

## Transgrediendo límites



**1. Un compás abierto tocando ligeramente la piel de una espalda en dos puntos simultáneamente.**

W. Luis Mochán  
Instituto de Ciencias Físicas, UNAM  
Academia de Ciencias de Morelos

### Siga cuidadosamente las siguientes instrucciones:

Busque un amigo al que le tenga confianza y que no guste de hacer bromas pesadas

Consiga un compás, ese instrumento con dos puntas que suele tener una mina de grafito o un lápiz en una de ellas y que se puede abrir para dibujar círculos con precisión.

Descúbrase la espalda, cuidando de no exponerse a corrientes de aire.

Pídale ahora a su amigo que abra el compás todo lo que pueda y que, sin lastimarlo, lo toque ligeramente en la espalda con las dos puntas del compás simultáneamente (ver la figura 1).

Seguramente, sentirá Ud. dos ligeros piquetes.

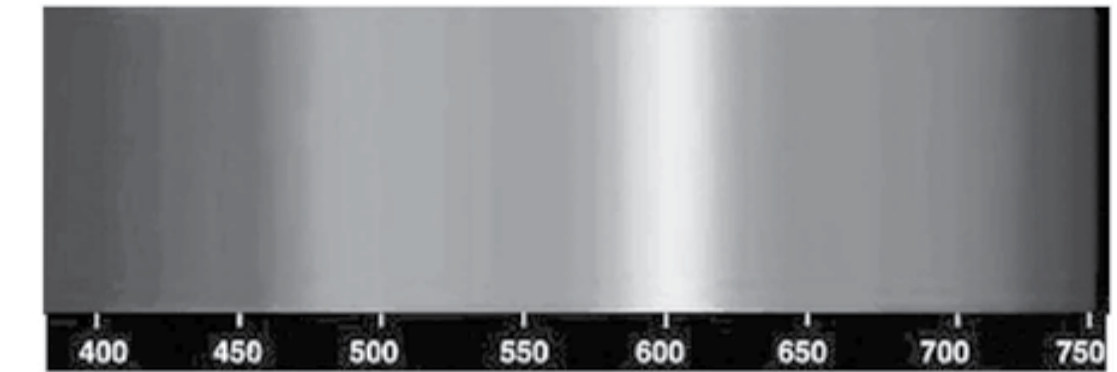
A continuación pídale a su amigo que le toque la espalda con una sola de las dos puntas. Naturalmente, en esta ocasión Ud. sólo notará un piquete.

Ahora pídale a su amigo que poco a poco vaya cerrando las puntas del compás y toque repetidamente su espalda con una o con las dos puntas sin que le diga con cuántas lo hace, para que Ud. lo adivine.

Para que la prueba cumpla con su objetivo, su amigo debe tocarlo siguiendo una secuencia desordenada, por ejemplo, con una punta, con dos, dos, una, una, dos, una, una, una..., como se le ocurra, pero no debe hacerlo de

forma ordenada: una, dos, una, dos, una, dos, una, dos, una.... Notará, quizás con sorpresa, que si el compás se halla suficientemente cerrado y la distancia entre sus puntas es menor a unos pocos centímetros, usted no podrá distinguir si a su espalda la tocan con una o dos puntas. Este simple experimento muestra que nuestro tacto es un sentido imperfecto; hay estímulos que son diferentes y que sin embargo nosotros sentimos iguales. En este caso, la limitación obedece al relativamente pequeño número de receptores táctiles en nuestra espalda, por lo que dos puntas cercanas entre sí excitan a los mismos receptores.

Repita el experimento pidiendo a su colaborador que toque la palma o los dedos de su mano con el compás, en lugar de su espalda. Desde luego, en este caso tendrá que cerrar los ojos y no hacer trampa, o mejor aún, vendárselos antes de realizar el experimento. Notará que en este caso, el compás puede cerrarse mucho más antes de que Ud. confunda la sensación que provoca una punta con la sensación que provocan dos puntas cercanas. La resolución espacial del sentido del tacto en su mano es mejor que la del sentido del tacto en su espalda. Puede ahora hacer multitud de experimentos similares. Por ejemplo, consiga y póngase unos guantes de jardinero y pida a su amigo que le coloque una serie de objetos en la mano y trate de identificarlos. Seguramente, no lo logrará cuando sean pequeños. Es evidente que los guantes



**Espectro de la luz visible (longitudes de onda en nm)**

### 2. Espectro de luz visible y sus correspondientes longitudes de onda (tomado de <http://bit.ly/1Snv0ar>).

en particular, y la ropa en general, disminuyen la resolución de nuestro tacto.

Los ejemplos anteriores muestran cómo nuestro tacto es un sentido con limitaciones. Como nuestro tacto, nuestros instrumentos de medición también tienen limitaciones. Seguramente, con una regla escolar no podrá medir distancias de centésimas de milímetro, ni con la balanza que usa el verdulero en el mercado podrá pesar miligramos. Así como el tacto de la mano tiene mejor resolución que el de la espalda, uno podría mejorar la resolución de nuestros instrumentos mejorando su diseño y fabricación. Por ejemplo, con un vernier puede medir fácilmente centésimas de milímetro y con una balanza analítica, décimas de miligramo.

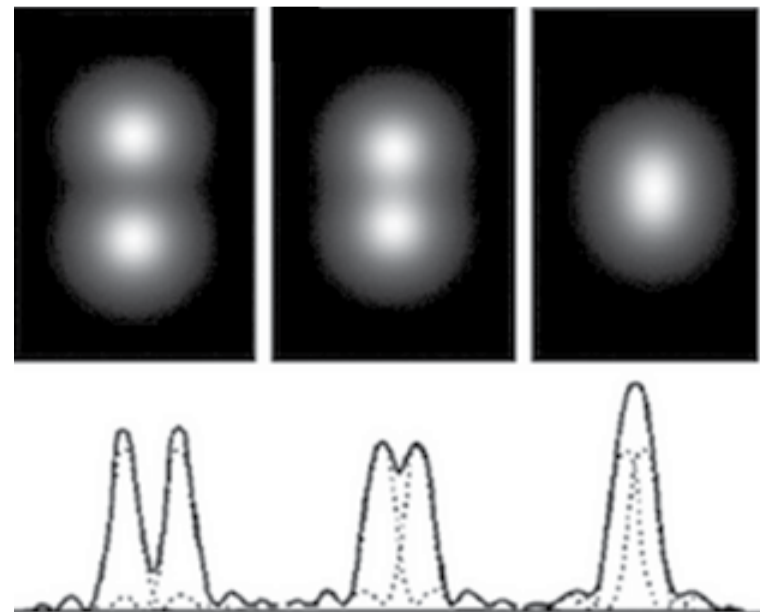
Sin embargo, existen límites que no se deben a defectos de nuestros instrumentos, sino que son fundamentales, intrínsecos a la naturaleza de los fenómenos. Muchos de los lectores habrán escuchado sobre el principio de incertidumbre de Heisenberg, que de alguna manera nos dice que no podemos conocer simultáneamente y con exactitud la posición y la velocidad, o más bien, la posición y el ímpetu, de un cuerpo. Este principio es una de las consecuencias de la mecánica cuántica, la misteriosa teoría que describe las propiedades dinámicas de sistemas tan pequeños como átomos y moléculas. Otra limitación similar, pero más cercana a nuestra vida cotidiana es la imposibilidad de saber cuál es la frecuencia exacta de un sonido musical en un instante preciso. Para conocer la frecuencia, hay que contar oscilaciones durante un intervalo de tiempo; mientras más oscilaciones contemos, más precisa será nuestra medición de la frecuencia, pero más tiempo tardaremos en hacer la medición y por ello menos sabremos a qué instante corresponde dicha frecuencia.

Otra restricción fundamental relacionada a las anteriores es el límite de difracción de Abbe, que establece que es imposible dis-

tinguir la imagen de dos puntos luminosos cuya distancia sea mucho menor que media longitud de onda. La longitud de onda se refiere a la distancia entre cresta y cresta de una onda luminosa y su valor varía entre 780 nanómetros (nm) para el extremo rojo del espectro visible hasta 380 nm para su extremo violeta (1 nm=una millonésima de milímetro) (ver figura 2). Esto se debe a que la imagen de un punto es una manchita, no un punto, y que dos manchitas que se traslapan son indistinguibles de una sola manchita (ver figura 3). Con una lente de aumento proyecte en el muro de una habitación oscura la imagen de una luminaria lejana. Notará que la imagen es una mancha borrosa con forma algo caprichosa. Mueva y oriente la lente para tratar de minimizar el tamaño de dicha mancha. Le aseguro que no logrará que la imagen sea un punto. En este caso, la mala resolución se deberá seguramente a las aberraciones de la lente, originadas en sus imperfecciones. Lo curioso es que no lo lograría ni aunque reemplazara la lente por un sistema óptico tan perfecto como se pueda concebir.

Esta limitación se debe a que un sistema óptico no forma la imagen empleando toda la luz que emerge de una fuente luminosa, sino sólo una parte. La figura 4 ilustra que sólo los rayos dentro de cierta apertura son colectados por una lente para formar la imagen, mientras que los demás son desechados. Aún si pudiera diseñarse y construirse un microscopio que rodeara totalmente a la fuente luminosa, no podría proyectarse una imagen puntual, pues aún así no habríamos recolectado todas las ondas necesarias producidas por la fuente. Esto se debe a que toda fuente luminosa produce ondas que curiosamente no se propagan, sino que decaen rápidamente con la distancia, y por tanto no llegarían al microscopio. Estas ondas, llamadas evanescentes y que constituyen el llamado campo cercano, serían indispensables para que el microscopio pudiera construir la deseada imagen puntual.

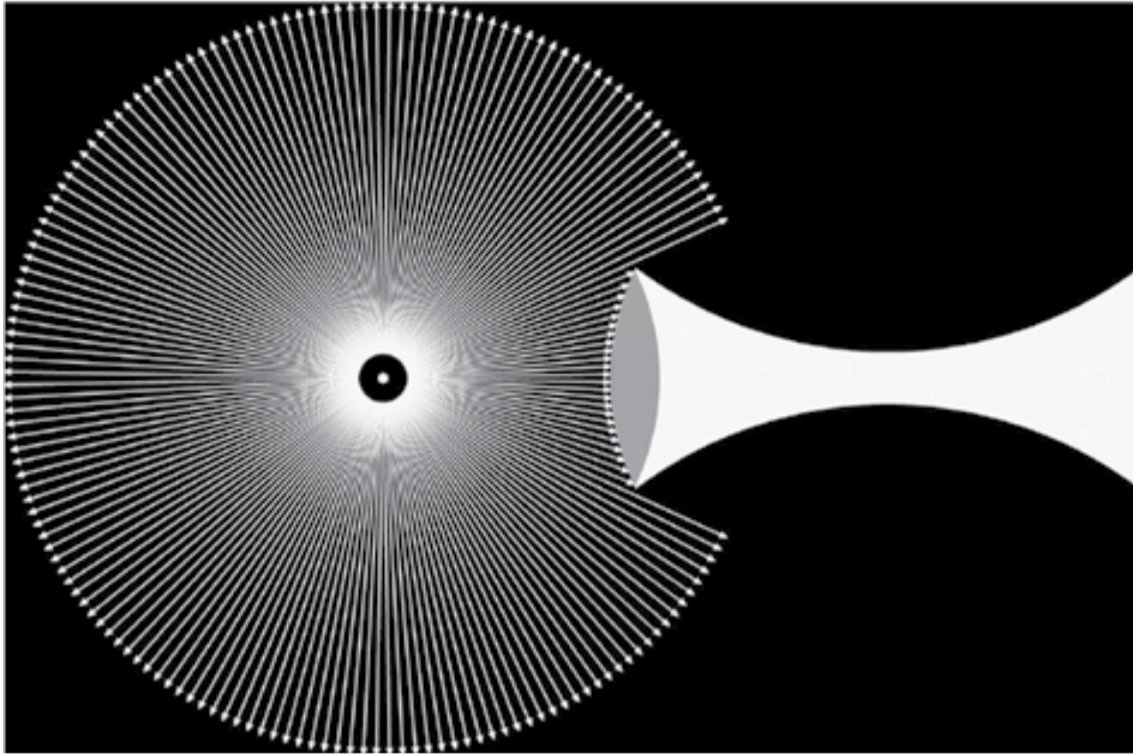
Quizás el lector se pregunté ¿qué tiene de malo que la imagen de un punto sea una manchita de algunos cientos de nanómetros? A fin de cuentas, los nanómetros son muy chiquitos. La respuesta



**3. La imagen de dos puntos luminosos son dos manchitas, aún en un sistema óptico óptimo. Si las dos manchitas se traslapan, se vuelven indistinguibles de una sola manchita. La parte superior de la figura muestra las imágenes de dos puntos mientras que la parte inferior muestra la gráfica de la intensidad luminosa como función de la posición (tomada de <http://bit.ly/1VCwMCb>).**

## ACADEMIA DE CIENCIAS DE MORELOS, A.C.

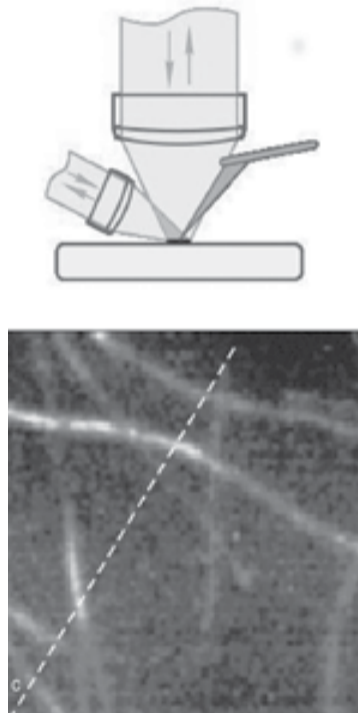
¿Comentarios y sugerencias?, ¿Preguntas sobre temas científicos? CONTÁCTANOS: editorial @acmor.org.mx



4. Rayos de luz que emergen en todas direcciones a partir de un punto luminoso. Algunos de ellos llegan a una lente que los refracta y enfoca en una pequeña mancha que forma una imagen necesariamente defectuosa, pues muchos de los rayos de luz no son recolectados por la lente incluyendo, las ondas evanescentes que no se alejan mucho de la fuente y que no muestra la figura.

es que hay objetos mucho más chiquitos que quinientos nanómetros que nos gustaría ver, estudiar y entender, a pesar de no poder hacerlo con nuestros microscopios ópticos convencionales. El límite óptico de resolución corresponde al tamaño aproximado de las mitocondrias. Los virus y los componentes de las células como los ribosomas, los anticuerpos, el ARN mensajero y las proteínas, son más pequeños, y por tanto no se pueden ver con microscopios ópticos convencionales.

Para vencer el límite de difracción de la microscopía óptica se han desarrollado muchísimas técnicas, cada una de ellas con ventajas y desventajas. Una posibilidad es no usar luz visible, sino luz ultravioleta cuya longitud de onda es menor. Ésta, aunque es invisible al ojo humano, es luz que puede fotografiarse y permite obtener imágenes de objetos algo más pequeños. Otra posibilidad es olvidarnos de la luz, bombardear con electrones o con iones nuestros pequeños objetos y formar imágenes con los proyectiles que los atraviesen o se reflejen en ellos. Una técnica distinta consiste en colocar una aguja metálica ultrafina (ver figura 5) sobre la superficie del objeto que queremos estudiar y medir la pequeña corriente eléctrica debida a electrones que saltan gracias al curioso fenómeno de *tunelaje cuántico* entre la punta y la superficie. Conforme movamos la punta de un lado al otro, barriendo la superficie, dicha corriente podría cambiar, o podríamos cambiar la altura de la aguja para que la corriente permanezca invariante. Así, se tendría una imagen de la superficie generada por el movimien-



5. El panel superior muestra un microscopio óptico de barrido de campo cercano. Una fina aguja montada sobre un piezoeléctrico como el de los antiguos torneos se mueve sobre una superficie, como en otras microscopias de barrido. El sistema es iluminado y los cambios en la luz dispersada conforme la punta se mueve son registrados. El panel inferior muestra la imagen de unos nanotubos de carbono tomada con un microscopio óptico de barrido que emplea el efecto Raman. En la imagen se resuelven claramente detalles menores al diámetro de los tubos de apenas 25 nm. Tomado del artículo *Scanning Near-Field Optical Microscopy* de Achim Hartschuh en la *Encyclopedia of Nanotechnology* pgs. 2280-2292.

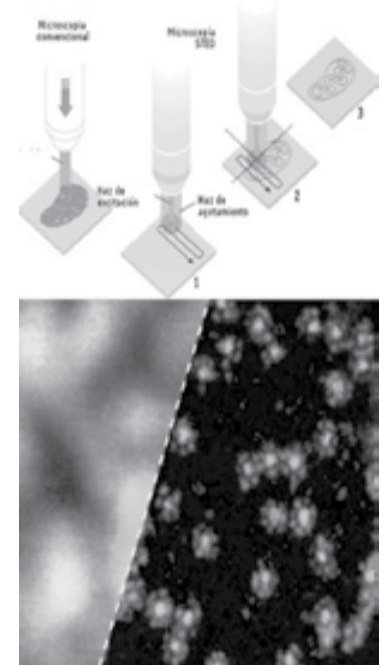
to de la aguja. Para cada una de las coordenadas  $(X,Y)$  por donde pasa la aguja, colocamos un punto sobre una pantalla de un color determinado por la corriente o por la altura, sintetizando así una imagen cuya resolución estaría dictada por el radio de la punta de la aguja. En lugar de usar la corriente eléctrica, podríamos medir la pequeña fuerza con la que la superficie del objeto atrae a la aguja. La formación de imágenes en estos microscopios es análoga a la formación de imágenes en nuestra mente cuando cerramos los ojos y movemos los dedos de la mano sobre una mesa tratando de adivinar qué objetos sostiene. Las técnicas basadas en el barrido de una aguja se han adaptado a la microscopía óptica, por ejemplo observando cómo varía la intensidad de la luz que llega a un detector conforme una aguja se desplaza sobre la superficie de un objeto y es iluminada por un haz de luz láser (figura 5). La idea es que la cantidad de luz que dispersa la punta de la aguja depende de su interacción mediante el *campo cercano* con los átomos de la superficie. Con esta técnica y observando las pérdidas de energía de la luz dispersada por la excitación de vibraciones, se han logrado imágenes como las de la figura 5 que muestran nanotubos de carbono con diámetros de apenas unos 25nm. En resumen, para ver objetos más pequeños se ha recurrido a luz invisible con longitud de onda más pequeña, a otro tipo de *partículas* o a técnicas de *barrido*. Las técnicas ópticas de barrido aprovechan el *campo cercano* para sintetizar imágenes con una resolución muy superior a la que permitiría el límite de resolución de Abbe. El inconveniente de es-

tas últimas técnicas es que sólo permiten ver aquello que está cerca de la superficie.

Fue para mí una gran sorpresa enterarme que se han desarrollado técnicas ópticas muy ingeniosas que *violan* el límite de Abbe usando únicamente el campo propagante y sin recurrir al campo cercano. Una de estas técnicas, llamada *microscopía por agotamiento vía radiación estimulada* y conocida como STED por sus siglas en inglés (STimulated Emission Depletion microscopy), emplea los mecanismos de fluorescencia y radiación estimulada. La fluorescencia se inicia con un electrón en una molécula que absorbe un fotón, es decir, un *paquete cuantizado de luz*. El electrón cambia entonces de estado pasando a uno de mayor energía. Posteriormente puede perder un poco de energía produciendo vibraciones moleculares para, después de cierto tiempo, decaer a su estado inicial emitiendo un fotón con la energía restante, de una frecuencia menor a la del fotón original. La emisión estimulada es la de un fotón por parte de un electrón excitado que decae a su estado original debido a la presencia de otro fotón de la misma frecuencia. El tercer ingrediente de la técnica STED es el empleo de *haces estructurados* de luz en que los fotones giran alrededor del eje del haz con cierto *ímpetu angular*. Lo interesante de éstos últimos haces es que su centro es totalmente oscuro, como si el haz fuera un tubo hueco de luz, y su intensidad crece conforme nos acercamos al radio del haz, para después volver a decaer. El primer paso es entonces excitar a algunos de los electrones iluminados por un haz luminoso enfocado, como hemos visto, sobre una manchita. El segundo paso es iluminar la misma región con un haz estructurado que hace decaer rápidamente a los electrones hacia su estado original mediante emisión estimulada. En este segundo paso, aquellos electrones que se hallen suficientemente cerca del eje del segundo haz no decaerán pues ahí la intensidad del haz es demasiado pequeña para estimular el decaimiento. Finalmente, se observa la fluorescencia que, sabemos, proviene de aquella región cercana al eje del segundo haz donde no hubo emisión estimulada. Haciendo más intenso el segundo haz, la región suficientemente oscura para no agotar la fluorescencia se vuelve más pequeña y puede volverse ¡mucho menor que el límite de Abbe! El último paso es barrer el centro de ambos haces sobre la muestra que queremos observar registrando para cada punto la intensidad de la fluorescencia y con esta información sintetizar una imagen de alta resolución (ver figura 6). Por

el desarrollo de esta técnica, Stefan Hell recibió en 2014 el premio Nobel de química, compartido con Eric Betzig y William Moerner quienes desarrollaron una técnica alternativa empleando fluorescencia de moléculas aisladas. Gracias a estos desarrollos, los microscopios ópticos nos permiten actualmente asomarnos al nanomundo.

La óptica sigue evolucionando y dándonos sorpresas. Por ejemplo, recientemente se han desarrollado cámaras sin lentes, de un solo pixel, con las que se pueden captar videos con resolución tridimensional de escenas iluminadas mediante un microarreglo de cientos de miles de microespejos rápidamente oscilantes. Recién terminó el Año Internacional de la Luz, en el que festejamos los grandes eventos que desde mil años atrás nos han permitido entender y aprovechar los fenómenos luminosos, así como los avances de la siempre vibrante ciencia de la luz. La fiesta de clausura de este ciclo de magnos eventos mundiales se llevó a cabo en México (en Mérida, Yucatán) durante la primera semana de febrero. Este artículo fue parcialmente apoyado por DGAPA-UNAM a través del proyecto IN113016.



6. Técnica STED para formar imágenes de alta resolución. En el panel superior se muestran dos haces luminosos coaxiales, uno de ellos para excitar la fluorescencia y el otro, muy intenso, con un hueco en el eje, para desexcitarla, de manera que sólo las moléculas muy cercanas al eje puedan fluorescer. Barriendo ambos haces sobre la muestra y registrando la intensidad de la fluorescencia se forma la imagen (panel inferior del lado derecho) cuya resolución es mucho mejor que la de microscopios más convencionales (panel inferior del lado izquierdo). Imágenes adaptadas de <http://bit.ly/1VCR7Hv> y de <http://bit.ly/1VCRfH2>.