

Medida directa de absorción de dos fotones en moléculas orgánicas

Miguel Ángel Gonzalez Jaimes*
Universidad de los Andes, Bogotá, Colombia.
(Dated: 1 de diciembre de 2022)

Existen diversas maneras experimentales de cuantificar la sección eficaz de absorción de dos fotones (TPA), entre las cuales se hallan técnicas directas como el "Z-Scan" o técnicas indirectas como la medida de fluorescencia inducida por absorción. En el presente informe, se estudió el TPA en moléculas de Rodamina B (RhB) disueltas en metanol por medio de un experimento en el que se desplazaba la muestra en el eje de propagación del haz. De esta manera, se pudo llevar a cabo medidas directas como indirectas para diferentes configuraciones en la concentración de la muestra, corriente y frecuencias de modulación. De esta forma se buscó evidenciar una dependencia de σ con respecto a la intensidad al regular el área transversal del haz. Primero se realizó una caracterización del diodo y su relación corriente-potencia. Luego, se realizaron medidas de fluorescencia para Rhb en concentraciones de 0,05mM y 10mM. Posteriormente, se utilizaron estos datos junto con la calibración para obtener valores para σ . Los resultados obtenidos concuerdan en gran medida con valores reportados en literatura previa. Finalmente, se realizaron las medidas de transmitancia generando una resta de la señal de absorción con una señal de referencia. No obstante, se presentaron complicaciones respecto al procedimiento debido a que hubo fuentes de error desconocidas en los datos registrados. Por ende, no se pudo obtener la señal esperada.

I. INTRODUCCIÓN

La absorción de dos fotones, o TPA por sus siglas en inglés (Two-Photon Absorption), es un proceso óptico no-lineal por el cual una molécula absorbe dos fotones tal que la energía de estos induzca una transición del estado base de energía E_g a un estado superior con energía E_f . Por ende, la absorción de dos fotones ha sido un proceso altamente estudiado debido a su vasto rango de aplicaciones tales como la microscopía de excitación de dos fotones [1–3] y almacenamiento óptico [4, 5], entre otros. Asimismo, se han hecho avances en el estudio de absorción de dos fotones en vapores de metales alcalinos debido a sus posibles usos militares [6] y en la física atómica [7, 8].

El hecho de que el TPA sea no-lineal causa que la transición dada por un proceso de absorción de dos fotones presente reglas de selección diferentes a aquellas vistas en las transiciones por un fotón, dando así una herramienta para estudiar la estructura atómica de diversos materiales. Ahora, el TPA se caracteriza por un factor denominado sección eficaz de absorción de dos fotones (σ), el cual da la probabilidad de absorción de dos fotones del haz en la molécula. Debido a lo anterior, se han creado diversas técnicas para la realización de espectroscopias de TPA. Dichas técnicas se pueden clasificar en técnicas directas e indirectas. En primer lugar, se tiene que en las técnicas directas se analiza el haz según este es atenuado tras atravesar la muestra. En las técnicas indirectas se analizan los efectos causados por los cambios de población en el estado del proceso de

relajación de la molécula, los cuales podrían ser la emisión de fluorescencia o calor [9]. No obstante, el obtener señales de TPA por medio de técnicas indirectas suele ser un proceso complejo debido a la baja magnitud de la señal así como la dependencia de factores como la eficiencia cuántica de fluorescencia a analizar.

Con base en lo anterior, ya que la intensidad es inversamente proporcional al área transversal del haz, una técnica directa comúnmente utilizada es la técnica de "Z-Scan". En dicha técnica, se regula la intensidad de la luz incidente sobre una muestra variando la sección transversal del mismo al mover la muestra a lo largo del eje óptico del haz. Por lo tanto, se mide la transmitancia en cada posición de la muestra [9]. Sin embargo, aunque, en principio, el método es sencillo, en la práctica, debido a la naturaleza no lineal del TPA, la señal de absorción suele ser muy baja, lo que dificulta su análisis considerablemente. Por lo tanto, con el fin de superar algunas de estas limitaciones, en este proyecto se propone implementar un montaje con el cual se pueda generar un haz de referencia tal que se pueda dar una resta entre estas dos señales que permita obtener una señal con un aumento significativo en el *SNR*.

II. OBJETIVOS

A. Objetivo General

Medir la sección eficaz de absorción de dos fotones por métodos directos.

* Correo institucional: ma.gonzalezj@uniandes.edu.co

B. Objetivos Específicos

- Obtener una señal de fluorescencia inicial.

- Desarrollar un montaje experimental que permita restar dos señales, siendo estas una señal de referencia y la señal de la luz transmitida por la molécula con el fin de obtener una señal que permita distinguir el proceso de TPA.

- Implementar la técnica de “Z-Scan” en el montaje y realizar tomas de datos para diferentes muestras.

III. MARCO TEÓRICO

En el caso del TPA, a pesar de que el proceso es denominado como una absorción simultánea, se tiene que en realidad existe una diferencia temporal en la llegada de los fotones, tal que cuando la molécula absorbe el primer fotón que llega, con energía E_1 o también $\hbar\omega_1$, este le permite ascender a un estado intermedio o *virtual* m con una energía asociada $E_g + E_1$ [10]. Este estado intermedio posee una vida media τ que, aunque no puede ser medida directamente, se puede estimar su magnitud en base a la relación de incertidumbre ($\tau\Delta E \sim \hbar/2$), que suele tener un valor cercano a 10^{-15} s [11–13]. Una vez el átomo está en el estado virtual, si, dentro del marco de tiempo τ , este absorbe un segundo fotón con energía E_2 , tal que se realice una segunda excitación, la molécula podría subir a un estado final de energía E_f . De igual manera, se tiene que si la energía de los dos fotones incidentes es la misma, el proceso se denomina *degenerado* y si son diferentes este es un caso *no-degenerado* [9], tal y como se ve en la Fig. 1.

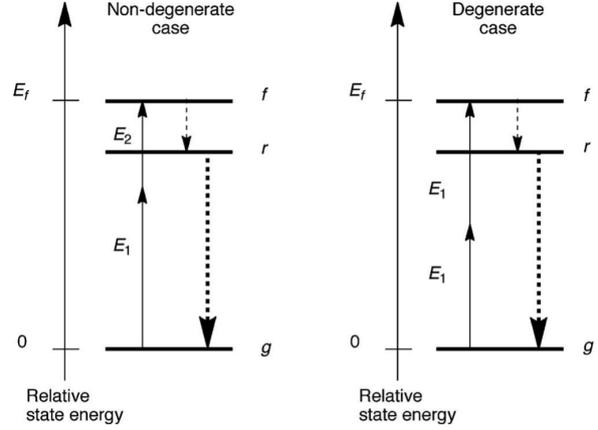


Figura 1. Esquema de los niveles de energía para un proceso de absorción de dos fotones en la que se ve una transición del estado base g a un estado excitado f para casos degenerado y no-degenerado. Se puede notar que, posteriormente a la excitación, el sistema regresa a su estado base al relajarse y decaer al estado intermedio r . Imagen extraída de [9]

Se tiene que, para el caso de moléculas, los niveles de energía se dividen en tres componentes: una electrónica, una vibracional y una rotacional. Con base en lo anterior, una vez dado el proceso de TPA, la molécula decae a su estado inicial por un proceso de dos pasos consecutivos. En primer lugar, la molécula regresa al estado vibracional r del primer estado excitado por un proceso de conversión interna. Desde este estado, la molécula puede llegar al estado base a través de diferentes procesos, los cuales pueden ser emitir fotones (fluorescencia), disipar la energía sobrante como calor en el medio o transferir parte de su energía a otras moléculas por medio de colisiones [14, 15].

Ahora, se puede plantear una ecuación para la sección eficaz de absorción de dos fotones σ partiendo del caso en el que se evalúa la atenuación en la intensidad I de un haz en función de una distancia z conforme este atraviesa un medio [16]

$$\frac{dI}{dz} = \alpha I - \beta I^2$$

en donde α es el coeficiente de absorción de un fotón y β es el coeficiente de absorción de dos fotones tal que $\sigma = \beta/N$ con N siendo el número de átomos por unidad de volumen en el estado base. Generalmente, se tiene que [17]

$$\sigma \propto \left[\underbrace{\left(\frac{\Delta\mu_{gf}\mu_{gf}}{\hbar\omega} \right)}_D + \underbrace{\sum_{m \neq g, f} \frac{\mu_{gm}^2 \mu_{mf}^2}{(E_{gm} - \hbar\omega)^2}}_T \right], \quad (1)$$

tal que E_{gm} es la energía entre los estados g y m y los términos $\vec{\mu}_{ab}$ es la amplitud del momento dipolar de transición entre los estados a y b y $\Delta\mu_{gf}$ es el cambio en el momento dipolar del nivel f en relación al nivel g . Los términos D y T son denominados los términos 'Dipolar' y 'Two-Photon' respectivamente. Particularmente, el termino D es de suma importancia debido a que indica que σ sería proporcional al campo eléctrico al cual está sometida la molécula y, de igual manera, indica que la geometría de la molécula es un factor importante a la hora de medir este factor. Tal es el caso para moléculas centrosimétricas, en las que el término D se puede aproximar a cero [17].

Entre estas moléculas centrosimétricas, se puede considerar la Rodamina B (RhB), la cual es un fluoroforo comúnmente utilizado en microscopia de fluorescencia. Como se ve en la Fig. 2.a) esta molécula presenta un espectro de absorción de dos fotones en el rango de los 817 nm. Este proceso de absorción se puede detallar al notar una excitación desde el estado base S_0 a un estado de mayor energía S_2 , tras lo cual se da un decaimiento de nuevo al estado base a través del estado intermedio S_1 . Cabe resaltar que este decaimiento involucra la emisión de fotones de color verde en la transición de S_0 a S_1 , como se detalla en la Fig. 2.b). Dicha fluorescencia es indicativa de que, en efecto, se ha dado el proceso de TPA, y permite obtener un valor para σ .

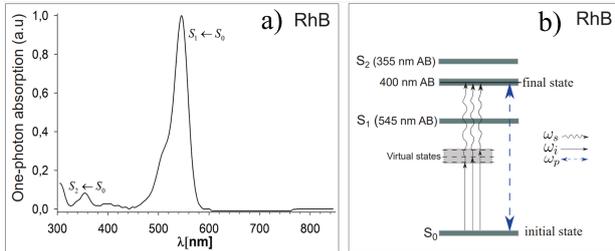


Figura 2. **a)** Espectro de absorción de un fotón para RhB. **b)** Esquema de niveles de energía en la transición a analizar. Imagen adaptada de [18]

A. Medida de Fluorescencia

Se puede empezar el análisis de σ con base en la fluorescencia al considerar la cantidad de fotones absorbidos por la muestra N_{abs} como

$$\begin{aligned} N_{abs}(t) &= \int_V dV \sigma C(\vec{r}, t) I^2(\vec{r}, t) \\ &= C \sigma I_0^2(t) \int_V dV S^2(\vec{r}), \end{aligned} \quad (2)$$

donde se asume que no hay efectos de saturación o 'photobleaching', tal que la concentración C del solvente

permanece constante y se separa la intensidad de la luz $I(\vec{r}, t)$ en una función con dependencia temporal $I_0(t)$ y dependencia espacial $S(\vec{r})$ [19]. Ahora, la fluorescencia medida $\langle F(t) \rangle$ se puede describir como

$$\begin{aligned} \langle F(t) \rangle &= \frac{1}{2} \xi \eta_2 C \sigma \langle I_0^2(t) \rangle \int_V dV S^2(\vec{r}) \\ &= \frac{1}{2} \xi \eta_2 C \sigma g \langle I_0(t) \rangle^2 \int_V dV, \end{aligned}$$

donde ξ es la eficiencia de recolección de fluorescencia del sistema de medición y η_2 es la eficiencia cuántica de fluorescencia de la molécula. De igual manera, se toma $\langle I_0^2(t) \rangle$ en términos de $\langle I_0(t) \rangle^2$ y la función de coherencia temporal de segundo orden de la luz g . En el caso de RhB disuelto en metanol, se tiene que este factor η_2 está dado por la concentración de RhB en el solvente acorde a la Fig. 3.

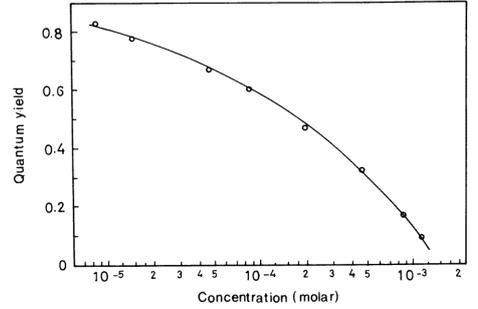


Figura 3. Variación del rendimiento cuántico de RhB en metanol con la concentración. Imagen adaptada de [20]

Para un lente objetivo con un haz incidente sobre el mismo tal que el haz supere la apertura numérica de la lente, se tiene que se puede emplear la aproximación paraxial para reescribir el promedio del flujo de fotones. Así que con λ siendo la longitud de onda del haz y $P(t)$ siendo la potencia de la forma [19]

$$\begin{aligned} \langle F(t) \rangle &\approx \frac{1}{2} \xi \eta_2 C \sigma \frac{8n \langle P(t) \rangle^2}{\pi \lambda} \\ \implies \eta_2 \sigma &= \frac{\langle F(t) \rangle \pi \lambda}{4n \xi \langle P(t) \rangle^2 C}. \end{aligned} \quad (3)$$

Con el fin de que la expresión final para σ esté dada en unidades de GM ($10^{-50} \text{ cm}^4 \text{ s} / \text{fotón}$), se reescribe la Ec. 3 como

$$\begin{aligned} \eta_2 \sigma &= \frac{10^{11} \langle F(t) \rangle \pi \lambda}{4n \xi \langle P(t) \rangle^2 C N_a} \left(\frac{hc}{\lambda} \right)^2 \\ &= \frac{10^{11} \langle F(t) \rangle \pi h^2 c^2}{4n \xi \langle P(t) \rangle^2 C N_a \lambda}, \end{aligned} \quad (4)$$

donde N_a es el número de Avogadro, h es la constante de Planck y c es la velocidad de la luz.

B. Medida de Z-Scan

Una técnica comúnmente empleada para medir σ es el método de "Z-Scan", en el que se mueve una muestra a lo largo del camino de un haz enfocado tal que se mida la intensidad de la luz en un detector en función de su posición en el eje \hat{z} . Comúnmente se utiliza técnica en una configuración denominada de 'apertura abierta' tal que toda la luz llega al detector y, por lo tanto, la señal de salida sólo refleja la transmisión dependiente de la intensidad por lo que esto puede emplearse para medir las secciones eficaces de TPA [16]. Este factor se puede obtener al considerar la distribución de la intensidad I_e de un haz con cintura w_0 posterior a la interacción con una muestra de ancho L [21–23]

$$I_e(z, r, t) = \frac{I(z, r, t)e^{-\alpha L}}{1 + q(z, r, t)}, \quad (5)$$

para $q(z, r, t) = \beta I(z, r, t)L_{\text{eff}}$, donde L_{eff} se define como una longitud efectiva $L_{\text{eff}} = (1 - e^{-\alpha L})/\alpha$. Integrando la Ec. 5 a lo largo de r (sin tomar en cuenta el proceso de propagación en el espacio libre) se puede obtener la potencia transmitida

$$P(z, t) = P_i(t)e^{-\alpha L} \frac{\ln[1 + q_0(z, t)]}{q_0(z, t)}, \quad (6)$$

definida por la potencia instantánea $P_i(t) = \pi w_0^2 I_0^2(t)/2$ y $q_0(z, t) = \beta I_0(t)L_{\text{eff}} / (1 + (z/z_0)^2)$ donde z_0 es el rango de Rayleigh. Ahora, asumiendo que la muestra es delgada ($L < z_0$), para un pulso con una distribución Gaussiana, la Ec. 6 se puede integrar en el tiempo para obtener la transmitancia normalizada con respecto a un fondo en el que solo se tome en cuenta la absorción lineal de la muestra

$$T(z) = \frac{1}{\pi \sqrt{q_0(z, 0)}} \int_{-\infty}^{\infty} \ln[1 + q_0(z, 0)e^{-\tau^2}] d\tau. \quad (7)$$

Siendo así, para $|q_0| < 1$, esta transmitancia $T(z)$ se puede reescribir como una sumatoria en términos de la intensidad máxima tal que

$$\begin{aligned} T(z) &= \sum_{m=0}^{\infty} \frac{[-q_0(z, 0)]^m}{(m+1)^{3/2}} \\ &= 1 - \frac{q_0(z, 0)}{2^{3/2}} + \dots \\ &\approx 1 - \frac{\beta I_0 (1 - e^{-\alpha L})}{2^{3/2} \alpha (1 + (z/z_0)^2)} \\ &= 1 - \frac{\beta I_0 L}{2^{3/2} (1 + (z/z_0)^2)} \quad (\text{si } |\alpha| \ll 1). \quad (8) \end{aligned}$$

Ya que cada término en $T(z)$ es conocido salvo por β se puede emplear la Ec. 8 para describir una curva de transmitancia en función de z y despejar el valor de β para hallar σ .

IV. MARCO EXPERIMENTAL

En este proyecto se realizó una medición de absorción de dos fotones de forma directa en RhB por medio de la técnica de "Z-Scan" igual que fluorescencia inducida por TPA. Para realizar lo anterior se construyó el montaje visto en la Fig. 4. En primer lugar, se emplea haz de luz proveniente de un diodo láser de 820nm (LD). Este haz se hace pasar por un 'optical chopper' (OC) MC2000B con el que se puede modular la señal obtenida por los fotodetectores. Posteriormente, el haz pasa por un beam-splitter 50:50 (BS) con el que se divide el haz con el fin de crear una señal de referencia que es reflejada hacia el fotodetector P_2 . El otro haz se pasa hacia la cámara oscura construida para observar la fluorescencia. A la entrada de esta caja se sitúan varios filtros espectrales F_1 y F_2 con el fin de reducir la cantidad de luz proveniente de fuentes distintas al láser. Después de los filtros se sitúa un objetivo de microscopía O Edmund Optics 58 - 373 con distancia focal de $f=10\text{mm}$ con el que se obtiene una cintura de $10 \pm 1\mu\text{m}$ en el foco del haz. Este láser es enfocado hacia una muestra de RhB (M) posicionada sobre una plataforma traslacional 8MT173-30, con la que se desplaza la muestra en cada medida. Esta plataforma permite realizar pasos de $1,236 \pm 0,003\mu\text{m}$ y es regulada tanto por un controlador 8SMC5-USB así como por un programa en LabView. Después de la interacción con la muestra, la luz es recolectada por dos lentes biconvexas LB1761 con distancia focal $f=25.4\text{mm}$ y enviada al fotodetector P_1 . Las señales dadas por los fotodetectores son enviadas a un Lock-In Amplifier (LIA) SR830 con el que se puede realizar una resta de las señales ($P_1 - P_2$) para observar la atenuación de la luz. Por otro lado, la fluorescencia es detectada por un tubo fotomultiplicador (PMT) Hamamatsu R5929. Previo a la detección, la luz emitida

por la muestra pasa por dos filtros F_3 situados en la apertura del PMT de manera que son perpendiculares a la dirección de propagación de la luz.

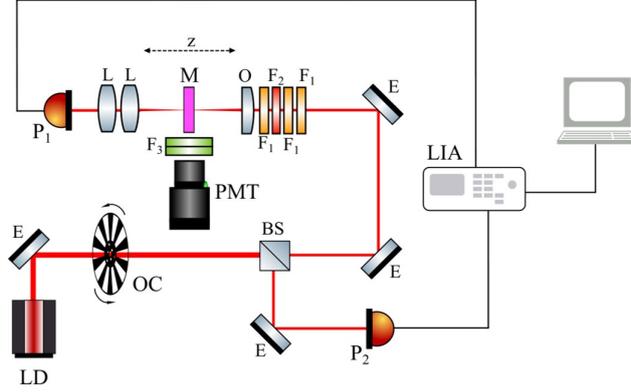


Figura 4. Esquema de montaje experimental planteado para realizar tanto la medición directa de absorción de dos fotones como la medición de fluorescencia. BS: Beam Splitter 50:50. E: Espejo. F_1 : Filtro FEL0750. F_2 : Filtro FELH700. F_3 : Filtro. L: Lente biconvexo con $f=25.4\text{mm}$. LD: Diodo láser de 820 nm. LIA: Lock-In Amplifier. M: Muestra de RhB. O: Objetivo de microscopia con $f=10\text{mm}$. OC: Optical Chopper. P_1 : Fotodiodo con intensidad reducida por absorción. P_2 : Fotodiodo con intensidad de referencia. PMT: Tubo Fotomultiplicador.

Previamente se había establecido que la medida de fluorescencia involucraba un factor ξ que representaba la eficiencia del sistema de detección que se ve en la Fig. 5. Ahora, ξ se puede descomponer en diferentes factores, tal que $\xi = \xi_{geo}\xi_q\xi_{cat}\xi_f$ donde $\xi_{geo} = 0,0464 \pm 0,0002$ es un factor geométrico dado por el porcentaje del ángulo sólido que cubre la apertura del PMT, $\xi_q = 0,12 \pm 0,01$ es la eficiencia cuántica del PMT [17, 24], $\xi_{cat} = 0,71 \pm 0,05$ es la sensibilidad del cátodo del PMT [17, 24] y $\xi_f = 0,48 \pm 0,03$ es el porcentaje de luz que pasa por los filtros F_3 .

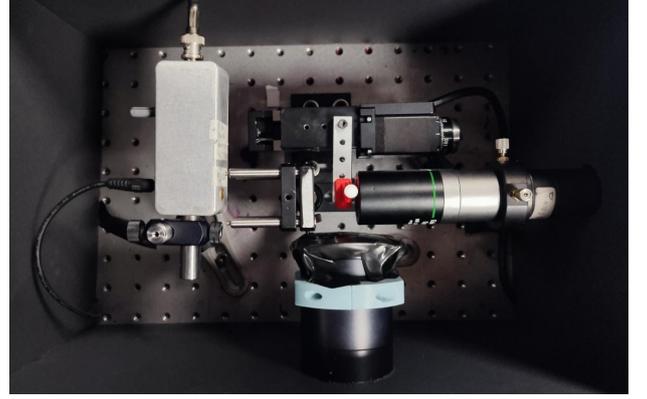


Figura 5. Cámara oscura construida para bloquear la contaminación lumínica. En la imagen se puede observar el objetivo (O), la muestra (M) situada sobre la plataforma de traslación, así como el tubo fotomultiplicador (PMT) con los filtros F_3 junto con los lentes (L) y el fotodiodo P_1 .

En primera instancia, se realizó una caracterización de la potencia del haz con respecto a la corriente de alimentación del diodo. Posteriormente se realizaron diferentes medidas iniciales con el fin de obtener señales de fluorescencia en muestras con concentraciones variadas. Se utilizaron estos datos para confirmar que se tenía absorción de dos fotones en las muestras tal que se pudiera realizar medidas de absorción directa empleando los fotodetectores. Ya que las tomas realizadas para la atenuación de la intensidad no fueron óptimas, se utilizaron las tomas de fluorescencia para dar un valor numérico a la cross-section σ en muestras con diferentes concentraciones.

V. RESULTADOS Y ANÁLISIS

Inicialmente, se realizaron medidas para la potencia del haz a la salida del diodo manteniendo el diodo a una temperatura constante mientras se variaba la corriente con el fin de caracterizar la potencia como se puede ver en la Fig. 6. Con base en los datos obtenidos se realizó un ajuste acorde a la función $P = AI + B$ en donde se halló que $A = 0,9596 \pm 0,0003V$ y $B = -39,8036 \pm 0,0188\text{mW}$.

$$A = 0,9596 \pm 0,0003V \text{ y } B = -39,8036 \pm 0,0188\text{mW}$$

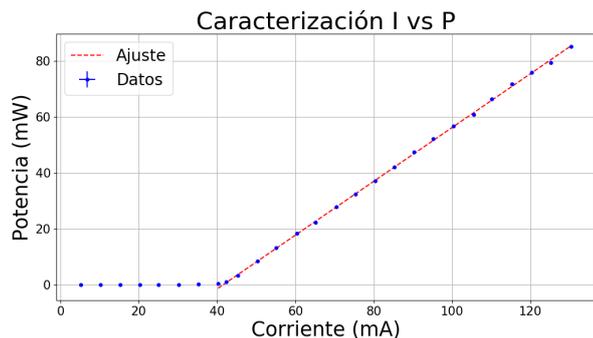


Figura 6. Caracterización de la potencia de la luz emitida por el diodo con respecto a la corriente del mismo. Se puede denotar que la potencia presenta un comportamiento lineal con respecto a la corriente a partir de la corriente de umbral $I_{th} = 42,38\text{mA}$. La línea punteada representa la función de ajuste $P = AI + B$.

En primera instancia, se realizaron medidas de fluorescencia para Rhb en metanol con una concentración $C = 0,05\text{mM}$ para diferentes valores de corriente como se ve en la Fig. 7. Ya que estas medidas no requieren de una señal de referencia, estas se realizaron sin el beam-splitter con el fin de maximizar la intensidad de la luz incidente sobre la muestra. De igual manera, se realizaron 2 medidas para la concentración con el fin de observar posibles cambios en la fluorescencia de la muestra causados por fluctuaciones en la potencia del diodo. Se puede denotar en la Fig. 7 que todas las curvas de conteos presentan un máximo alrededor de la misma posición, lo que indica una dependencia de la fluorescencia con respecto al foco del haz, lo cual es indicativo de que se está dando TPA. No obstante, estos máximos cambian entre ciclos para los mismos valores de corriente. Entre estos se destaca la curva dada por $I = 127,38\text{mA}$, la cual presenta el cambio más significativo. Lo anterior se puede deber a que, para el valor de temperatura empleado para la medida, la corriente utilizada da una variación drástica en el modo del diodo. De igual manera, ya que conforme se pasa de un ciclo a otro, la plataforma regresa a su punto inicial a alta velocidad, es posible que la muestra se haya movido en este desplazamiento.

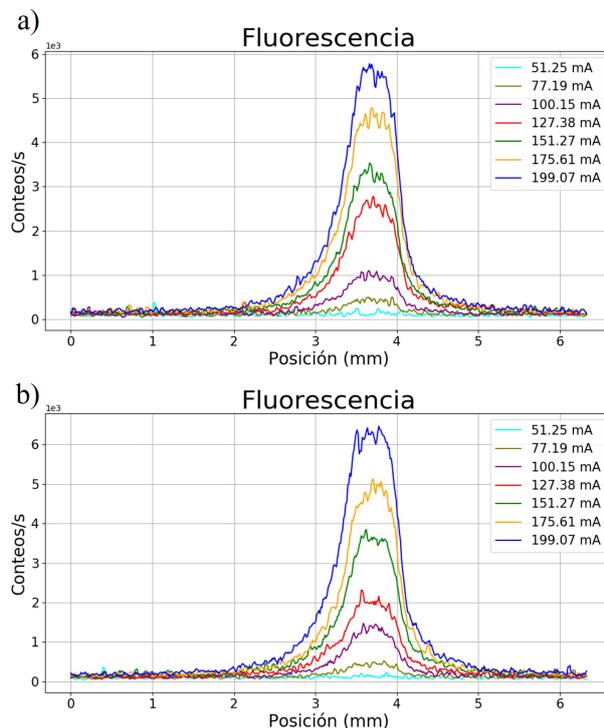


Figura 7. Medidas de fluorescencia como función de la posición de la celda para una muestra de Rhb en metanol con concentración de 0.05mM . Cada línea representa los datos tomados para una corriente del diodo distinta. a) Medida para ciclo 1. b) Medida para ciclo 2.

Si bien las medidas realizadas anteriormente indicaban que se estaba dando el proceso de TPA exitosamente en la celda, los relativamente bajos conteos de fluorescencia motivaron la realización de más medidas con una concentración diferente tal que se tuviera la mayor cantidad de conteos posible. Se tomó la concentración $C = 10\text{mM}$ con el fin de evitar el ‘quenching’ de la muestra, en el que el alto empaquetamiento de moléculas en el solvente hace que la pérdida de energía no se dé por emisión de luz sino por colisiones entre las moléculas [17, 25]. Como se ve en la Fig. 8, las medidas para Rhb en metanol con concentración de 10mM proveen conteos dos órdenes de magnitud superiores a las realizadas anteriormente, así como una forma más definida. Los máximos de fluorescencia se mantienen en la misma posición y, de igual manera, se puede ver que la fluorescencia cambió considerablemente para cada ciclo siendo una vez más la curva relacionada a la corriente $I = 127,79\text{mA}$ la que presenta el cambio más significativo al reducir su fluorescencia. Adicionalmente, se puede denotar que, a diferencia de las medidas para $C = 0,05\text{mM}$, el pico de todas las curvas presenta un ligero aplanamiento que desplaza el punto máximo a la derecha del centro de la curva. Lo anterior se podría explicar al considerar que la celda se posicionó de forma

que una de sus caras más anchas estuviese ligeramente inclinada hacia el PMT, con el fin de no obstruir la detección de los fotones. Por lo tanto, el foco de la muestra se "desplaza" ligeramente con la misma.

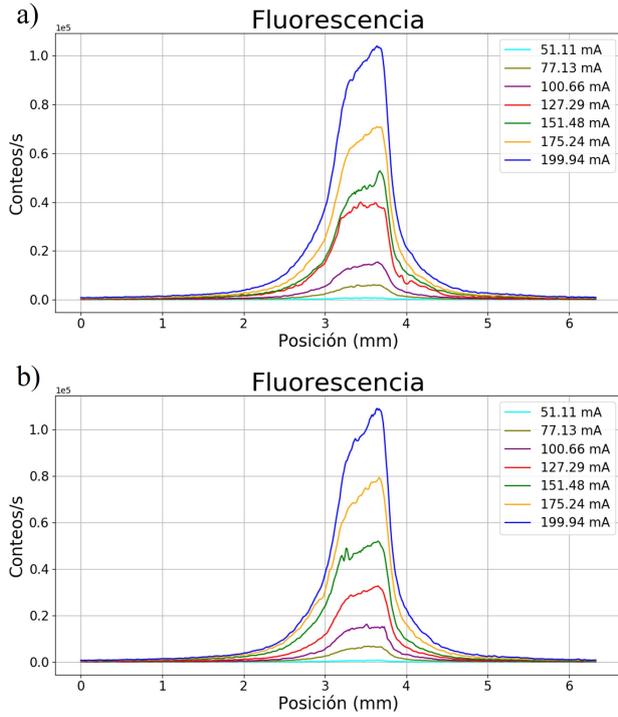


Figura 8. Medidas de fluorescencia como función de la posición de la celda para una muestra de RhB en metanol con concentración de 10mM. Cada línea representa los datos tomados para una corriente del diodo distinta. **a)** Medida para ciclo 1. **b)** Medida para ciclo 2.

Dicho lo anterior, se tomó la media ponderada de los picos de fluorescencia $\langle F(t) \rangle$ para cada una de las medidas anteriores. Empleando la caracterización realizada al principio, y tomando en cuenta el porcentaje de luz que atraviesa los filtros a la entrada de la caja, se tomaron los datos de la media de conteos en función de la potencia del diodo, como se ve en la Fig. 9 (para $C = 0,05\text{mM}$) y Fig. 10 (para $C = 10\text{mM}$). Para analizar la fluorescencia inducida, se pueden ajustar los valores de la media para cada potencia de la forma $F = AP^2 + B$ acorde a la Ec. 3.

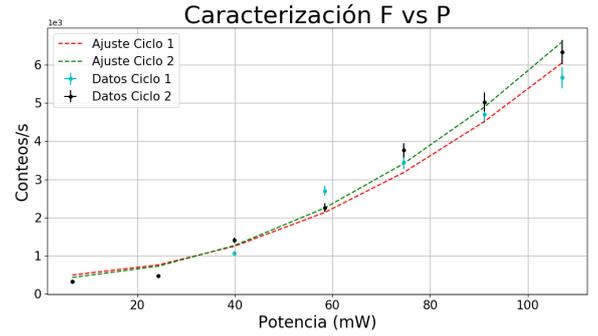


Figura 9. Caracterización de la fluorescencia dada por una muestra de RhB en metanol con concentración de 0.05mM con respecto a la potencia del diodo para diferentes ciclos. La línea punteada representa la función de ajuste $F = AP^2 + B$.

Realizando el ajuste, se halló que (tomando el subíndice $i, \in 1, 2$ para denotar el ciclo de la medida) para $C = 0,05\text{mM}$, se tiene que $A_1^{(0.05\text{mM})} = 0,49 \pm 0,04\text{fotones s}^{-1} (\text{mW})^{-2}$ y $A_2^{(0.05\text{mM})} = 0,54 \pm 0,02\text{fotones s}^{-1} (\text{mW})^{-2}$. Una vez despejado A , se puede utilizar este factor en la Ec. 4 para hallar que $\sigma_1^{(0.05\text{mM})} = 3,64 \pm 0,75\text{GM}$ y $\sigma_2^{(0.05\text{mM})} = 4,01 \pm 0,78\text{GM}$, lo cual es acorde a lo descrito en la literatura [17].

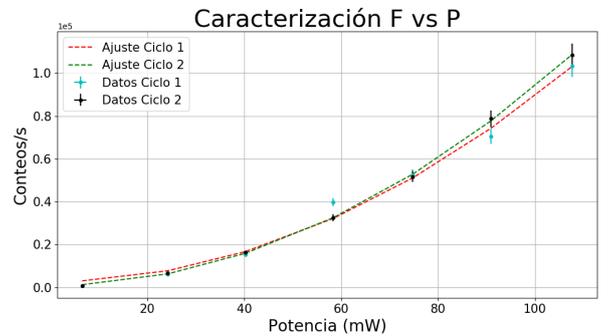


Figura 10. Caracterización de la fluorescencia dada por una muestra de RhB en metanol con concentración de 0.05mM con respecto a la potencia del diodo para diferentes ciclos. La línea punteada representa la función de ajuste $F = AP^2 + B$.

De igual manera, se realizó el mismo análisis para la muestra con $C = 10\text{mM}$, como se ve en la Fig. 10. En este caso, se obtuvo que $A_1^{(10\text{mM})} = 8,67 \pm 0,04\text{fotones s}^{-1} (\text{mW})^{-2}$ y $A_2^{(10\text{mM})} = 9,31 \pm 0,08\text{fotones s}^{-1} (\text{mW})^{-2}$. No obstante, como se ve en la Fig. 3, el valor de η_2 no está definido para la concentración utilizada en esta medida. Por lo tanto, se reporta la sección eficaz de acción $\sigma' = \eta_2\sigma$. Con base en los valores determinados en el ajuste, se halló que $\sigma_1'^{(10\text{mM})} = 0,216 \pm 0,027\text{GM}$ y

$\sigma_2^{(10\text{mM})} = 0,232 \pm 0,027\text{GM}$. Para esta concentración se puede notar que la sección eficaz no varía significativamente respecto a un ciclo o el otro. Adicionalmente, estos valores se acercan a aquellos descritos en reportes anteriores [17].

Posteriormente, se realizaron las medidas para la transmitancia implementando la resta de los fotodetectores P_1-P_2 . Sin embargo, como se ve en la Fig. 11 los resultados obtenidos para estas medidas no fueron los esperados ya que, aunque se estaba realizando una resta del fondo de referencia, la señal presentaba fluctuaciones que no permitían detectar el ‘dip’ descrito por la teoría.



Figura 11. Señal de resta de los fotodetectores P_1-P_2 para una traslación de la muestra. En la imagen se puede notar la fluctuación errática de la señal centrada en un punto.

Con el fin de mitigar estos efectos, se emplearon diferentes combinaciones de corriente, concentración de la muestra y frecuencia del ‘optical-chopper’. A pesar de ello, estas variaciones se siguieron presentando a lo largo de todas las medidas. Es posible que este ruido en la señal se genere por una competencia de modos en el láser lo que hace que su potencia sea inestable aun para un valor definido de corriente. Lo anterior se puede visualizar en la Fig. 12 en la que se denota la señal obtenida para la resta de los fotodetectores en el caso en el que la muestra se mantiene fija en una posición. Ya que la muestra está en un punto determinado del haz, su área transversal no cambia, por lo que estas fluctuaciones se podrían explicar por cambios en la potencia del láser.

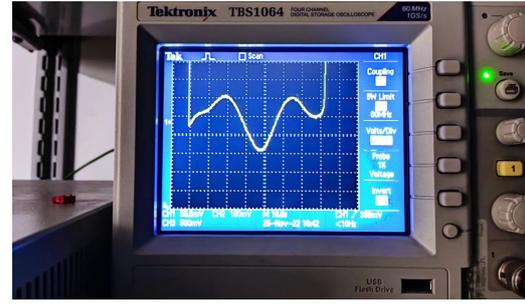


Figura 12. Señal de resta de los fotodetectores P_1-P_2 para una muestra estática. En la imagen se puede notar la fluctuación errática de la señal centrada en un punto.

VI. CONCLUSIONES

Se estudió la absorción de dos fotones por medio de dos técnicas experimentales de medición. En primer lugar, se realizaron medidas de fluorescencia inducida en muestras de RhB en metanol con distintas concentraciones $C = 0,05\text{mM}$, 10mM . Estas mediciones permitieron obtener valores para la sección eficaz σ y sección eficaz de acción σ' correspondientes a $\sigma_1^{(0,05\text{mM})} = 3,64 \pm 0,75\text{GM}$, $\sigma_2^{(0,05\text{mM})} = 4,01 \pm 0,78\text{GM}$, $\sigma_1^{(10\text{mM})} = 0,216 \pm 0,027\text{GM}$ y $\sigma_2^{(10\text{mM})} = 0,232 \pm 0,027\text{GM}$ en comparación a valores reportados anteriormente como $\sigma^{(0,05\text{mM})} = 4,8 \pm 1,8\text{GM}$ y $\sigma'^{(10\text{mM})} = 0,279 \pm 0,085\text{GM}$ [17]. Con base en lo anterior, se puede decir que los resultados obtenidos fueron precisos.

Por otro lado, también se realizaron medidas de transmitancia en muestras de RhB en metanol con distintas concentraciones $C = 0,05\text{mM}$, 10mM . Sin embargo, las tomas realizadas no proveyeron datos que se pudieran emplear para realizar un análisis a fondo de este proceso físico. Lo anterior se podría explicar por varios factores tales como la inestabilidad del diodo empleado, la frecuencia empleada para modular la señal en el ‘optical chopper’, las concentraciones empleadas en las muestras, la relación de anchura de la muestra con el rango de Rayleigh del haz así como la intensidad utilizada para las mediciones.

-
- [1] J. C. Stockert and A. Blazquez-Castro, *Fluorescence Microscopy In Life Sciences*. (Bentham Science Publishers Ltd, 2017).
- [2] W. Denk, J. H. Strickler, and W. W. Webb, *Science* **248**, 73 (1990).
- [3] A. Ustione and D. W. Piston, *J. Microsc.* **243**, 221 (2011).
- [4] N. S. Makarov, A. Rebane, M. Drobizhev, H. Wolleb, and H. Spahn, *J. Opt. Soc. Am. B* **24**, 1874 (2007).
- [5] J. H. Strickler and W. W. Webb, *Opt. Lett.* **16**, 1780 (1991).
- [6] C. W. Spangler, E. H. Elandaloussi, B. Ozer, K. Ashworth, L. Madrigal, and B. Reeves, *MRS Online Proceedings Library* **597**, 369 (1999).
- [7] J. I. Dadap, G. B. Focht, D. H. Reitze, and M. C. Downer, *Opt. Lett.* **16**, 499 (1991).
- [8] H. Steffensen, C. Agger, and O. Bang, *J. Opt. Soc. Am. B* **29**, 484 (2012).
- [9] M. Rumi and J. Perry, *Adv. Opt. Photon.* **2**, 451 (2010).
- [10] D. Belkic, *Principles of quantum scattering theory.*, Series in atomic and molecular physics (Institute of Physics, 2004).
- [11] W. L. Peticolas, *Annu. Rev. Phys. Chem* **18**, 233 (1967).
- [12] P. Norman and K. Ruud, «Microscopic theory of nonlinear optics,» in *Non-Linear Optical Properties of Matter: From Molecules to Condensed Phases*, edited by M. G. Papadopoulos, A. J. Sadlej, and J. Leszczynski (Springer Netherlands, Dordrecht, 2006) pp. 1–49.
- [13] C. Xu and W. W. Webb, «Multiphoton excitation of molecular fluorophores and nonlinear laser microscopy,» in *Topics in Fluorescence Spectroscopy: Volume 5: Non-linear and Two-Photon-Induced Fluorescence*, edited by J. R. Lakowicz (Springer US, Boston, MA, 2002) pp. 471–540.
- [14] M. Bass, O. S. of America Staff, O. S. of America, E. Van Stryland, W. Wolfe, and D. Williams, *Handbook of Optics: Fundamentals, techniques, and design*, 2nd ed., Handbook of Optics, Vol. 1 (McGraw-Hill, 1995).
- [15] J. R. Albani, *Principles and applications of fluorescence spectroscopy* (Blackwell Science, Oxford ;, 2007).
- [16] M. Pawlicki, H. Collins, R. Denning, and H. Anderson, *Angewandte Chemie International Edition* **48**, 3244 (2009).
- [17] J. Bedoya, «Medida de sección eficaz de absorción de dos fotones en moléculas orgánicas.» (2021).
- [18] J. P. Villabona-Monsalve, O. Calderón-Losada, M. Nuñez Portela, and A. Valencia, *The Journal of Physical Chemistry A* **121**, 7869 (2017).
- [19] C. Xu and W. W. Webb, *J. Opt. Soc. Am. B* **13**, 481 (1996).
- [20] C. V. Bindhu, S. S. Harilal, G. K. Varier, R. C. Issac, V. P. N. Nampoori, and C. P. G. Vallabhan, *Journal of Physics D: Applied Physics* **29**, 1074 (1996).
- [21] M. Sheik-Bahae, A. Said, T.-H. Wei, D. Hagan, and E. Van Stryland, *IEEE Journal of Quantum Electronics* **26**, 760 (1990).
- [22] A. Nag, A. K. De, and D. Goswami, *Journal of Physics B: Atomic, Molecular and Optical Physics* **42**, 065103 (2009).
- [23] R. Sutherland, *Handbook of Nonlinear Optics*, Optical Science and Engineering (Taylor & Francis, 2003).
- [24] Hamamatsu, (1999).
- [25] J. R. Lakowicz, «Quenching of fluorescence,» in *Principles of Fluorescence Spectroscopy* (Springer US, Boston, MA, 1983) pp. 257–301.

Firma de la Asesora: _____