

# TERMODINÀMICA ESTOCÀSTICA: UN CAMP CIENTÍFIC EMERGENT



**ÉDGAR ROLDÁN**

Max Planck Institute for the Physics of Complex Systems (MPI-PKS, Dresden, Alemanya). Grupo Interdisciplinar de Sistemas Complejos (GISC, Madrid)



**ORIOU GÜELL**

Secció Tècnica d'Ensenyament CQC

A l'any 1824, un enginyer naval francès anomenat Sadi Carnot va dur a terme un estudi teòric revolucionari que més tard va esdevenir la llavor pel desenvolupament de la Termodinàmica com a un nou camp científic. En les seves *Reflections sur la puissance motrice du feu*, Carnot va trobar un límit màxim superior fonamental per l'eficiència energètica màxima que un màquina tèrmica pot aconseguir. El límit de Carnot imposa una restricció en la dinàmica dels motors macroscòpics que va ser generalitzat per Clausius al segle XIX amb el què es coneix actualment pel Segon Principi de la Termodinàmica. En condicions isoterms, la calor total  $Q(t)$  absorbida per un sistema físic del medi exterior durant un procés de no-equilibri de duració  $t$  satisfà

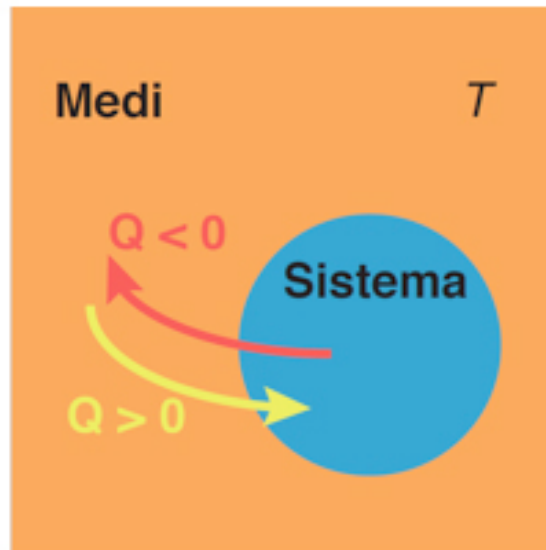
$$\frac{Q(t)}{T} \leq \Delta S(t) , (1)$$

on el signe igual correspon a processos reversibles pels quals el bescanvi de calor depèn exclusivament de l'estat inicial i final del sistema. En un procés reversible o en equilibri, la calor absorbida per un sistema dividida per la temperatura és una funció d'estat que s'anomena entropia del sistema  $S$ . En conseqüència, el canvi en l'entropia del sistema en un temps  $t$ ,  $\Delta S(t)$ , es defineix com el bescanvi de valor dividit per la temperatura quan un procés procedeix de forma reversible. Si el medi està compost per un únic focus de calor en equilibri que bescanvia un flux de calor  $Q(t)$  amb el sistema,  $Q(t)/T$  es pot interpretar com el canvi de l'entropia del medi.

Consegüentment, la Segona Llei implica que el canvi total d'entropia (sistema + medi) augmenta a mesura que passa el temps per qualsevol procés termodinàmic,

$$\Delta S_{tot}(t) = \Delta S(t) - \frac{Q(t)}{T} = \Delta S(t) + \Delta S_{medi}(t) \geq 0 \quad , \quad (2)$$

En altres paraules, canviar l'estat d'un sistema implica una dissipació mínima de calor cap al medi.



**Figura 1. Sistema termodinàmic, el medi i els fluxos de calor entre ambdós.** Els fluxos de calor negatius impliquen un flux de calor del sistema cap al medi, mentre que els positius impliquen un flux de calor del medi cap al sistema.

A finals del segle XIX i durant el segle XX, el desenvolupament de la Termodinàmica va portar a una comprensió més profunda de la noció d'entropia. Una eina molt important és l'anomenada Termodinàmica Estadística, que és un camp de la física que permet fer un estudi termodinàmic de sistemes microscòpics compostos per un gran nombre de partícules  $i$ , en conseqüència, extreure expressions per les magnituds termodinàmiques que governen aquests sistemes. Amb aquestes eines es pot entendre, per exemple, com la temperatura està relacionada amb la velocitat de les partícules o com la pressió està relacionada amb la força per unitat de superfície que realitzen els xocs de les partícules contra les parets d'un sistema. Dins d'aquest formalisme, és important recalcar el paper de Josiah Willard Gibbs, que va deduir l'expressió de l'entropia d'un sistema aïllat, l'anomenat col·lectiu microcanònic, definida a partir d'una distribució de microestats, cada estat  $i$  amb una probabilitat  $p_i$

$$S = -k_B \sum_i p_i \ln p_i \quad , \quad (3)$$

on  $k_B$  és la constant de Boltzmann. En relació a aquesta expressió, és important parlar sobre l'entropia de Shannon  $H$

$$H = - \sum_i p_i \ln p_i \quad , \quad (4)$$

que permet calcular la **incertesa** en la distribució d'estats d'un sistema termodinàmic. Tal com es pot veure,  $S = k_B H$ , és a dir, l'entropia de Gibbs és proporcional a l'entropia de Shannon, i la constant de proporcionalitat és la constant de Boltzmann. Atès que podem relacionar ambdues magnituds, es pot concloure que l'entropia termodinàmica d'un sistema aïllat és una aplicació directa de la teoria de la informació de Shannon. Aquest fet és summament important, ja que podem extreure que l'entropia termodinàmica d'un sistema aïllat està directament relacionada amb la incertesa en la distribució d'estats que componen el sistema.

Les reaccions químiques operen sempre en condicions de no-equilibri, tot i que cal tenir en compte que, en alguns casos, n'hi ha que tenen lloc a prop de l'equilibri. Així doncs, més tard es va desenvolupar la Termodinàmica de Processos Irreversibles amb la finalitat d'entendre la transducció d'energia i la naturalesa irreversible de les reaccions que tenen lloc a prop de l'equilibri. Més concretament, l'aproximació lineal de la Termodinàmica de Processos Irreversibles va ser impulsada profundament per Lars Onsager i Ilya Prigogine, que van rebre el Premi Nobel en Química els anys 1968 i 1977, respectivament. Segons Onsager i Prigogine, un procés de no-equilibri està caracteritzat per la presència d'uns fluxos  $J$  (com, per exemple, fluxos de partícules o corrents elèctrics) que, a prop de l'equilibri, són proporcionals a unes forces termodinàmiques  $F$  que actuen en un sistema (com per exemple gradients tèrmics o diferències de potencial químic). Pel cas concret d'una reacció química dins del règim lineal, és a dir, suposant que estem a prop de l'equilibri, la producció d'entropia, que es defineix com la derivada temporal de l'entropia, és

$$\frac{dS_{tot}}{dt} = J \frac{A}{T} \quad , \quad (5)$$

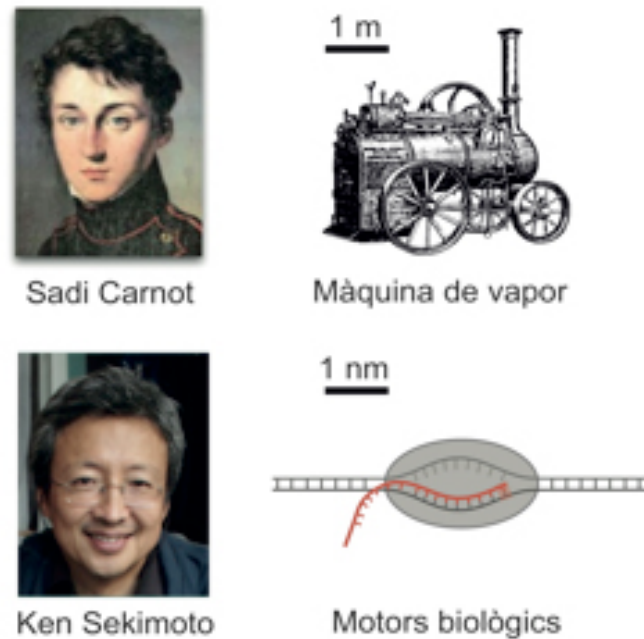
on  $J$  és el flux o velocitat de la reacció i  $A$  és l'afinitat química de la reacció, amb expressió

$$A = - \sum_{i=1}^N v_i \mu_i \quad , \quad (6)$$

on  $v_i$  és el coeficient estequiomètric del component  $i$  i  $\mu_i$  llur potencial químic, tenint en compte que la reacció està composta per  $N$  components.

En els últims anys, el desenvolupament de la tècniques de microscòpia i de trapes òptiques ha permès als científics rastrejar la dinàmica dels sistemes de mida petita. Per exemple, usant les tècniques de molècula individuals poden visualitzar els mecanismes de transport de motors moleculars amb resolució nanomètrica. Els motors moleculars són enzims que realitzen la transducció d'energia química en treball mecànic [3]. Un exemple és la Cinesina, un motor que es mou en passos de 8 nanòmetres alimentat per la hidròlisi d'ATP [4]. Un altre exemple és la RNA polimerasa [5], un enzim que polimeritza RNA movent-se esglaonadament en un motllo de DNA (veure Figura 2, panell inferior dret). Les fluctuacions tèrmiques afecten fortament la dinàmica d'aquests sistemes. Això és degut a que l'energia tèrmica d'una sola molècula (a temperatura ambient, 25°C) és  $k_B T \simeq 4$  pNnm (on  $k_B$  és la constant de Boltzmann). L'energia tèrmica d'una sola molècula és comparable a l'energia necessària per moure un motor molecular un pas enrere. De fet, per una força típica d'~1 pN, una sola molècula pot, per casualitat, moure un motor cap enrere ~4nm.

Dit això, podem dir que els motors moleculars i els enzims satisfan les lleis termodinàmiques universals tal com ho fan els motors tèrmics macroscòpics? La Termodinàmica Estocàstica és un camp emergent dins de la Física que busca les propietats universals que governen la Termodinàmica dels sistemes molt petits [6-8]. En un estudi sobre motors moleculars l'any 1997 [9], Ken Sekimoto



**Figura 2. Els pares de la Termodinàmica clàssica (esquerra) i llurs fonts d'inspiració (dreta).** Superior: Sadi Carnot va desenvolupar llur teoria interessat per les lleis de la conversió de calor en treball en les màquines de vapor que generaven el moviment en trens i vaixells després de la revolució industrial. Inferior: Ken Sekimoto va introduir la noció de calor per motors biològics que operen a escales petites. La figura inferior dreta mostra un esbós d'una RNA polimerasa (gris) movent-se per un motllo de DNA (negre). Durant la reacció de polimerització, la polimerasa produeix un motllo d'RNA monocatenari complementari (vermell).

va derivat una nova equació que expressa la calor transferida  $Q(t)$  des del medi cap a un sistema microscòpic mitjançant la trajectòria seguida o la seqüència d'estats visitats pel sistema en un temps  $t$  (veure Figura 3, on es mostren diferents estats possibles d'un enzim i el concepte de trajectòria entre aquests estats). El treball de Sekimoto [9-10] és considerat per molta gent com l'embrió de la Termodinàmica Estocàstica, que es va establir a principis de l'any 2000 com una disciplina que fa ús de la teoria de processos estocàstics per descriure la natura fluctuant de la Termodinàmica de dispositius micro i nanoscòpics.

La dinàmica dels sistemes micro i nanoscòpics enclavats en un bany tèrmic que conté milions de molècules és estocàstic. Considerem la dinàmica d'un sol enzim en una solució on, a més, hi ha altres espècies i que llurs concentracions es mantenen en un valor constant. Degut a l'agitació tèrmica de l'enzim i de les espècies presents, l'enzim s'enllaçarà amb alguna de les espècies presents. D'aquesta manera, l'espècie enllaçada esdevindrà un reactiu de la reacció catalitzada per l'enzim i, en conseqüència, es generarà un producte. **Ambdós** processos, l'enllaç del reactiu amb l'enzim i la reacció química, tenen lloc en temps aleatoris. A la Figura 3 podem veure una xarxa de transicions on tots els processos tenen lloc en temps aleatoris durant la vida sencera de l'enzim involucrat.

Les taxes entre dos estats corresponen al nombre mitjà de les transformacions que tenen lloc per unitat de temps. Les equacions microscòpiques de moviment que descriuen la dinàmica d'un sol enzim són reversibles en el temps. Això implica que cada procés de la Figura 3 i llur procés invers en el temps pot tenir lloc, però generalment ocorren amb diferents probabilitats. L'asimetria entre el processos cap endavant i cap enrere obeeix

$$\frac{k_+^{(i)}}{k_-^{(i)}} = e^{\Delta\mu_i/k_B T} \quad , \quad (7)$$

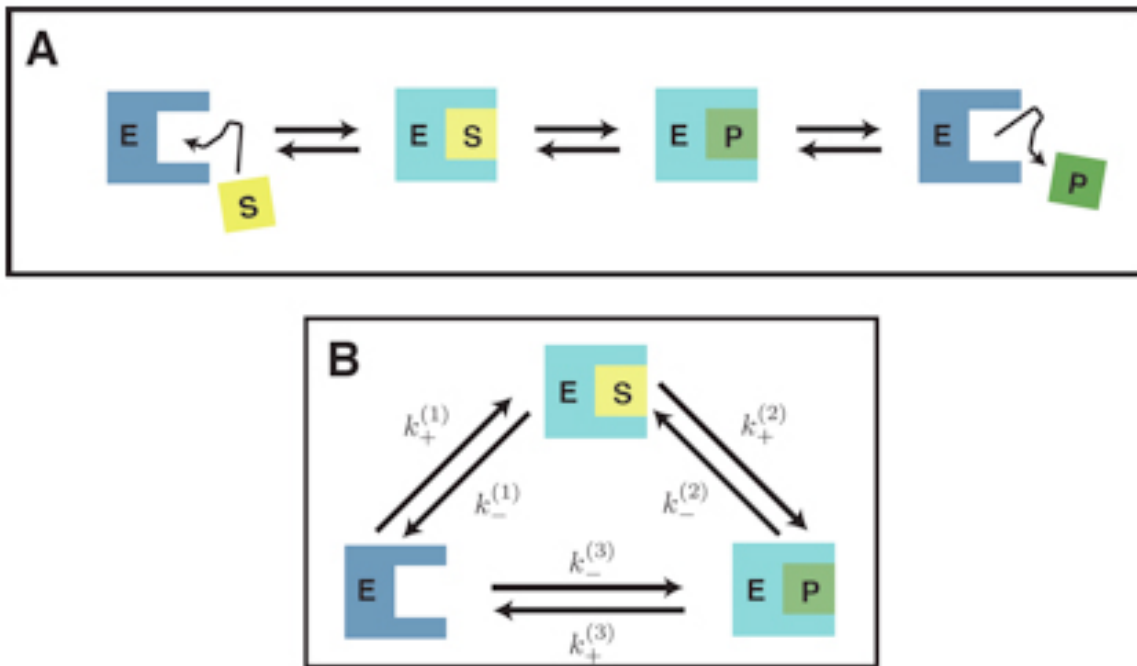
on  $i = 1,2,3$  i denoten cada transició que té lloc en el mecanisme químic de la reacció enzimàtica (veure Figura 3), i  $\Delta\mu_i > 0$  és el canvi en el potencial químic al llarg de cada transició. L'afinitat  $\mathcal{A} = \sum_{i=1}^3 \Delta\mu_i$  de cada cicle enzimàtic està relacionada amb les velocitats de cada transició seguint

$$\frac{k_+^{(1)} k_+^{(2)} k_+^{(3)}}{k_-^{(1)} k_-^{(2)} k_-^{(3)}} = e^{\mathcal{A}/k_B T} \quad , \quad (8)$$

Equivalentment, es pot escriure la següent expressió per l'afinitat

$$\mathcal{A} = k_B T \log \frac{k_+^{(1)} k_+^{(2)} k_+^{(3)}}{k_-^{(1)} k_-^{(2)} k_-^{(3)}} \quad , \quad (9)$$

Per un exemple simple d'una reacció enzimàtica on el cicle està impulsat únicament per la hidròlisi d'ATP,  $\mathcal{A} \simeq 20k_B T$ . L'ATP es pot considerar com l'oli que lubrica un motor de cotxe. Sense l'ATP, molts processos no funcionaria degut a que no hi hauria l'energia lliure necessària per poder realitzar-los, de la mateixa manera que l'oli lubrica el motor per a poder suportar els alts valors de torque que es generen, evitant que aquests gripin.



**Figura 3: Dinàmica estocàstica per un sol enzim.** A) Esquema d'una reacció enzimàtica. Un enzim  $E$  s'enllaça amb un reactiu formant, d'aquesta manera, un heterocomplex  $E + S$ . El reactiu enllaçat es transforma posteriorment en un producte (complex  $E + P$ ) i aquest és alliberat al medi després de terminació del cicle enzimàtic. B) Descripció estocàstica de l'estat químic de l'enzim i dels processos de salt entre els tres possibles estats. La microreversibilitat permet a cada reacció tenir lloc cap endavant i cap enrere, cada procés tenint lloc a una certa velocitat determinada. En aquest cas usem el subíndex  $+$  per denotar transicions afavorides pel potencial químic de cada espècie i el subíndex  $-$  per etiquetar les transicions que tenen lloc en contra del potencial químic.

Com es pot descriure la dinàmica estocàstica d'un sol enzim? Tal dinàmica estocàstica pot ser descrita matemàticament com un procés de salt entre els tres estats diferents de l'enzim que es mostren a la Figura 3B. Després d'un temps  $t$ , podem dir que l'enzim ha participat en una història composta pels estats que han esdevingut i on l'enzim ha participat. Aquesta història es pot descriure com una seqüència d'estats (o també anomenat camí) com, per exemple,  $(E, ES, EP, E, ES, EP, ES, E, \dots)$  amb estadístiques pels temps d'espera entre cada estat seguint una distribució exponencial. Generalment, s'introdueix la notació  $(x_1, x_2, \dots, x_n)$  per denotar una seqüència d'estats visitats per l'enzim, amb  $x_i \in \{E, ES, EP\}$ .

El fet que la dinàmica d'un sol enzim sigui estocàstica planteja la qüestió sobre si les propietats termodinàmiques de l'enzim són també estocàstiques. Quin és doncs el canvi total d'entropia, és a dir, la suma de les contribucions del sistema (en el nostre cas, l'enzim) i del medi exterior, associat a una història específica de l'enzim  $(x_1, x_2, \dots, x_n)$  durant un temps  $t$ ? Per respondre aquesta qüestió, primer considerem el canvi d'entropia del sistema, en aquest cas l'enzim. Seguint el treball de Seifert [11], podem definir l'entropia d'un sistema quan aquest està a un estat  $x(t)$  a un temps  $t$ :

$$S(t) = -k_B \log P(x(t)) \quad , \quad (10)$$

on  $P(x(t))$  és la probabilitat, en estat estacionari, de que el sistema estigui en un estat  $x(t)$  a un temps  $t$ . Quan es fa la mitjana sobre moltes realitzacions del mateix procés, obtenim

$$\langle S(t) \rangle = -k_B \int dx(t) P(x(t)) \log P(x(t)) = -k_B H(t) \quad , \quad (11)$$

on recuperem la generalització de l'entropia de Gibbs (Equació 3) per processos de no-equilibri. Si l'enzim traça una seqüència d'estats  $(x_1, x_2, \dots, x_n)$ , llur entropia canvia per una quantitat

$$\Delta S(t) = k_B \log \frac{P(x_1)}{P(x_n)} \quad , \quad (12)$$

Ara, ens preguntem: quin és el canvi d'entropia en el medi durant l'evolució de l'enzim? La calor és dissipada cap al bany (el medi) quan l'enzim realitza una transició cap endavant, mentre que l'enzim absorbeix calor del medi en una transició cap enrere. La proporció entre la transició cap endavant i cap endarrere obeeix la condició de balanç detallat local

$$\frac{P(x_{i+1}|x_i)}{P(x_i|x_{i+1})} = \frac{k_{i \rightarrow i+1}}{k_{i+1 \rightarrow i}} = e^{-Q_{i \rightarrow i+1}/k_B T} \quad , \quad (13)$$

on  $k_{i \rightarrow i+1}$  és la velocitat associada a la transició observada  $i \rightarrow i+1$ ,  $k_{i+1 \rightarrow i}$  la velocitat del salt corresponent en la reacció cap enrere i  $Q_{i \rightarrow i+1}$  la calor absorbida per l'enzim quan aquest realitza la transició  $i \rightarrow i+1$ . Depenent de la direcció de la transició en la xarxa, la calor absorbida correspon a l'afinitat, positiva o negativa, d'aquella transició  $Q_{i \rightarrow i+1} = \pm A_i$ . La calor total (o canvi de l'entropia del medi) durant un temps  $t$  és  $Q(t) = \sum_i Q_{i \rightarrow i+1}$  que, mitjançant l'Equació 13, permet obtenir una expressió microscòpica pel canvi de l'entropia del medi quan l'enzim traça un camí  $(x_1, x_2, \dots, x_n)$ :

$$\Delta S_{\text{medi}}(t) = -\frac{Q(t)}{T} = k_B \log \frac{P(x_2|x_1)P(x_3|x_2) \dots P(x_n|x_{n-1})}{P(x_1|x_2)P(x_2|x_3) \dots P(x_{n-1}|x_n)} \quad , \quad (14)$$

Sumant les Equacions 12 i 14 es troba una expressió microscòpica pel canvi en l'entropia total associat a una trajectòria específica de l'enzim:

$$\Delta S_{tot}(t) = k_B \log \frac{P(x_1, x_2, \dots, x_n)}{P(x_n, \dots, x_2, x_1)}, \quad (15)$$

on s'ha usat la propietat de Markov per la probabilitat d'observar una trajectòria donada de l'enzim:  $P(x_1, x_2, \dots, x_n) = P(x_1)P(x_2|x_1) \dots P(x_n|x_{n-1})$ . Pel cas de la reacció enzimàtica de la Figura 3, el canvi d'entropia total en un temps  $t$  és

$$\Delta S_{tot}(t) = N(t) \frac{\mathcal{A}}{T} + k_B \log \frac{P(x_1)}{P(x_n)}, \quad (16)$$

on  $N(t)$  és el nombre total de cicles realitzats per l'enzim en la direcció del biaix químic menys el nombre de cicles duts a terme en contra del biaix, i  $\mathcal{A}$  és l'afinitat del cicle. Fent la mitjana sobre moltes trajectòries de l'enzim s'obté

$$\langle \Delta S_{tot}(t) \rangle = \langle N(t) \rangle \frac{\mathcal{A}}{T}, \quad (17)$$

que és positiu, ja que  $\langle N(t) \rangle > 0$  de mitjana i  $\mathcal{A} > 0$ . Per aquesta raó, es recupera la Segona Llei de la Termodinàmica (Equació 2) al nivell de conjunt,  $\langle \Delta S_{tot}(t) \rangle \geq 0$ . Addicionalment, per la velocitat de producció d'entropia  $\langle dS_{tot}(t)/dt \rangle \simeq \langle \Delta S_{tot}(t) \rangle / t$ , es recupera l'Equació 5:

$$\left\langle \frac{dS_{tot}(t)}{dt} \right\rangle = J \frac{\mathcal{A}}{T}, \quad (18)$$

amb  $J = \langle N(t) \rangle / t$  (a  $t$  gran) igual al flux en estat estacionari o, altrament dit, corrent.

L'Equació 15 té implicacions molt importants per la Termodinàmica dels sistemes petits. Primerament, relaciona el canvi d'entropia total al llarg de la trajectòria d'un enzim amb la proporció entre la probabilitat d'una trajectòria amb la probabilitat de la trajectòria invertida. Així, connecta la producció d'entropia amb la irreversibilitat temporal d'una manera clara i directa [12,13,14]. Segonament, per a un camí "estrany", el canvi d'entropia total associat és **negatiu**. Això passa degut a que l'enzim es mou transitòriament en contra del biaix químic i  $P(x_1, x_2, \dots, x_n) < P(x_n, \dots, x_2, x_1)$ . Com s'ha discutit prèviament, l'Equació 15 defineix la producció d'entropia com un procés estocàstic. La mitjana de la producció d'entropia estocàstica sobre totes les possibles trajectòries  $(x_1, x_2, \dots, x_n)(x_1, x_2, \dots, x_n)$  traçades per un enzim és positiva per tots els temps

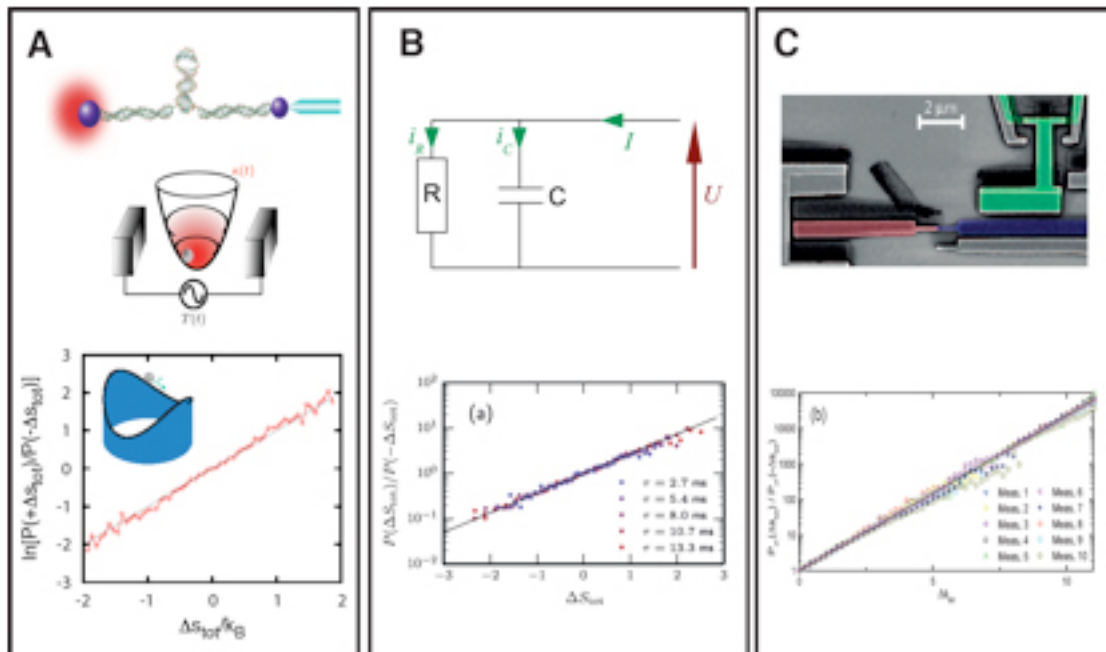
$$\langle \Delta S_{tot}(t) \rangle = k_B \int dx_1 dx_2 \dots dx_n P(x_1, x_2, \dots, x_n) \log \frac{P(x_1, x_2, \dots, x_n)}{P(x_n, \dots, x_2, x_1)} \geq 0, \quad (19)$$

d'aquesta manera es recupera la Segona Llei de la Termodinàmica quan es fa la mitjana sobre moltes realitzacions.

La possibilitat per un enzim de dur a terme cicles transitòriament en contra del biaix químic és manifestada d'aquesta manera en forma de canvis d'entropia transitoris negatius. L'estocasticitat de l'entropia a temps curts obre la porta a noves propietats que són úniques per sistemes petits situats fora de l'equilibri. Probablement, el resultat més important en les fluctuacions de l'entropia total és l'anomenat teorema de fluctuació detallada, que és una generalització de la Segona Llei de la Termodinàmica per sistemes mesoscòpics. En un moment donat  $t$ , la probabilitat de que la producció d'entropia sigui negativa és menor que la probabilitat de que la producció d'entropia sigui positiva per un mateix valor. En conseqüència, per qualsevol estat estacionari de no-equilibri es compleix [11-12,15-17]:

$$\frac{P(\Delta S_{\text{tot}}(t) = S)}{P(\Delta S_{\text{tot}}(t) = -S)} = e^{S/k_B}, \quad (20)$$

Aquesta equació ha atret l'atenció de la comunitat científica de la Termodinàmica Estadística durant aproximadament dues dècades. Experiments amb col·loides microscòpics amb pinces òptiques, tècniques de molècula individual amb forquilles de DNA o caixes d'electrons individuals són uns dels exemples entre la plèthora de sistemes pels quals l'Equació 20 s'ha testejat amb gran precisió.



**Figura 4: Tests experimentals del teorema de fluctuació detallada: muntatges experimentals (superior) i resultats (inferior).** A) Experiments amb pinces òptiques. La figura superior il·lustra un experiment de l'estirament d'una forquilla de DNA individual mitjançant pinces òptiques [18]. La figura central mostra un esbós d'un experiment típic de trampa òptica on una microesfera de poliestirè immersa en aigua és atrapada amb un làser infraroig altament focalitzat [19,20]. La figura inferior mostra un test experimental de l'Equació 20 de les fluctuacions en la posició d'una microesfera atrapada mitjançant un potencial periòdic [21]. B) Circuit Resistència – Capacitat (de l'ordre de  $M\Omega$  i pF) [22]. Degut a les fluctuacions tèrmiques de les càrregues elèctriques, el voltatge del circuit  $U$  és estocàstic i es pot usar per comprovar el teorema de fluctuació detallada [23]. C) Una dispositiu de caixa d'electró individual operant a baixes temperatures [24]. Els electrons poden patir efecte túnel entre dues illes (una composta de coure (N) i l'altra d'alumini superconductor (S)) mitjançant un aïllant d'òxid d'alumini. Les fluctuacions en el voltatge a través de la caixa d'electró individual poden ser mesurades degut a l'efecte túnel de l'electró que és propens a les fluctuacions tèrmiques. La figura inferior mostra una concordança excel·lent de les fluctuacions d'entropia mesurades amb l'Equació 20.

La combinació de la Termodinàmica amb la física dels processos estocàstics en l'anomenada Termodinàmica Estocàstica obre un camp emergent en la ciència amb múltiples aplicacions en Física, Biologia, Química i Enginyeria. Els desenvolupaments nanotecnològics recents inspirats en la teoria de la Termodinàmica Estocàstica han aconseguit, exitosament, la construcció de motors



tèrmics col·loïdals com, per exemple, el motor de Carnot brownià [19]. S'espera que aquest tipus de motors juguin un rol crucial en l'etapa decreixement dels nanorobots, i pot ser d'interès primordial en nanomedicina per generar teràpies no invasives en un futur pròxim. Tals noves perspectives en motors mesoscòpics seran presentades en un futur article.

Bon Nadal a tothom.

## REFERÈNCIES

- [1] S. Carnot, *Réflexions sur la puissance motrice du feu*(1824).
- [2] J. Willard Gibbs, *Elementary principles in statistical mechanics* (2014).
- [3] F. Jülicher, A. Ajdari, and J. Prost, *Rev. Mod. Phys.* 69 (4) 1269 (1997).
- [4] K. Svoboda, C.F. Schmidt, B.J. Schnapp and S. B. Block, *Nature* 365 (6448) 721-727 (1993).
- [5] M. Guthold, X. Zhu, C. Rivetti, G. Yang, N. H. Thomson, S. Kasas, H.G. Hansma, B. Smith, P.K. Hansma, and C.J. Bustamante, *Biophys. J.* 77(4), 2284-2294 (1999).
- [6] U. Seifert, *Rep. Prog. Phys.* 75(12) 126001 (2012).
- [7] C.J. Bustamante, J. Liphardt, and F. Ritort, *Physics today* 58(7) 43-48 (2005).
- [8] C. Jarzynski, *Annu. Rev. Cond. Matt. Phys.* 2(1)329-351(2011).
- [9] K. Sekimoto, *J. Phys. Soc. Jap.* 66(5), 1234-1237(1997).
- [10] K. Sekimoto, *Prog. Theor. Phys. Soc.*130, 17-27 (1998).
- [11] U. Seifert, *Phys. Rev. Lett.* 95 (4), 040602 (2005).
- [12] J. M. R. Parrondo, R. Kawai, C Van den Broeck, *Phys. Rev. Lett.* 98, 080602 (2007).
- [13] E. Roldan, *Irreversibility and Dissipation in Microscopic Systems*, Springer (2014).
- [14] E. Roldan, I. Neri, M. Dörpinghaus, H. Meyr, and F. Jülicher, *Phys. Rev. Lett.* 115, 250602 (2015).
- [15] G. Gallavotti, and E. G. D. Cohen, *Phys. Rev. Lett.*74(14) 2694 (1995).
- [16] G. E. Crooks, *Phys. Rev. E*60 (3) 2721 (1999).
- [17] C. Maes, and K. Netočný, *J. Stat. Phys.* 110 (1-2) 269-310 (2003).
- [18] A. Alemany, A. Mossa, I. Junier, and F. Ritort, *Nature Phys.* 8(9), 688-694 (2012).
- [19] I. A. Martínez, E. Roldán, L. Dinis, D. Petrov, J. M. R. Parrondo, and R. A. Rica, *Nature Phys.* 12, 1 67-70 (2016).
- [20] P. Mestres, I. A. Martinez, A. Ortiz-Ambriz, R. A. Rica, and E. Roldan, *Phys. Rev. E* 90 (3) 032116 (2014).
- [21] T. Speck, V. Blickle, C. Bechinger, U. Seifert, *EPL (Europhys.Lett.)*79(3), 30002 (2007).
- [22] N. Garnier, and S. Ciliberto, *Phys. Rev. E* 71(6) 060101 (2005):
- [23] L. Granger, J. Mehlis, E. Roldan, S. Ciliberto, and H. Kantz. *New J. Phys.*, 17(6), 065005 (2015)
- [24] J. V Koski, T. Sagawa, O. P. Saira, Y. Yoon, A. Kutvonen, P. Solinas, and J. P. Pekola, *Nature Phys.*, 9(10), 644-648 (2013).
- [25] L. Lacasa, À. Nuñez, E. Roldan, J. M. R. Parrondo, and B. Luque, *Eur. Phys. J. B.* 85(6), 1-11 (2012).