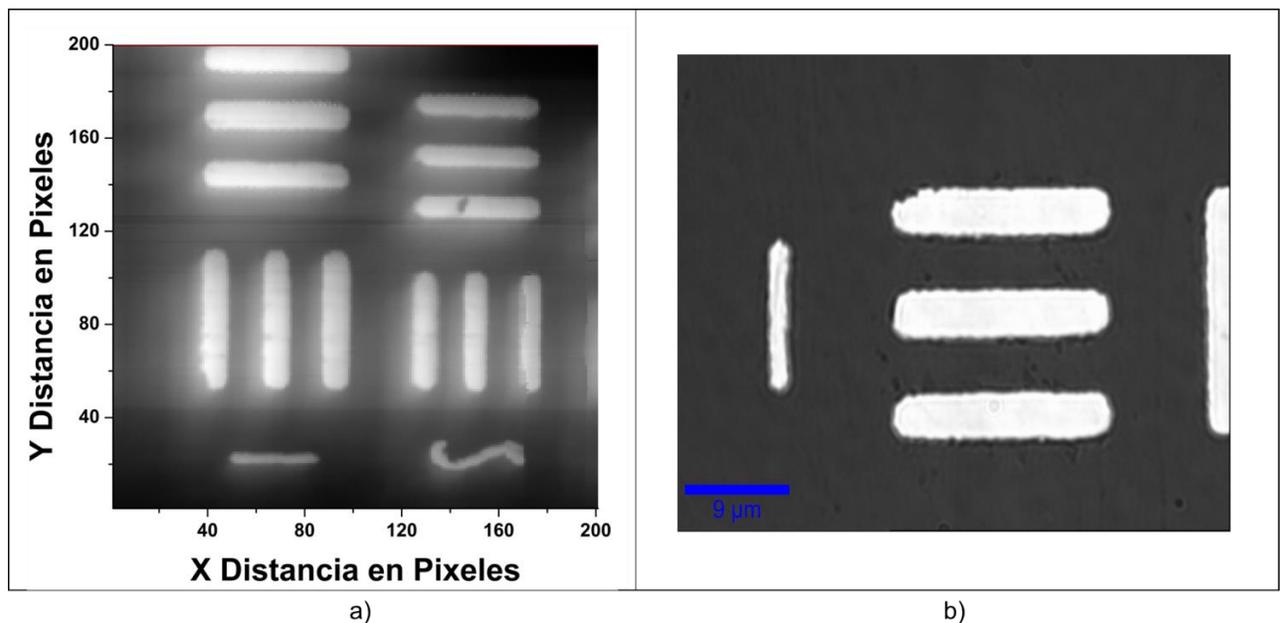
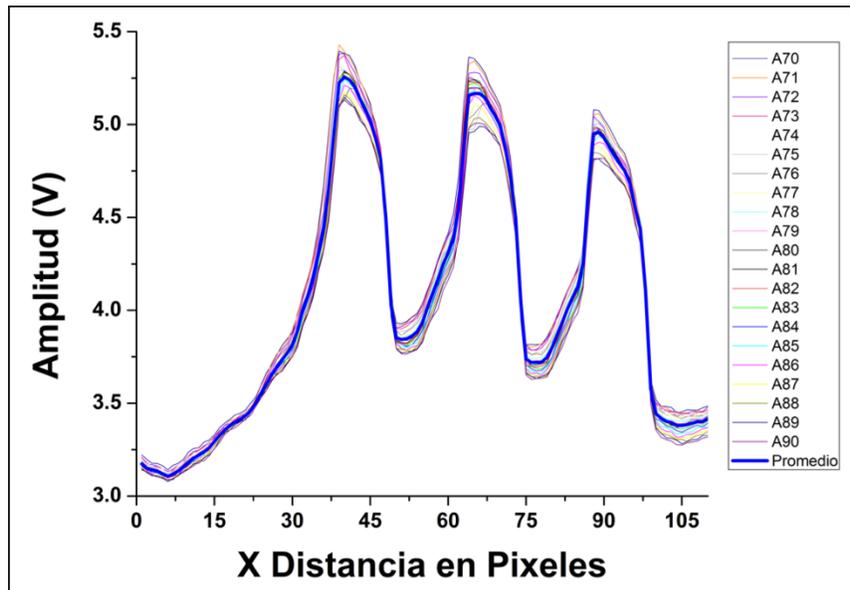
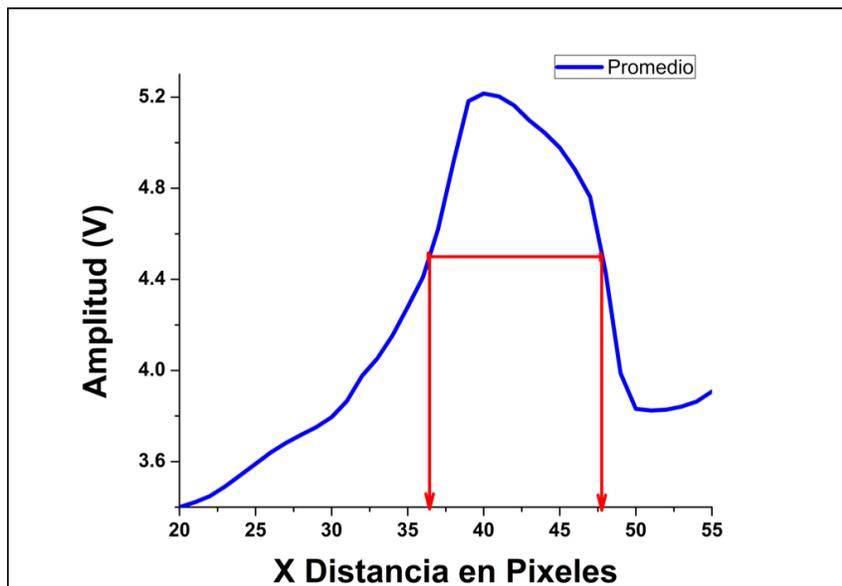


Figura 5.18. a) Imagen obtenida del Microscopio de Barrido por Luz a 8 micropasos. b) Imagen obtenida de un microscopio convencional a 100X

De la Figura 5.18, a partir de los datos obtenidos por el Microscopio, se trazan las curvas del voltaje obtenido en 20 recorridos de las tres barras, como se muestra en la Figura 5.19 a). Para después tomar el promedio de los 20 recorridos y tomar alguna de las tres curvas. En la Figura 5.19 b), se muestra la gráfica de la primera curva.



a)



b)

Figura 5.19.a) Curvas de voltaje para 8 micropasos. b) Cantidad de pasos dados por el motor a la mitad de la curva de voltaje

En la Figura 5.19 b), se toman los pasos que dio el motor a la mitad de curva de voltaje obtenida. Dicho lo anterior se realizan los siguientes cálculos:

$$\frac{\text{Ancho de línea}}{\text{Pasos del motor}} = \frac{3.91 \mu\text{m}}{48 - 36} = \frac{3.91 \mu\text{m}}{12 \text{ micro pasos}} = 325.83 \frac{\text{nm}}{\text{micro paso}}$$

Lo anterior nos indica que el paso del motor a 8 micropasos, es un recorrido de 325.83 nm, lo cual es muy cercano al valor teórico que es de 312.5 nm por paso.

Realizando el cálculo del porcentaje de error de la siguiente manera:

$$\%Error = \frac{|312.5 \text{ nm} - 325.83 \text{ nm}|}{312.5 \text{ nm}} \times 100 = 4.26\%$$

En la Figura 5.20 se muestra la variación de la desviación estándar a cada micropaso. Haciendo notar la región en donde se obtuvo la escala.

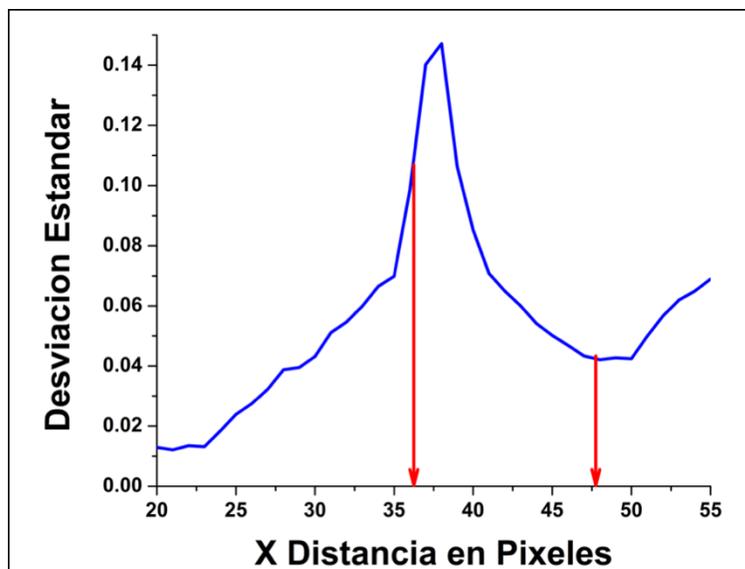


Figura 5.20. Desviación estándar a 8 micropasos

### 5.2.5. Calibración para 16 micropasos

En el caso de 16 micropasos, se tomaron las barras correspondientes al Grupo 7, Elemento 1. Con un ancho de barra de 3.91  $\mu\text{m}$ . La imagen obtenida del Microscopio de Barrido por Luz junto con una imagen obtenida con un microscopio convencional se muestra en la Figura 5.21.

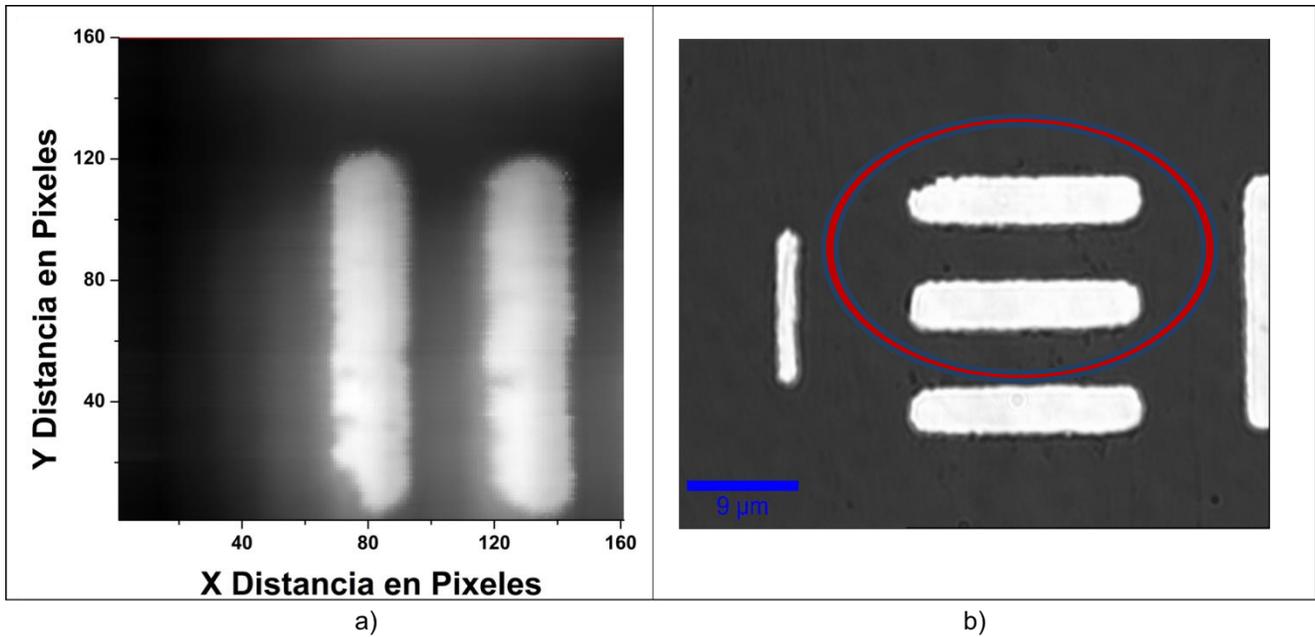
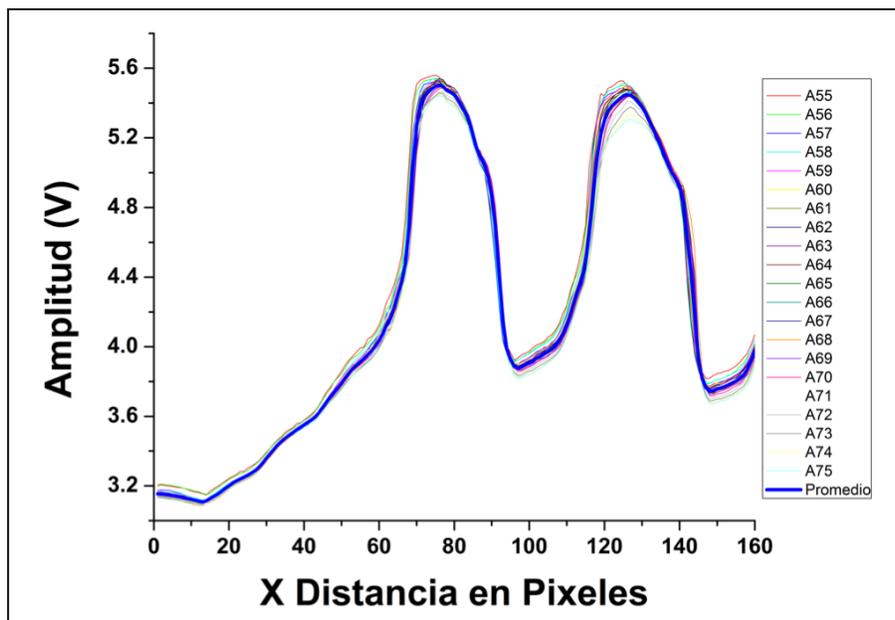
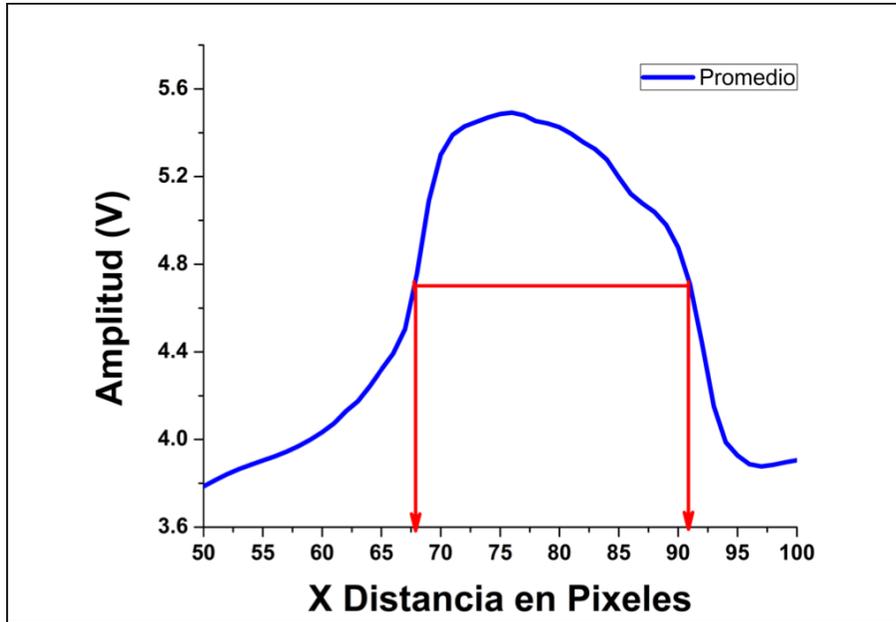


Figura 5.21. a) Imagen obtenida del Microscopio de Barrido por Luz a 16 micropasos. b) Imagen obtenida de un microscopio convencional a 100X

De la Figura 5.21, a partir de los datos obtenidos por el Microscopio, se trazan las curvas del voltaje obtenido en 20 recorridos de las tres barras, como se muestra en la Figura 5.22 a). Para después tomar el promedio de los 20 recorridos y tomar alguna de las tres curvas. En la Figura 5.22 b), se muestra la gráfica de la primera curva.



a)



b)

Figura 5.22. a) Curvas de voltaje para 16 micropasos. b) Cantidad de pasos dados por el motor a la mitad de la curva de voltaje

En la Figura 5.22 b), se toman los pasos que dio el motor a la mitad de curva de voltaje obtenida. Dicho lo anterior se realizan los siguientes cálculos:

$$\frac{\text{Ancho de línea}}{\text{Pasos del motor}} = \frac{3.91 \mu\text{m}}{91 - 68} = \frac{3.91 \mu\text{m}}{23 \text{ micro pasos}} = 170 \frac{\text{nm}}{\text{micro paso}}$$

Lo anterior nos indica que el paso del motor a 16 micropasos, es un recorrido de 170 nm, lo cual es muy cercano al valor teórico que es de 156.25 nm por paso.

Realizando el cálculo del porcentaje de error de la siguiente manera:

$$\%Error = \frac{|156.25 \text{ nm} - 170 \text{ nm}|}{156.25 \text{ nm}} \times 100 = 8.8\%$$

En la Figura 5.23 se muestra la variación de la desviación estándar a cada micropaso. Haciendo notar la región en donde se obtuvo la escala.

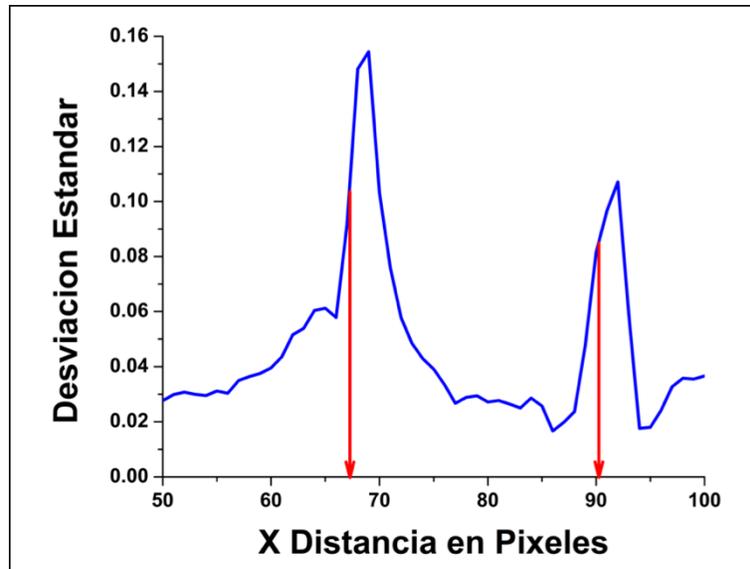


Figura 5.23. Desviación estándar a 16 micropasos

### 5.2.6. Calibración para 32 micropasos

En el caso de 32 micropasos, se tomaron las barras correspondientes al Grupo 7, Elemento 6. Con un ancho de barra de  $2.19 \mu m$ . La imagen obtenida del Microscopio de Barrido por Luz junto con una imagen obtenida con un microscopio convencional se muestra en la Figura 5.24.

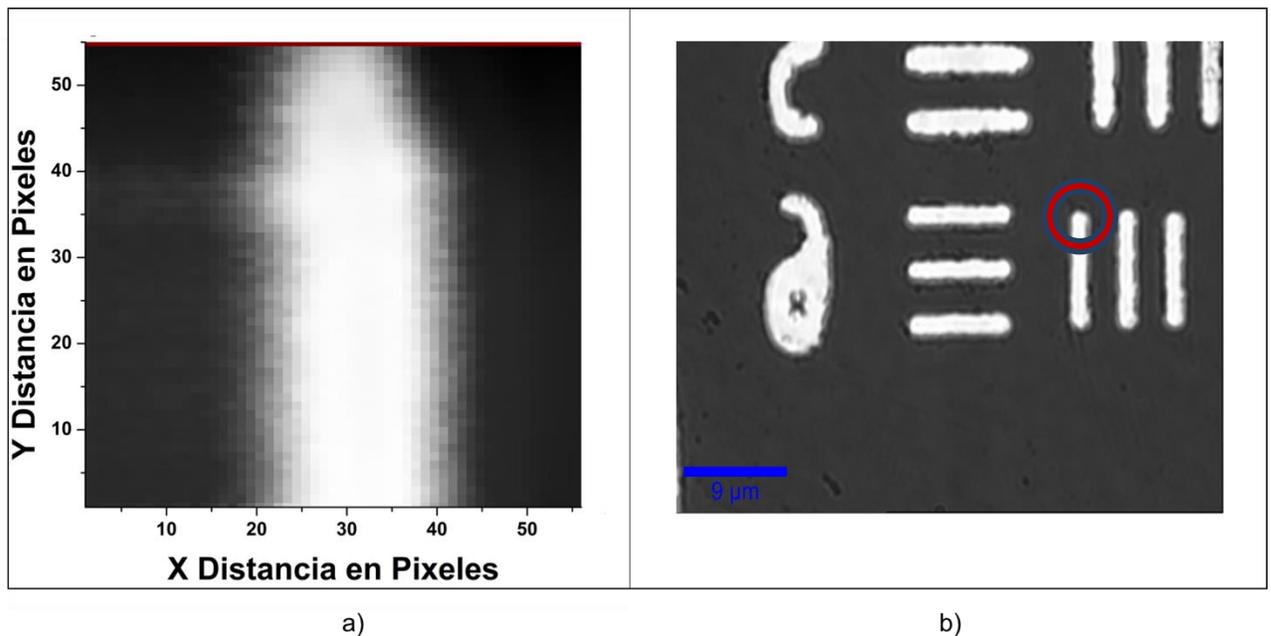
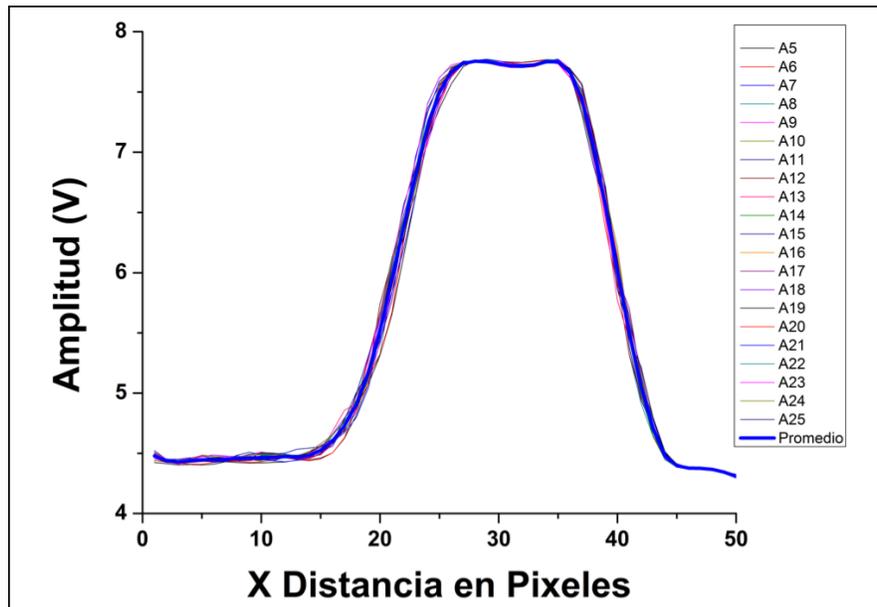
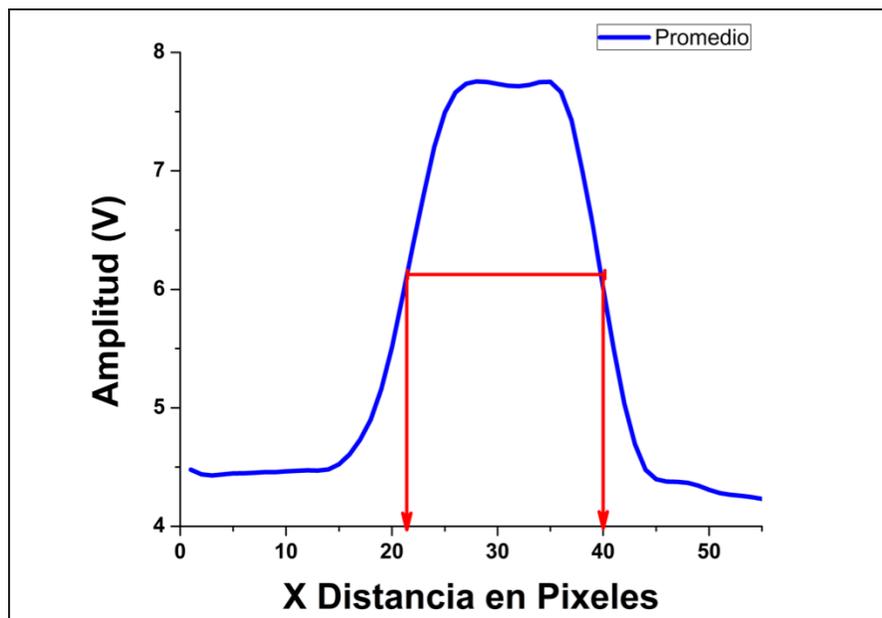


Figura 5.24. a) Imagen obtenida del Microscopio de Barrido por Luz a 32 micropasos. b) Imagen obtenida de un microscopio convencional a 100X

De la Figura 5.24, a partir de los datos obtenidos por el Microscopio, se trazan las curvas del voltaje obtenido en 20 recorridos de las tres barras, como se muestra en la Figura 5.25 a). Para después tomar el promedio de los 20 recorridos y tomar alguna de las tres curvas. En la Figura 5.25 b), se muestra la gráfica de la primera curva.



a)



b)

Figura 5.25. a) Curvas de voltaje para 32 micropasos. b) Cantidad de pasos dados por el motor a la mitad de la curva de voltaje

En la Figura 5.25 b), se toman los pasos que dio el motor a la mitad de curva de voltaje obtenida. Dicho lo anterior se realizan los siguientes cálculos:

$$\frac{\text{Ancho de línea}}{\text{Pasos del motor}} = \frac{2.19 \mu\text{m}}{40 - 21} = \frac{2.19 \mu\text{m}}{19 \text{ micro pasos}} = 115.26 \frac{\text{nm}}{\text{micro paso}}$$

Lo anterior nos indica que el paso del motor a 32 micropasos, es un recorrido de 115.26 nm, lo cual no es muy cercano al valor teórico que es de 78.125 nm por paso. Sin embargo, está por debajo del límite de difracción visto en la sección 4.1.

Realizando el cálculo del porcentaje de error de la siguiente manera:

$$\%Error = \frac{|78.125 \text{ nm} - 115.26 \text{ nm}|}{78.125 \text{ nm}} \times 100 = 47.53\%$$

En la Figura 5.26 se muestra la variación de la desviación estándar a cada micropaso. Haciendo notar la región en donde se obtuvo la escala.

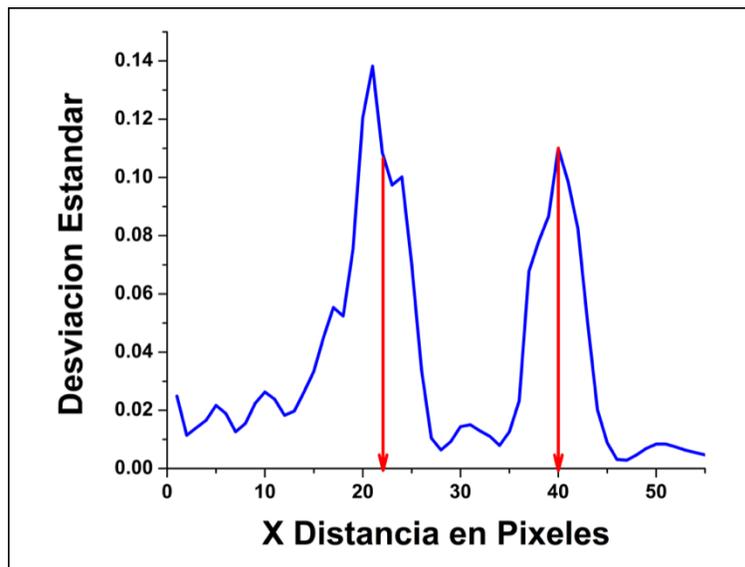


Figura 5.26. Desviación estándar a 32 micropasos

### 5.2.7. Calibración para 64 micropasos

En el caso de 64 micropasos, se tomaron las barras correspondientes al Grupo 7, Elemento 6. Con un ancho de barra de 2.19  $\mu\text{m}$ . La imagen obtenida del Microscopio de Barrido por Luz junto con una imagen obtenida con un microscopio convencional se muestra en la Figura 5.27.

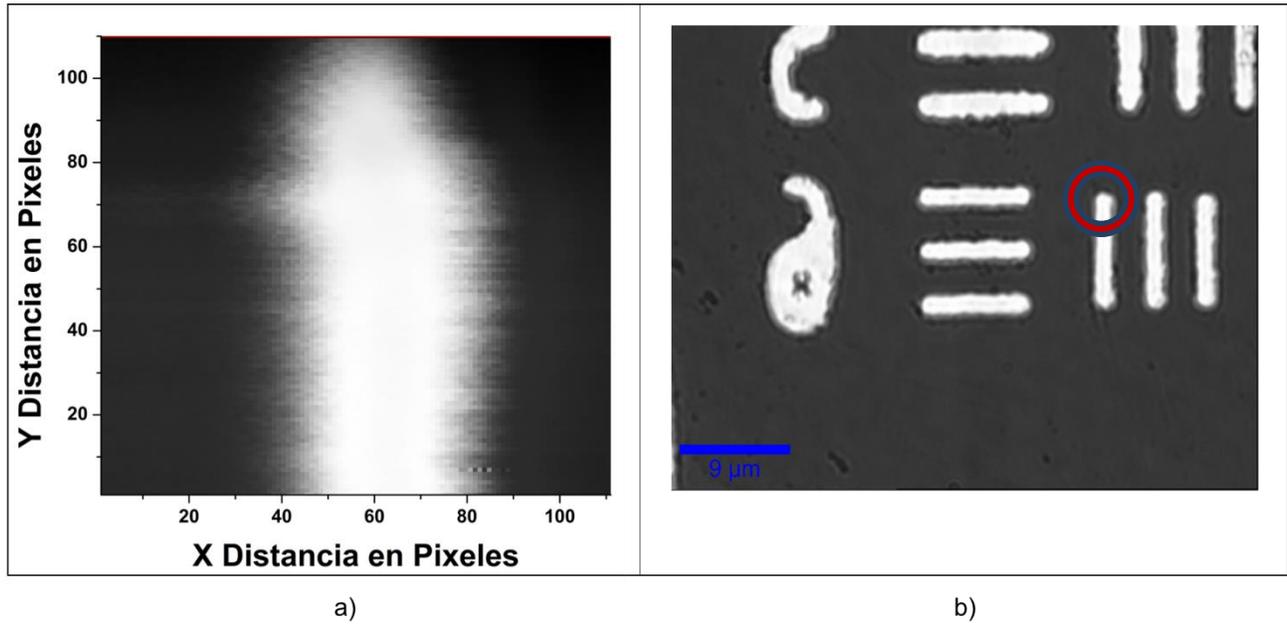
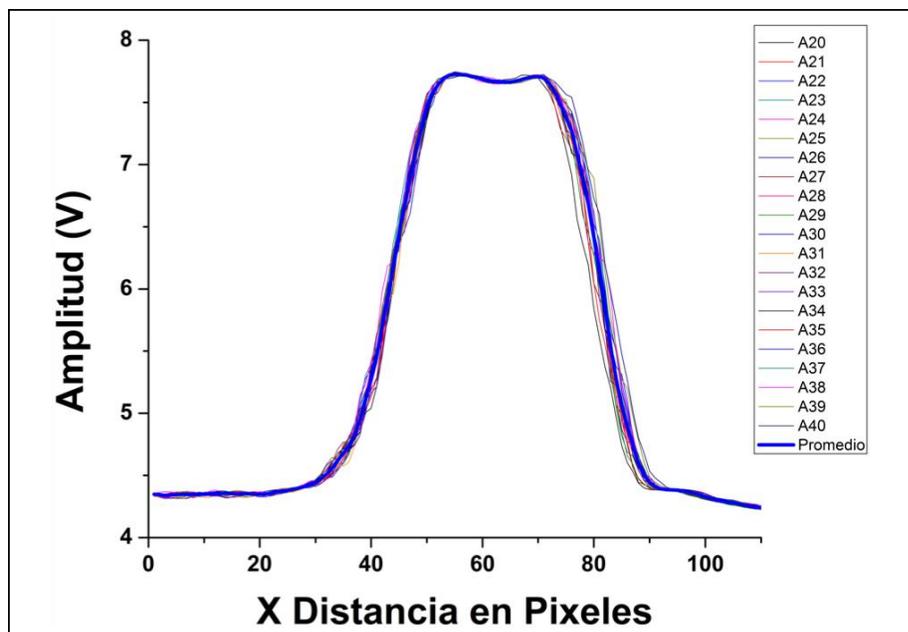


Figura 5.27. a) Imagen obtenida del Microscopio de Barrido por Luz a 64 micropasos. b) Imagen obtenida de un microscopio convencional a 100X

De la Figura 5.27, a partir de los datos obtenidos por el Microscopio, se trazan las curvas del voltaje obtenido en 20 recorridos de las tres barras, como se muestra en la Figura 5.28 a). Para después tomar el promedio de los 20 recorridos y tomar alguna de las tres curvas. En la Figura 5.28 b), se muestra la gráfica de la primera curva.



a)

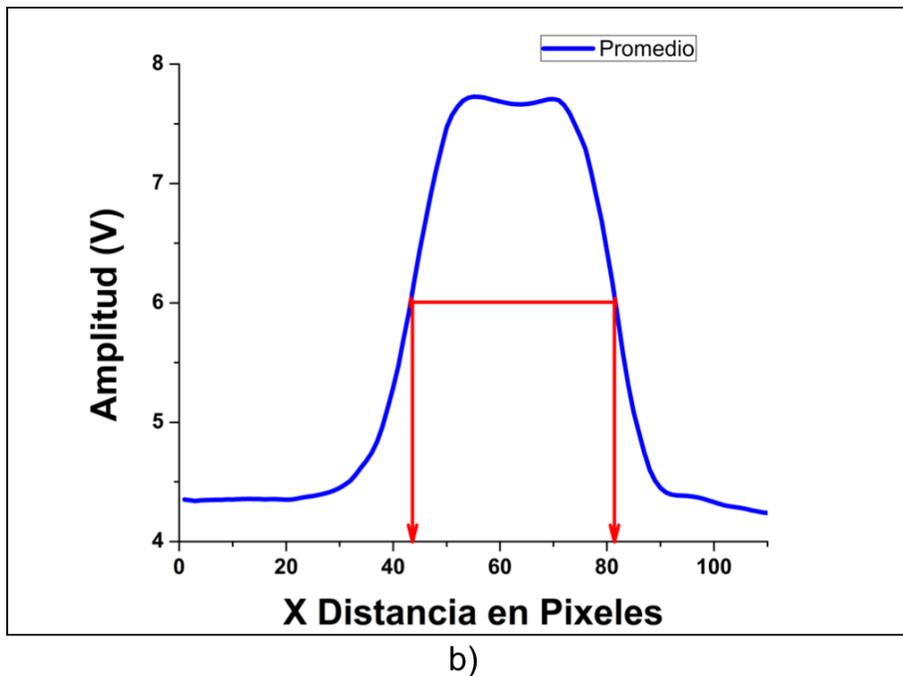


Figura 5.28. a) Curvas de voltaje para 64 micropasos. b) Cantidad de pasos dados por el motor a la mitad de la curva de voltaje

En la Figura 5.28 b), se toman los pasos que dio el motor a la mitad de curva de voltaje obtenida. Dicho lo anterior se realizan los siguientes cálculos:

$$\frac{\text{Ancho de línea}}{\text{Pasos del motor}} = \frac{2.19 \mu\text{m}}{82 - 43} = \frac{2.19 \mu\text{m}}{39 \text{ micro pasos}} = 56.153 \frac{\text{nm}}{\text{micro paso}}$$

Lo anterior nos indica que el paso del motor a 64 micropasos, es un recorrido de 56.153 nm, lo cual es un poco cercano al valor teórico que es de 39.0625 nm por paso. Sin embargo, está por debajo del límite de difracción visto en la sección 4.1.

Realizando el cálculo del porcentaje de error de la siguiente manera:

$$\%Error = \frac{|39.0625 \text{ nm} - 56.153 \text{ nm}|}{39.0625 \text{ nm}} \times 100 = 43.75\%$$

En la Figura 5.29 se muestra la variación de la desviación estándar a cada micropaso. Haciendo notar la región en donde se obtuvo la escala.

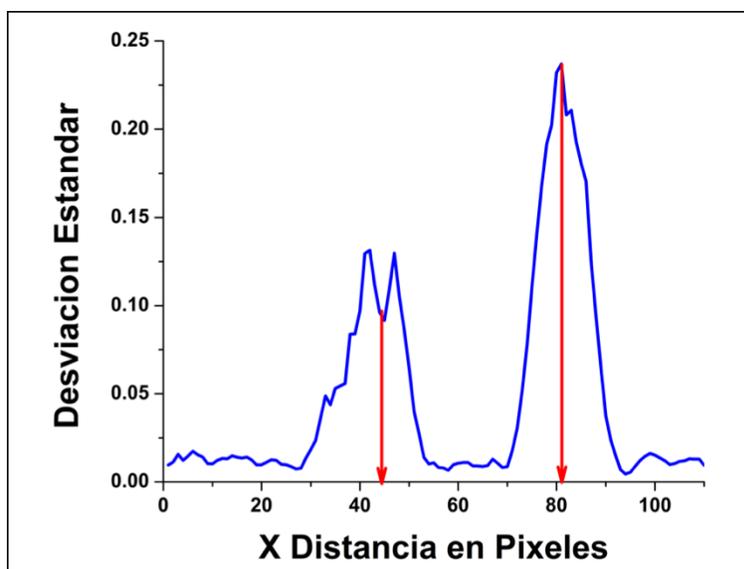


Figura 5.29. Desviación estándar a 64 micropasos

Es importante destacar que esta es la máxima resolución que se pudo alcanzar con este Microscopio. Además de que la imagen de la Figura 5.27, se aprecia con buena definición en comparación con la de un microscopio convencional.

### 5.2.8. Recopilación de Resultados

El proceso de calibración permitió poder escalar las siguientes imágenes obtenidas por el microscopio, además de conocer la capacidad del mismo en cuanto a la distancia máxima que puede recorrer dependiendo del micropaso, ya que esta situación era crítica debido a que muchas veces los motores presentaban alguna falla.

La recopilación de los resultados obtenidos en el proceso de calibración del Microscopio, se muestra en la Tabla 5.1. En donde se coloca el micropaso utilizado y el recorrido del motor en dicho micropaso.

Micropasos	Grupo, Elemento	Ancho de línea [ $\mu m$ ]	# steps	Experimental
1 $\mu step$	4,2	27.84	12	2.32 $\mu m$
2 $\mu step$	5,1	15.63	12	1.302 $\mu m$
4 $\mu step$	5,1	15.63	25	625.2 nm
8 $\mu step$	7,1	3.91	12	325.83 nm
16 $\mu step$	7,1	3.91	23	170 nm
32 $\mu step$	7,6	2.19	19	115.26 nm
64 $\mu step$	7,6	2.19	39	56.153 nm

Tabla 5.1. Recopilación de resultados

En la Tabla 5.2, se muestra una comparación de los resultados obtenidos con los valores teóricos. Es importante recordar que el límite de difracción teórico del dispositivo está dado por la longitud de onda de operación y la apertura numérica del objetivo de microscopio de la siguiente forma:

$$R = \frac{1.22\lambda}{2n \sin \theta} = \frac{0.61\lambda}{NA} = \frac{(0.61)(405 \text{ nm})}{1.25} = 197.64 \text{ nm}$$

Micropasos	Teórico	Experimental
<i>1 μstep</i>	<i>2.5 μm</i>	<i>2.32 μm</i>
<i>2 μstep</i>	<i>1.25 μm</i>	<i>1.302 μm</i>
<i>4 μstep</i>	<i>625 nm</i>	<i>625.2 nm</i>
<i>8 μstep</i>	<i>312.5 nm</i>	<i>325.83 nm</i>
<i>16 μstep</i>	<i>156.25 nm</i>	<i>170 nm</i>
<i>32 μstep</i>	<i>78.125 nm</i>	<i>115.26 nm</i>
<i>64 μstep</i>	<i>39.0625 nm</i>	<i>56.153 nm</i>

*Tabla 5.2. Comparación de valores teóricos y experimentales*

Por consiguiente, con los resultados obtenidos se aprecia que se obtuvo una resolución óptica mejor de lo que se esperaba, comparando con el límite de difracción.

En la Tabla 5.3, se muestran los porcentajes de error que se obtuvieron para cada micropaso.

Micropasos	% Error
<i>1 μstep</i>	<i>7.2</i>
<i>2 μstep</i>	<i>4.2</i>
<i>4 μstep</i>	<i>0.03</i>
<i>8 μstep</i>	<i>4.26</i>
<i>16 μstep</i>	<i>8.8</i>
<i>32 μstep</i>	<i>47.53</i>
<i>64 μstep</i>	<i>43.75</i>

*Tabla 5.3. Porcentaje de error*

En cada calibración correspondiente a cada micropaso, se tomaron varias muestras, escogiendo las mejores para cada caso. Principalmente esto se debe a que resultaba complicado encontrar la distancia focal óptima para cada micropaso. En la Figura 5.30, se muestra la variación de la distancia focal cada  $5 \mu\text{m}$ , hasta llegar a una imagen con buena definición.

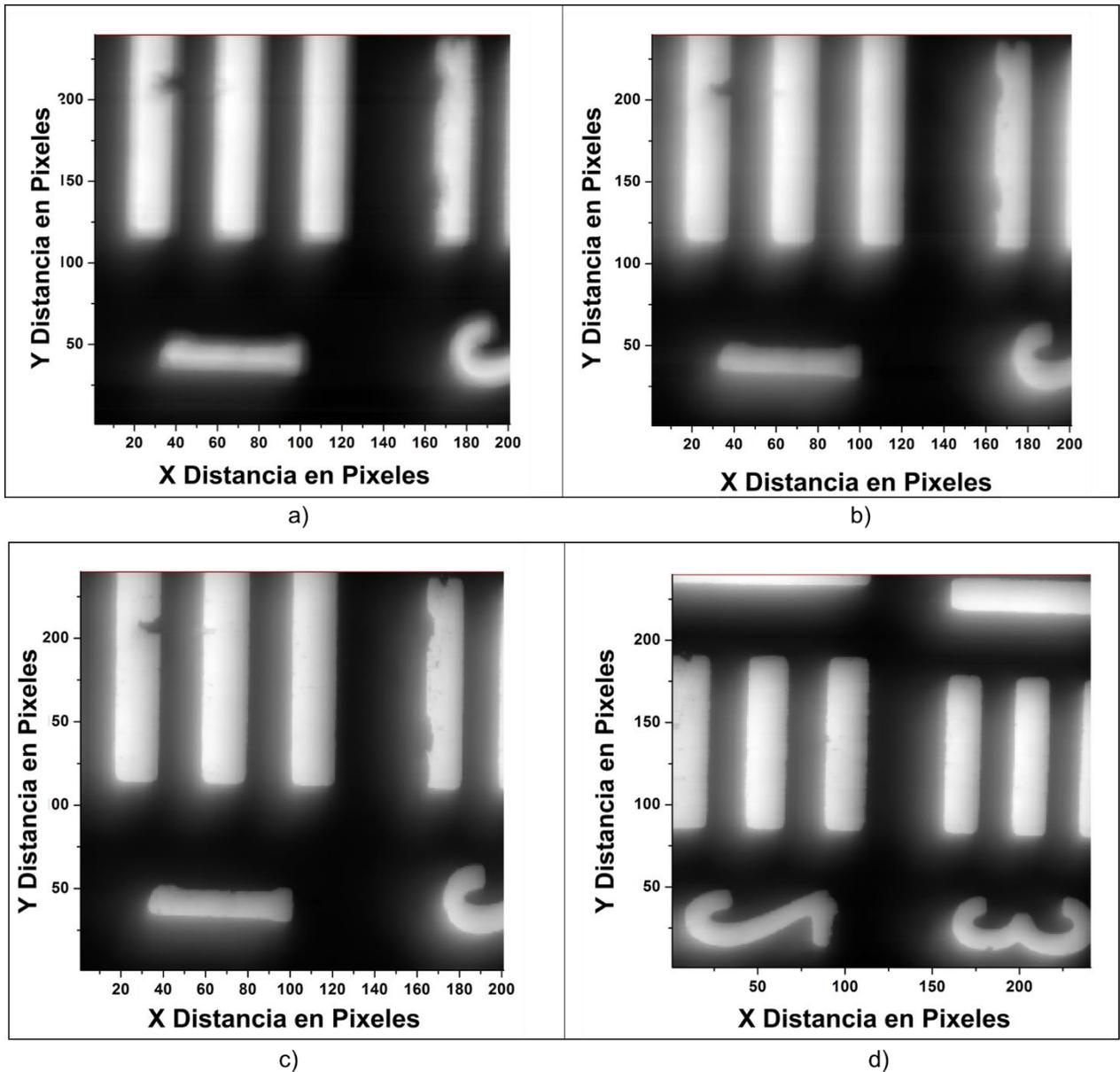


Figura 5.30. Imágenes tomadas en 4 micropasos. Variación de la distancia focal en a) 15.28 mm, b) 15.285 mm, y c) 15.29 mm para obtener la definición óptima en d) 15.295 mm.

Otra manera era enfocar en cierto número de micropasos, para después aumentar la cantidad de micropasos y obtener la mejor resolución. Como se muestra en la Figura 5.31, en donde se muestra una variación de la distancia focal de  $5 \mu m$  en 8 micropasos, para después aumentar a 16 micropasos en la distancia focal óptima.

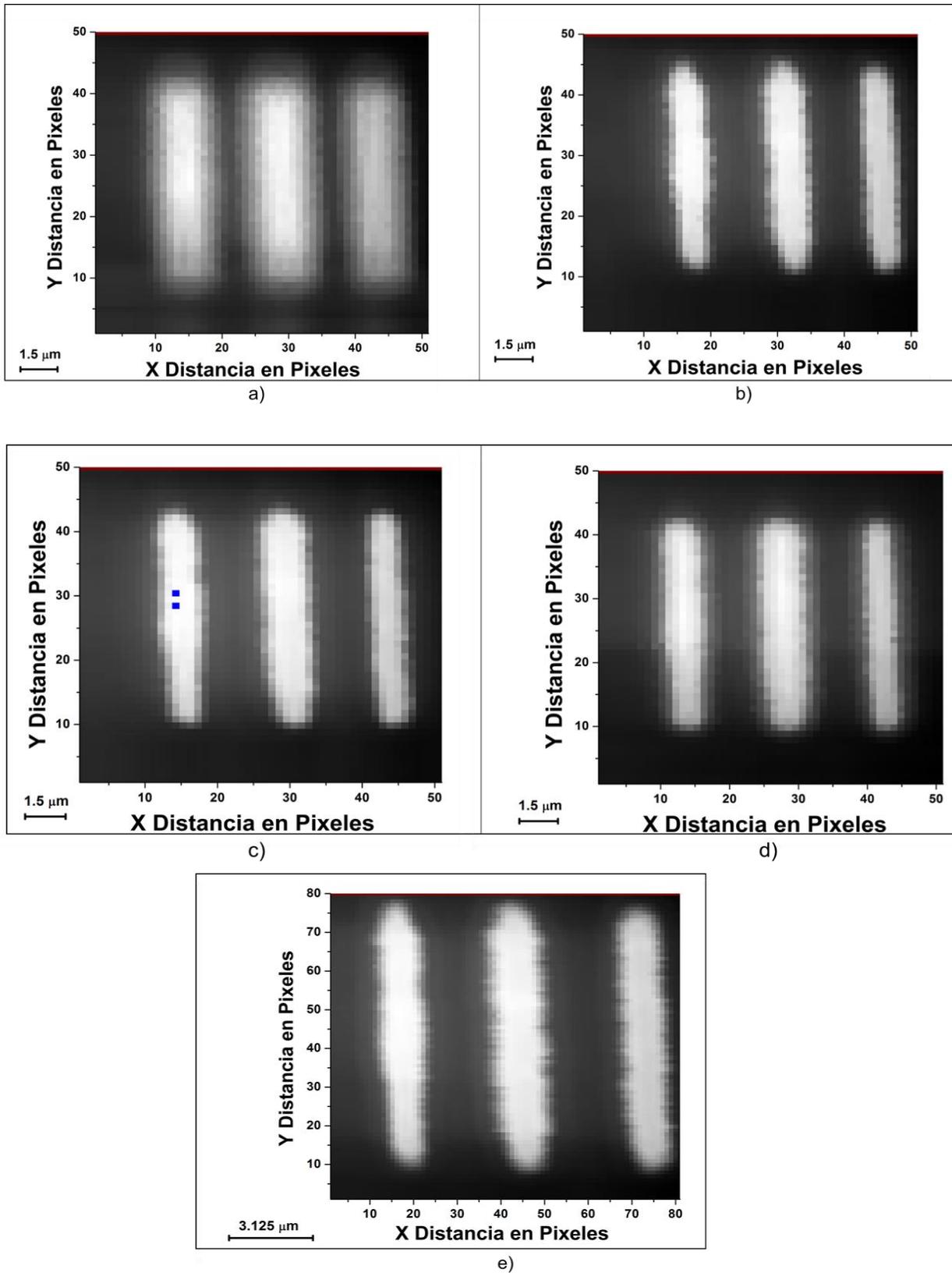


Figura 5.31. Variación de la distancia focal en a) 15.28 mm, b) 15.285 mm, c) 15.29 mm y d) 15.295 mm, imágenes tomadas en 8 micropasos para obtener la distancia focal óptima en e), imagen tomada en 16 micropasos.

## 5.3. Muestras

El proceso de calibración permitió dimensionar cualquier tipo de muestra a partir de la cantidad de micropasos que fue tomada. Pero para comprender mejor el funcionamiento del Microscopio de Barrido por Luz, se realizaron varias pruebas con diferentes tipos de muestras.

En esta sección se presenta cada tipo de muestra, mencionando el tratamiento que recibió cada muestra se encuentra en la sección 3.4.

### 5.3.1. Rejilla de TEM

En el caso de las primeras muestras, se decidió que fuera algo sencillo y reflectivo para que el Microscopio no tuviera problemas en la detección de la respuesta. Así las primeras pruebas se realizaron con Rejillas de TEM de oro y cobre. Siendo una simetría sencilla con una malla de cuadrados, la cual ayudó a conocer el ancho de cada barra.

#### 5.3.1.1. Oro

En este caso se utilizó una rejilla de TEM de oro 2030G, por parte de SPI SUPPLIES que se muestra en la Figura 5.32, con las siguientes características:

- Metal: Oro
- Ancho de barra o *Bar Width*:  $25\ \mu\text{m}$
- Hueco o *Hole*:  $58\ \mu\text{m}$
- Ancho de barra con hueco o *Pitch*:  $83\ \mu\text{m}$
- Malla o *Mesh*:  $300\ \frac{\text{lineas}}{\text{inch}}$

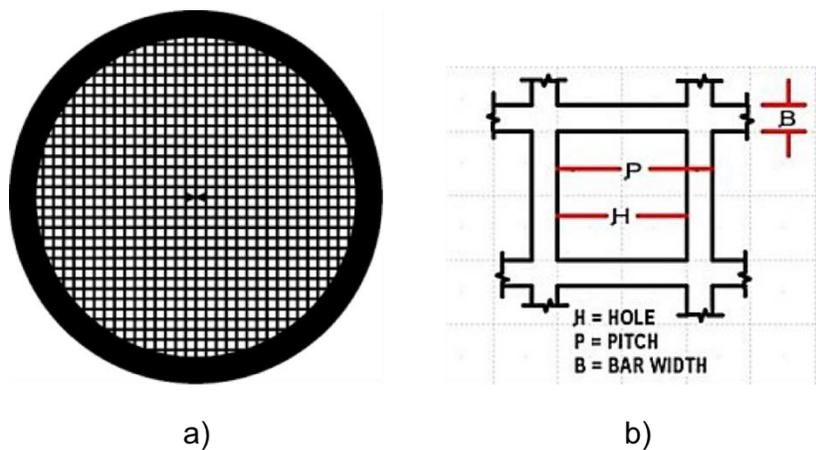


Figura 5.32. Rejilla de TEM de oro de 300 grid, a) rejilla, b) dimensiones

Una de las primeras imágenes se muestra en la Figura 5.33, en donde se aprecia de forma clara, la cuadrícula. Con una reflexión muy alta debido a que se trata de oro. Hasta se llega a una sobresaturación en el fotodiodo. Sin embargo, existen errores en la imagen, ya que en la parte superior se puede apreciar un fallo en el motor del eje Y, al repetir una secuencia. Mientras que en el motor X no hay falla, ya que realiza de forma correcta su respectivo recorrido.

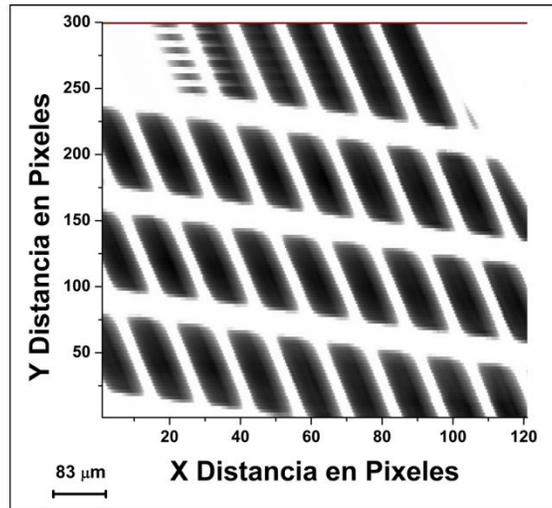


Figura 5.33. *Rejilla de TEM de oro. Imagen tomada a 1 micropaso*

Una vez corregido el problema del motor, se tomaron varias muestras con la intención de mejorar el enfoque como se muestra en la Figura 5.34. Además de mejorar la alineación de la muestra para obtener una cuadrícula más uniforme.

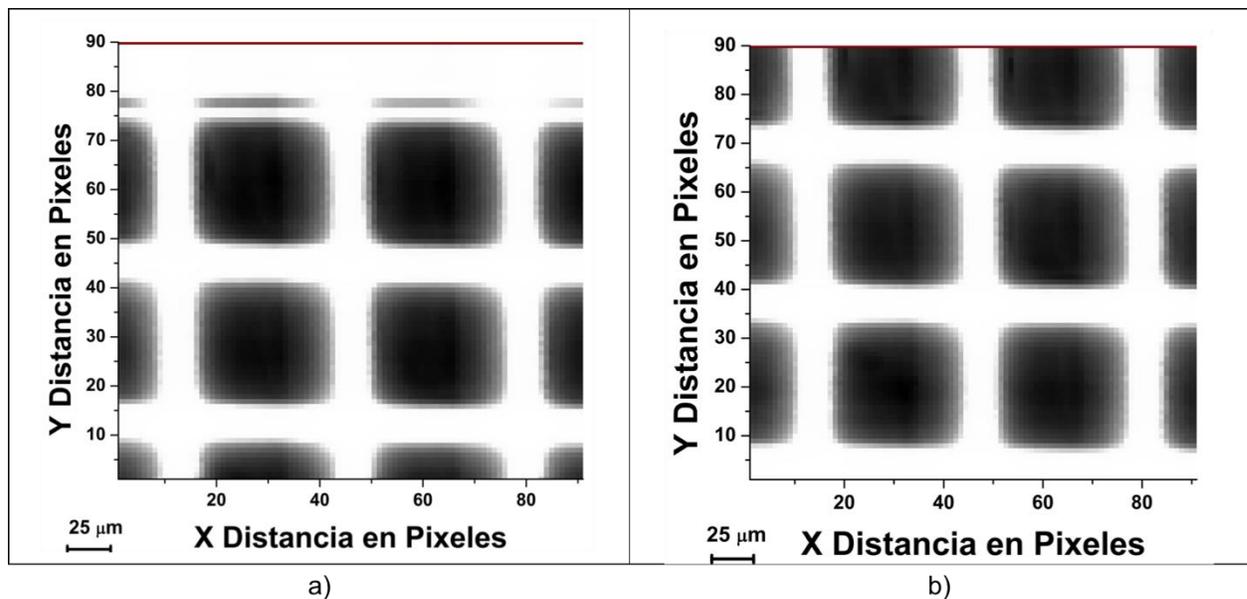
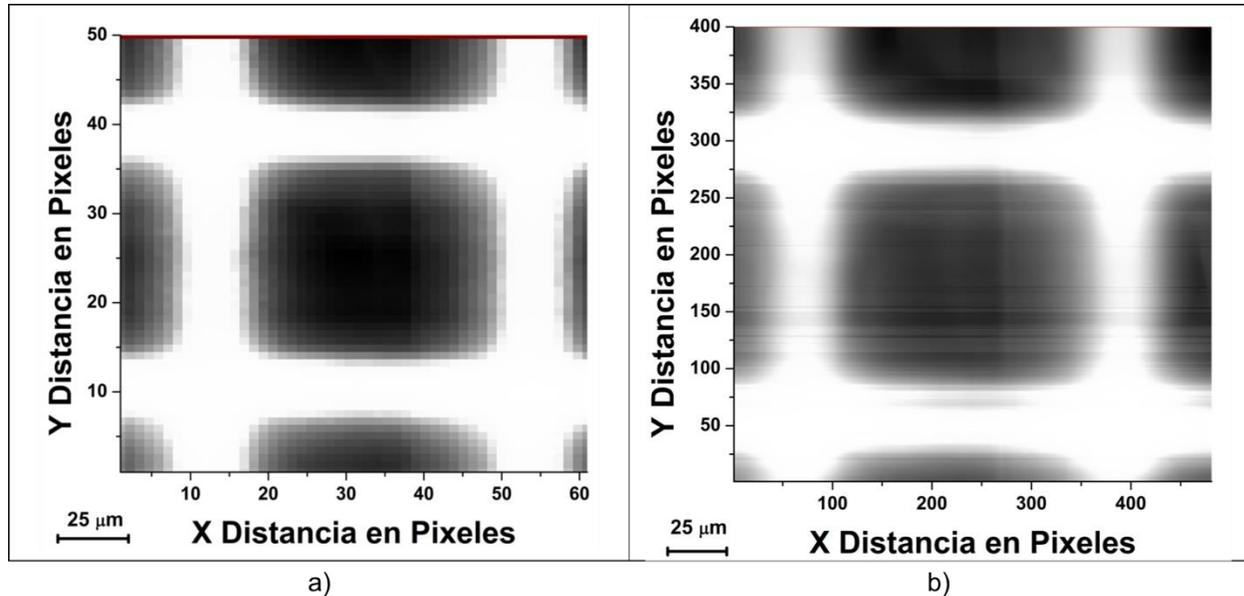


Figura 5.34. a) y b) con una variación de la distancia focal de  $10 \mu\text{m}$ . Imagen tomada a 1 micropaso en ambos casos

La variación del enfoque no es muy diferenciable, debido a que existía una alta intensidad en la reflexión lo cual impedía tener una mejor definición de la imagen. Sin embargo, el siguiente paso era aumentar el número de micropasos, como se muestra en la Figura 5.35.



*Figura 5.35. a) Imagen tomada a 1 micropaso. b) Imagen tomada a 4 micropasos.*

En este punto, era importante aumentar el número de micropasos, pero al mismo tiempo disminuir el área de análisis. Con el objetivo de no forzar demasiado a los motores para evitar errores, además porque el tiempo de barrido por muestra aumentaba. De esta manera, el máximo número de micropasos alcanzado fue de 8 como se muestra en la Figura 5.36, en donde se puede apreciar que no tiene caso aumentar el número de micropasos al obtener una buena definición de imagen.

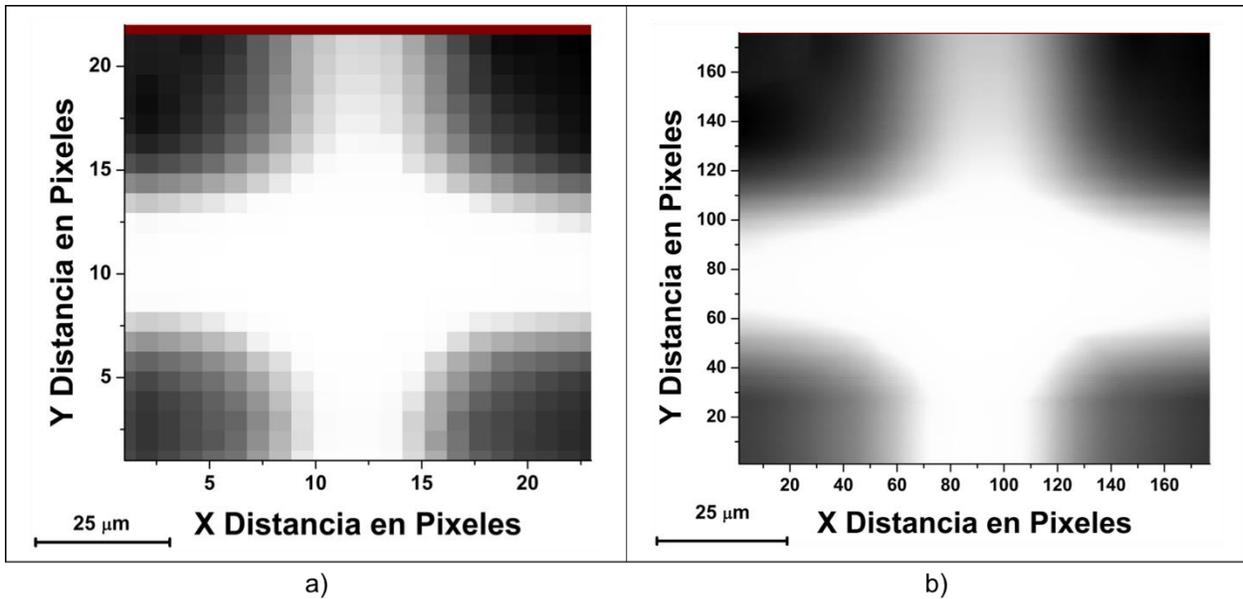


Figura 5.36. a) Imagen tomada a 1 micropaso. b) Imagen tomada a 8 micropasos

En las imágenes mostradas anteriormente, se puede apreciar una clara saturación en el fotodiodo, debido a la alta reflexión. Lo cual impide apreciar detalles de la superficie. Sin embargo, fueron unas de las primeras pruebas para comprobar el funcionamiento del Microscopio. Además de que era importante conocer el ancho de las barras de la rejilla de TEM de oro para adecuar el número de pasos a recorrer por parte de los motores. Tomando en cuenta que no era conveniente aumentar demasiado el número de micropasos para evitar errores.

### 5.3.1.2. Cobre

En este caso se utilizó una rejilla de TEM de cobre *G1000HS* (Ted Pella) que se muestra en la Figura 5.37, con las siguientes características:

- Metal: Cobre
- Ancho de barra o *Bar Width*:  $6 \mu m$
- Hueco o *Hole*:  $19 \mu m$
- Ancho de barra con hueco o *Pitch*:  $25 \mu m$
- Malla o *Mesh*:  $1000 \frac{\text{líneas}}{\text{inch}}$

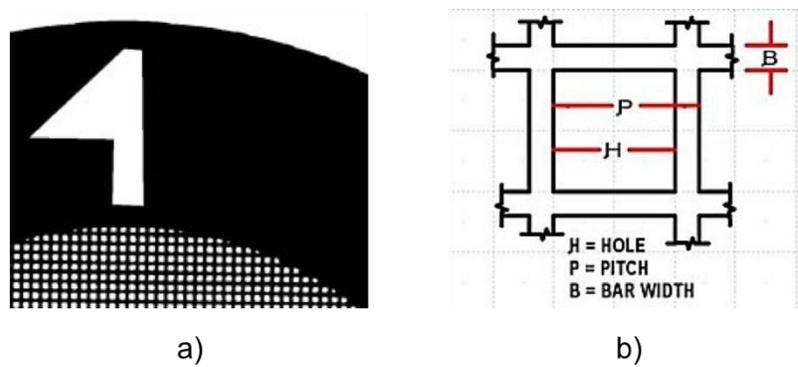


Figura 5.37. *Rejilla de TEM de cobre de 1000 grid, a) rejilla, b) dimensiones*

Las primeras imágenes se muestran en la Figura 5.38. En donde se aprecia la cuadrícula de la rejilla de TEM de cobre. Que en comparación con la de oro, no presenta una reflexión muy alta en la longitud de onda de  $405\text{ nm}$ , con la misma potencia óptica. Lo cual permite apreciar otro tipo de imagen sin llegar a la saturación del fotodiodo.

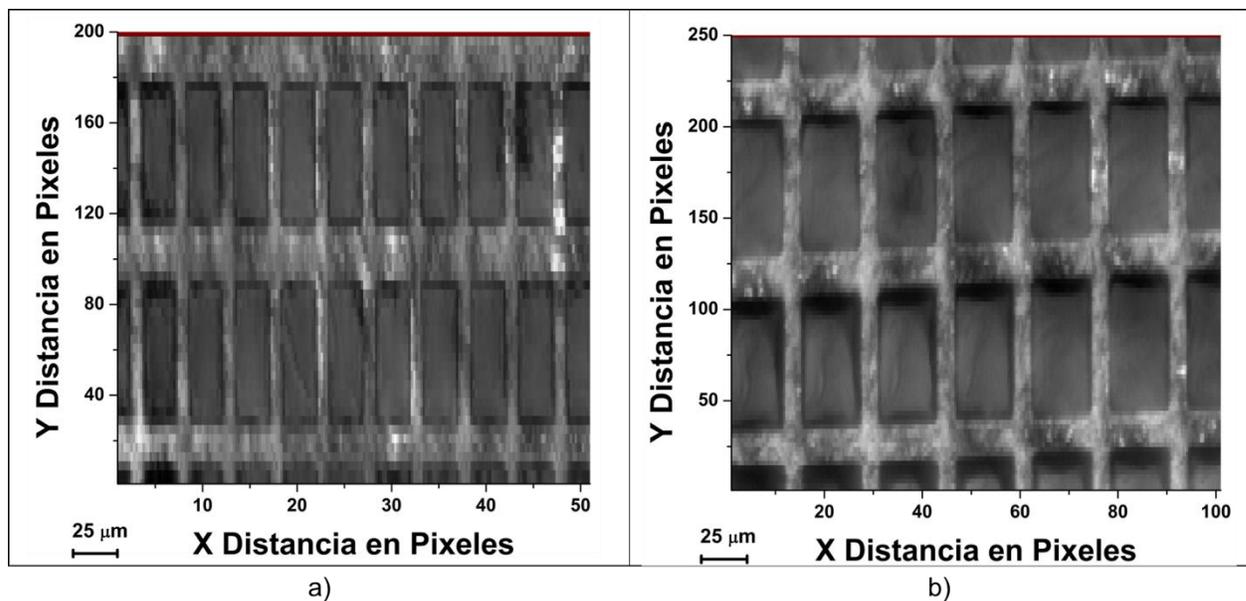
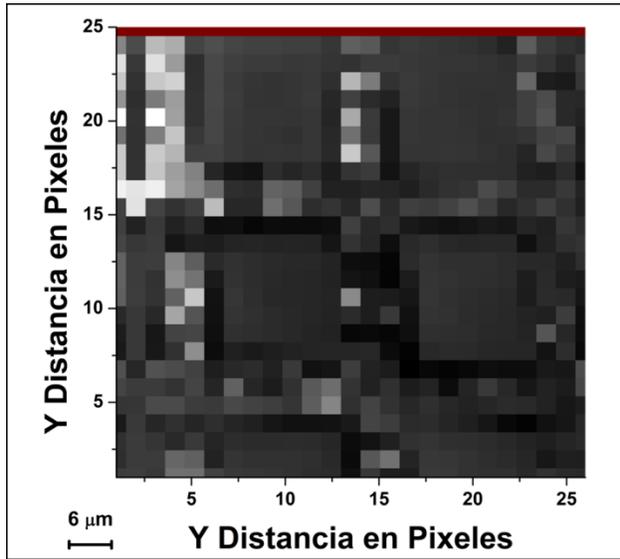
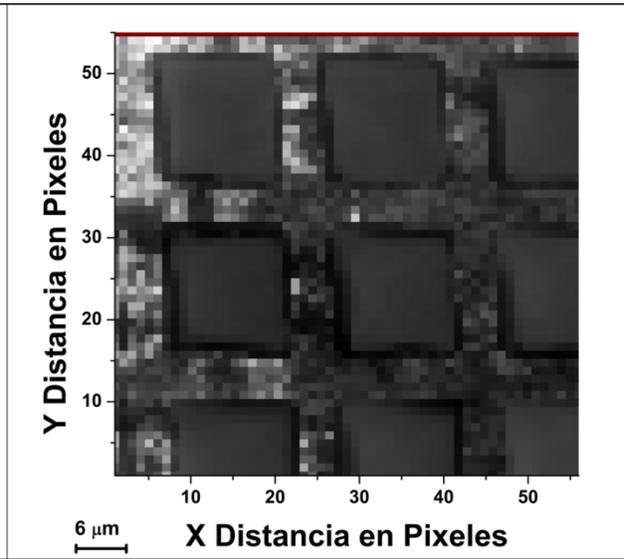


Figura 5.38. *Primeras imágenes de la Rejilla de TEM de cobre. a) Imagen tomada a 1 micropaso. b) Imagen tomada a dos micropasos*

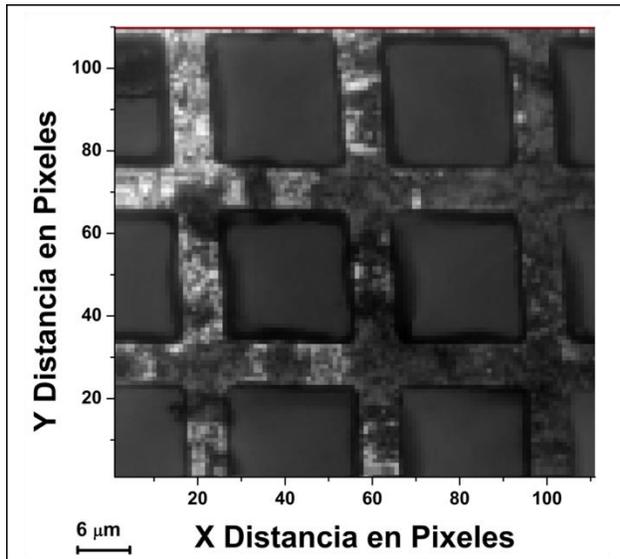
Las dimensiones de la rejilla de TEM de cobre son más pequeñas en comparación de la rejilla de oro, en donde se tenía un ancho de barra de  $25\ \mu\text{m}$  en comparación con  $6\ \mu\text{m}$  en la de cobre. Por lo cual se puede apreciar como mejora la resolución de la imagen al aumentar la resolución espacial al ir aumentando el número de micropasos como se muestra en la secuencia de imágenes de la Figura 5.39. En donde claramente se parte de una imagen con muy poca resolución, hasta obtener una imagen que permite apreciar detalles muy finos en la superficie del cobre.



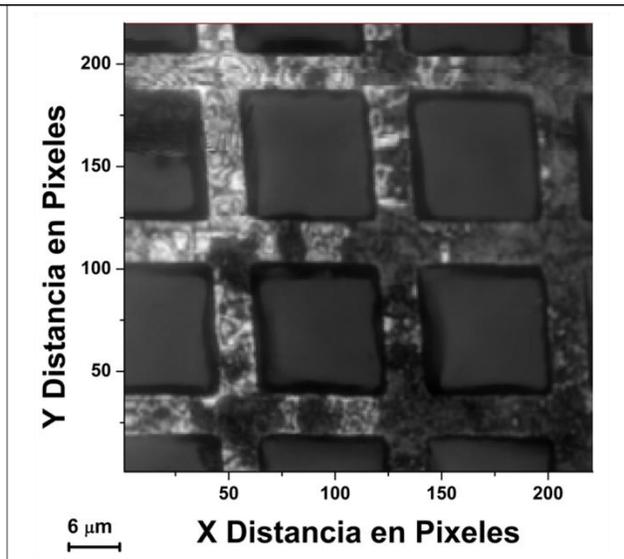
a)



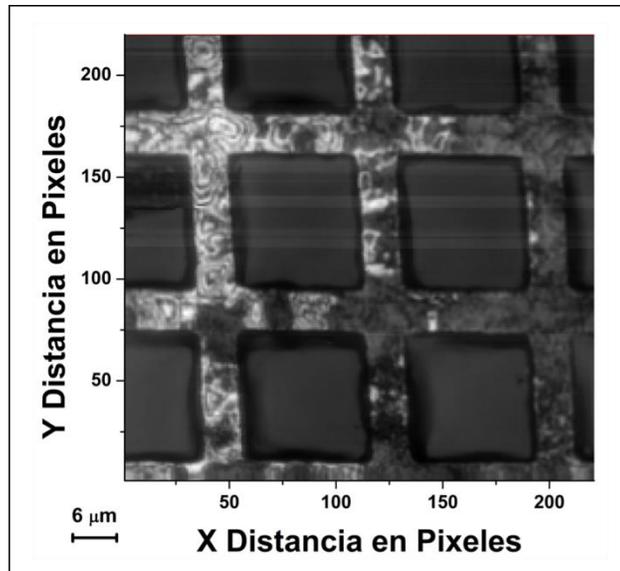
b)



c)



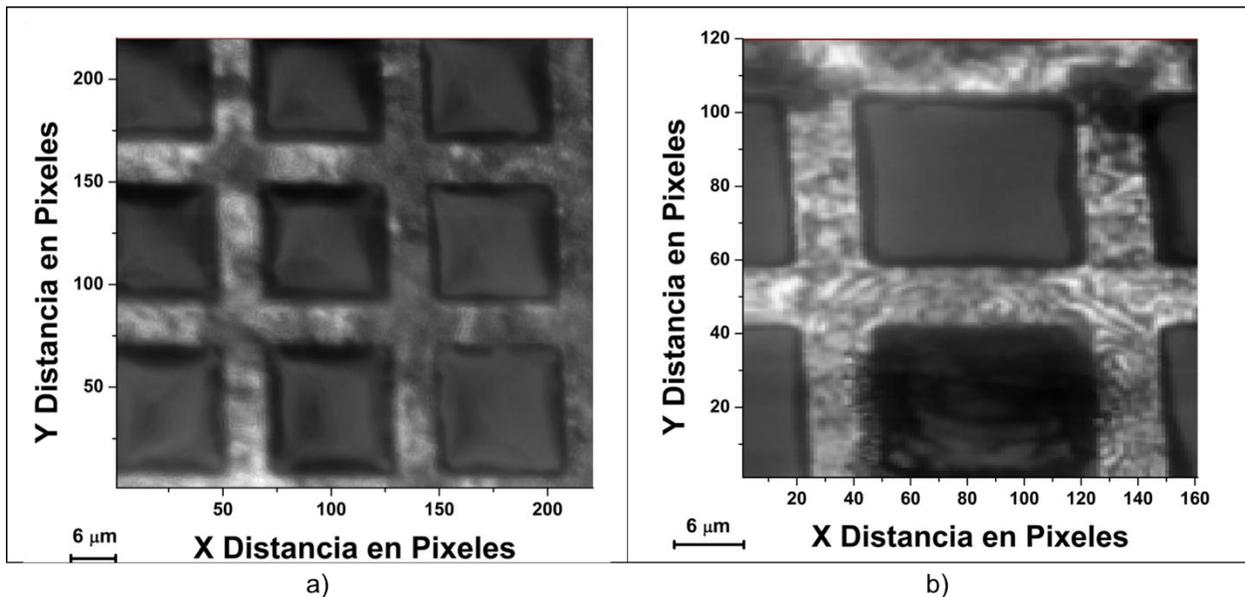
d)



e)

Figura 5.39. Secuencia de imágenes de la Rejilla de TEM de cobre. a) Imagen tomada a 1 micropaso. b) Imagen tomada a 2 micropasos. c) Imagen tomada a 4 micropasos. d) y e) Imágenes tomadas a 8 micropasos

En esta muestra, resultó complicado encontrar la distancia focal, ya que una variación de  $5 \mu\text{m}$  significaba una pérdida total del enfoque deseado, como se muestra en la Figura 5.40. Que, aunque se distinguían las líneas de cobre no se puede apreciar la superficie de forma nítida.

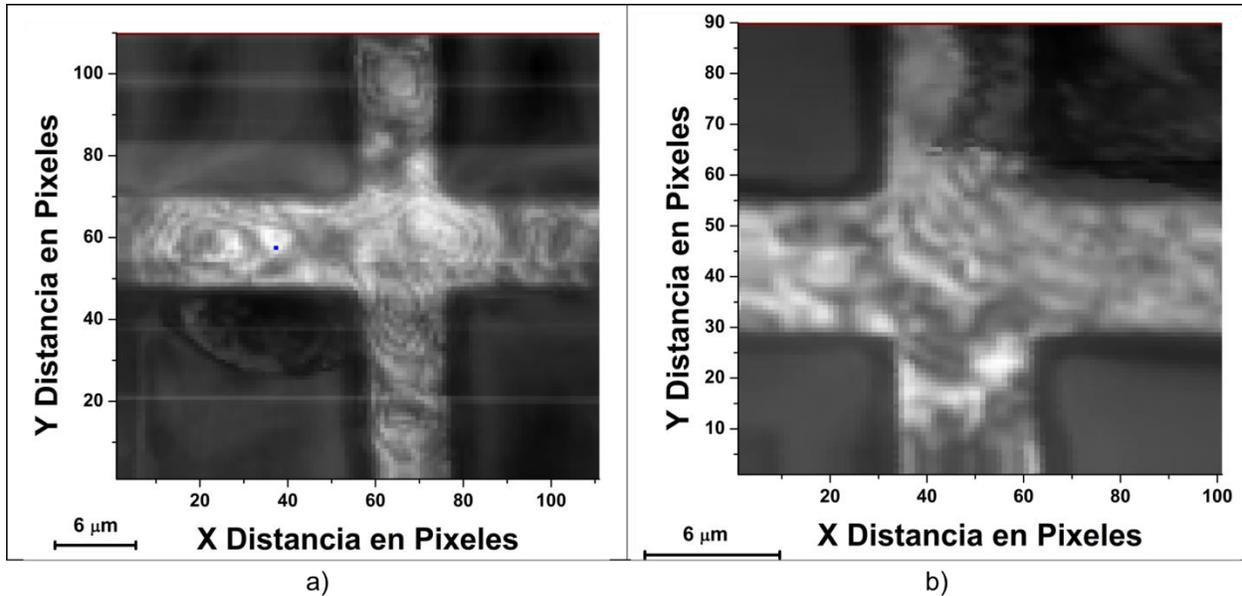


a)

b)

Figura 5.40. Variación de la distancia focal. a) y b) Imágenes tomadas a 8 micropasos

Para finalizar, se aumentó la cantidad de micropasos a 12 y 16, para apreciar la superficie del cobre, como se muestra en la Figura 5.41. En donde se puede observar una buena resolución óptica en ambos casos.



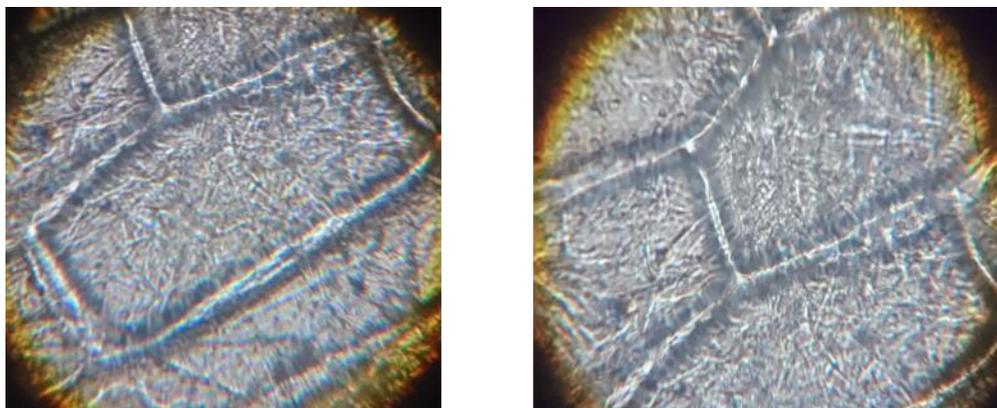
*Figura 5.41. a) Imagen tomada a 12 micropasos. b) Imagen tomada a 16 micropasos*

En las imágenes mostradas anteriormente, en comparación con la rejilla de TEM de oro, se alcanza a apreciar la superficie de la rejilla. Con ciertos patrones como pequeños anillos, junto con un buen contraste de imagen debido a que la reflexión en el cobre no es tan intensa como el oro.

Las pruebas en la rejilla de TEM de cobre, permitieron comprobar la capacidad del Microscopio en cuanto a resolución óptica, ya que el ancho de línea era de solo  $6 \mu m$  y se obtuvieron resultados satisfactorios, pero aun sin explotar por completo la capacidad del Microscopio. Sin embargo, eran una de las primeras pruebas, lo cual significa que aun existían errores comunes por parte de los motores que hacía más complicada la obtención de imágenes de este tipo.

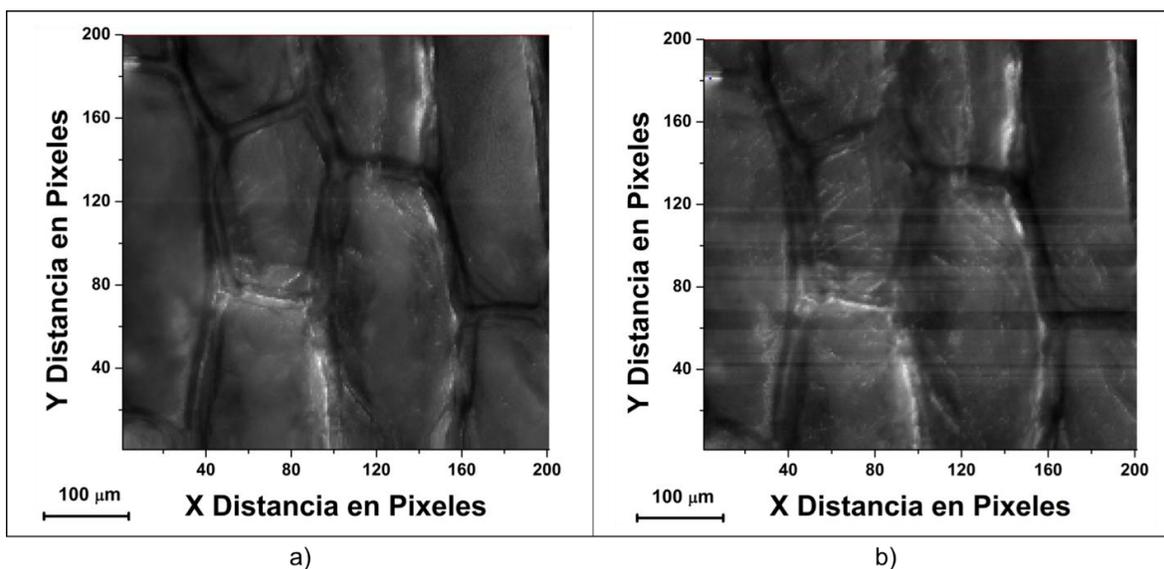
### **5.3.2. Tejido de Cebolla**

Es importante analizar muestras biológicas, ya que lo principal es poder apreciar células o tejido. En este caso se obtuvieron imágenes de las células del tejido epitelial de una cebolla. Como se muestra en la Figura 5.42, en donde se puede apreciar el tamaño y la forma de una célula de cebolla vista desde un microscopio convencional, en donde se aprecia claramente la pared celular.



*Figura 5.42. Células del tejido epitelial de una cebolla. Imagen tomada con un microscopio convencional*

Resultó un poco complicado obtener imágenes, ya que se necesitaba de recorridos amplios. Debido a que este tipo de células tienen un tamaño considerable en el orden de fracciones de milímetro. Sin embargo, se obtuvieron imágenes como se muestra en la Figura 5.43. En donde se aprecia a la célula con pequeñas zonas con mayor contraste cercanas a la pared celular, por efectos de altura.



*Figura 5.43. Células de cebolla. Imágenes tomadas a 1 micropaso*

Se debe mencionar que el tejido epitelial no le fue agregado alguna sustancia para darle mayor contraste, como generalmente se hace en microscopía convencional. Por otro lado, el mayor problema para esta muestra, fue encontrar una zona ideal en la distancia focal. Es decir, una zona libre de dobleces o cambios de relieve, como se muestra en la Figura 5.44. En donde se aprecia que una parte se encuentra en la distancia focal óptima, mientras que otra parte está fuera de foco.

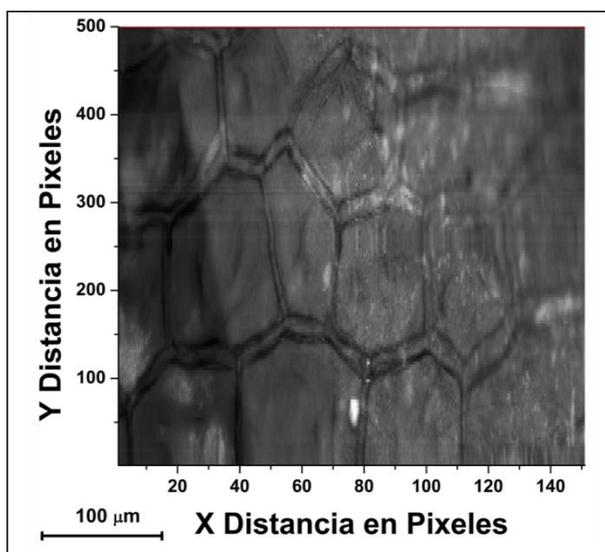


Figura 5.44. Células de cebolla. Imagen tomada a 1 micropaso

Para finalizar, se obtuvieron las imágenes mostradas en la Figura 5.45. En donde se puede apreciar una célula de mayor tamaño. Además de que la variación de la distancia focal no significaba un gran cambio, ya que la profundidad de la pared celular es muy amplia lo cual impedía obtener un buen contraste en las zonas dentro de la célula.

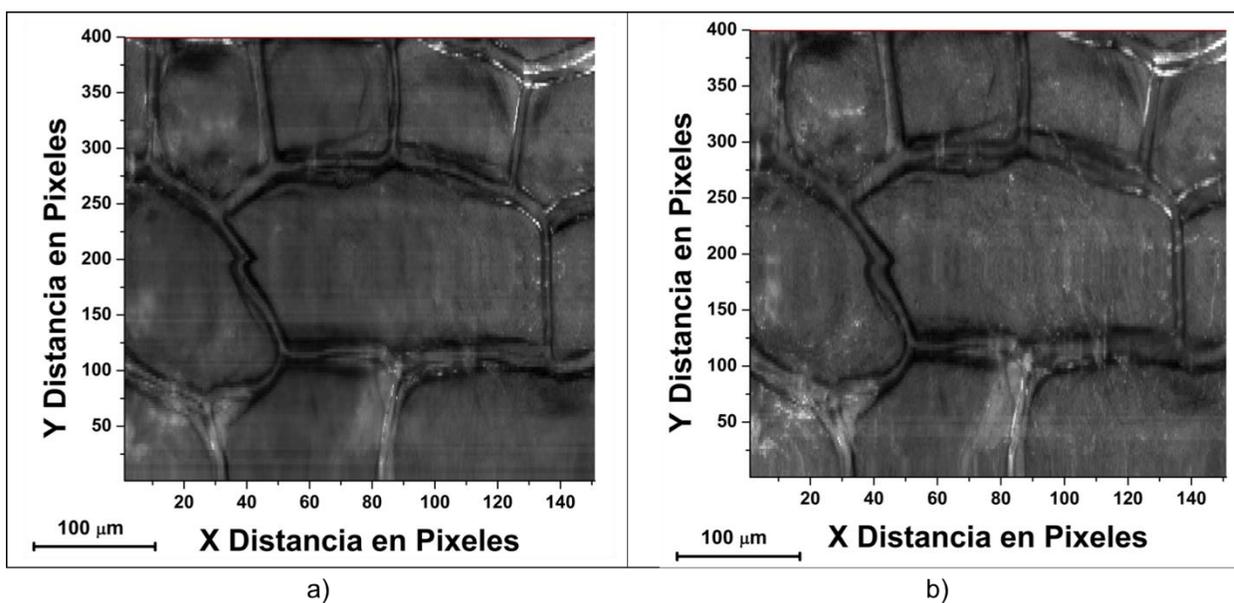


Figura 5.45. Células de cebolla, con una variación de la distancia focal de 15 micrometers. Imágenes tomadas a 1 micropaso

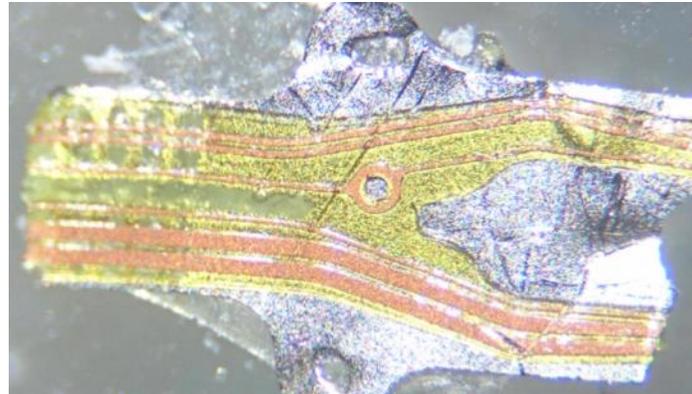
Se obtuvieron buenos resultados al poner una muestra biológica en el Microscopio. Lo cual era importante explorar, ya que no se sabía que tanta luz se podría reflejar en la longitud de onda de operación para que el software pudiera resolver la imagen resultante. Sin embargo, se lograron obtener imágenes con un buen contraste para poder diferenciar la pared celular.

Por otro lado, no se lograron apreciar los organelos celulares debido al alto relieve del tejido celular, lo cual se aprecia a través de una alta variación en el contraste o una alta variación del voltaje en el fotodiodo. Es por eso que no se llega a resolver de forma apropiada dentro de la pared celular. Además de que sería importante probar con algunos colorantes o cambiar de longitud de onda de operación para obtener mejores resultados.

### 5.3.3. Circuito

Se necesitaba tomar una muestra de algún circuito impreso a nivel comercial. Pero resultó complicado encontrar uno de dimensiones en decenas de micrómetros para que se pudiera apreciar bien sin hacer un recorrido muy grande.

Se tomó un pequeño circuito de las agujas de un disco duro convencional como se muestra en la Figura 5.46. Que representaba uno de los circuitos comerciales más pequeños, con dimensiones aproximadas de 30 – 40  $\mu m$  para la pista más delgada



*Figura 5.46. Circuito comercial. Imagen obtenida con un microscopio convencional*

En la Figura 5.47, se muestra un poco el detalle de las líneas de cobre. En donde se llegan a distinguir de forma clara, pero con el detalle del bajo contraste debido a la resina en el circuito.

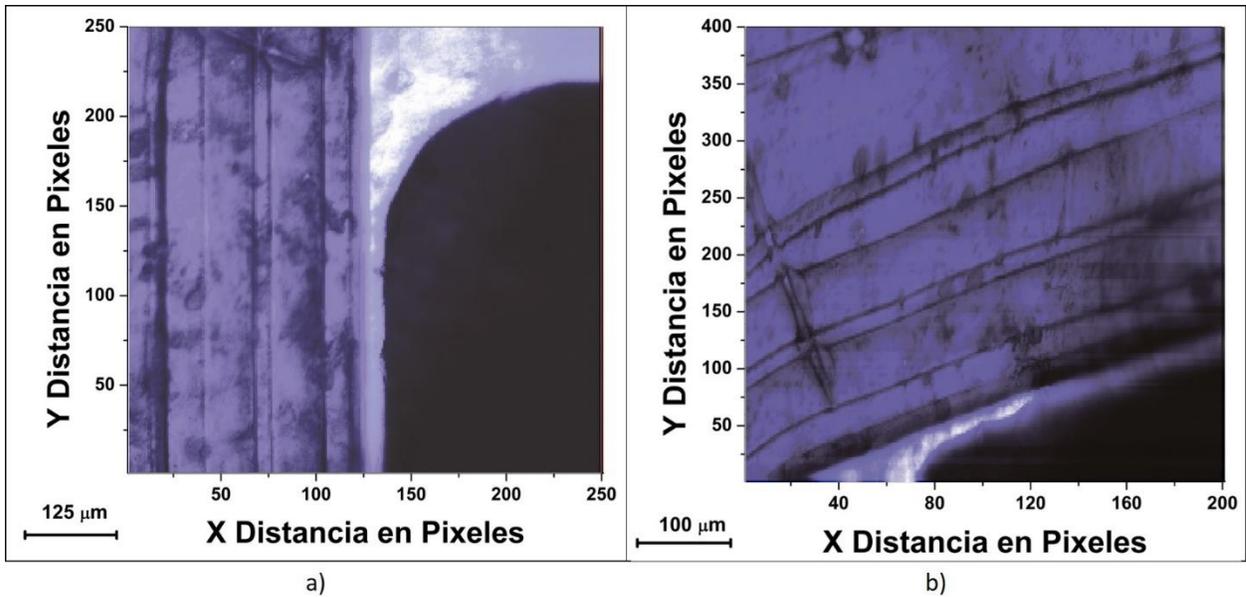
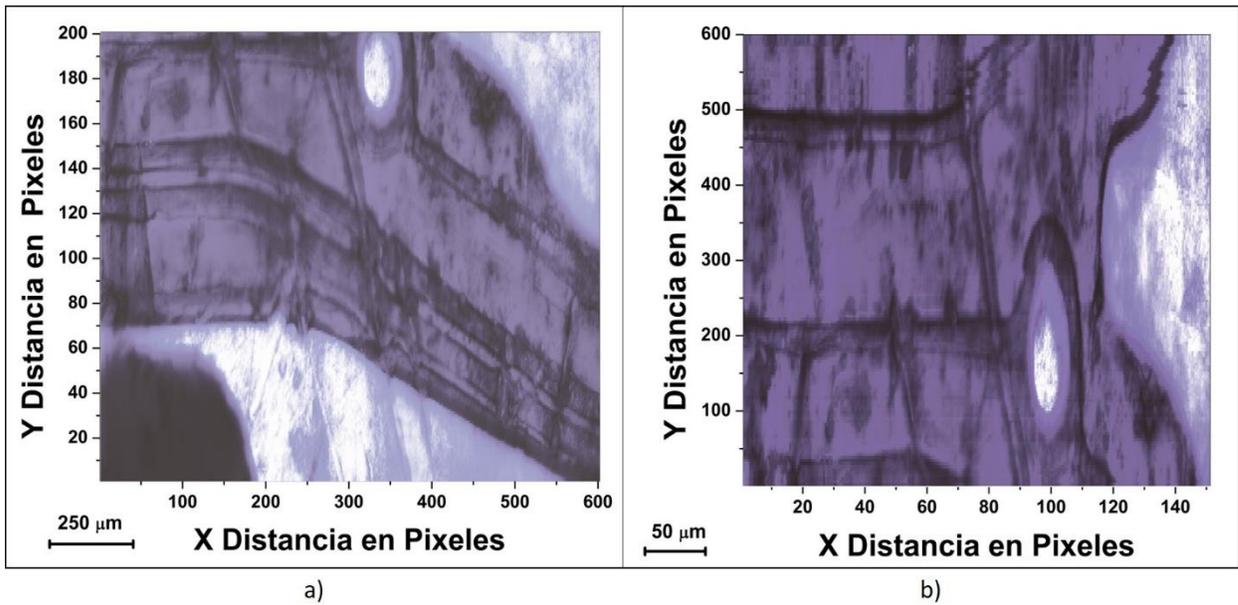
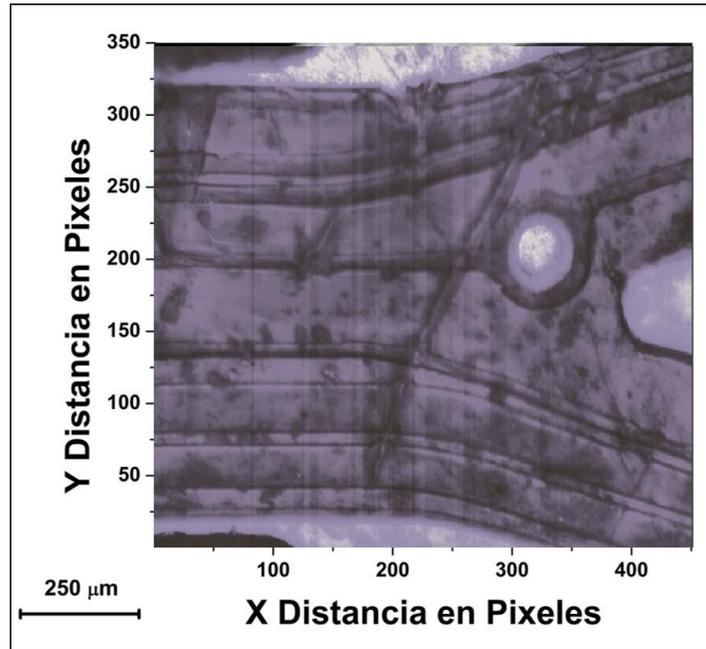


Figura 5.47. Circuito comercial Detalle en las líneas de cobre. Imágenes tomadas a 1 micropaso

Para finalizar, se muestra una secuencia de imágenes en la Figura 5.48. En donde aprecia de forma clara el detalle del pequeño círculo en el circuito, junto con las líneas de cobre. Pero en la última, se tiene una muy buena imagen en comparación a la obtenida con el microscopio convencional.





*Figura 5.48. Circuito comercial. Imágenes tomadas a 1 micropaso*

En el caso de obtener imágenes de algún circuito comercial, se lograron obtener resultados satisfactorios. Ya que se aprecian con claridad ciertos detalles del circuito impreso, como el pequeño orificio con un diámetro aproximado de  $100 \mu\text{m}$  o las líneas de cobre con un grosor aproximado de  $30 - 100 \mu\text{m}$ , aunque estuvieran recubiertas de algún material.

#### **5.3.4. Nanopartículas**

Uno de los principales objetivos de este Microscopio, era obtener imágenes con una resolución en el orden de fracciones de micrómetros. Lo cual resulta muy útil a las necesidades de proyectos a futuro. Así que resultó complicado encontrar muestras con dimensiones por debajo de  $1 \mu\text{m}$ . Ya que la muestra más pequeña hasta ahora era la plantilla de calibración con  $2.19 \mu\text{m}$ , la cual se apreció de forma clara.

Para conocer mejor la resolución del equipo y probar si era capaz de observar muestras por debajo de una micra se utilizaron nanopartículas de plata. Con dimensiones en fracciones de micrómetros, que eran ideales para obtener imágenes. En la Figura 5.49, se muestran a las nanopartículas de plata.

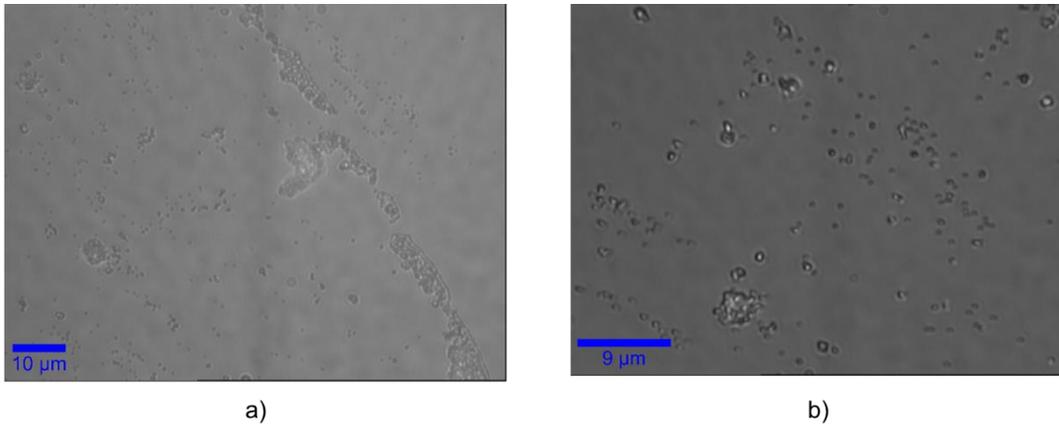
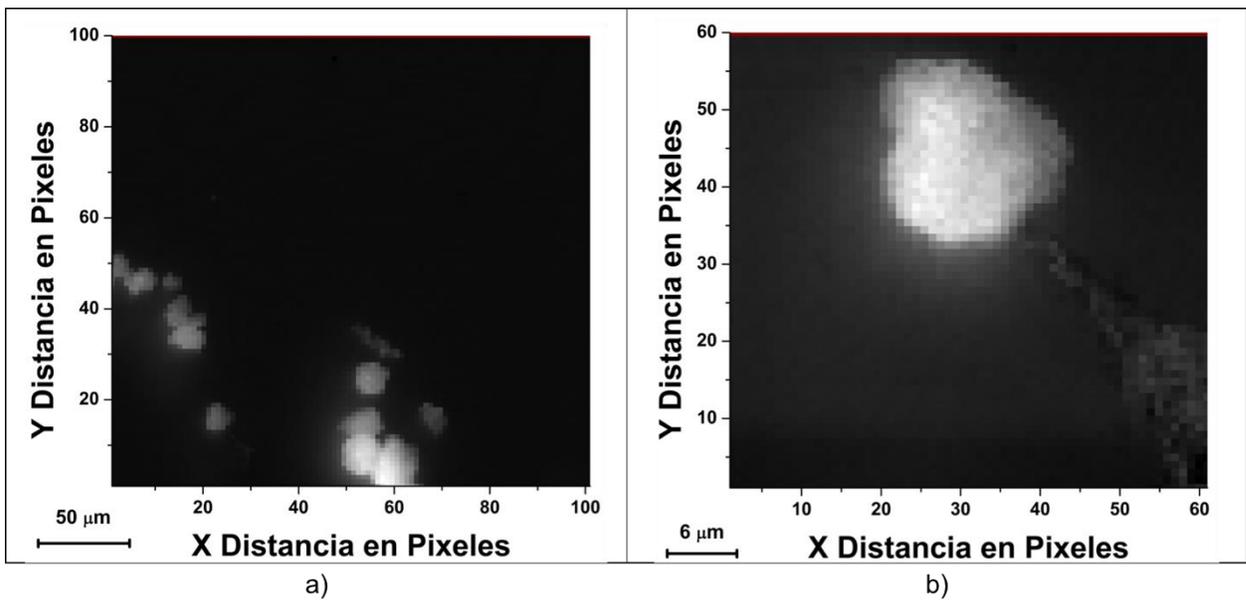
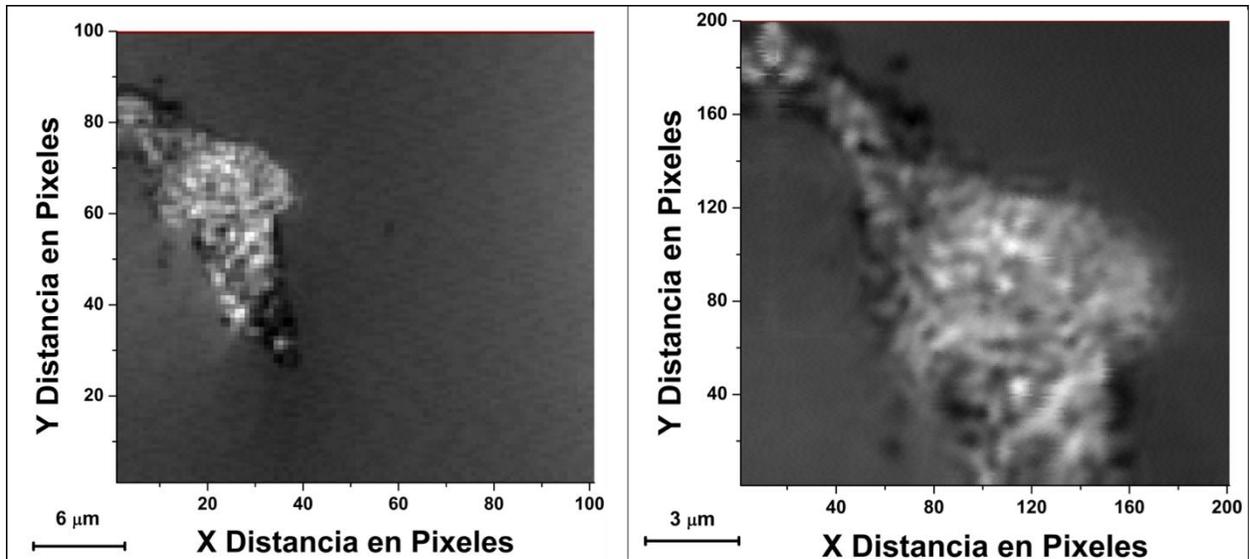


Figura 5.49. Nanopartículas de Plata, imágenes tomadas con un microscopio convencional. a) Con objetivo de 50 X. b) con objetivo de 100 X

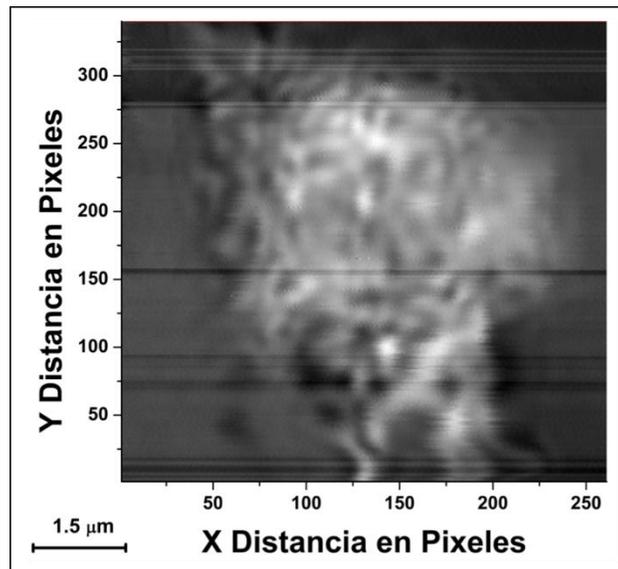
La secuencia de imágenes se muestra en la Figura 5.50. Con un aumento de micropasos hasta la máxima resolución disponible.





c)

d)



e)

*Figura 5.50. Nanopartículas de plata. a) Imagen tomada con 1 micropaso. b) Imagen tomada con 4 micropasos. c) Imagen tomada con 8 micropasos. d) Imagen tomada con 32 micropasos. e) Imagen tomada con 64 micropasos*

En la última imagen se alcanzan a distinguir ciertas nanopartículas con dimensiones aproximadas a  $600\text{ nm}$ . En el caso de esta muestra resultó muy complicado ubicar las nanopartículas, ya que generalmente no se encuentran de forma individual. Sin embargo, se logró ubicar una zona en la que se pudieron distinguir.

### 5.3.5. Monocristal de *NaCl* Dopado con Plata

Se trata de un cristal con nanopartículas en su interior. Lo cual dificultó la toma de imágenes, ya que presentaba poco contraste y los resultados no fueron los esperados. Sin embargo, se tomaron las imágenes mostradas en la Figura 5.51.

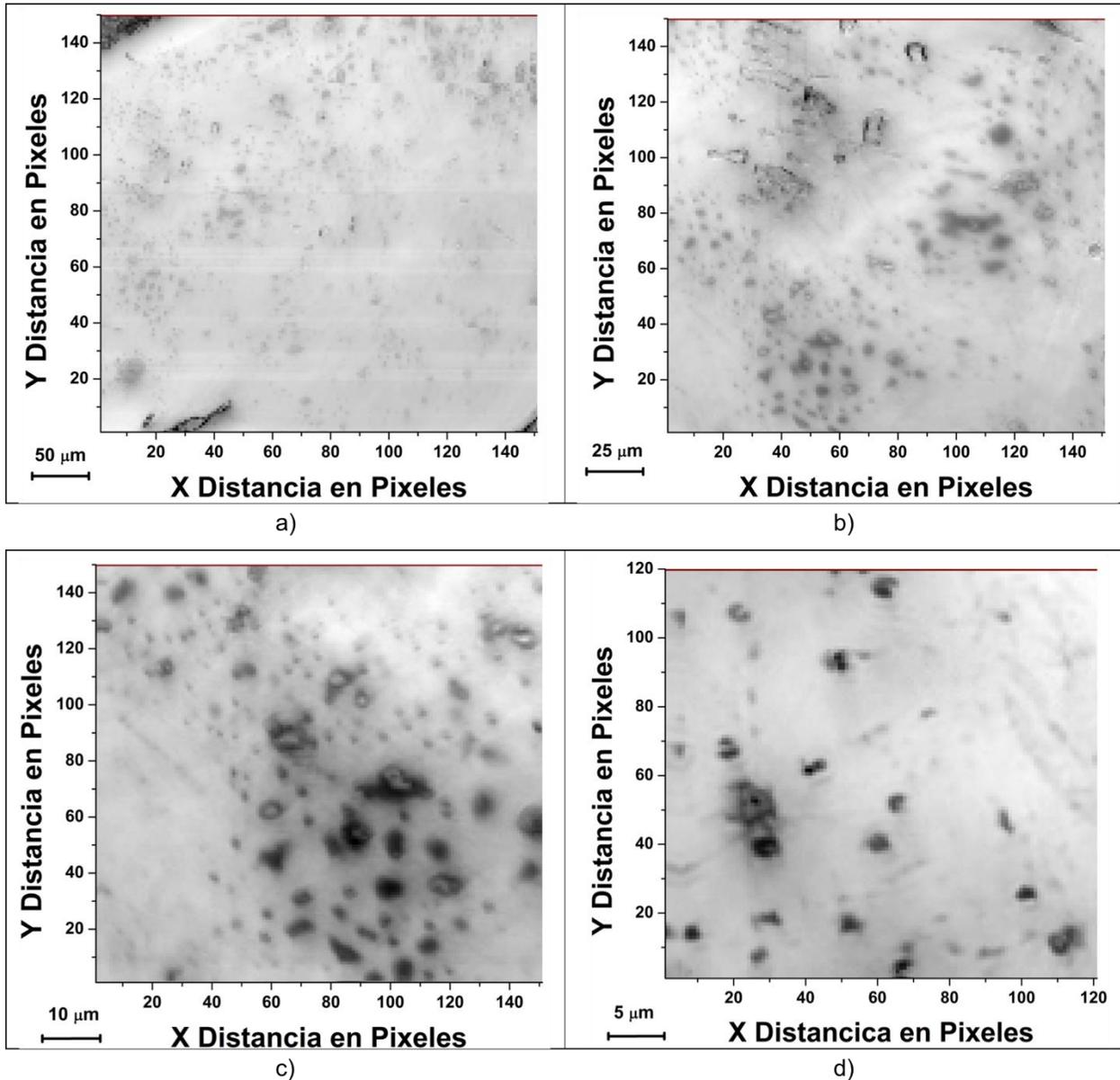
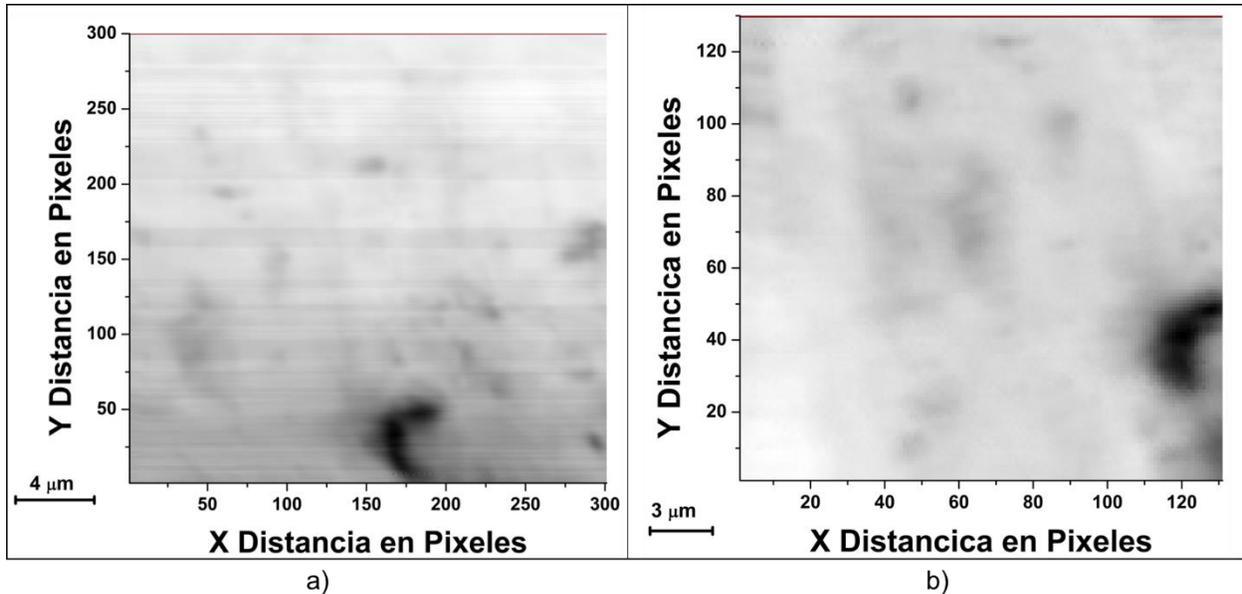


Figura 5.51. Cristal. a) Imagen tomada a 1 micropasos. b) Imagen tomada a 2 micropasos. c) Imagen tomada a 4 micropasos. d) Imagen tomada a 8 micropasos

Como se aprecia en las imágenes anteriores, se alcanzan a distinguir ciertas nanopartículas o cúmulos de ellas. Pero el contraste era muy bajo, lo cual al aumentar la resolución espacial no se distinguía, ya que la variación de voltaje era menor a  $0.5 V$ . Y generaba bastante ruido, el cual se puede apreciar de forma más clara en la Figura 5.52.



*Figura 5.52. Cristal. a) Imagen tomada a 16 micropasos. b) Imagen tomada a 32 micropasos*

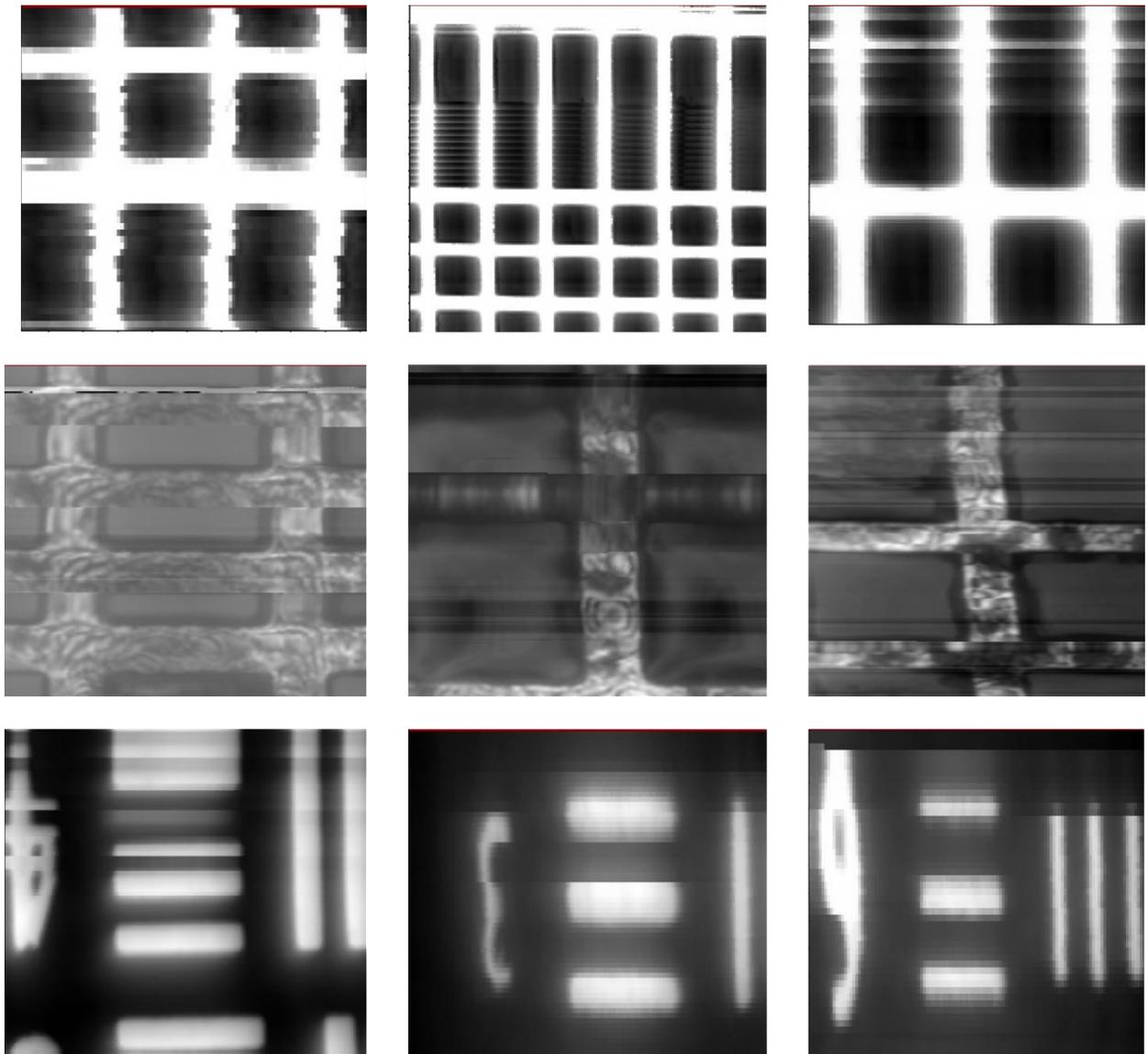
Esta muestra se trataba de un cristal transparente, el cual absorbía casi toda la luz incidente y es por eso que la reflexión captada en el fotodiodo era casi mínima, alrededor de una variación de voltaje de  $0.5 - 0.2 V$ . Lo cual impedía obtener imágenes con un buen contraste. Sin embargo, se llegan a apreciar ciertas nanopartículas como en la imagen 5.52 b), pero sin el contraste deseado.

#### **5.4. Problemas y Errores**

Todas las imágenes mostradas fueron tomadas repetidas veces. Principalmente debido al ajuste de la distancia focal. Pero también debido a la aparición de errores por problemas en los motores.

Estos errores son debido al diseño general del microscopio, ya que no existe un buen acoplamiento motor – platina, lo cual permite que el esfuerzo del motor no se vea reflejado en pasos del mismo. Sin embargo, se alcanzó a sobrellevar dichos problemas hasta tener buenas imágenes. Pero hubo casos en donde dichos errores tomaban mucho tiempo ya que se perdía por completo la zona de análisis y volver a retomarla resultaba casi imposible en algunos casos.

Dichos errores se muestran en la Figura 5.53, donde se observan las imágenes cortadas o saltos. En algunos casos se tenía una imagen diagonal, debido a que un motor daba más pasos de los debidos.



*Figura 5.53. Errores en las imágenes*

## Conclusiones

El Microscopio de Barrido por Luz desarrollado, demostró tener una resolución experimental de  $56.1 \text{ nm}$ . La cual es muy cercana al valor teórico aproximado de  $40 \text{ nm}$ . Además de que se mostraron varios resultados con muestras de diversa naturaleza.

La razón por la que se obtuvo una resolución por debajo del límite de difracción es debido a que este Microscopio utiliza en conjunto la resolución óptica dada por los componentes ópticos utilizados y la resolución espacial de los micropasos de los motores. Entonces el software es el encargado de discriminar la variación de voltaje del fotodiodo, el cual se refleja en la construcción de una imagen. Esto se puede apreciar claramente en la sección 5.2, en donde se determina la máxima resolución alcanzada.

En cuanto a los resultados de forma individual se puede concluir:

- **Rejilla de TEM de oro y cobre.** Estas muestras fueron los primeros resultados obtenidos, en donde se aplicaron correcciones importantes en la parte del software y acoplamiento de los motores. Por lo cual no se lograron buenas imágenes en el caso del oro, debido a la alta reflexión en el oro para la longitud de onda de operación, la cual no permitió tener una imagen con buen contraste. Mientras que para el cobre paso lo contrario, ya que la reflexión era óptima y permitía apreciar buenos detalles en la superficie de la rejilla, los cuales no se distinguen con un microscopio convencional.
- **Tejido de cebolla.** Era importante obtener resultados con una muestra orgánica, ya que este tipo de microscopia no es invasiva. La desventaja es que la muestra debe estar estática durante el tiempo de análisis, que suele ser entre 45 – 70 minutos. Entonces no es posible analizar células vivas con este Microscopio. Sin embargo, con los resultados obtenidos se puede apreciar de forma clara el tejido epitelial de la cebolla con la finalidad de mejorar se podría agregar algún colorante a la muestra o cambiar la longitud de onda de operación.
- **Circuito.** Fue complicado encontrar un circuito impreso con dimensiones en el orden de decenas de micrómetros, ya que las pistas de los circuitos de la mayoría de los componentes electrónicos se pueden apreciar a simple vista. Entonces se obtuvo el circuito de un disco duro convencional que se apreció de forma clara además de dimensionar el ancho de las pistas.
- **Nanopartículas de plata.** El análisis de esta muestra fue para poder apreciar nanopartículas de plata con dimensiones cercanas a los  $600 \text{ nm}$ . De esta manera se obtuvieron buenas imágenes en donde se alcanza a apreciar a las nanopartículas.
- **Monocristal de  $\text{NaCl}$  dopado con plata.** En este tipo de muestra no se obtuvieron buenos resultados, ya que el cristal presentaba una muy baja reflexión en la longitud de onda de operación, es decir, absorbía casi toda la luz. Entonces el resultado de la detección en el fotodiodo representaba una variación menor a  $1 \text{ V}$ ,

el cual representaba un contraste muy bajo en la imagen resultante junto con ruido y eso no permitía obtener una imagen clara.

Los resultados obtenidos, sobrepasaron las expectativas esperadas al inicio de este trabajo. Ya que se alcanzó a explotar el máximo rendimiento en cuanto a la motorización de las platinas y obtener una resolución en el orden de decenas de nanómetros. La cual representa una buena resolución ya que es un equipo totalmente funcional.

Los principales problemas o errores de este Microscopio se debieron al sistema mecánico. Debido a la parte del acoplamiento motor – platina no era la ideal. Por lo tanto, el motor no era capaz de realizar dicho esfuerzo y dejaba de dar pasos o aparecían saltos los cuales se detectaban en la imagen resultante.

El Microscopio de Barrido por Luz tiene un margen de mejora muy amplio, en donde se pueden corregir las siguientes partes:

- Mejorar la parte óptica cambiando el objetivo de microscopio por uno de mayor apertura numérica.
- Disminuir la longitud de onda de operación, ya que se puede obtener una mejor resolución óptica. Además de tener una fuente luminosa de mayor calidad en cuanto a que este bien colimada.
- Ajustar la alineación del sistema, ya que en la mayoría de las imágenes se aprecia un poco de sombra o cierta inclinación. Esto se debe a que el sistema no estaba perfectamente alineado y existía cierta inclinación en la fuente luminosa. Esto se puede solucionar utilizando fibra óptica para guiar mejor la luz y disminuir la inclinación existente.
- Cambiar el sistema mecánico. Se lograron tener buenos resultados con el sistema mecánico actual, pero realizaba lecturas con errores y lentas. Ya que, si existía un error, se tenía que repetir el análisis de la muestra. Es por eso que es primordial cambiar los motores de micropasos por una platina piezoeléctrica o motores de mejor calidad para tener una mejor resolución espacial en el orden de nanómetros y evitar la aparición de errores.
- Optimizar el tiempo de análisis mejorando el software, junto con el tiempo de respuesta de los dispositivos. Ya que en el sistema actual se tomaba un tiempo considerable.
- El ajuste en la distancia focal debe ser de mayor precisión, ya que el micrómetro actual tiene una resolución de  $10 \mu m$  o adicional se podría utilizar un motor en el eje Z para tener una variación uniforme en el eje Z.

La mayor contribución de este trabajo es poder alcanzar una resolución por debajo del límite de difracción con un costo muy bajo en comparación de equipos comerciales. Además de que ofrece un tipo de microscopia diferente a la convencional en donde se puede obtener un análisis de resultados más completo en cuanto a composición de la muestra.

# Apéndices

## Apéndice A. Componentes Ópticos

### Diodo Láser. DL -5146-101S

# BLUE - VIOLET LASER DIODE DL-5146-101S

**SANYO**

Ver.2 May. 2008

#### Features

- Wavelength : 405nm(Typ.)
- Output power : 40mW
- Threshold current : I<sub>th</sub>=35mA(Typ.)
- Package :  $\phi$  5.6mm with PD

#### Applications

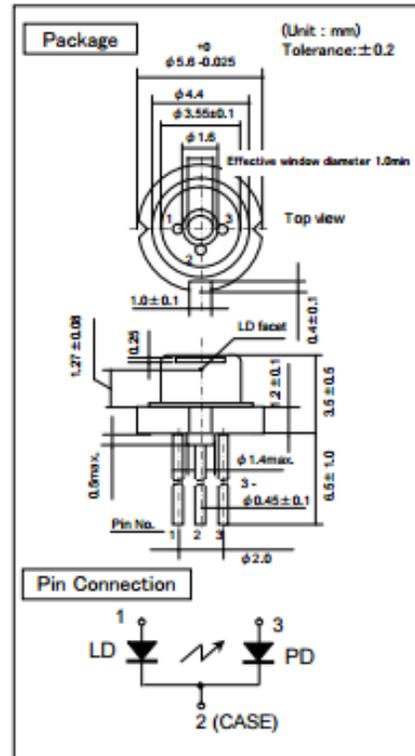
- Laser module
- Industrial Use

#### Absolute Maximum Ratings

(T<sub>c</sub>=25°C)

Parameter	Symbol	Ratings	Unit
Light Output	P <sub>o</sub> (CW)	45	mW
Reverse Voltage (LD)	V <sub>R</sub>	2	V
Operating Temperature <sup>1)</sup>	T <sub>opr</sub>	0 to +75	°C
Storage Temperature <sup>1)</sup>	T <sub>stg</sub>	-40 to +85	°C

1) Case temperature.



#### Electrical and Optical Characteristics <sup>2) 3) 4) 5)</sup>

(T<sub>c</sub>=25°C)

Parameter	Symbol	Condition	Min.	Typ.	Max.	Unit	
Threshold Current	I <sub>th</sub>	CW	-	35	55	mA	
Operating Current	I <sub>op</sub>	P <sub>o</sub> =40mW	-	70	100	mA	
Operating Voltage	V <sub>op</sub>	P <sub>o</sub> =40mW	-	5.2	5.7	V	
Lasing Wavelength	L <sub>p</sub>	P <sub>o</sub> =40mW	395	405	415	nm	
Beam <sup>6)</sup> Divergence	Perpendicular	Q <sub>v</sub>	P <sub>o</sub> =40mW	16	19	23	°
	Parallel	Q <sub>h</sub>	P <sub>o</sub> =40mW	6	8	12	°
Off Axis Angle	Perpendicular	dQ <sub>v</sub>	P <sub>o</sub> =40mW	-3	-	3	°
	Parallel	dQ <sub>h</sub>	P <sub>o</sub> =40mW	-3	-	3	°
Differential Efficiency	SE	P <sub>o</sub> =40mW	0.8	1.2	-	mW/mA	
Monitoring Output Current	I <sub>m</sub>	P <sub>o</sub> =40mW	0.1	0.3	1.0	mA	

2) Initial Values. 3) All the above values are evaluated with Tottori sanyo's measuring apparatus.

4) It makes a typical value a Reference Value. 5) Measurement condition : CW. 6) Full angle at half maximum.

## Objetivo

### 100X Nikon Achromatic Finite Conjugate Objective



Stock No. #59-938

**\$230.00**

1 - 5 for \$230.00 each.  
6 or more for \$205.00.

## Specifications

Type	Achromatic, Spring Loaded Head
Magnification	100X
Numerical Aperture NA	1.25
Working Distance (mm)	0.14
Effective Focal Length EFL (mm)	0.14
Resolving Power ( $\mu\text{m}$ )	0.2
Depth of Focus ( $\mu\text{m}$ )	0.2
Field of View (mm)	0.18
Mounting Threads	RMS
Manufacturer	Nikon
RoHS	N

## Fotodiodo. FDS100



### Description

The Thorlabs FDS100 photodiode is ideal for measuring both pulsed and CW fiber light sources, by converting the optical power to an electrical current. The detector is housed in a TO-5 package with an anode, cathode, and case connection. The photodiode anode produces a current, which is a function of the incident light power and the wavelength. The responsivity  $\mathfrak{R}(\lambda)$ , can be read from the responsivity graph to estimate the amount of photocurrent to expect. This can be converted to a voltage by placing a load resistor ( $R_L$ ) from the photodiode anode to the circuit ground. The output voltage is derived as:

$$V_o = P \times \mathfrak{R}(\lambda) \times R_L$$

The bandwidth,  $f_{BW}$ , and the rise time response,  $t_r$ , are determined from the diode capacitance,  $C_j$ , and the load resistance,  $R_L$ , as shown below. Placing a bias voltage from the photo diode cathode to the circuit ground can lower the photo diode capacitance.

$$f_{BW} = \frac{1}{2\pi(R_L)C_j}, t_r = \frac{0.35}{f_{BW}}$$

### Specifications

FDS100	
Wavelength Range	350 - 1100 nm
Active Area	3.6 mm x 3.6 mm (13 mm <sup>2</sup> )
Rise/Fall Time (RL=50 $\Omega$ , 20 V)	10 ns
Bandwidth (RL=50 $\Omega$ , -3 dB, 20 V)	35 MHz
NEP (900 nm, 20 V)	1.2 x 10 <sup>-14</sup> W/Hz <sup>1/2</sup>
Dark Current, Max (20 V)	20 nA
Capacitance, Typical	40 pF @ 10 V
Package	TO-5, 0.36" can
Sensor Material	Si PIN
<b>Max Ratings</b>	
Damage Threshold, CW	n/a
Damage Threshold, 10 ns Pulse	n/a
Max Bias (Reverse) Voltage	25 V
Operating Temperature	-40 to 100 °C
Storage Temperature	-55 to 125 °C
Reverse Current	5 mA



# Motor de pasos

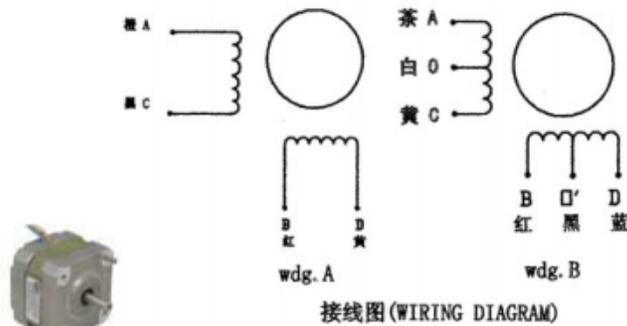
## Step Motors

Data Sheet

6/13/2008

Step Angle-----1.8° ±5%  
 Insulation Resistant-----500V DC 100MΩ Min  
 Insulation Strength-----50Hz 1Minute 500V Min  
 Ambient Temperature ----- -20 ~ +50 Degree C  
 Temperature Rise-----80 Degree C Maximum  
 Radial Play-----0.02 mm Maximum  
 End Play-----0.1-0.3 mm

Model	No. of Phase	Voltage (VDC)	Current (A)	Resistance (Ω)	Inductance (mH)	Holding Torque (g.cm)	Moment of inertia (g.cm <sup>2</sup> )	Weight (Kg)	Wiring Diagram	Size	
										L0 (mm)	L1 (mm)
42BYG014	4	8.5	0.45	19	13	1300	20	0.2	WDG.B	33.5	5
42BYG016	4	12	0.16	70	44	950	20	0.2	WDG.B	33.5	17
42BYG017	2	6.3	0.42	15	16	1400	20	0.22	WDG.A	34	13
42BYG023	2	12	0.4	28.5	32	2000	20	0.22	WDG.A	33	5
42BYG205	4	9.5	0.16	75	65	1320	20	0.22	WDG.B	36	5
42BYG228	4	12	0.4	30	22	2000	20	0.22	WDG.B	38	5
42BYG022	2	9.6	0.24	100	46	1100	20	0.2	WDG.A	33	5



## Apéndice B

### Plantilla de Calibración

1653 East Main Street Rochester, NY 14609 USA Voice: 585.482.0300 FAX: 585.288.5989 imaging@appliedimage.com	T-20 USAF 1951 Chart Standard Layout Product Specifications	APPLIED® IMAGE Inc 
--	--	--

Catalog Part No: (grouped by substrate material)

T-20-N-CG / T-20-P-CG / T-20-2-N-CG

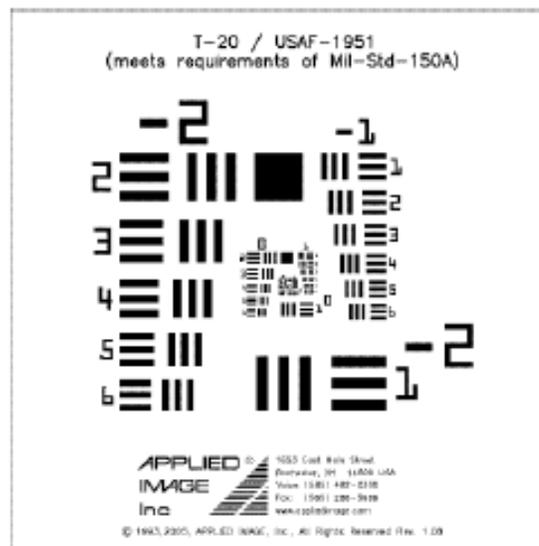
T-20-N-OP / T-20-P-OP / T-20-2-N-OP

T-20-N-TM / T-20-P-TM

T-20-N-RM / T-20-P-RM / T-20-M-P-RM / T-20-L-P-RM

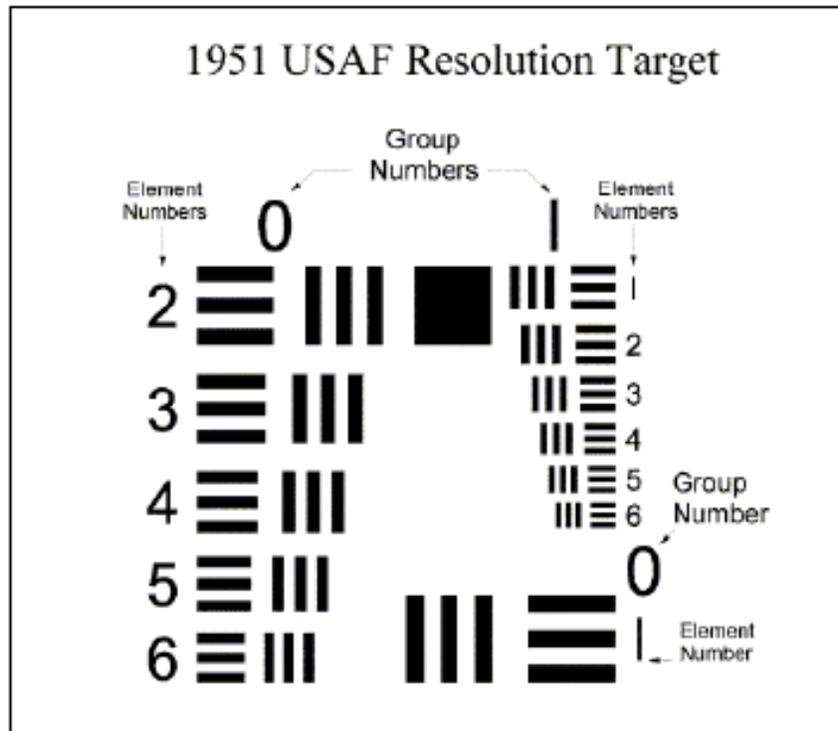
Product Name: USAF 1951 Chart (Standard Layout)

Drawing / Photo of Part:



The above image is an approximate representation of the actual product.  
Specifications are subject to change without notice.

Description: This test target meets requirements as specified in MIL-STD-150A for resolving power tests. The target consists of a series of *Elements* having two sets of lines at right angles. Each set of lines consists of three lines separated by spaces equal to the line width. Each bar has a length to width ratio of 5:1. (Line width is equal to one half of line pitch, which is the inverse of line frequency.) *Elements* are arranged in groups of six each and *Groups* are arranged in pairs. Even numbered *Groups* occupy the left side and bottom right corner and contain a square feature having and edge length equal to the line length of *Element 2* in that group. Odd numbered *Groups* occupy the top right corner and side. *Groups* and



**1951 USAF Resolution Test Pattern - Group & Element Labels**

Resolution features of the 1951 USAF Resolution Target are arranged in elements and groups. Each Element is made up of equally spaced bars; three horizontal and three vertical. Groups consist of six elements labeled 1 through 6. Groups are labeled by number in order of increasing frequency.

The figure above shows the location of groups and elements. Note that Element 1 of even numbered Groups is placed in the lower right corner and diagonally opposite Element 2 of the same Group. With this exception, all Elements are arranged in ascending order from top bottom.

The resolution limit of a system is found by examining an image of the resolution test target to locate the Element of highest frequency where either horizontal or vertical lines are not indistinct. Note that the horizontal limit of resolution may indicate a different frequency than the limit of vertical resolution.

1653 East Main Street  
 Rochester, NY 14609 USA  
 Voice: 585.482.0300  
 FAX: 585.288.5989  
 imaging@appliedimage.com

T-20  
 USAF 1951 Chart  
 Standard Layout  
 Product Specifications



Group	Element	Frequency (cycles/mm)	Line or space width (micron)	Line or space width (inches)	DPI (Dots per inch)	PPI (Pixels per inch)	LPI (line pairs per inch)	Dots per Cm	Lines pairs per Cm
2	1	4.00	125.00	0.004921	203.20	101.60		80.00	40.00
	2	4.49	111.36	0.004384	228.08	114.04		89.80	44.90
	3	5.04	99.21	0.003906	256.02	128.01		100.79	50.40
	4	5.66	88.39	0.003480	287.37	143.68		113.14	56.57
	5	6.35	78.75	0.003100	322.56	161.28		126.99	63.50
	6	7.13	70.15	0.002762	362.06	181.03		142.54	71.27
3	1	8.00	62.50	0.002461	406.40	203.20		160.00	80.00
	2	8.98	55.68	0.002192	456.17	228.08		179.59	89.80
	3	10.08	49.61	0.001953	512.03	256.02		201.59	100.79
	4	11.31	44.19	0.001740	574.74	287.37		226.27	113.14
	5	12.70	39.37	0.001550	645.12	322.56		253.98	126.99
	6	14.25	35.08	0.001381	724.12	362.06		285.09	142.54
4	1	16.00	31.25	0.001230	812.80	406.40		320.00	160.00
	2	17.96	27.84	0.001096	912.34	456.17		359.19	179.59
	3	20.16	24.80	0.000977	1024.06	512.03		403.17	201.59
	4	22.63	22.10	0.000870	1149.47	574.74		452.55	226.27
	5	25.40	19.69	0.000775	1290.24	645.12		507.97	253.98
	6	28.51	17.54	0.000690	1448.24	724.12		570.18	285.09
5	1	32.00	15.63	0.000615	1625.60	812.80		640.00	320.00
	2	35.92	13.92	0.000548	1824.67	912.34		718.38	359.19
	3	40.32	12.40	0.000488	2048.13	1024.06		806.35	403.17
	4	45.25	11.05	0.000435	2298.95	1149.47		905.10	452.55

1653 East Main Street  
 Rochester, NY 14609 USA  
 Voice: 585.482.0300  
 FAX: 585.288.5989  
 imaging@appliedimage.com

T-20  
 USAF 1951 Chart  
 Standard Layout  
 Product Specifications



	5	50.80	9.84	0.000388		2580.48	1290.24		1015.94	507.97
	6	57.02	8.77	0.000345		2896.49	1448.24		1140.35	570.18
6	1	64.00	7.81	0.000308		3251.20	1625.60		1280.00	640.00
	2	71.84	6.96	0.000274		3649.35	1824.67		1436.75	718.38
	3	80.63	6.20	0.000244		4096.26	2048.13		1612.70	806.35
	4	90.51	5.52	0.000217		4597.89	2298.95		1810.19	905.10
	5	101.59	4.92	0.000194		5160.96	2580.48		2031.87	1015.94
	6	114.04	4.38	0.000173		5792.98	2896.49		2280.70	1140.35
7	1	128.00	3.91	0.000154		6502.40	3251.20		2560.00	1280.00
	2	143.68	3.48	0.000137		7298.70	3649.35		2873.50	1436.75
	3	161.27	3.10	0.000122		8192.51	4096.26		3225.40	1612.70
	4	181.02	2.76	0.000109		9195.78	4597.89		3620.39	1810.19
	5	203.19	2.46	0.000097		10321.92	5160.96		4063.75	2031.87
	6	228.07	2.19	0.000086		11585.96	5792.98		4561.40	2280.70
8	1	256.00	1.95	0.000077		13004.80	6502.40		5120.00	2560.00
	2	287.35	1.74	0.000069		14597.39	7298.70		5747.01	2873.50
	3	322.54	1.55	0.000061		16385.02	8192.51		6450.80	3225.40
	4	362.04	1.38	0.000054		18391.56	9195.78		7240.77	3620.39
	5	406.37	1.23	0.000048		20643.83	10321.92		8127.49	4063.75
	6	456.14	1.10	0.000043		23171.92	11585.96		9122.80	4561.40
9	1	512.00	0.98	0.000038		26009.60	13004.80		10240.00	5120.00
	2	574.70	0.87	0.000034		29194.79	14597.39		11494.01	5747.01
	3	645.08	0.78	0.000031		32770.04	16385.02		12901.59	6450.80
	4	724.08	0.69	0.000027		36783.13	18391.56		14481.55	7240.77
	5	812.75	0.62	0.000024		41287.67	20643.83		16254.99	8127.49
	6	912.28	0.55	0.000022		46343.84	23171.92		18245.61	9122.80