



CENTRO DE INVESTIGACIONES
EN ÓPTICA, A.C.

“IMPLEMENTACIÓN DE UN SISTEMA DE CONVERSIÓN ASCENDENTE DE FLUORESCENCIA Y DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD CON OSCILADORES DE FS”



Tesis que para obtener el grado de Maestro en Ciencias (Óptica)

Presenta: José Guadalupe Limas González

Director de Tesis: Dr. Gabriel Ramos Ortiz

*Versión Definitiva. Incluye
cambios sugeridos por revisores*

*León · Guanajuato · México
Abril de 2024*

A mi familia y amigos

Agradecimientos

A mi familia; por todo el apoyo y cariño que me han mostrado a lo largo de mi vida, y cuyo sacrificio me ha permitido superarme día con día.

A mis mejores amigos; por el aliento y la motivación, por estar ahí en los momentos complicados y en los momentos de alegría.

A mi asesor de tesis Dr. Gabriel Ramos Ortíz y al Dr. Sergio Augusto Romero Servín, por encaminar mi proceso de aprendizaje, por la paciencia, los consejos técnicos y las charlas informales.

Al Dr. Ramón Carriles Jaimes, al M. O. Diego Torres Armenta y al Dr. Roberto Ramírez Alarcón por el apoyo en la parte experimental y de software del proyecto de tesis.

A la Dra. Marisol Güizado Rodríguez y al Dr. Joanatan Rodríguez Rea de la UAEM por facilitar el polímero PHB usado para realizar las debidas pruebas presentadas en esta tesis. De la misma forma se agradece al Dr. Mikhail Zolotukhin por facilitar el polímero PF para los mismos propósitos.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) y al Centro de Investigaciones en Óptica, A. C. (CIO) un agradecimiento cordial por su apoyo y patrocinio para la realización de este proyecto de tesis.

Resumen

La determinación de la duración de los tiempos característicos de diversos procesos fotofísicos juega un papel importante en el desarrollo de nuevos materiales que son utilizados en el área de la fotónica, biofotónica y aplicaciones biomédicas, optoelectrónica así como en la industria; esta caracterización es útil especialmente para rediseñar los materiales a nivel molecular y la optimización de su función. A pesar de la gran cantidad de técnicas existentes basadas en electrónica para medir la dinámica de procesos fotofísicos, la mayoría de éstas no presentan una resolución temporal directa y amplia, pues muchos de los procesos fotofísicos tienen una duración temporal rápida, en escalas de tiempo de picosegundos y subpicosegundos. Con la finalidad de evitar las limitaciones impuestas intrínsecamente por la electrónica, se puede hacer uso de técnicas basadas en procesos ópticos no-lineales. En particular, la técnica de conversión ascendente de luminiscencia está basada en un efecto no-lineal de segundo orden y brinda una resolución temporal considerable, que permite determinar la vida media de estados excitados en un material, con la ventaja de ser una técnica no solo de alta resolución temporal sino también libre de ruido de fondo.

En este trabajo se presenta la construcción de un sistema que permite medir los tiempos de vida media de estados excitados de

moléculas luminiscentes por medio de conversión ascendente de fluorescencia; el mecanismo de funcionamiento del sistema es el siguiente: un pulso de fluorescencia generado por un pulso óptico ultracorto es correlacionado ópticamente en un medio no lineal con un pulso óptico ultracorto conocido. La correlación se realiza en función del tiempo de retardo entre pulsos. Más concretamente, en esta tesis se hace el montaje de un sistema que usa un cristal de BBO ($\beta\text{BaB}_2\text{O}_4$) tipo I para generar la suma de frecuencias de un pulso de fluorescencia y un pulso compuerta de femtosegundos, lo que da lugar a una resolución igual a la duración del pulso. Una de las metas de este trabajo es evaluar el nivel de sensibilidad que se puede alcanzar con el arreglo propuesto usando pulsos de fs de baja energía y alta frecuencia de repetición, para así establecer las intensidades de fluorescencia mínima producidas por una muestra para poder generar conversión ascendente de fluorescencia. En ese sentido, en este trabajo se presentan los resultados de sensibilidad y reproducibilidad del sistema; para ello con dicho sistema se implementaron las técnicas de autocorrelación de intensidad de generación de segundo armónico (SHG por sus siglas en inglés) y correlación cruzada de intensidad vía generación de suma de frecuencia (SFG por sus siglas en inglés). Mediante esta metodología que permite analizar la resolución espectral y temporal del arreglo óptico, se determinó la intensidad mínima necesaria de los pulsos correlacionados en el cristal BBO tipo I para generar los procesos no-lineales de segundo orden. Para la implementación de este sistema y la determinación de la sensibilidad se usaron dos osciladores láser de fs con diferentes potencias de salida y rangos de sintonía como fuente del haz fundamental y se desarrollaron varias interfases y rutinas de control por software de: i) plataformas de desplazamiento (líneas de retardo óptico); ii)

monocromador óptico; iii) osciloscopio; iv) amplificador de amarre de fase (Lock-In). Como parte de los resultados de este trabajo, se obtuvo un valor mínimo de sensibilidad de detección para la intensidad mínima requerida de radiación coherente a correlacionar. El valor de sensibilidad obtenido para el sistema fue de $0.7 \pm 0.15 \mu\text{W}$.

Índice general

Introducción	1
1. Luminiscencia en los materiales	8
1.1. Diagrama de Jablonski	10
1.2. Tiempos de vida de fluorescencia	14
1.3. Medición de fluorescencia en el estado estacionario y resuelta en tiempo	16
2. Óptica no-lineal	20
2.1. Susceptibilidad no-lineal de segundo orden	22
2.2. Generación de suma de frecuencias	25
2.2.1. Empatamiento de fase	26
2.2.2. Ajuste del ángulo	30
2.3. Generación de segundo armónico (SHG)	31
3. Espectroscopía ultrarrápida por conversión ascendente de fluorescencia	34
3.1. Principios básicos de conversión ascendente de fluorescencia	37
3.2. Ángulo de empatamiento de fase	40
3.3. Ancho de banda espectral	44
3.4. Eficiencia de conversión ascendente	45

3.5. Ángulo de aceptación	46
3.6. Desajuste de velocidad de grupo y polarización	47
4. Desarrollo experimental	49
4.1. Características del sistema óptico	49
4.2. Consideraciones experimentales	52
5. Análisis y discusión de resultados	68
5.1. Resultados de pruebas de reproducibilidad del sistema de adquisición de datos y movimiento de etapa de traslación	68
5.1.1. Etapa de traslación 1	70
5.1.2. Etapa de traslación 2	76
5.1.3. Resultado de prueba del sistema Monocromador-Amplificador Lock-In	84
5.2. Resultados de sensibilidad del sistema de adquisición de datos y movimiento de etapa de traslación	87
5.3. Conclusiones generales del sistema de conversión ascendente	98
A. Código y adquisición de datos	104
A.1. programa de control de etapa trasladora y adquisición de datos.	106
A.2. Programa de control de monocromador-Lock-In.	109
B. Caracterización del pulso láser ultrarrápido	113
B.1. Método de la navaja	114
B.2. Autocorrelación de intensidad	120

Índice de cuadros

1.	Características de osciladores láser de fs	6
2.1.	Fenómenos no-lineales de segundo orden	24
2.2.	Empatamiento de fase tipo I y II para cristales uniaxiales	30
4.1.	Estructura molecular, eficiencia cuántica y estimaciones experimentales de las moléculas de prueba	59
4.2.	Ángulos de empatamiento de fase	60
5.1.	Características de etapas de traslación	70
5.2.	Duración de pulsos medidos con la etapa de traslación 1	76
5.3.	Duración de pulsos medidos con la etapa de traslación 2	84
5.4.	Comparación de longitudes de onda máxima de espectros medidos con el sistema implementado y equipo comercial	87

Índice de figuras

1.	Esquema de fotólisis con lámpara de destellos	2
2.	Esquema de TCSPC.	3
3.	Principio de operación de la cámara de destello	4
1.1.	Orientación de espín en estados singuletes y tripletes excitados	9
1.2.	Diagrama de Jablonski	11
1.3.	Imagen espejo de Rodamina 6G	13
1.4.	Tiempos de vida y rendimiento cuántico	14
1.5.	Diagrama de Jablonski de FRET	17
1.6.	Evolución temporal de la fluorescencia	19
2.1.	SFG colineal	27
2.2.	Eficiencia de la SFG	29
2.3.	Empatamiento de fase tipo I y II en cristales uniaxiales negativos	30
2.4.	Geometría de SHG	32
2.5.	Geometría del ajuste del ángulo para SHG	33
3.1.	Obturador Kerr Óptico	36
3.2.	Diagrama de conversión ascendente	38
3.3.	Diagrama experimental de conversión ascendente	40

3.4.	Curvas de índices ordinario y extraordinario para BBO .	42
3.5.	Relación de ángulos en la propagación de un haz dentro de un cristal BBO	43
3.6.	Empatamiento de fase tipo I y II para $n_e < n_o$	48
4.1.	Sistema de conversión ascendente de fluorescencia	51
4.2.	Espectros de emisión de las moléculas de prueba	55
4.3.	Espectros normalizados de absorción de moléculas de prueba	58
4.4.	Búsqueda de la señal de SFG con PF usando el láser Tsunami	62
4.5.	Respuesta espectral típica del foto-multiplicador R7400U-20	64
4.6.	Porcentaje transmisión del filtro pasabandas FGUV11 .	66
4.7.	Correlador cruzado de intensidad	67
5.1.	Imágenes de etapas de traslación	69
5.2.	Trazo de autocorrelación para un tren de pulsos cortos emitidos por el láser Tsunami y Chameleon	71
5.3.	Pruebas de reproducibilidad de etapa de traslación 1 . .	72
5.4.	Reproducibilidad del valor de $\Delta\tau_A^{FWHM}$ en trazo de autocorrelación	74
5.5.	Reproducibilidad del valor de $\Delta\tau_A^{FWHM}$ en trazo de autocorrelación	75
5.6.	Reproducibilidad del sistema de adquisición de datos y etapa de traslación	77
5.7.	Reproducibilidad del sistema usando el método de la navaja	78
5.8.	Determinación de la cintura mínima del haz enfocado emitido por el láser Tsunami	79

5.9. Trazo de autocorrelación para un tren de pulsos cortos emitidos por el láser Tsunami y Chameleon	80
5.10. Reproducibilidad del sistema de adquisición de datos y etapa de traslación implementando el experimento de autocorrelación.	81
5.11. Variación de la duración del pulso de autocorrelación con el láser Chameleon	82
5.12. Variación de la duración promedio del pulso implementando Autocorrelación	83
5.13. Fluorescencia de PHB medida con un sistema implementado y comercial	85
5.14. Fluorescencia de muestras de prueba medida con el sistema implementado y comercial	86
5.15. Curvas de variación de la intensidad de SHG	90
5.16. Espectro de señal SHG con el mínimo de potencia.	91
5.17. Eficiencia de conversión a $\lambda_{SHG} = 350$ nm	92
5.18. Resolución espectral de SHG no-colineal a $\lambda_{SHG} = 350$ nm	93
5.19. Resolución espacio-temporal de SFG	95
5.20. Espectros de señal de SFG de 300 a 330 nm	96
5.21. Curva de intensidad de SFG a $\lambda_S=330$ nm	98
A.1. Máquina de estados	106
A.2. Pantalla principal	108
A.3. Pantalla principal	109
A.4. Máquina de estados	110
A.5. Rutina de inicialización	110
A.6. Panel frontal del programa para controlar el monocromador-Amplificador Lock-In	112
B.1. Método de la navaja	114

B.2. Obstrucción del haz en la dirección x	115
B.3. Transmitancias a través del método de la navaja	116
B.4. Evolución de la cintura de un haz enfocado	120
B.5. Autocorrelador de intensidad	122
B.6. Trazo de autocorrelación (Chameleon Ultra, Coherent) .	124

Introducción

En el presente, la luminiscencia es un proceso fotofísico en el que está basado el funcionamiento de diversos dispositivos optoelectrónicos, diseñando su arquitectura y usar plenamente excitones singulete y triplete para conversión de energía [1] así como de diversas técnicas de utilidad en biotecnología, citometría de flujo, diagnóstico médico, secuenciación de ADN, medicina forense, análisis genético, al medir la fluorescencia asociada a células que han sido previamente marcadas con algún fluoróforo [2] y sensores químicos con el estudio de por ejemplo, fluorescencia mejorada inducida por quelación (CHEF, por sus siglas en inglés) [3]. Al caracterizar de forma temporal a la luminiscencia es posible determinar el tiempo de vida media y la dinámica de estados excitados involucrados en la emisión de luminiscencia de un material, permitiendo por ejemplo rediseñar los sistemas moleculares para potencializar las aplicaciones mencionadas. En concreto, la fluorescencia es un caso particular de luminiscencia en donde los estados electrónicos excitados se generan de forma óptica.

Métodos de resolución temporal

Ya que muchos procesos de fluorescencia ocurren en escalas de

tiempo de picosegundos y sub-picosegundos, es necesario contar con técnicas espectroscópicas de alta resolución temporal para poder estudiarlos.

Fotólisis con lámpara de destellos.

Es una técnica en la que una muestra es excitada mediante un pulso láser de *bombeo* proveniente de un láser pulsado con una duración de nanosegundos, picosegundos o femtosegundos, o con otra fuente de luz de pulso corto, como una lámpara de destello (Fig. 1). Dicho pulso genera una reacción química o el aumento de la población de estados excitados en la muestra; esta absorción de luz por parte de la muestra es registrada en intervalos de tiempo cortos mediante pulsos de *prueba*, monitoreando los procesos de relajación iniciados por el pulso de *bombeo* con una resolución temporal en el rango de nanosegundos [4].

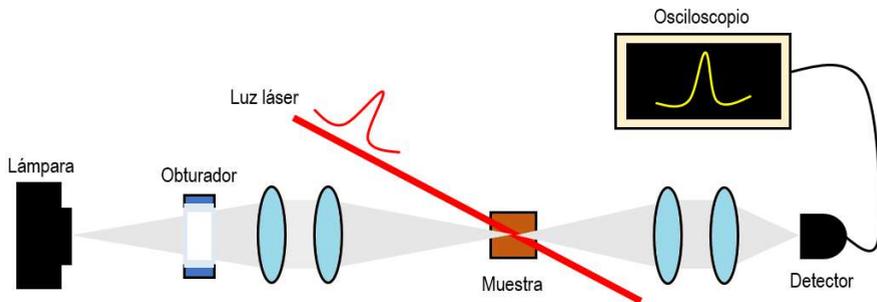


Figura 1. Esquema experimental de fotólisis con lámpara de destellos.

Recuento de fotones individuales correlacionados en el tiempo.

El recuento de fotones individuales correlacionados en el tiempo (*TCSPC* por sus siglas en inglés) es una técnica ampliamente usada, desarrollada para mediciones de resolución temporal de fluorescencia en la escala temporal de sub-nanosegundos. Se caracteriza por su alta sensibilidad, proporcionando resolución temporal por abajo de unos pocos ps. El principio se basa en que la probabilidad de detectar un solo fotón en un momento t después de un pulso de excitación, es proporcional a la intensidad de fluorescencia en ese momento. Después de cronometrar y registrar los fotones individuales al término de un número grande de pulsos de excitación, se reconstruye un histograma de disminución de fluorescencia, alcanzando una resolución en escala de ps a $100 \mu s$ [5]. En la figura 2 se muestra un esquema de la electrónica involucrada en esta técnica.

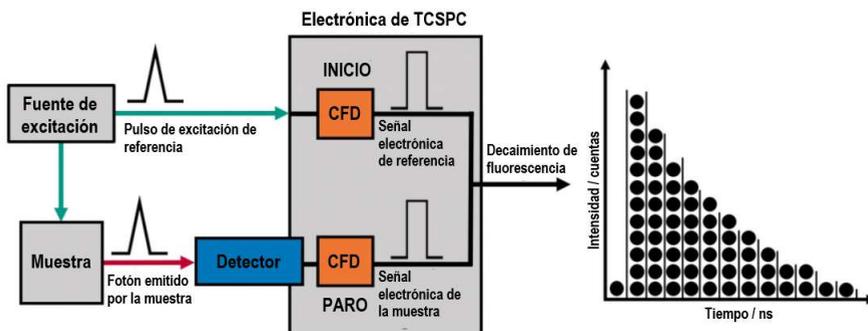


Figura 2. Esquema simplificado de TCSPC [6].

Cámara de destello.

La cámara de destello (*streak camera*) es un dispositivo desarrollado originalmente para medir pulsos de luz potentes, comúnmente generados por láseres pulsados. Actualmente existen cámaras de destello desarrolladas para mediciones de decadencia de emisiones,

capaces de detectar intensidades de luz bajas.

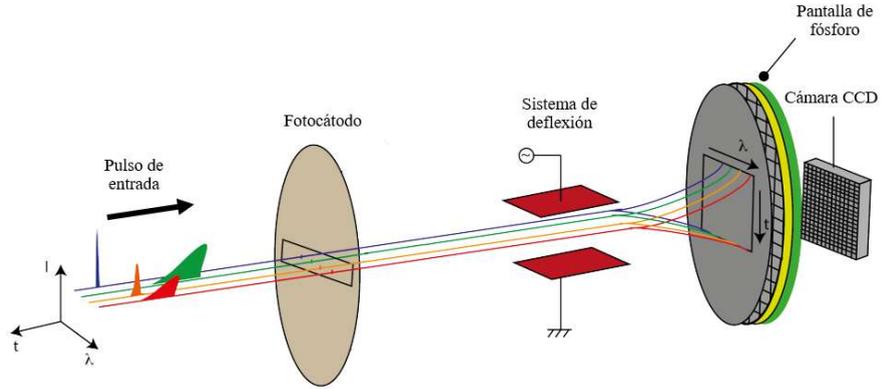


Figura 3. Principio de operación de la cámara de destello [7].

En la figura 3 se muestra el principio de operación de este dispositivo. Un flujo de fotones correspondiente a la señal que se va registrar es convertido en fotoelectrones mediante un fotocátodo. Dichos fotoelectrones son acelerados por un campo eléctrico para pasar a un sistema de deflexión alimentado por un voltaje de barrido para desviar el haz de electrones a través de una pantalla de fósforo. El haz de electrones barrido produce una curva de emisión en la pantalla que puede leerse con un detector CCD, convirtiendo así la dependencia temporal en espacial. Es posible reconstruir la evolución espacio-temporal de la emisión en un solo pulso de excitación, pues la luz entrante al dispositivo se puede recolectar espectralmente en dirección perpendicular a la dirección de barrido del fotocátodo. En cuanto a resolución temporal, las cámaras de destello diseñadas para aplicaciones en espectroscopía alcanzan unas pocas decenas de ps, aunque para instrumentos más sofisticados la resolución temporal puede llegar a ser de 200 fs [8].

A escala de resolución de fs, estas técnicas se vuelven costosas, además dificultan el mantenimiento del sistema y la reproducibilidad en mediciones de muestras sensibles. El surgimiento de la tecnología de luz pulsada ultrarrápida con pulsos de 100 fs de duración o más cortos, ha promovido el desarrollo de técnicas de muestreo láser no lineales que permiten obtener una resolución en tiempo igual al ancho del pulso láser de excitación [9]. Una de estas técnicas fue reportada por primera vez en 1975 [10], basada en un fenómeno óptico conocido como generación de suma/diferencia de frecuencia de luz en un cristal óptico no-lineal; en este proceso, cuando la señal resultante proviene de la suma o la diferencia en frecuencia de la fluorescencia y un pulso de prueba, la técnica se conoce como “conversión ascendente” o “conversión descendente” de fluorescencia respectivamente [11].

En el Centro de Investigaciones en Óptica, A. C. (CIO) se ha venido desarrollando un espectrómetro de absorción transiente con resolución de decenas de fs [12], el cual es útil para el estudio de la dinámica de estados excitados en materiales fotónicos [13] y se encuentra en el Laboratorio de Óptica Ultrarrápida (LOU). En el espectrómetro de absorción transiente, la dinámica de estados excitados se estudia midiendo cambios en la absorción después de que la muestra bajo estudio es excitada ópticamente. Sin embargo, en el CIO no se cuenta con un sistema de igual resolución temporal para procesos de luminiscencia. Es preciso señalar que aunque no se cuenta con esta técnica, se tiene la infraestructura para implementarla, ya sea usando el amplificador paramétrico del LOU o con alguno de los osciladores láser. Así, por ejemplo, en el Laboratorio de Óptica no Lineal y Fotofísica se cuenta con el oscilador Tsunami, de Spectra

Physics; por otro lado, en el Laboratorio de Microscopía Óptica se cuenta con el oscilador Chameleon Vision I, de Coherent.

Especificaciones del sistema	Tsunami	Chameleon Vision I
Rango de sintonización (nm)	750 - 830	690 - 1040
Potencia promedio (mW)	< 700	> 2500
Tasa de repetición (MHz)	80	80
Ancho de pulso (fs)	< 100	> 140
Diámetro del haz (mm)	2	1.2 ± 0.2
Potencia pico (kW)	87.5	223.21
Energía por pulso (nJ)	8.75	31.25
Densidad de energía ($\mu\text{J}/\text{cm}^2$)	0.57	5.57

Cuadro 1. Características de osciladores láser de fs.

En el presente trabajo se plantea construir un sistema de conversión ascendente de fluorescencia y evaluar las condiciones de sensibilidad obtenidas al usarlo con estos osciladores láser de femtosegundos. Para ello se busca aprovechar los dos osciladores con los que se cuenta en el CIO y cuyas especificaciones técnicas se presentan en el Cuadro 1. Por ejemplo, dada la amplia sintonización de la longitud de onda y alta potencia del oscilador Chameleon es posible realizar el experimento de correlación cruzada de intensidad a partir del proceso de generación de suma de frecuencias no colineal, cuya longitud de onda resultante cae en el rango de 300 a 330 nm, de acuerdo con el rango de longitudes de onda máxima del haz de fluorescencia de cada muestra de prueba que se correlaciona con un haz compuerta con longitud de onda en el infrarrojo. Por otra parte, el uso del oscilador Tsunami, aunque es de menor sintonía espectral y potencia, se caracteriza por emitir un pulso

más corto, lo cual favorece la intensidad de los procesos no lineales.

Capítulo 1

Luminiscencia en los materiales

Se conoce como luminiscencia a la emisión de luz producida por la relajación radiativa de los estados excitados de un material; existen varios mecanismos para producirla, como lo son la electro-luminiscencia, quimio-luminiscencia, termo-luminiscencia, mecano-luminiscencia y foto-luminiscencia. Se conoce como foto-luminiscencia a la producción de estados excitados a partir de la absorción de radiación por la materia; esta luminiscencia se divide en dos categorías, según la naturaleza del estado excitado es nombrada fluorescencia o fosforescencia, que se asocian al tipo de estado excitado y el tiempo de vida promedio característico.

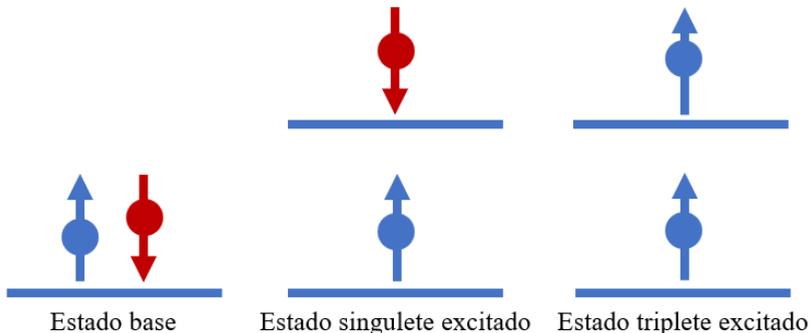


Figura 1.1. Orientación de espín en estados singletes y tripletes excitados, como producto se tiene la fluorescencia y fosforescencia respectivamente.

La fluorescencia consiste en la emisión de un fotón a partir de la relajación radiativa de estados excitados tipo singlete. Por definición, en un estado singlete un electrón está emparejado por espín opuesto con un segundo electrón en el estado base (Fig. 1.1), los relajamientos energéticos entre estados singlete excitado y un estado basal son permitidos de acuerdo a reglas de paridad, proceso que ocurre rápidamente, las tasas de emisión son de aproximadamente 10^8 s^{-1} hasta 10^{13} s^{-1} [14]; la medición de este tipo de emisión requiere de una óptica y electrónica sofisticada de alta resolución temporal; su resolución en tiempo es usada ampliamente para información detallada de la dinámica de estados excitados, y en general, del proceso fotofísico y los parámetros que lo afectan. En ocasiones, esta información es complementaria a la obtenida con espectroscopía estacionaria, aunque esto signifique un grado de complejidad mayor, sin embargo, la tecnología ha permitido facilitar las mediciones con resolución temporal.

Por otro lado, el fenómeno de fosforescencia es la emisión de luz

producida por decaimientos radiativos de estados excitados tipo triplete a un estado singlete basal (Fig. 1.1), donde el electrón del orbital excitado y el electrón del estado fundamental poseen la misma orientación de espín; este tipo de transiciones al estado fundamental están prohibidas, por lo que sus tasas de emisión son del orden de 10^3 a 10 s^{-1} , siendo la vida media de la fosforescencia del orden de los milisegundos a segundos.

1.1. Diagrama de Jablonski

La fluorescencia y la fosforescencia se ilustran con el diagrama de Jablonski (Fig. 1.2), donde pueden observarse los distintos procesos que ocurren durante la interacción radiación-materia y sus tiempos característicos de duración; el proceso empieza con la absorción de un fotón, llevando a la molécula desde el estado base a algún estado excitado, es decir que posee más energía que en su estado usual; al cabo de un tiempo esta energía extra es liberada, así la molécula regresa a su estado base; en este proceso se presentan diferentes mecanismos, entre ellos la conversión interna, fluorescencia, fosforescencia, cruce entre sistemas, etc.

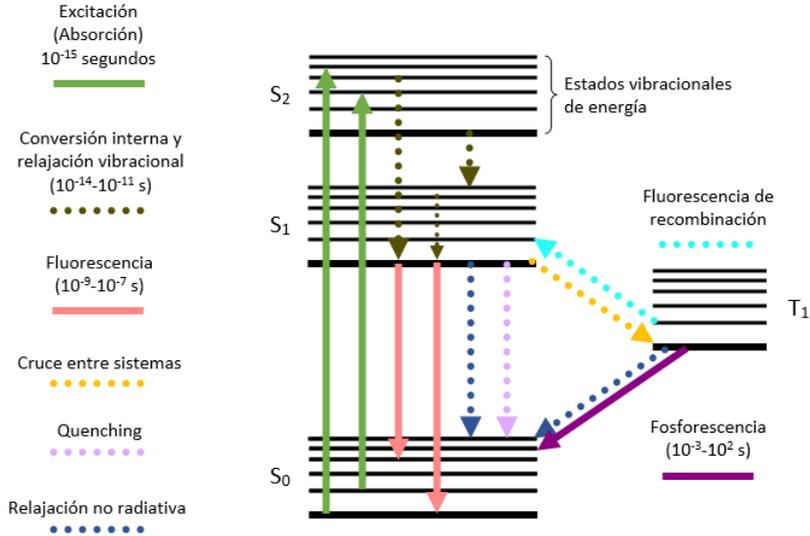


Figura 1.2. Diagrama de Jablonski con diferentes procesos de transición de energía.

En la Figura 1.2 se presentan el estado base y algunos estados excitados (energía incrementando de abajo hacia arriba) y ordenados de izquierda a derecha por multiplicidad de espín los estados singulete y triplete (S_n y T_n respectivamente). Se muestran además los estados vibracionales de cada estado electrónico, donde las líneas gruesas representan los diferentes estados electrónicos y con líneas delgadas los niveles vibracionales de cada estado electrónico; las líneas verticales rectas que apuntan hacia arriba ilustran transiciones a estados más altos, las líneas que apuntan hacia abajo muestran decaimientos radiativos (luminiscencia) y las líneas punteadas muestran decaimientos no radiativos y la extinción de fluorescencia o quenching, denominada como la disminución de la intensidad de fluorescencia debido a procesos como transferencia de energía en la interacción entre

una molécula “extintora” o quencher y un fluoróforo.

El diagrama de Jablonski es usado en una variedad de formas, ilustrando así diferentes procesos moleculares que pueden presentarse en estados excitados [2]. La fluorescencia solo puede lograrse con excitación óptica, pues la excitación térmica no es suficiente para poblar de forma significativa los estados vibracionales excitados, es decir, para superar la banda prohibida en una molécula. De acuerdo al diagrama de Jablonski, la absorción y la emisión se producen principalmente a partir de moléculas con transiciones de los modos vibracionales de la energía más baja posible. Por ejemplo, un fluoróforo (material fluorescente) normalmente es excitado a uno de los niveles vibracionales de los estados electrónicos S_1 o S_2 ; después de la excitación, ocurre un proceso de relajación no radiativo hasta el nivel vibracional más bajo de S_1 conocido como conversión interna, con una duración de aproximadamente 10^{-12} s o menos, completándose antes de la emisión por fluorescencia, por lo tanto, la fluorescencia se produce en el mayor de los casos desde el estado de energía vibracional más bajo de S_1 .

Generalmente, el retorno al estado base ocurre a un nivel de estado base vibracional más alto que rápidamente alcanza el equilibrio térmico; una consecuencia de esto es que el espectro de emisión suele ser una imagen espejo del espectro de absorción de la transición $S_0 \rightarrow S_1$; este efecto ocurre porque la excitación electrónica no altera la geometría nuclear de la molécula, por ende el espaciamiento que existe entre los niveles de energía vibracional de los estados excitados y los del estado base es similar, propiciando la similitud de las estructuras vibracionales observadas en los espectros de absorción y emisión (Fig. 1.3).

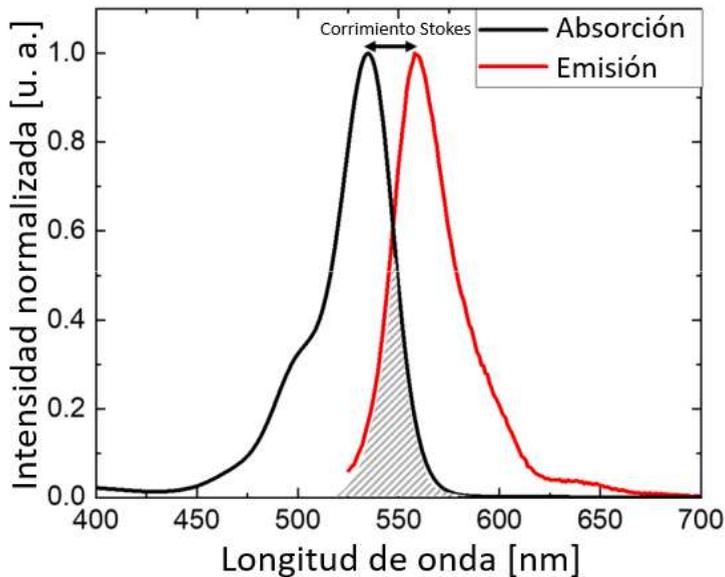


Figura 1.3. Imagen espejo observada en espectros de absorción y emisión de Rodamina 6G [15].

Las moléculas en el estado S_1 pueden sufrir una conversión de espín al primer estado triplete T_1 llamada cruce entre sistemas; la emisión que ocurre desde T_1 se denomina fosforescencia, y dado que la transición de este estado al estado fundamental de singulete está prohibida, las tasas de decaimiento por emisión a partir de estados triplete son varios órdenes de magnitud menores en comparación con las de fluorescencia; normalmente la emisión de fosforescencia se desplaza a longitudes de onda con menor energía comparado con la fluorescencia.

1.2. Tiempos de vida de fluorescencia

Las características más importantes de un fluoróforo son la energía a la que puede ser excitado y la energía de emisión, así como el tiempo de vida de fluorescencia y el rendimiento cuántico de fluorescencia, parámetros que se pueden obtener ya sea para un ensamble de moléculas o a nivel de una sola molécula [8]. Se le denomina rendimiento cuántico a la relación del número de fotones que son emitidos entre el número de fotones absorbidos. Las sustancias como las rodaminas poseen mayores rendimientos cuánticos (~ 1) presentando así emisiones más brillantes; el tiempo de vida determina el lapso temporal disponible para que el fluoróforo en su estado excitado interactúe o se difunda en su entorno y por tanto, la información disponible de su emisión [2].

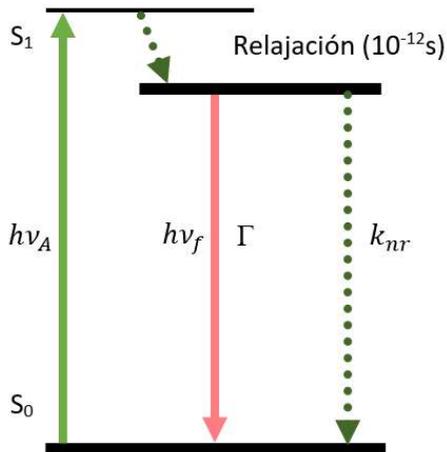


Figura 1.4. Diagrama de Jablonski para ilustrar tiempos de vida y rendimiento cuántico.

En la Figura 1.4 se presenta el diagrama de Jablonski simplificado, en el cual se ilustran los procesos responsables del retorno al estado fundamental en el proceso de absorción y emisión; en particular se muestran la tasa de emisión del fluoróforo (Γ) y la tasa de decaimiento no radiativo al estado base (k_{nr}) al despoblarse el estado excitado. La relación de fluoróforos que se relajan energéticamente por emisión está dado por el rendimiento cuántico Q que se expresa como

$$Q = \frac{\Gamma}{\Gamma + k_{nr}} \quad (1.1)$$

El rendimiento cuántico puede aproximarse a la unidad si la tasa de decaimiento no radiativo k_{nr} es mucho menor que la tasa de decaimiento Γ , esto para el caso en que la emisión por fosforescencia sea despreciable; para el caso general, el rendimiento cuántico suele ser menor que 1 a causa de las pérdidas de Stokes (diferencia entre las posiciones de los máximos de banda de los espectros de absorción y emisión de la misma transición electrónica); cabe señalar que k_{nr} representa todos los mecanismos de transición no radiativa posibles. El tiempo de vida de un estado excitado se define como el tiempo promedio que la molécula permanece en el estado excitado antes de volver al estado base. Para la ilustración de la Figura 1.4 el tiempo de vida es

$$\tau = \frac{1}{\Gamma + k_{nr}} \quad (1.2)$$

El tiempo de vida es un valor promedio de tiempo de permanencia en el estado excitado, dado que la emisión de fluorescencia es un proceso aleatorio y pocas moléculas emiten fotones en el tiempo $t = \tau$.

1.3. Medición de fluorescencia en el estado estacionario y resuelta en tiempo

Generalmente las mediciones de fluorescencia se clasifican en dos: Las mediciones de estado estacionario las cuales se realizan con iluminación y observación constante, ya que la muestra se ilumina con un haz de luz de onda continua, como resultado se obtiene el espectro de emisión; cuando la muestra a analizar se expone por primera vez a la luz, el estado estacionario se alcanza casi instantáneamente, esto debido a la escala de tiempo de fluorescencia (ns). El otro tipo de medición se denomina de resolución en el tiempo, pues se utiliza para medir decaimientos de intensidad o de anisotropía [2]; el tipo de luz al que se expone la muestra es pulsada, cuyo ancho temporal del pulso es mucho menor que el tiempo de duración de la fluorescencia en la muestra; este decaimiento de intensidad de fluorescencia se obtiene con un sistema de medición ultrarrápido, resolviendo a escalas de tiempo de fs.

Las mediciones de fluorescencia en estado estacionario comparadas con mediciones de resolución en tiempo son simples, esto se debe a la instrumentación más compleja para la resolución en tiempo. En la espectroscopía de emisión estacionaria, la mayoría de la información sobre la fotofísica del proceso de la fluorescencia se pierde; un ejemplo de esto son las propiedades de anisotropía [2] de macromoléculas fluorescentes, siendo más complejas que solo una exponencial, la cual contiene información sobre la macromolécula y su flexibilidad o rigidez estructural. Los decaimientos en intensidad de fluorescencia también contienen información sobre la conformación de macromoléculas, pues estas pueden existir en más de una conformación durante el proceso de fluorescencia, y el tiempo de decaimiento puede depender de esta

conformación; el decaimiento de la intensidad podría revelar dos tiempos de decaimiento y por ende, la presencia de más de un estado de conformación.

Existen diferentes razones adicionales para resolver en el tiempo la fluorescencia; algunas de ellas de importancia para aplicaciones tecnológicas, como por ejemplo el efecto de transferencia resonante de energía de Förster (FRET, por sus siglas en inglés), donde la evolución de la intensidad de fluorescencia revela la forma en la que se distribuyen e interactúan los aceptores alrededor de los donantes [16]; la mediciones en tiempo revelan si la extinción es debida a un proceso difusivo o a la formación de nuevos complejos con los fluoróforos en el estado base (Fig 1.5).

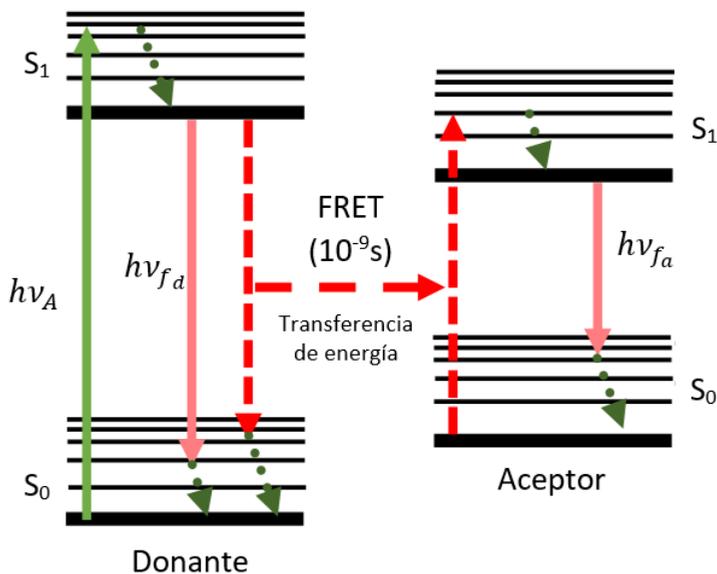


Figura 1.5. Diagrama de Jablonski simplificado para mostrar el mecanismo de transferencia resonante de energía de Förster.

En general, el comportamiento de una población excitada de fluoróforos se describe por una tasa de cambio que contiene la emisión de fluorescencia y procesos no radiativos de la forma [17]

$$\frac{dn}{dt} = -(\Gamma + k_{nr})n(t) \quad (1.3)$$

donde n es el número de elementos excitados a un tiempo t , Γ es la constante de emisión, k_{nr} es la constante de procesos no-radiativos ; la ecuación (1.3) resulta

$$\frac{dn}{dt} = n_0 e^{-t/\tau} \quad (1.4)$$

con $\tau = (\Gamma + k_{nr})^{-1}$, el tiempo de vida de fluorescencia. Si la población de fluoróforos se excita, el tiempo de vida es el tiempo que tardan las moléculas excitadas en decaer hasta $1/e$ o el 36,8% (Fig. 1.6) de la población original de acuerdo con

$$\frac{n(t)}{n_0} = e^{-t/\tau} \quad (1.5)$$

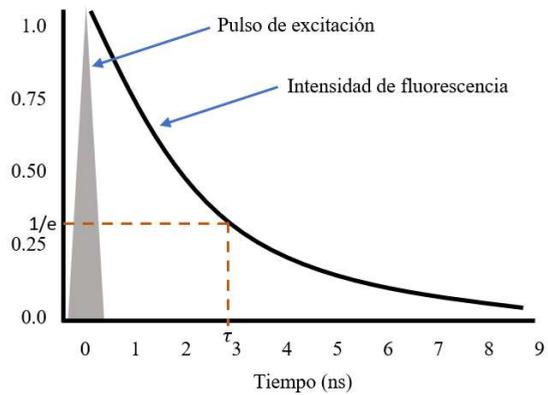


Figura 1.6. Representación gráfica del decaimiento de intensidad, mostrando un pulso de excitación corto y una señal de fluorescencia.

Capítulo 2

Óptica no-lineal

La óptica no-lineal es el estudio, análisis y descripción de los fenómenos que ocurren como consecuencia de la modificación de las propiedades ópticas de un sistema material por la presencia de luz [18]; en general, las propiedades ópticas no-lineales de un material solo pueden ser modificadas por radiación electromagnética intensa. Este campo de la óptica comenzó con el descubrimiento de la generación de segundo armónico [19], tiempo después de la demostración del primer láser funcional por Maiman en 1960 [20].

Se considera como un “fenómeno óptico no-lineal” a la respuesta de un material ante un campo electromagnético aplicado. El proceso ocurre a partir de que un campo provoca un reordenamiento en la distribución de carga del medio con el que interacciona, como consecuencia ocurren cambios en las propiedades ópticas del medio. La aproximación dipolar, que es equivalente a suponer que el campo electromagnético es uniforme sobre una región que es grande en comparación con el tamaño del átomo, es la primera descripción para este reordenamiento. Los campos electromagnéticos aplicados a la

materia producen la redistribución de densidad de carga. En el caso de medios dieléctricos, este efecto se denota como polarización; los dipolos inducidos en el medio se orientan en la dirección del campo eléctrico aplicado, efecto descubierto por Faraday [21] al introducir un medio dieléctrico entre las placas de un capacitor. Considerando el campo eléctrico que interacciona con el medio y la contribución del campo debido a la polarización se tiene la función de desplazamiento eléctrico $\mathbf{D} = \epsilon_0 \mathbf{E} + \mathbf{P}$, con ϵ_0 la permitividad eléctrica en el vacío, \mathbf{E} el campo eléctrico y \mathbf{P} la polarización; si consideramos esta relación en las ecuaciones de Maxwell, obtenemos la ecuación de onda para un medio sin magnetización, eléctricamente neutro, no conductor, es decir, no existen cargas libres ni densidad de corriente libre en el medio:

$$\nabla^2 \mathbf{E} - \epsilon_0 \mu_0 \partial_t^2 \mathbf{E} = \mu_0 \partial_t^2 \mathbf{P} \quad (2.1)$$

donde μ_0 es la permeabilidad magnética del vacío. En el caso de la respuesta óptica lineal, y asumiendo procesos de interacción instantáneos, la polarización inducida depende de la amplitud del campo eléctrico de la forma

$$P(t) = \epsilon_0 \chi^{(1)} E(t) \quad (2.2)$$

con $\chi^{(1)}$ la constante de proporcionalidad de primer orden conocida como la susceptibilidad lineal; en óptica no-lineal, la respuesta óptica de un material suele describirse como una generalización de la ecuación (2.2), expresando a la polarización $P(t)$ como una serie de potencias en función del campo $E(t)$ como

$$P(t) = \epsilon_0 [\chi^{(1)} E(t) + \chi^{(2)} E^2(t) + \chi^{(3)} E^3(t) + \dots] \quad (2.3)$$

con $\chi^{(2)}$ y $\chi^{(3)}$ conocidas como las susceptibilidades no-lineales de

segundo y tercer orden, respectivamente; se debe tener en cuenta que en el caso general, el campo $E(t)$ es un campo vectorial y por la ec. (2.2) $P(t)$ también lo es, de modo que $\chi^{(1)}$, $\chi^{(2)}$ y $\chi^{(3)}$ son tensores de rango 2, 3 y 4 respectivamente [18].

La forma general (vectorial) de la polarización de primer y segundo orden son respectivamente

$$P_i^{(1)} = \epsilon_0 \sum_j \chi_{ij}^{(1)} E_j \quad (2.4)$$

$$P_i^{(2)}(\omega_n + \omega_m) = \epsilon_0 \sum_{jk} \sum_{nm} \chi_{ijk}^{(2)}(\omega_n + \omega_m, \omega_n, \omega_m) E_j(\omega_n) E_k(\omega_m) \quad (2.5)$$

donde i es el i -ésimo término de la coordenada espacial, en coordenadas cartesianas $i = x, y, z$; j y k es el j, k -ésimo término del campo eléctrico $j, k = x, y, z$; los índices n y m representan las diferentes frecuencias a las que puede oscilar el campo eléctrico, en este caso para fenómenos de segundo orden, $n, m = 1, 2$. Para un medio isotrópico dieléctrico, solo hay un componente independiente con tres términos de susceptibilidad iguales y diferentes de cero.

2.1. Susceptibilidad no-lineal de segundo orden

El modelo utilizado que considera el efecto de polarización no-lineal en el medio describe fenómenos interesantes como la generación de segundo o tercer armónico óptico (SHG, THG por sus siglas en inglés, respectivamente), índice de refracción dependiente de la intensidad, suma y diferencia de frecuencias (SFG, DFG por sus siglas en inglés) etc. A manera de ilustración, y considerando una polarización no-lineal escalar de segundo orden $P^2(t)$ (ec. (2.3)) y un

campo eléctrico escalar compuesto de dos frecuencias de oscilación propagándose en la misma dirección (ω_1, ω_2)

$$E(t) = E_1 e^{-i\omega_1 t} + E_2 e^{-i\omega_2 t} + c.c. \quad (2.6)$$

Se tiene entonces que la polarización no-lineal de segundo orden resulta en:

$$\begin{aligned} P^{(2)}(t) = & \epsilon_0 \chi^{(2)} (E_1^2 e^{-2i\omega_1 t} + E_2^2 e^{-2i\omega_2 t} + 2E_1 E_2 e^{-i(\omega_1 + \omega_2)t} \\ & + 2E_1 E_2^* e^{-i(\omega_1 - \omega_2)t} + c.c.) + 2\epsilon_0 \chi^{(2)} (E_1 E_1^* + E_2 E_2^* + c.c.). \end{aligned} \quad (2.7)$$

De acuerdo al ejercicio ilustrativo denotado por la ecuación 2.6 y 2.8, la polarización no-lineal de segundo orden $P^{(2)}(t)$ da lugar a diferentes fenómenos cuya descripción se resumen en el Cuadro (2.1).

Proceso no-lineal	Polarización	Esquema energético
Segundo armónico	$P(2\omega_{1,2}) = \epsilon_0 \chi^{(2)} E_{1,2}^2$	
Suma de frecuencias	$P(\omega_1 + \omega_2) = 2\epsilon_0 \chi^{(2)} E_1 E_2$	
Diferencia de frecuencias	$P(\omega_1 - \omega_2) = 2\epsilon_0 \chi^{(2)} E_1 E_2^*$	
Rectificación óptica	$P(0) = 2\epsilon_0 \chi^{(2)} (E_1 E_1^* + E_2 E_2^*)$	

Cuadro 2.1. Fenómenos no-lineales de segundo orden; los diferentes diagramas muestran las transiciones energéticas producidos a partir de estados virtuales (líneas punteadas) a estados reales (línea continua).

Algunos de estos fenómenos ópticos requieren de al menos dos campos eléctricos diferentes, por ejemplo, cuando se tiene el caso de

dos fuentes de luz con diferentes frecuencias, sean ω_1 y ω_2 que inciden en un medio con susceptibilidad no-lineal no despreciable, el comportamiento dipolar y su oscilación en el medio genera una fuente de radiación a una frecuencia ω_3 , que puede ser generado por la suma de las frecuencias incidentes, o sea $\omega_3 = \omega_1 + \omega_2$; un caso particular de esta generación por suma de frecuencias ocurre cuando $\omega_1 = \omega_2$, la frecuencia de la emisión resultante es $\omega_3 = 2\omega$, es decir, la oscilación de la distribución dipolar del medio oscila al doble de la frecuencia de la radiación incidente, emitiendo radiación de segundo armónico. La radiación resultante que se genera a partir de la diferencia entre las dos frecuencias, o sea $\omega_3 = \omega_1 - \omega_2$ además de ser un proceso menos probable depende del empatamiento de fase adecuado.

De acuerdo con la ec. (2.3), la polarización generada en el medio es la suma de las contribuciones lineal y no-lineales producidas por el campo eléctrico incidente, sin embargo, las magnitudes de la polarización dependen de la intensidad del campo y de las propiedades del medio no-lineal; por ejemplo, en órdenes de magnitud la susceptibilidad eléctrica de segundo orden es $\chi^{(2)} \approx 10^{-12} \text{m/V}$ [22], así el campo eléctrico tiene que ser de órdenes de magnitud de $1/\chi^{(2)}$ para poder apreciar la contribución de segundo orden; para el caso de un cristal BBO en la generación de segundo armónico (SHG por sus siglas en inglés) de un haz láser a 800 nm, la susceptibilidad $\chi^{(2)}$ es $\approx 4^{-12} \text{m/V}$.

2.2. Generación de suma de frecuencias

La Generación de Suma de Frecuencias (SFG por sus siglas en inglés) es un proceso que puede ser usado para la resolución temporal de la fluorescencia, pues a través de este efecto óptico se produce la conversión

ascendente de fluorescencia, mezclando dos fuentes de luz (una de ellas es la fluorescencia emitida por la muestra a estudiar) en un cristal no-lineal, en el cual el campo total inducido consta de dos componentes (ec. (2.6)); si se considera el caso en el que las dos componentes del campo eléctrico oscilando a las frecuencias ω_1, ω_2 viajan en diferentes direcciones, o sea, son no-colineales

$$E(t) = E_1 \cos(\omega_1 t - \vec{k}_1 \cdot \vec{r}) + E_2 \cos(\omega_2 t - \vec{k}_2 \cdot \vec{r}) \quad (2.8)$$

la forma de la polarización es

$$P(t) = \epsilon_0 \left(\dots + \chi^{(2)} E_1 E_2 \cos \left[\omega_3 - (\vec{k}_1 + \vec{k}_2) \cdot \vec{r} \right] \dots \right) \quad (2.9)$$

donde $\omega_3 = \omega_1 + \omega_2$.

2.2.1. Empatamiento de fase

Por simplicidad, si se considera el caso en el que los campos se propagan sobre e eje z , y asumiendo conversión pequeña (es decir, que solo una pequeña porción de la energía de los campos incidentes se transforma en E_3) la expresión de la ecuación de onda se simplifica a

$$\frac{d^2 E_3}{dz^2} + 2ik_3 \frac{dE_3}{dz} = -\frac{4d_{eff}\omega_3^2}{c^2} E_1 E_2 e^{i(k_1+k_2-k_3)z} \quad (2.10)$$

con d_{eff} el coeficiente no-lineal efectivo. Considerando en la ec. (2.10) la aproximación de variación de amplitud lenta, válida cuando el cambio fraccional en E_3 en una distancia del orden de una longitud de onda debe ser mucho menor que la unidad

$$\left| \frac{d^2 E_3}{dz^2} \right| \ll \left| \frac{dE_3}{dz} \right|, \quad (2.11)$$

se obtiene la ecuación

$$\frac{d}{dz}E_3 = \frac{2id_{eff}\omega_3}{n_3c}E_1E_2e^{i\Delta kz} \quad (2.12)$$

donde se ha introducido la expresión

$$\Delta k = k_1 + k_2 - k_3 \quad (2.13)$$

conocida como el desempatamiento de fase. Para el caso en que $\Delta k = 0$, conocido como empatamiento de fase, la amplitud E_3 del campo de suma de frecuencia incrementa linealmente con z . Para esta condición, el campo generado mantiene una relación estrecha de fase fija con respecto a la polarización no-lineal, y desde un punto de vista macroscópico, los dipolos atómicos individuales que constituyen el medio están en una fase adecuada, de modo que el campo emitido por cada dipolo se suma coherentemente en la dirección de propagación.

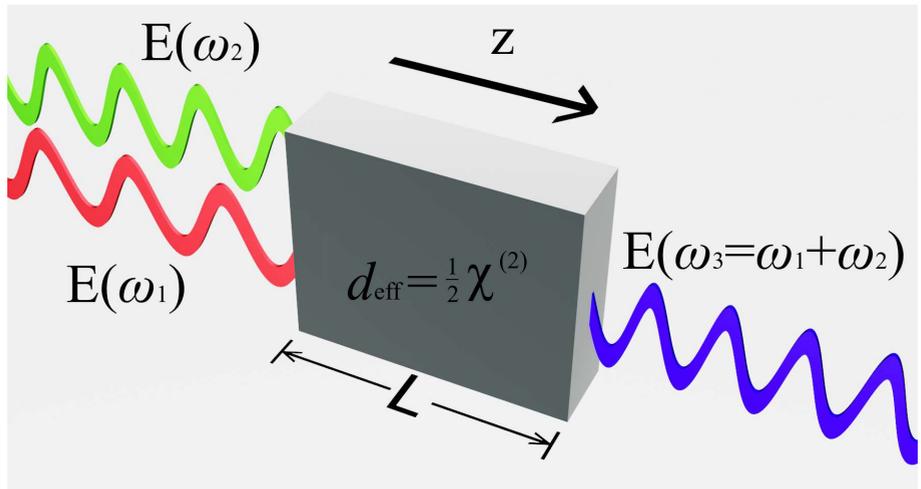


Figura 2.1. Generación de suma de frecuencias para el caso de dos fuentes que inciden colinealmente.

la intensidad del campo emitido por suma de frecuencias en la aproximación de conversión pequeña resulta [18]

$$I_3 = \frac{2d_{eff}^2 \omega_3^2 I_1 I_2}{n_1 n_2 n_3 \epsilon_0 c^3} L^2 \text{sinc}^2 \left(\frac{\Delta k L}{2} \right). \quad (2.14)$$

Cabe destacar que la eficiencia de este proceso de mezcla de tres ondas decrece a medida que $|\Delta k|L$ incrementa (Fig. 2.2), la razón de este comportamiento se debe a que si L es más grande que $\sim 1/\Delta k$, la onda de salida puede desfasarse y la potencia puede fluir desde la onda ω_3 a las ondas ω_1, ω_2 .

En la mayoría de las ocasiones, la condición de empatamiento de fase $\Delta k = 0$ es difícil de obtener debido a que los índices de refracción del medio que no tiene pérdidas en el rango de ω_1 a ω_3 (asumiendo $\omega_1 \leq \omega_2 \leq \omega_3$) muestran el fenómeno de dispersión, donde el índice de refracción es una función creciente de la frecuencia. Es posible lograr la condición de empatamiento de fases haciendo uso de la disminución del índice de refracción al aumentar la frecuencia, sin embargo, para lograr el empatamiento de fases comunmente se usa la birrefringencia, que es la dependencia del índice de refracción de la dirección de polarización de la luz, que exhiben de manera natural los cristales no-lineales de segundo orden debido a la no-centrosimetría de su estructura (cristales que no poseen simetría de inversión).

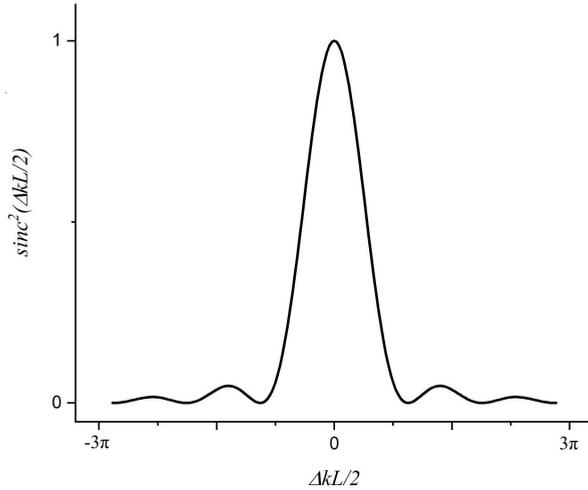


Figura 2.2. Efectos del desacoplamiento de fase en la eficiencia de la generación de suma de frecuencias.

Existen dos formas de obtener la condición de empatamiento de fase en un medio, diferenciadas por la dirección de polarización de los dos haces de luz incidentes a ω_1 y ω_2 ; se le conoce como empatamiento de fase tipo I al caso en el que las fuentes de luz que inciden en el medio poseen la misma polarización, y empatamiento de fase tipo II al caso en el que la polarización de las dos fuentes de luz que inciden en el medio son ortogonales entre sí. Existen dos configuraciones para cada tipo de empatamiento de fase, que dependen de las magnitudes de los índices de refracción n_e y n_o , en el caso de empatamiento de fase tipo I, cuando $n_e > n_o$ (caso de un cristal uniaxial positivo) los haces incidentes a ω_1 y ω_2 viajan a través del eje extraordinario del cristal, y la emisión del proceso no-lineal a ω_3 viaja a través del eje ordinario del cristal.

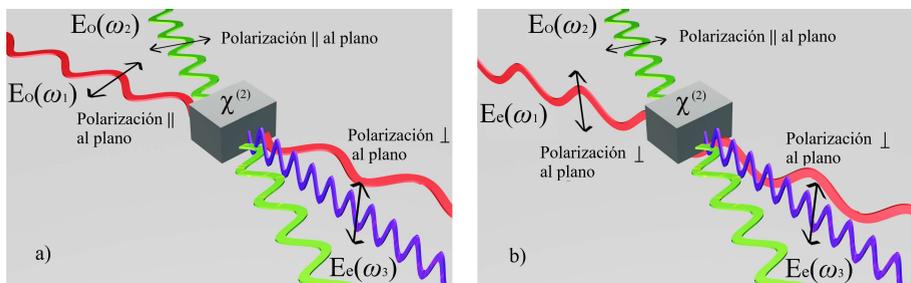


Figura 2.3. Empatamiento de fase tipo I (a) y II (b) en cristales uniaxiales negativos.

Para el caso en que $n_e < n_o$ (Fig. 2.3), los haces incidentes a ω_1 y ω_2 viajan a través del eje ordinario del cristal, y la emisión del proceso no-lineal a ω_3 viaja a través del eje extraordinario del cristal. En el Cuadro 2.2 se presenta de forma resumida la información anterior, así como para las configuraciones del empatamiento de fase tipo II.

	Uniaxial Positivo ($n_e > n_o$)	Uniaxial negativo ($n_e < n_o$)
Tipo I	$n_3^o \omega_3 = n_1^e \omega_1 + n_2^e \omega_2$	$n_3^e \omega_3 = n_1^o \omega_1 + n_2^o \omega_2$
Tipo II	$n_3^o \omega_3 = n_1^o \omega_1 + n_2^e \omega_2$	$n_3^e \omega_3 = n_1^e \omega_1 + n_2^o \omega_2$

Cuadro 2.2. Empatamiento de fase tipo I y II para cristales uniaxiales.

2.2.2. Ajuste del ángulo

Se requiere el control cuidadoso de los índices de refracción con cada una de las tres frecuencias involucradas para obtener la condición de empatamiento de fase; esta condición se logra mediante uno de dos métodos, por ajuste del ángulo o por sintonización de temperatura.

El método de ajuste del ángulo involucra una orientación angular

del cristal precisa con respecto a la dirección de la luz incidente. En el caso de cristales uniaxiales, la luz polarizada perpendicular al plano que contiene el vector de propagación \vec{k} y al eje óptico, una dirección particular que caracterizan a los cristales uniaxiales, es denominada como polarización ordinaria, luz que experimenta el índice de refracción ordinario n_o . La luz polarizada en el plano que contiene \vec{k} y el eje óptico se denomina polarización extraordinaria, experimentando un índice de refracción n_e que depende del ángulo θ entre el eje óptico y el vector \vec{k} de acuerdo a la relación [23]

$$\frac{1}{n_e(\theta)^2} = \frac{\text{sen}^2\theta}{\bar{n}_e^2} + \frac{\text{cos}^2\theta}{n_o^2} \quad (2.15)$$

con $n_e(\theta)$ el índice de refracción extraordinario que varía con el ángulo θ debido a la birrefringencia, n_o el índice de refracción ordinario y \bar{n}_e^2 el índice de refracción extraordinario promedio.

2.3. Generación de segundo armónico (SHG)

Otro de los fenómenos no-lineales de segundo orden es la generación de segundo armónico; cuando un medio no centro-simétrico es excitado por un haz láser; como se observa en el Cuadro 2.1 la contribución de la polarización por este fenómeno está dada por

$$P^{(2)}(t) = \epsilon_0\chi^{(2)} (E^2 e^{-2i\omega t} + c.c.) \quad (2.16)$$

dicha contribución permite la generación de radiación coherente a una frecuencia igual al doble de la frecuencia de la radiación incidente; esta generación se puede ilustrar como la interacción en términos de intercambio de fotones entre los varios componentes de frecuencia del campo. De acuerdo con la Figura 2.4 dos fotones de la misma

frecuencia ω son destruidos y un fotón de frecuencia 2ω se crea simultáneamente en un proceso mecánico-cuántico. En los esquemas del Cuadro 2.1, la línea sólida representa el nivel energético basal, las líneas discontinuas representan los *niveles virtuales*.

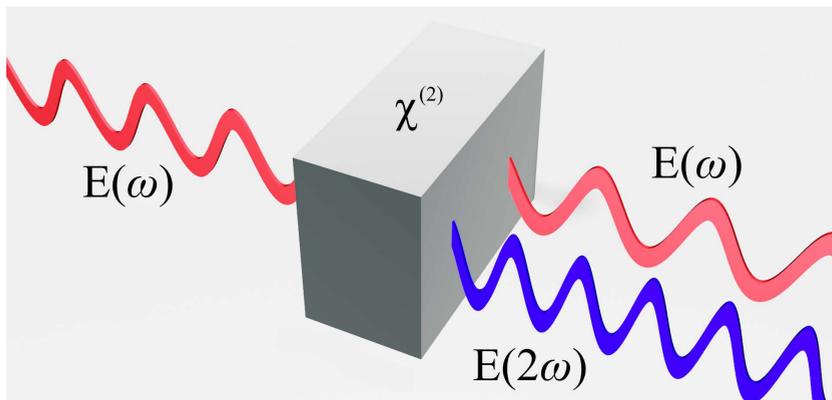


Figura 2.4. Geometría de la generación de segundo armónico.

Considerando el caso de la generación de segundo armónico en un cristal uniaxial negativo tipo I, como n_e es menor que n_o , se elige la frecuencia fundamental para propagarse como una onda ordinaria y la frecuencia del segundo armónico para propagarse como extraordinaria, a modo de compensar la dispersión con la birrefringencia del material. La condición de empatamiento de fase (ec. (2.13)) resulta

$$n_e(2\omega, \theta) = n_o(\omega) \quad (2.17)$$

$$\frac{\text{sen}^2\theta}{\bar{n}_e(2\omega)^2} + \frac{\text{cos}^2\theta}{n_o(2\omega)^2} = \frac{1}{n_o(\omega)^2} \quad (2.18)$$

reescribiendo la ecuación se llega a

$$\text{sen}^2\theta = \frac{[n_o(\omega)]^{-2} - [n_o(2\omega)]^{-2}}{[\bar{n}_e(2\omega)]^{-2} - [n_o(2\omega)]^{-2}} \quad (2.19)$$

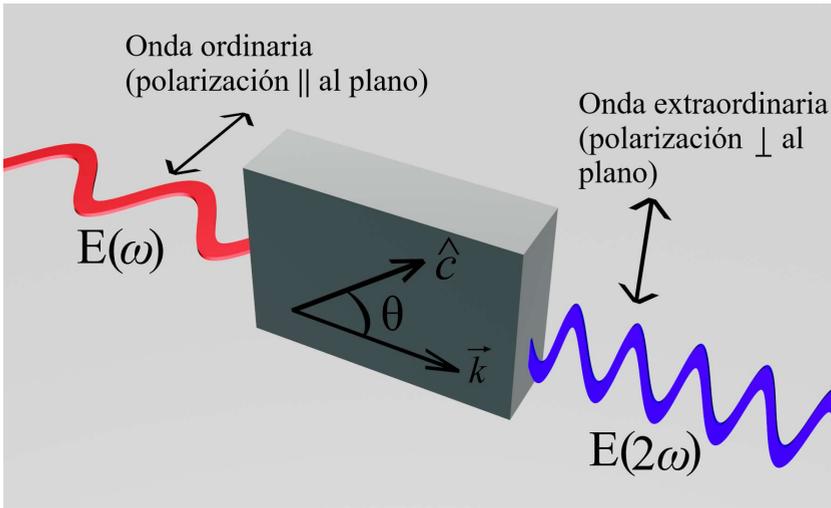


Figura 2.5. Geometría del ajuste del ángulo para generación de segundo armónico en el caso de un cristal uniaxial negativo.

Capítulo 3

Espectroscopía ultrarrápida por conversión ascendente de fluorescencia

La espectroscopía de fluorescencia es una técnica ampliamente utilizada para los estudios de estructura y función de nanopartículas orgánicas, macromoléculas y sistemas π -conjugados empleados en biología, química [24] y física [25]; la medición de la fluorescencia y su tiempo de vida media revela, por ejemplo, cambios de conformación inducido por ligandos en las proteínas ya que la fluorescencia a menudo es sensible a cambios ambientales sutiles de los cromóforos como el triptófano y la tirosina [26]; sensibilidad a reacciones de protonación o desprotonación [27] [28], relajación del disolvente [29], cambios conformacionales locales [30] y procesos acoplados al movimiento de traslación o rotación mediante desintegración anisotrópica [31].

La fluorescencia es un evento con duración de picosegundos a

nanosegundos, es por ello que para resolver temporalmente este evento se utilizan pulsos de excitación óptica muy cortos; en los últimos años han surgido técnicas desarrolladas para obtener resolución temporal en espectroscopía de fluorescencia con técnicas basadas en fotocátodos como el recuento de fotones individuales en el tiempo, permitiendo la detección de señales de fluorescencia débiles resueltas en tiempo, como se describió brevemente en el capítulo de introducción de esta tesis; sin embargo, son necesarios procedimientos de deconvolución y en el nivel de resolución de subpicosegundos, estas técnicas son costosas, inestables y el mantenimiento del sistema para la reproducibilidad diaria de mediciones es un desafío [5].

Gracias al desarrollo de láseres ultrarrápidos basados en la tecnología de osciladores de Ti:zafiro e instrumentos optoelectrónicos asociados, se han promovido las técnicas de muestreo óptico no-lineales que permiten una resolución en tiempo del orden de la duración temporal del pulso láser de excitación. Por ejemplo, la implementación del efecto Kerr óptico propuesto por primera vez en 1968 [32], hace uso de un efecto no-lineal de tercer orden conocido como birrefringencia transiente inducida en un medio con susceptibilidad no-lineal alta a partir de un pulso láser, para la creación de un obturador ultrarrápido (Fig. 3.1), siendo la función de respuesta del instrumento de ~ 200 fs [33]. Sin embargo, esta técnica se ve limitada por la baja sensibilidad y la restricción espectral a un rango visible, además de que el obturador de Kerr es intrínsecamente pobre debido a la lenta recuperación de la birrefringencia inducida por el movimiento nuclear.

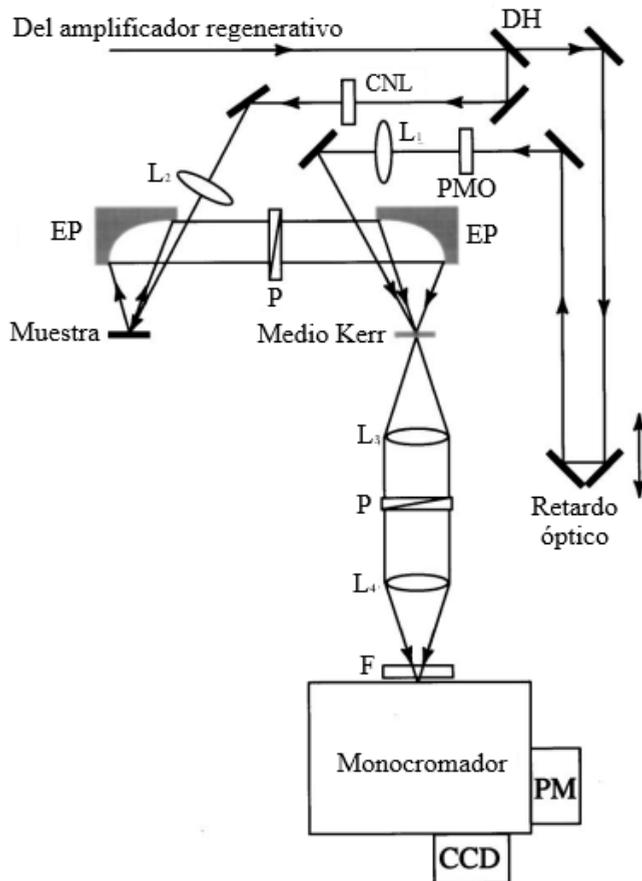


Figura 3.1. Diagrama esquemático del Obturador Kerr Óptico. DH, divisor de haz; CNL, cristal no lineal (BBO tipo I); L_1, L_2 , lentes de cuarzo; L_3, L_4 , lentes acromáticas; EP espejo parabólico (fuera de eje); P, polarizador de película; PMO, placa de media onda; F, filtro de interferencia; PM, fotomultiplicador; CCD, detector CCD [34].

Otra técnica no-lineal está basada en el fenómeno de generación de

suma/diferencia de frecuencias; como las señales son generadas por la suma o diferencia de las frecuencias contenidas en el espectro de fluorescencia y la frecuencia de un pulso compuerta, o sea, fotones con energía más alta o más baja, la técnica se denomina “conversión ascendente” o “conversión descendente” de fluorescencia para la generación de suma o diferencia de frecuencias, respectivamente. La conversión ascendente de fluorescencia es la más competitiva, pues es usada para investigaciones en regiones espectrales de UV [35], visible [36] e IR cercano [37], utilizada para estudiar fenómenos como la dinámica de solvatación, vibraciones coherentes intramoleculares, dinámica de reacción ultrarrápida de fotoisomerización, reacciones de transferencia de carga, propiedades de fluorescencia de los nucleósidos y nucleótidos del ADN [5]. A lo largo de este capítulo se plantean las consideraciones de la técnica de conversión ascendente de fluorescencia, los principios básicos, requerimientos para los cristales no lineales, mezclado de ancho de banda espectral, ángulo de aceptación, etc.

3.1. Principios básicos de conversión ascendente de fluorescencia

El proceso de conversión ascendente es una correlación cruzada entre las intensidades del pulso de fluorescencia y un pulso de bombeo o compuerta, en la Figura 3.2 se ilustran los principios básicos de esta técnica. A un tiempo $t=0$, la muestra es excitada por un tren de pulsos láser ultrarrápidos, por lo regular en el rango UV; la luz de fluorescencia a ω_F , la frecuencia del pico de emisión tiene la propiedad de ser incoherente, por lo que es recolectada; el pulso compuerta (ω_c) llega en un tiempo $t = \tau$ y junto a la fluorescencia son coenfocados en un cristal no-lineal como un KDP, BBO, etc., orientado en un ángulo

apropiado de empataamiento de fase con respecto a los pulsos de fluorescencia y compuerta. Los fotones de suma de frecuencia obtenidos a partir del cristal no-lineal son generados solo durante el tiempo en que el pulso compuerta está presente en el cristal, propiciando la resolución temporal proporcional al tiempo de duración del pulso láser.

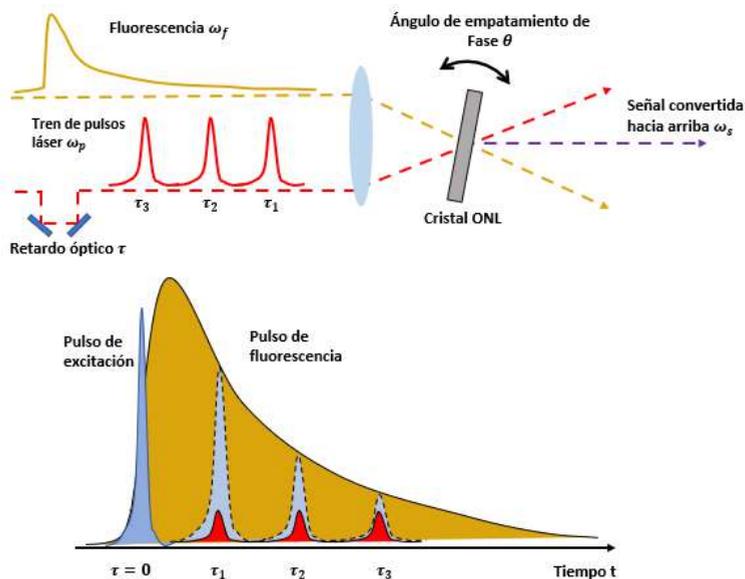


Figura 3.2. Diagrama esquemático del principio básico de conversión ascendente de fluorescencia.

De la ecuación (1.5) podemos definir la fluorescencia como una función de respuesta a un pulso descrito por una función δ de Dirac (es decir, un pulso con una duración temporal muy corta) para el caso simple (mono-exponencial) como:

$$f(t) = \alpha e^{-t/\tau} \quad (3.1)$$

donde t denota el tiempo, τ representa el tiempo de vida del estado excitado y α es un factor de escala. $f(t)$ denota la respuesta temporal de una muestra fluorescente a un pulso de luz infinitamente corto, es decir, la disminución de la intensidad de fluorescencia que teóricamente debería observarse después de la excitación por un pulso de duración infinitamente corto descrito por la función δ de Dirac. Si extendemos esta descripción de la función $f(t)$ a una suma de exponenciales discretas, ya que a veces el sistema se caracteriza por una distribución de tiempos de decaimiento

$$F(t) = \sum_i \alpha_i e^{-t/\tau_i}. \quad (3.2)$$

La función de correlación cruzada entre el pulso compuerta $E(t)$ y la respuesta temporal de la fluorescencia es una convolución de la forma

$$I_{cc}(t) = (E \circledast F)(t) = \int_0^t E(t - \tau)F(\tau)d\tau \quad (3.3)$$

con τ el tiempo de llegada del pulso compuerta. El mecanismo de resolución temporal de fluorescencia se ilustra en la Figura 3.2. La evolución temporal de la intensidad de fluorescencia es trazada a medida que se varía el tiempo de llegada del pulso compuerta. El análisis de la generación de suma de frecuencia muestra que la intensidad de la señal a un tiempo de retardo τ es proporcional a la función de correlación de la intensidad con la intensidad del pulso de compuerta (ec. (3.3))

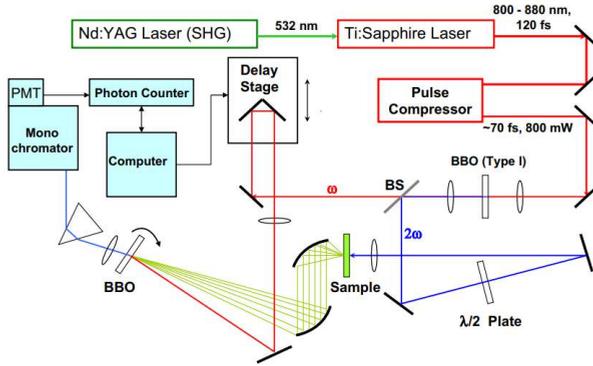


Figura 3.3. Diagrama representativo del equipo convencional de conversión ascendente de fluorescencia (imagen tomada de [5]).

Algunas consideraciones importantes para maximizar la eficiencia de la técnica de conversión ascendente de fluorescencia se presentan a continuación.

3.2. Ángulo de empatamiento de fase

El proceso de generación de suma de frecuencias es eficiente en un cristal no-lineal solo si se satisfacen las condiciones de empatamiento de fase, esto ocurre para una banda estrecha de longitudes de onda centradas a una longitud de onda determinada por el ángulo de empatamiento de fase θ_m en el cristal no-lineal. Para el empatamiento de fase $\Delta k = 0$ (sección 2.2.2)

$$\omega_F + \omega_c = \omega_S \rightarrow h\nu_F + h\nu_c = h\nu_S \quad (3.4)$$

$$\vec{k}_F + \vec{k}_c = \vec{k}_S \rightarrow \frac{n_F(\lambda)}{\lambda_F} + \frac{n_c(\lambda)}{\lambda_c} = \frac{n_S(\lambda)}{\lambda_S} \quad (3.5)$$

donde ν , h y n son la frecuencia del fotón, la constante de Plank y el índice de refracción, respectivamente. Los subíndices F , c y S hacen referencia a los fotones de fluorescencia, compuerta y a la generación de suma de frecuencias respectivamente. Para un cristal uniaxial negativo tipo I (Cuadro 2.2) el ángulo está dado por la ecuación

$$\text{sen}^2(\theta_m) = \frac{n_S(\theta_m)^{-2} - (n_{o,S})^{-2}}{(n_{e,S})^{-2} - (n_{o,S})^{-2}} \quad (3.6)$$

con θ_m el ángulo de empatamiento de fase, $n_{o,S}$ y $n_{e,S}$ denotan los índices de refracción ordinario y extraordinario de la señal de generación de segundo armónico respectivamente, $n_S(\theta_m)$ es el índice de refracción de la señal de suma de frecuencias dependiente del ángulo de empatamiento de fase a un ángulo θ_m del eje óptico, y está dado por

$$n_S(\theta_m) = n_{o,F} \frac{\lambda_S}{\lambda_F} + n_{o,c} \frac{\lambda_S}{\lambda_p} \quad (3.7)$$

donde $n_{o,F}$ $n_{o,c}$ los índices de refracción ordinarios del haz de fluorescencia y compuerta, respectivamente. La variación de los índices de refracción en función de la longitud de onda en un cristal no-lineal se describe a partir de la ecuación de Sellmeier, por lo que se tiene para n_o y n_e [23]

$$n_o^2 = A_o + \frac{B_o}{C_o - \lambda^2} + D_o \lambda^2 \quad (3.8)$$

$$n_e^2 = A_e + \frac{B_e}{C_e - \lambda^2} + D_e \lambda^2 \quad (3.9)$$

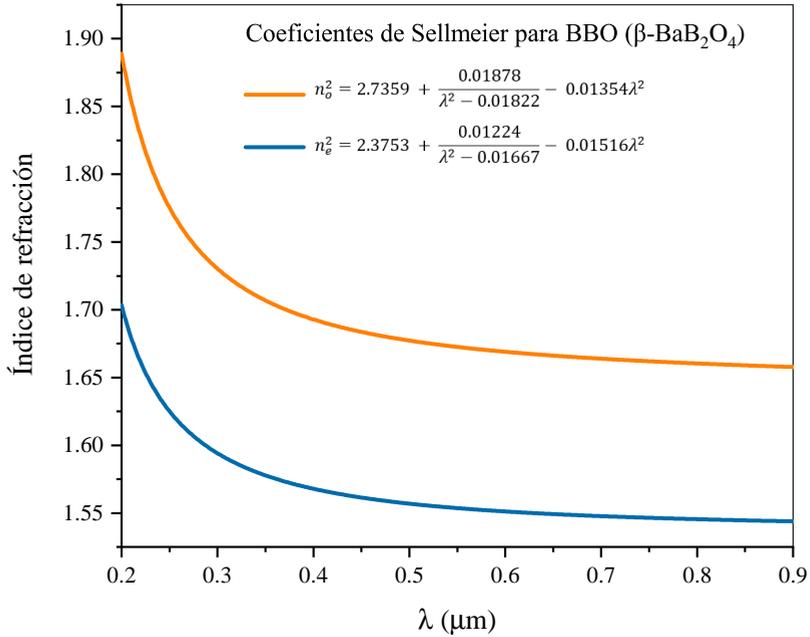


Figura 3.4. Curvas de índices ordinario y extraordinario en BBO a partir de las ecuaciones de Sellmeier [23].

Un ejemplo es el cristal BBO cuya variación de índices ordinario y extraordinario se presentan en la Figura 3.4, el ángulo de empatamiento de fase para obtener la generación de suma de frecuencias es de $\sim 33,9^\circ$ para fluorescencia emitida por un polímero derivado de tiofeno y benzotidiazol (PHB) con longitud de onda máxima de emisión a 610 nm con pulsos compuerta a 800 nm . El polímero PHB se usa aquí como ejemplo de los materiales que se desean estudiar con la técnica de conversión ascendente de fluorescencia. En esta tesis se presentarán más adelante los resultados

obtenidos con este polímero así como otros fluoróforos y otros detalles importantes como su estructura molecular, espectros de absorción y de fluorescencia. Regresando el problema del acoplamiento de fase, debe mencionarse que los cristales BBO comerciales son caracterizados por el ángulo de corte θ_c y el ángulo azimutal ϕ en la propagación de \vec{k} ilustrados en la Figura 3.5. por lo regular, el ángulo de corte θ_c es 29.18° y $\phi = 0^\circ$ que coincide con el ángulo de emparejamiento de fase θ_m para un bombeo de $\lambda = 800$ nm a incidencia normal.

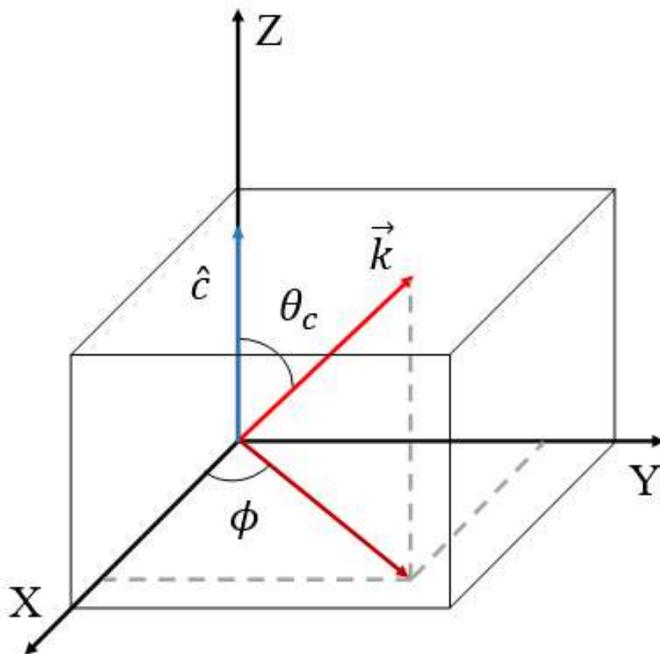


Figura 3.5. Relación de ángulos en la propagación de un haz dentro de un cristal BBO; \hat{c} denota el eje óptico del cristal.

3.3. Ancho de banda espectral

De acuerdo con la ecuación (2.14), si consideramos que las diferentes longitudes de onda que componen el ancho espectral de la fluorescencia no cumplen con el empatamiento de fase, es decir, $\Delta k \neq 0$, la eficiencia de conversión η decae con el incremento de Δk como

$$\eta(\Delta k) = \eta(0) \frac{\sin^2(\Delta k L)}{(\Delta k L)^2}. \quad (3.10)$$

El ancho de banda espectral se estima por el lugar donde la eficiencia cuántica cae al 50 % de $\eta(0)$, es decir, cuando $\frac{\sin^2(\Delta k L)}{(\Delta k L)^2} = 0,5$, el ancho de banda está dado por [23]

$$\Delta(h\nu_S) = \frac{5,56}{L} \left(\frac{\partial(\Delta k)}{\partial(h\nu_S)} \right)^{-1}. \quad (3.11)$$

Para el caso de empatamiento de fase tipo I, (3.11) se reduce a

$$\Delta h\nu_S(\text{meV}) = \frac{3,36 \times 10^{-12}}{L(\text{cm})[\gamma_S(\text{s/cm}) - \gamma_F(\text{s/cm})]} \quad (3.12)$$

donde

$$\gamma_F = \frac{1}{c} \left[n_{o,F} - \lambda_F \frac{\partial n_{o,F}}{\partial \lambda} \Big|_{\lambda=\lambda_F} \right] \quad (3.13)$$

y

$$\gamma_S = \frac{1}{c} \left[n_S(\theta_m) - \lambda_S \frac{\partial n_S(\theta_m)}{\partial \lambda} \Big|_{\lambda=\lambda_F} \right]. \quad (3.14)$$

Existe además una correlación importante entre el espesor del cristal no-lineal y el ancho de banda espectral de la fluorescencia. Por ejemplo, para un traslape de luz con un haz compuerta a 820 nm y un haz de fluorescencia a 500 nm, usando un cristal de BBO con $L=0.4$ mm, el

ancho de banda espectral es < 1 nm, por lo tanto la técnica de conversión ascendente de fluorescencia se denomina de alta resolución [5].

3.4. Eficiencia de conversión ascendente

El valor de la eficiencia de conversión de potencia bajo condiciones de empatamiento de fase en la generación de suma de frecuencias puede aproximarse a partir ciertas condiciones. En el caso de conversión pequeña, donde solo un pequeño porcentaje de la potencia del pulso compuerta se transfiere a la generación de suma de frecuencias, puede expresarse como [25]

$$\eta(\Delta k = 0) = \frac{2\pi d_{eff}^2 L^2 P_c}{cA\epsilon_0^3 \lambda_F \lambda_S n_{o,F} n_{o,c} n_S(\theta_m)} \quad (3.15)$$

con P_c y A la potencia pico y el área de enfoque del pulso compuerta respectivamente, suponiendo que es del mismo tamaño que el área del haz de fluorescencia; d_{eff} es el coeficiente no-lineal efectivo del cristal, c es la velocidad de la luz y ϵ_0 la permitividad en el vacío. Cabe resaltar que la eficiencia de conversión es proporcional a la potencia pico del pulso compuerta y al cuadrado del grosor del cristal, pero esta cantidad se ve reducida a medida que se tiene una A grande. Por ejemplo, para fluorescencia de triptófano (Trp) (pico máximo de fluorescencia en ~ 350 nm), correlacionada con un pulso compuerta de 885 nm a una potencia pico de 1 W con un diámetro de haz de 0.1 mm en un cristal BBO de 1 mm de grosor, la eficiencia de conversión es de aproximadamente 0.1 % [24].

3.5. Ángulo de aceptación

El ángulo de aceptación de la fluorescencia es un factor crucial en los experimentos de conversión ascendente; como es sabido, la fluorescencia es emitida a todas direcciones desde el punto en el que se excita a la muestra, en tanto que la fluorescencia recolectada es re-enfocada en forma de cono en el cristal no-lineal. El ángulo de aceptación se define como un límite establecido por la condición de empatamiento de fase, en el cual una señal de fluorescencia puede llegar al cristal no-lineal y cuya frecuencia es convertida ascendentemente. Regularmente para el empatamiento de fase, el ángulo de aceptación en el plano que contiene el eje óptico es más pequeño que el plano perpendicular; para una geometría no-colineal, el ángulo de aceptación es [35]

$$\Delta\theta = \frac{2,78n_{o,F}\lambda_F}{L[1 - n_{o,F}\lambda_S/n_S(\theta_m)\lambda_F]} \quad (3.16)$$

esto indica que el aumento del ángulo de aceptación es inversamente proporcional a la longitud del cristal L , por lo tanto, para cristales más delgados, el enfoque se puede ajustar a un ángulo de aceptación mayor, resultando que la señal de conversión ascendente total se mantendrá relativamente constante para cristales delgados. Por ejemplo, el ángulo de aceptación para fluorescencia de PHB (máximo de fluorescencia en ~ 610 nm) en un cristal de 0.1 mm es $\Delta\theta \sim 3.75^\circ$.

3.6. Desajuste de velocidad de grupo y polarización

En óptica ultrarrápida, la velocidad de grupo $v_g = (|\partial k / \partial \omega|)^{-1}$ no produce ensanchamiento del pulso, sin embargo, para la generación de suma de frecuencias, que es un proceso no-lineal, el desajuste entre la velocidad de grupo entre los pulsos de compuerta y fluorescencia pueden causar un ensanchamiento temporal en el pulso de SFG. Para un empatamiento de fase tipo $O + O \rightarrow E$ (Cuadro 2.2) el ensanchamiento producido por el desajuste en la velocidad de grupo está dado por

$$\Delta t(s) = L(cm)[\gamma_c(s \cdot cm^{-1}) - \gamma_F(s \cdot cm^{-1})] \quad (3.17)$$

con

$$\gamma_c = \frac{1}{c} \left(n_{o,p} - \lambda_c \frac{\partial n_{o,c}}{\partial \lambda} \Big|_{\lambda=\lambda_c} \right). \quad (3.18)$$

El proceso de conversión ascendente es intrínsecamente un proceso de selección de polarización, pues la fluorescencia recolectada contiene luz polarizada de forma aleatoria, por lo cual solo una fracción de la luz de fluorescencia será convertida ascendentemente, en un sistema práctico de conversión ascendente solo ocurre empatamiento de fase por tipo I (Fig. 3.6), es decir, tanto la luz de fluorescencia como el haz de compuerta tienen la misma polarización al correlacionarse en el cristal no lineal para generar señal de suma de frecuencias. La colección de emisión con distintas componentes de polarización se logra al rotar la polarización de excitación con una placa de media onda.

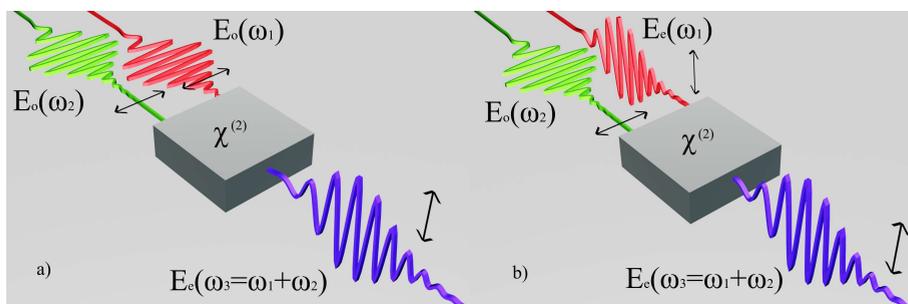


Figura 3.6. Empatamiento de fase tipo I y II para $n_e < n_o$.

Capítulo 4

Desarrollo experimental

En este capítulo se presenta la descripción del arreglo óptico diseñado para aplicar la técnica de conversión ascendente de fluorescencia; cada parte del arreglo requirió un entrenamiento previo para poder familiarizarse con los equipos que lo conforman.

4.1. Características del sistema óptico

En la Figura 4.1 se presenta el primer sistema instalado para aplicar la técnica de conversión ascendente de fluorescencia. El arreglo óptico utiliza un láser pulsado de Ti:zafiro (Tsunami, Spectra Physics) como fuente de luz (100 fs, 80 MHz, 700 mW a 800 nm); el haz pulsado se hace pasar a través de un divisor de haz, el cual transmite $\sim 70\%$ de la luz y refleja $\sim 30\%$, creando el pulso de excitación y compuerta respectivamente.

El pulso compuerta entra en una línea de retardo fabricada al interior del grupo de investigación, que es controlada por un programa elaborado en Labview, y sobre la línea de retardo se coloca

una montura que contiene un arreglo de dos espejos planos perpendiculares entre sí y alineados para que funcionen como un retroreflector; el pulso de excitación es enfocado con la lente L_1 en un cristal BBO (0.5mm, $\theta = 29.18^\circ$, $\phi = 0^\circ$) para generar segundo armónico a $\lambda_{exc}=400$ nm. Los pulsos de luz a λ_{exc} son recolectados y enfocados con un arreglo de dos lentes L_2 y L_3 , con distancias focales $f_2 = 100$ mm y $f_3 = 12.5$ mm respectivamente; las lentes son colocadas a una distancia entre si de $f_2 + f_3$ lo cual hace que el haz de pulsos sea colimado con la lente L_2 para posteriormente ser enfocado en la muestra con la lente L_3 ; en este caso $f_2 < f_3$. La muestra luminiscente está contenida en una celda de cuarzo de 1 mm. La emisión de fluorescencia es recolectada por la configuración L_4, L_5 , la lente usada para colimar la luz de fluorescencia tiene una distancia focal de $f_4 = 45$ mm, y la lente que enfoca la emisión de fluorescencia tiene una distancia focal de $f_5 = 200$ mm; la señal de fluorescencia es modulada con un chopper (SR540, Stanford Research Systems) a una frecuencia que es utilizada para amarrar en fase la señal detectada de conversión ascendente en un amplificador Lock-In (SR830, Standford Research Systems).

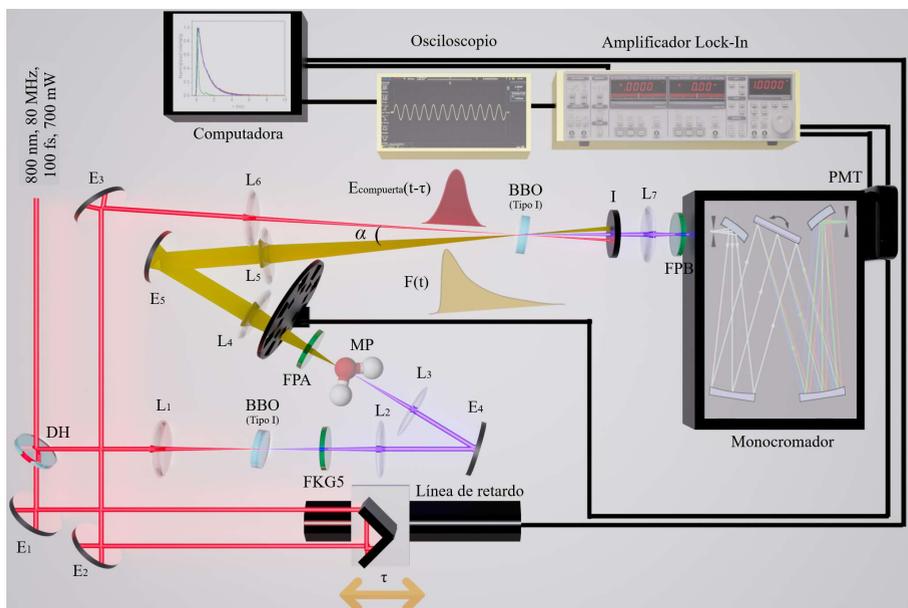


Figura 4.1. Sistema de conversión ascendente de fluorescencia. DH, divisor de haz; E_n , espejo- n ; L_n , lente- n ; FKG5, filtro pasabajas; FPA, filtro pasa altas; I, iris; FPB, filtro pasabandas; MP, material de prueba; PMT, tubo fotomultiplicador.

La fluorescencia y el pulso de compuerta son enfocados y correlacionados en un cristal BBO tipo I (0.1mm , $\theta = 29.1^\circ$, $\phi = 0^\circ$) montado en un sistema conformado por dos monturas micrométricas de rotación que permiten ajustar el eje óptico del cristal y el ángulo de empatamiento de fase, para generar suma de frecuencias, señal que se enfoca a la entrada un monocromador ($1200\text{ g} \cdot \text{mm}^{-1}$, Acton Series SP-2500i, Princeton Instruments); a la entrada del monocromador se usa un filtro pasabandas (FGUV11, Thorlabs, 25mm , UG11, $245 - 375\text{nm}$) para discriminar el haz de SFG del resto de radiación

del pulso compuerta, SHG y fluorescencia. A la salida del monocromador se encuentra un fotomultiplicador PMT (R7400U-20, Hamamatsu Corporation). Tanto la rendija de entrada y de salida del monocromador se mantienen abiertas $\sim 1 \pm 0.005$ mm para tener una mejor sensibilidad. La señal obtenida por el PMT es enviada al amplificador Lock-In. El programa elaborado en Labview que permite controlar la línea de retardo, almacena a su vez la evolución de la intensidad de la señal de SFG adquirida por el amplificador Lock-In, creando una curva de la intensidad de SFG en función del retardo (anexo A).

4.2. Consideraciones experimentales

Como se describió anteriormente, en el sistema de conversión ascendente de fluorescencia se utiliza un programa capaz de controlar y mover una línea de retardo y a su vez adquirir los datos de evolución de intensidad de SFG. Se implementaron dos etapas de traslación, una de paso pequeño con la capacidad de resolver dinámicas de fluorescencia de ps y otra de paso grande, con capacidad de resolución de ns. Cada etapa de traslación tiene diferente resolución (paso mínimo), por ejemplo, la etapa de paso grande, usada para el sistema de conversión ascendente de fluorescencia tiene un paso mínimo de $12.5 \mu\text{m}$ y una longitud de 40 cm, mientras que la etapa de traslación pequeña, que puede moverse en dos direcciones XY, tiene un paso mínimo de $2.5 \mu\text{m}$ y una longitud de 15 cm en ambas direcciones. Así mismo se implementaron dos versiones del programa, uno derivado del otro, que permiten controlar las etapas de traslación, cada una con un controlador diferente. La funcionalidad de estas etapas de traslación se caracterizó mediante dos aplicaciones: i) el método de la navaja para

medir secciones transversales de un haz láser y ii) autocorrelador de SHG para estimar la duración de pulsos cortos. A través de estas aplicaciones se verificó la reproducibilidad, la pérdida mínima de pasos en el movimiento de la etapa de traslación, así como la adquisición de datos regular en cada experimento y la sensibilidad de este sistema.

Como se mencionó anteriormente, se implementaron dos versiones del programa, uno derivado del otro, que permiten controlar las etapas de traslación, cada una con un controlador diferente. Así mismo se implementó un programa de control de un sistema constituido por un Monocromador y Amplificador Lock-In, con la intención de identificar espectralmente la señal de SFG.

El sistema óptico descrito en la sección 4.1 es básicamente un correlador cruzado de intensidad, implementado en diversos experimentos de óptica ultrarrápida [38]; una variante de este sistema es el autocorrelador de intensidad (anexo B) que consiste en la correlación de un pulso de luz emitido por un láser con el pulso mismo, utilizado para la caracterización temporal del haz emitido por un láser; en esta tesis se construyó un autocorrelador de intensidad basado en el arreglo óptico de la Figura 4.1 para posteriormente usar este mismo arreglo para encontrar en nivel de sensibilidad que se puede obtener para un sistema de conversión ascendente de fluorescencia usando pulsos de baja energía y alta frecuencia de repetición; la motivación de su construcción, además de caracterizar la duración temporal del pulso de la fuente de luz utilizada, es contar con un mecanismo experimental sencillo para encontrar la posición de la etapa trasladadora en donde el tiempo de retardo entre pulsos en el autocorrelador es de $\tau = 0$.

Dada la similitud entre estos dos sistemas, resulta relativamente sencillo convertir el sistema de autocorrelación en un sistema de

conversión ascendente de fluorescencia, sustituyendo el pulso fundamental del láser por el pulso de fluorescencia, al introducir la muestra que es excitada por un pulso de excitación que tiene el doble de frecuencia que el fundamental del láser; si se cuida la alineación del autocorrelador previamente construido, se puede regresar a la condición en la que ambos pulsos del sistema inciden al mismo tiempo en el cristal BBO, en este caso de conversión ascendente, el pulso compuerta y de fluorescencia produciendo una emisión no-colineal por SFG; se debe considerar, que, al tener dos pulsos con diferente frecuencia y más aun, el pulso de fluorescencia con un ancho espectral amplio, la orientación del cristal BBO no será la misma que en el caso del autocorrelador, pues para obtener la señal por SFG, las condiciones de empatamiento de fase y ángulo de aceptación son diferentes, sin embargo, con la referencia de la señal SHG no-colineal será más sencillo encontrar la condición de pre-alineación u orientación del cristal adecuada; otro aspecto positivo de esta consideración es que la señal de SFG será más fácil de enviar al monocromador y posterior al PMT.

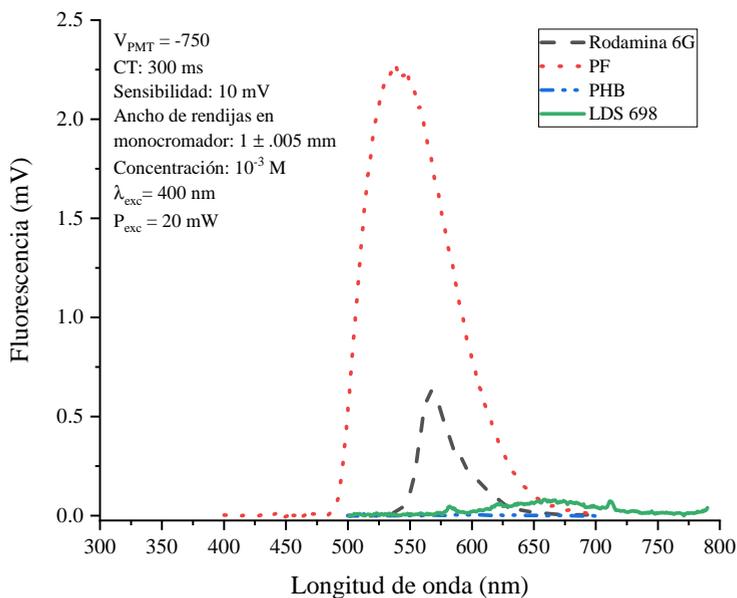


Figura 4.2. Espectros de emisión de las moléculas de prueba.

V_{PMT} , voltaje del fotomultiplicador; CT , constante de tiempo; λ_{exc} , longitud de onda de excitación; P_{exc} , potencia de excitación

Para el experimento de conversión ascendente de fluorescencia se requiere que la muestra de prueba presente una intensidad de fluorescencia grande, debido a que solo una porción de la luz recolectada desde la muestra produce la señal de SFG, puesto que la polarización de la luz emitida por fluorescencia es aleatoria. Las moléculas de prueba seleccionadas para esta tesis son los colorantes láser comercial Rodamina 6G y el polímero π -conjugado altamente fluorescente denominado para esta tesis como polímero fluorescente

(PF) [39], escogidas debido a su alta eficiencia cuántica como se describe en el Cuadro 4.1. También se usaron como fluoróforos un polímero derivado de tiofeno y benzotidiazol [40] denominado PHB y el colorante comercial LDS 698; si bien estas muestras de prueba presentan una eficiencia cuántica baja, ambas moléculas presentan una emisión con un ancho espectral cercano al infrarrojo (Fig. 4.2) lo que en teoría permitiría generar una señal de SFG con más facilidad en el cristal. El fundamento de esta afirmación es que la longitud de onda del pulso compuerta es alrededor de 800 nm, por lo que es deseable probar la sensibilidad del sistema con moléculas cuyo contenido espectral de fluorescencia no difiera significativamente de la longitud de onda del pulso compuerta dada la necesidad de acoplamiento de fase.

Los espectros de absorción de las moléculas de prueba se muestran en la Figura 4.3. Como puede verse, todas tienen en mayor o menor grado absorción a la longitud de onda alrededor 400 nm, que es la longitud de onda de excitación que se puede obtener con el sistema de la Figura 4.1. Si bien no todas las moléculas absorben a la longitud de onda de excitación, existen casos donde la emisión de fluorescencia debido a una baja absorción de haz de excitación es compensada con la eficiencia cuántica de la molécula de muestra, como pasa con Rodamina 6G, cuya eficiencia es de 0.95 (Cuadro 4.1). En el caso del PF, además de tener buena absorción alrededor de la longitud de excitación, su eficiencia es ~ 1 ; para el PHB y LDS 698 ambas muestras absorben poco en la longitud de onda de excitación y las eficiencias cuánticas son de 0.6 y 0.2 respectivamente.

Los espectros de emisión se presentan en la Figura 4.2, y contienen los parámetros experimentales usados para obtenerlos; cabe destacar

que estos espectros se obtuvieron con el sistema monocromador-amplificador Lock-in de la Figura 4.1, donde el haz de los pulsos compuerta es bloqueado y se remueve el filtro FPB. En este caso el sistema detecta la fluorescencia de las muestras a través de la radiación esparcida en el segundo cristal BBO (usado para SFG) siendo recolectada y acoplada al monocromador a través de L_7 ; en todos los casos se buscó que la concentración de cada muestra fuera tal que absorbiese el máximo de excitación a 400 nm; es posible ver en la Figura 4.2 que los máximos de intensidad de fluorescencia medidos para las muestras PHB y LDS 698 son bajos en comparación con el máximo de fluorescencia de Rodamina 6G, y más aun, el máximo de intensidad de fluorescencia de Rodamina 6G es bajo en comparación con el máximo medido para el PF, además de tener un ancho espectral más amplio.

Dado el análisis anterior se determinó que el PF la muestra óptima para obtener la conversión ascendente de fluorescencia debido a su intensidad de fluorescencia, que es mayor en comparación con la fluorescencia emitida por el resto de las muestras de prueba; además, el ancho espectral de la fluorescencia de PF que va de los 510 a los 640 nm aproximadamente, permite ampliar el rango de longitudes de onda a las que tentativamente se podría producir señal de SFG. En el resto de la tesis se discutirá si este nivel de intensidad de fluorescencia podrá ser suficiente para generar SFG.

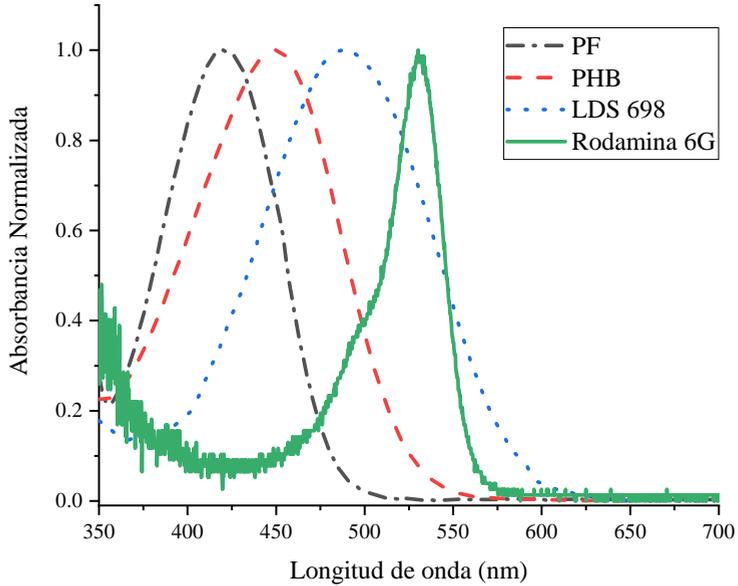
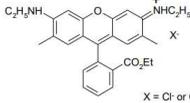
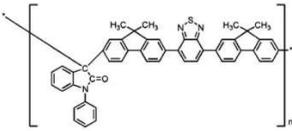
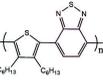
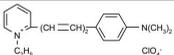


Figura 4.3. Espectros normalizados de absorción de muestras de prueba.

En la correlación de los pulsos de compuerta y de fluorescencia en el cristal BBO, la obtención de la señal de SFG dependerá del ángulo de empatamiento de fase que puede ser calculado con la ecuación (3.6). Por ejemplo, para fluorescencia de Rodamina 6G, esta última un estándar como molécula fluorescente, la cual tiene un máximo de emisión en 576 nm, y un pulso compuerta a 800 nm, la señal de SFG es generada a $\lambda_S = 336$ nm, a partir, por lo tanto el ángulo de empatamiento de fase resulta $\theta_m \sim 35.2^\circ$, con $n_S(\theta_m) = 1.66$, $n_{o,S} = 1.71$, $n_{e,S} = 1.58$.

Muestra	Φ_f	Estructura molecular	λ_{em} [nm]	$\Delta\theta$ [°]	λ_S [nm]
Rodamina 6G	0.95	 $X = Cl^- \text{ or } ClO_4^-$	576	3.62	334.8
PF	~ 1		540	3.58	322.6
PHB	0.6		610	3.75	346.1
LDS 698	0.2		667	3.89	363.7

Cuadro 4.1.

Estructura molecular y eficiencias cuánticas de las moléculas de prueba PF [39], Rodamina 6G, PHB y LDS 698; en estos tres últimos casos las eficiencias cuánticas fueron medidas para esta tesis. Tanto $\Delta\theta$ como λ_S se estimaron suponiendo un haz de compuerta a 800 nm, un haz de fluorescencia a la longitud máxima de emisión λ_{em} y un grosor del cristal de $L = 100\mu\text{m}$

En el Cuadro (4.1) se presentan los ángulos de aceptación de cada molécula de prueba para generar conversión ascendente de fluorescencia. El ángulo de aceptación $\Delta\theta$ para fluorescencia emitida por Rodamina 6G con un máximo de emisión en 576 nm (Fig. 4.2) calculado a partir de la ecuación (3.16) con $n_{o,F} = 1.67061$, una señal $\lambda_S = 334,88$ nm, en un cristal BBO de $100\mu\text{m}$, resulta $\Delta\theta \sim 3.62^\circ$. Sin embargo, el rango espectral de la fluorescencia emitida por las moléculas de prueba que producirán la señal de SFG dependerá del ajuste fino del ángulo de empatamiento de fase, es por eso que en el

$\theta_m \pm 0.042[^\circ]$	λ_F [nm]	λ_S [nm]
33.3	627	350.9
34.3	595	341.2
35.3	566	331.5
36.3	540	322
37.3	517	314
38.3	500	307.1

Cuadro 4.2. Ángulos de empatamiento de fase.

experimento se ha procurado tener un ángulo pequeño de entrada al cristal BBO entre el pulso compuerta y de fluorescencia, de $\alpha \sim 5^\circ$.

La señal de SFG se produce por la correlación del pulso compuerta y un rango espectral angosto del espectro completo de emisión de las moléculas de prueba, lo que generaría un pulso de SFG con una longitud de onda central de λ_S . Por ejemplo, la alta intensidad y gran ancho espectral de PF debería dar lugar teóricamente a λ_S en un rango de 325 nm a los 355 nm aproximadamente, para un pulso compuerta sintonizado a 800 nm, pues las dos versiones de los osciladores usados como fuente de luz pulsada fundamental están optimizados para emitir en 800 nm. Es así como el ancho espectral del PF aumenta el rango de longitud de onda accesible para el PMT; en el Cuadro (4.2) se presentan las posibles longitudes de onda de la señal de SFG calculadas con ayuda de la ecuación (3.6), de acuerdo con el ángulo de empatamiento de fase escogido.

Una vez medidos los espectros de fluorescencia de cada muestra se colocó en su posición en filtro FPB y se desbloqueó el haz de pulsos compuerta, y se realizó la búsqueda de la señal de SFG con el sistema

Monocromador-Amplificador Lock-In, haciendo un barrido en longitud de onda, pues se espera que la señal sea pequeña; en la Figura 4.4 se muestra los espectros obtenidos para el caso de la muestra PF; el ángulo de empatamiento de fase se varió en un intervalo de $33,3^\circ$ a $38,3^\circ$ con la intención de buscar la señal de SFG posible generada por alguna longitud de onda presente en el ancho espectral de la fluorescencia emitida por el PF. Los parámetros elegidos en el programa del sistema Monocromador-Amplificador Lock-In para esta medición fueron $\lambda_{inicio} = 300nm$, $\lambda_{fin} = 355nm$, “Intervalo”: 0.07 nm, “Muestras”: 10, “Velocidad”: 10 nm/min; En este caso los parámetros utilizados a partir del láser Tsunami fueron $\lambda_c = 800$ nm, $\lambda_{exc} = 400$ nm, $P_c=210$ mW, $P_{exc}=20$ mW; en el amplificador Lock in, los parámetros fueron “CT”: 300 ms, “Sensibilidad”: 10 mV

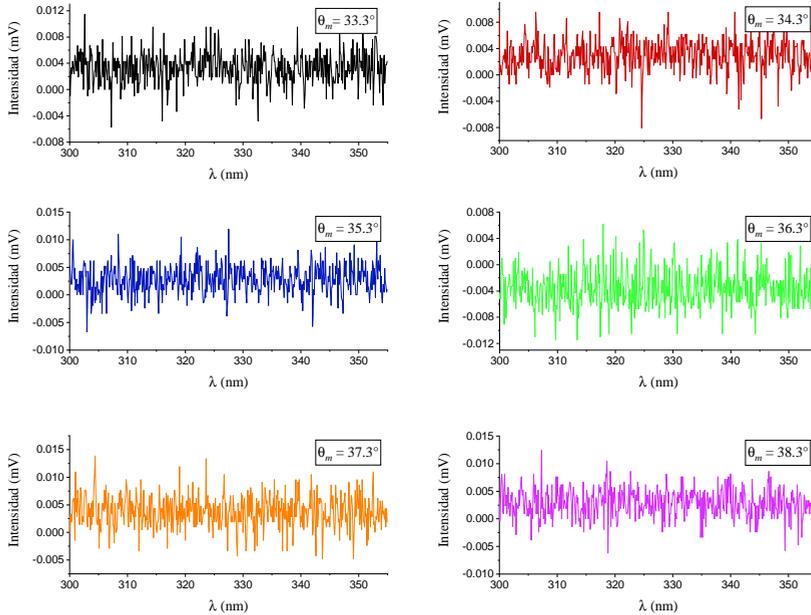


Figura 4.4. Búsqueda de la señal de SFG con PF usando el láser Tsunami.

En vista de que no se obtuvo señal de SFG aun y cuando se establecieron las condiciones apropiadas de amarre de fase en el cristal no-lineal, y asumiendo entonces que no se generó señal de SFG debido a la baja sensibilidad producto de la energía de pulso baja y sintonía láser limitada, se optó por cambiar la fuente de luz pulsada; en el cuadro 1 vemos la comparación entre osciladores con los que se cuentan en el CIO, vemos que en condiciones ideales el láser Chameleon Vision I emite un pulso de 31.25 nJ contra 8.75 nJ del pulso emitido por el láser Tsunami, que significa tres veces más energía para crear el haz de compuerta y el haz que es doblado en frecuencia para excitar la muestra de prueba. Además, de acuerdo a los espectros de absorción de las muestras de prueba presentadas en la

Figura 4.3, la región donde presentan mayor absorción se encuentra en un intervalo de 350 a 550 nm, región que podría ser cubierta por la amplia sintonización del láser Chameleon, recordando que es sintonizable entre 690 y 1040 nm, por lo que el haz que es doblado en frecuencia para excitar la muestra podría sintonizarse entre 345 y 520 nm, optimizando así la emisión de fluorescencia para cada muestra de prueba, por ende, aumentar la señal de SFG adquirida por el sistema PMT-Lock-In. Es importante remarcar que la sensibilidad del sistema también está limitada por la respuesta del sistema de detección. Así, por ejemplo, en la Figura 4.5 vemos que el PMT tiene una sensibilidad baja en la región de 300 a 350 nm, donde se espera obtener la señal de SFG debido a la mezcla de un haz de compuerta entre 690 y 1040 y un haz de fluorescencia con ancho espectral entre 500 y 650 nm disponible por las moléculas de prueba (Fig. 4.2). Sin embargo, debe tomarse en cuenta que el láser Chameleon emite su potencia máxima en ~ 800 nm, y para longitudes lejanas a ésta la potencia disminuye considerablemente, agregando así otro parámetro a considerar para la realización del experimento.

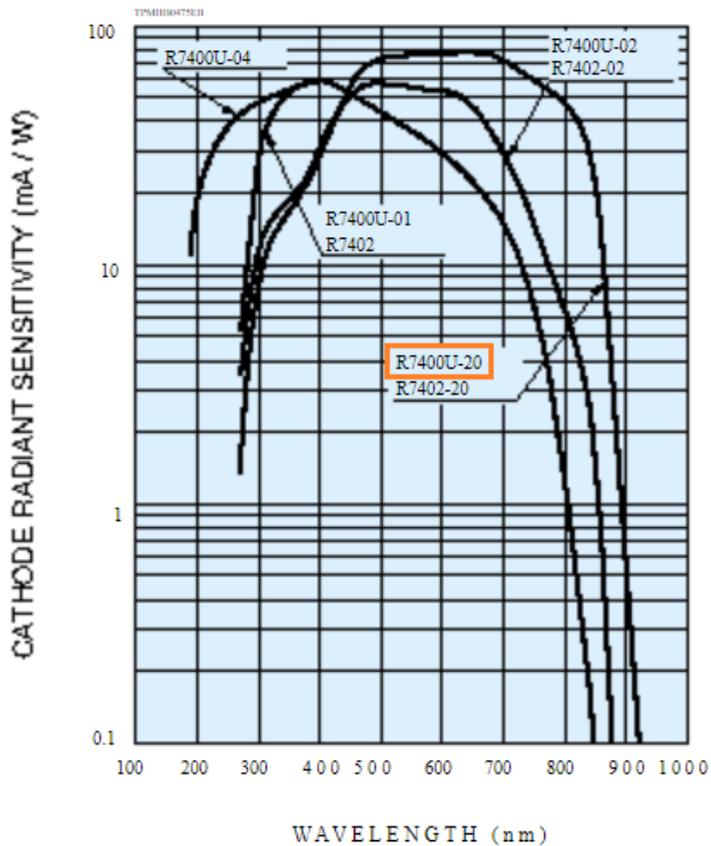


Figura 4.5. Respuesta espectral típica del foto-multiplicador R7400U-20.

Con la finalidad de determinar la viabilidad de poder obtener señal de SFG con láser Chamaleon y los niveles de intensidad de fluorescencia de las muestras bajo prueba, se optó por caracterizar a detalle la sensibilidad del sistema en conjunto, lo cual es un objetivo global de esta tesis. Para realizar esta caracterización, primero se calculó a partir de datos experimentales la eficiencia de conversión de SHG no colineal (400 nm) producido por dos pulsos a 800 nm, uno

proveniente del haz compuerta y el otro del haz que se utiliza para producir el bombeo de la muestra removiendo el cristal e BBO correspondiente (Fig. B.5). Para esta caracterización, el haz de 800 nm que originalmente se usa para producir 400 nm para excitar la muestra se le denomina haz de prueba. En esta configuración, el experimento consiste en variar la potencia del haz compuerta, de mayor potencia que el haz de prueba, hasta llegar a una potencia mínima donde la señal de SHG no-colineal sea detectada. Obsérvese que este procedimiento se realiza para simular las condiciones que se tendrían en el experimento de conversión ascendente de fluorescencia. Por otra parte, es importante señalar que en este caso el filtro pasabandas (FPB) que está a la entrada del monocromador tiene una transmisión extremadamente baja a 400 nm; de acuerdo al fabricante el filtro transmite $1.64E-2\%$ a $\lambda_{SHG} = 400$ nm (ver Figura 4.6), a pesar de lo cual fue posible detectar la señal de SHG no colineal lo que a su vez muestra la alta sensibilidad del arreglo óptico.

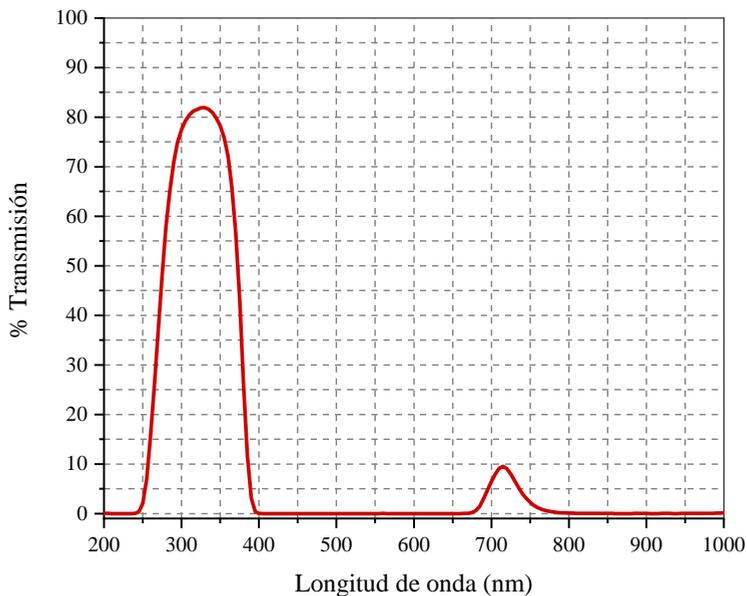


Figura 4.6. Porcentaje transmisión del filtro pasabandas FGUV11.

En un segundo experimento de caracterización, se realizaron pruebas de sensibilidad en la región de detección de 300 a 330 nm, a partir de la señal de SGF no colineal producida con los haces de prueba coherente a $\lambda_{prueba} = 450, 465, 480$ y 495 nm correlacionados con un haz de bombeo a $\lambda_{bombeo} = 900, 930, 960$ y 990 nm respectivamente. El arreglo experimental de correlación cruzada de intensidad para obtener la señal de SFG no-colineal se presenta en la Figura 4.7; el arreglo experimental es una versión similar al de conversión ascendente de fluorescencia, salvo que en este caso el haz de prueba es un haz coherente que proviene de la señal de SHG del haz

fundamental del láser Chameleon. Los resultados de estos dos experimentos de caracterización descritos en esta sección y orientados a estimar la sensibilidad del sistema óptico implementado, se presentan en el siguiente capítulo.

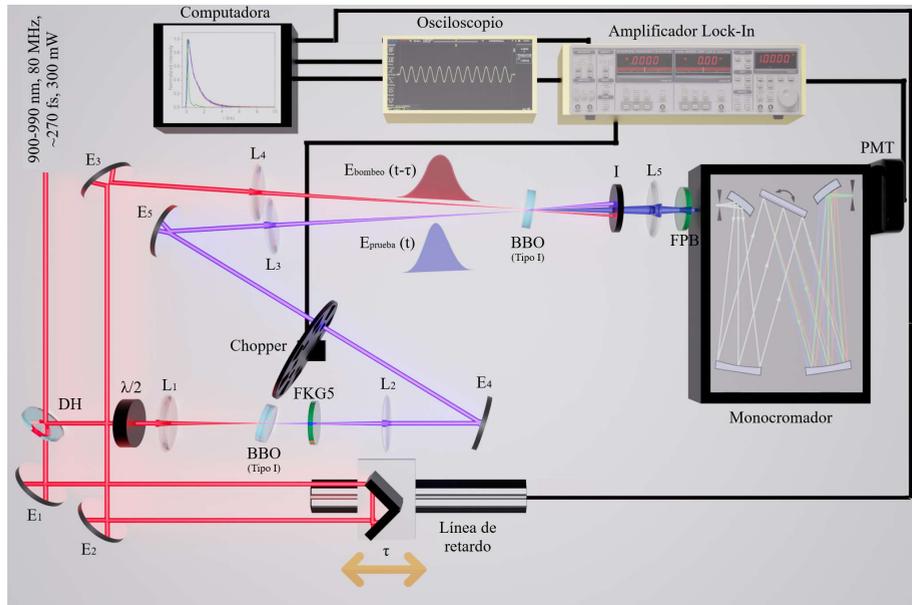


Figura 4.7. Correlador cruzado de intensidad. El haz fundamental pasa por un divisor de haz (DH) creando dos haces, uno de ellos se dobla en frecuencia para crear el haz pulsado de prueba, mientras que el otro haz pulsado denominado bombeo viaja a través de un retardo óptico; ambos haces se correlacionan en un cristal BBO Tipo I, y a través de la generación de suma de frecuencias, se resuelve temporalmente el haz pulsado de prueba.

Capítulo 5

Análisis y discusión de resultados

5.1. Resultados de pruebas de reproducibilidad del sistema de adquisición de datos y movimiento de etapa de traslación

Con el fin de validar el funcionamiento adecuado del sistema de adquisición de datos y el movimiento de la etapa de traslación, ya que, al ser un sistema casero, pueden presentarse errores como pérdida de pasos por parte del sistema motorizado de la etapa de traslación, o mala adquisición de datos por algún error de lógica en el programa, se realizaron los experimentos de autocorrelación de intensidad y el método de la navaja (sección B) que fueron probados con distintas fuentes de luz láser, de onda continua y pulsada. Dado que se probaron dos etapas de traslación con diferente resolución y se obtuvieron los correspondientes

resultados de las técnicas implementadas, se nombrará a la etapa de traslación con menor resolución como etapa de traslación 1, y a la etapa de traslación con mayor resolución como etapa de traslación 2 (Fig. 5.1)

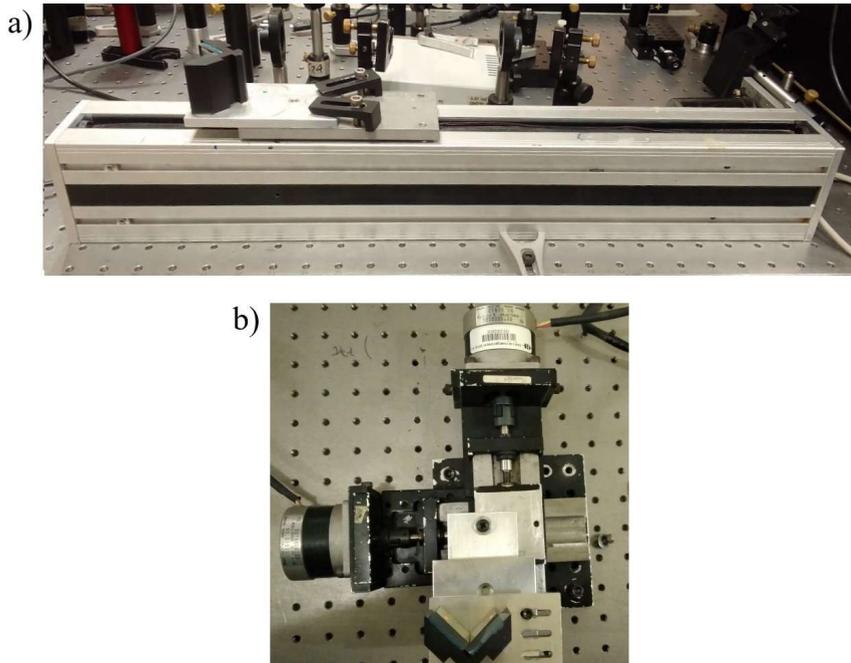


Figura 5.1. Imágenes de a) etapa de traslación 1 y b) etapa de traslación 2.

sus características principales se presentan en el Cuadro 5.1. Otra de las diferencias entre etapas de traslación es que la etapa de traslación 2 tiene movimiento en dos direcciones perpendiculares entre ellas.

Características principales de las etapas de traslación			
No.	Longitud [cm]	Paso mínimo [μm]	Controlador
1	40	12.5	Microchip
2	12	2.5	Tarjeta DAQ

Cuadro 5.1. Características de etapas de traslación.

A continuación se presentan los resultados obtenidos de las pruebas hechas previo al experimento de conversión ascendente de fluorescencia.

5.1.1.1. Etapa de traslación 1

En la Figura 5.2 se muestran los trazos de autocorrelación de SHG no-lineal del pulso emitido por el láser Tsunami (Spectra Physics) y el láser Chameleon (Coherent); ambos pulsos sintonizados a 800 nm, con una potencia de entrada al experimento de 200 mW. El arreglo experimental empleado para obtener estos trazos de autocorrelación se muestra en el Apéndice B, Figura B.5. Para la adquisición de datos, la diferencia de potencial aplicado al PMT fue de -750 V, y la longitud de salida del monocromador se configuró a 400 nm. El desplazamiento mínimo hecho por el retardo óptico creado con la etapa de traslación 1 en el experimento de autocorrelación fue de 25 μm , lo que equivale a tener una medición de la intensidad de autocorrelación aproximadamente cada 83.33 fs.

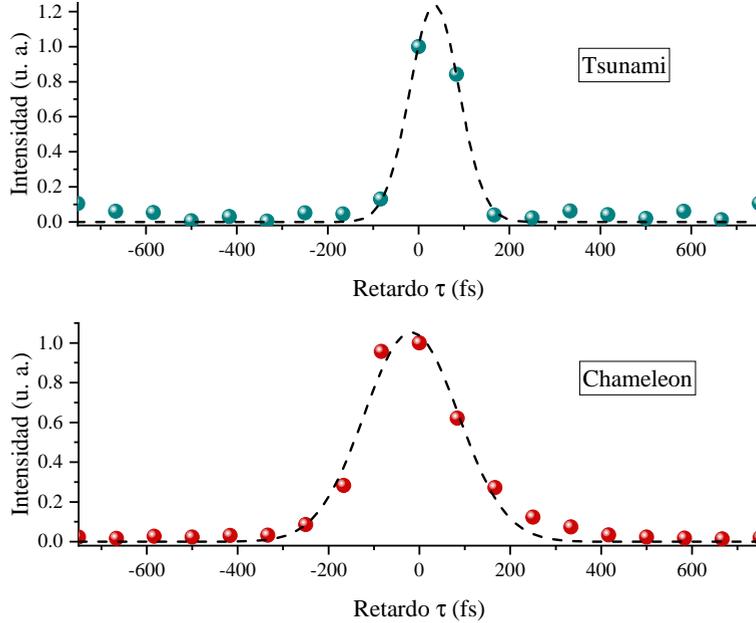


Figura 5.2. Trazo de autocorrelación para un tren de pulsos cortos emitidos por un par de láseres, Tsunami (Spectra Physics) y Chameleon (Coherent) usando la etapa de traslación 1

Se probó además la reproducibilidad del trazo de autocorrelación del pulso emitido por el láser Tsunami al mover el retardo óptico en las dos direcciones disponibles (dirección 1 y dirección 2) de la etapa de traslación a través del programa; primero se define la posición del retardo en que la intensidad de SHG máxima ($\tau = 0$), para después mover el retardo con el programa en la dirección 1 una distancia de 2.5 mm (~ 8333.3 fs) adelantando la llegada del pulso que viaja a través de la línea de retardo al cristal BBO con respecto al pulso que viaja directamente hacia el cristal; a partir de esta nueva posición del retardo óptico, éste se movió en la dirección dirección 2 un total de 5 mm

(~ 16666.6 fs), con la intención de obtener el trazo de autocorrelación desde $\tau = 8333.3$ fs hasta $\tau = -8333.3$ fs pasando por $\tau = 0$ donde se encuentra el máximo de intensidad de SHG no-colineal. Se repitió el mismo proceso pero ahora en la dirección 2 para obtener el trazo de autocorrelación desde $\tau = -8333.3$ fs hasta $\tau = 8333.3$ fs. En la Figura 5.3 se presentan los trazos obtenidos, haciendo 5 pruebas en cada dirección de movimiento del retardo óptico. Ambos procedimientos se elaboraron en 5 regiones equidistantes a lo largo de la longitud de la etapa de traslación, con la finalidad de observar pérdida de pasos.

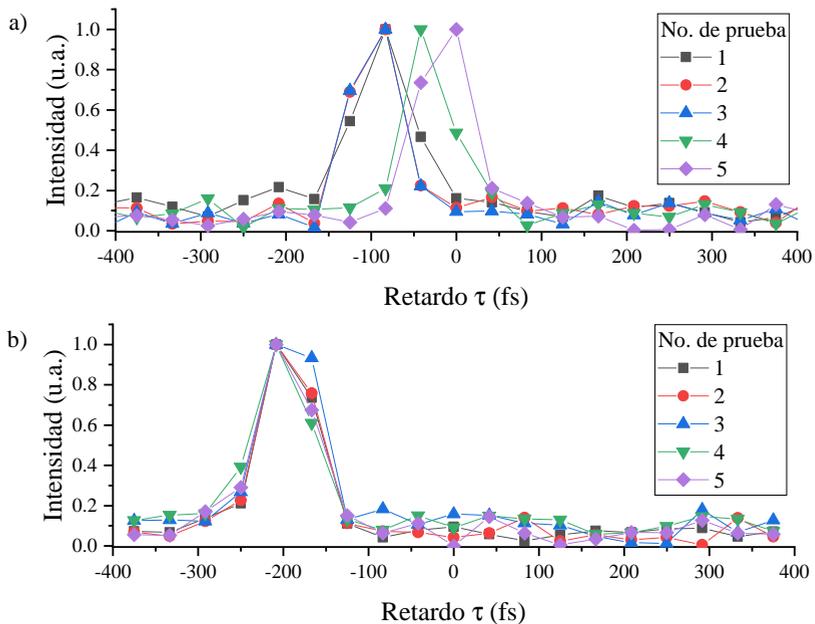


Figura 5.3. Pruebas de reproducibilidad del trazo de autocorrelación del pulso emitido por el láser Tsunami con etapa de traslación 1; a) trazo adquirido en la dirección 1, b) trazo adquirido en la dirección 2.

De la Figura 5.3 notamos que en la obtención del trazo de autocorrelación, la pérdida de paso está entre 30 y 60 μm (100 y 200 fs, respectivamente), esto implica que la pérdida de paso se da considerando el movimiento total del retardo óptico moviéndose desde $\tau = 0$ a la dirección 1, para después moverse hacia la dirección 2 y viceversa.

A partir de las pruebas hechas se analizaron los trazos de autocorrelación con el programa OriginPro 2018, ajustando una curva gaussiana a cada trazo obtenido para determinar el valor de la duración del trazo de autocorrelación $\Delta\tau_A^{FWHM}$ emitido por el láser Tsunami; en la Figura 5.4 se observan los valores resultantes para seis pruebas, las barras de error corresponden a la desviación estándar del ajuste.

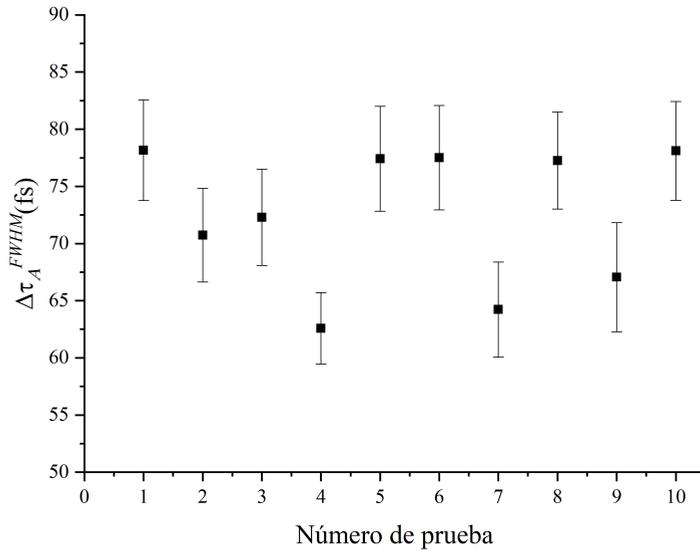


Figura 5.4. Reproducibilidad del valor de $\Delta\tau_A^{FWHM}$ en trazo de autocorrelación del pulso emitido por el láser Tsunami implementando la etapa de traslación 1.

A partir de las mediciones de autocorrelación con el láser Tsunami se calcula un promedio de $\Delta\tau_A^{FWHM} = 76.4 \pm 5.8$ fs, donde el error corresponde a la desviación estándar de las diez pruebas.

En la Figura 5.5 se presentan los valores obtenidos del valor de $\Delta\tau_A^{FWHM}$ emitido por el láser Chameleon; las barras de error corresponden al error en el ajuste de la curva gaussiana a cada trazo obtenido.

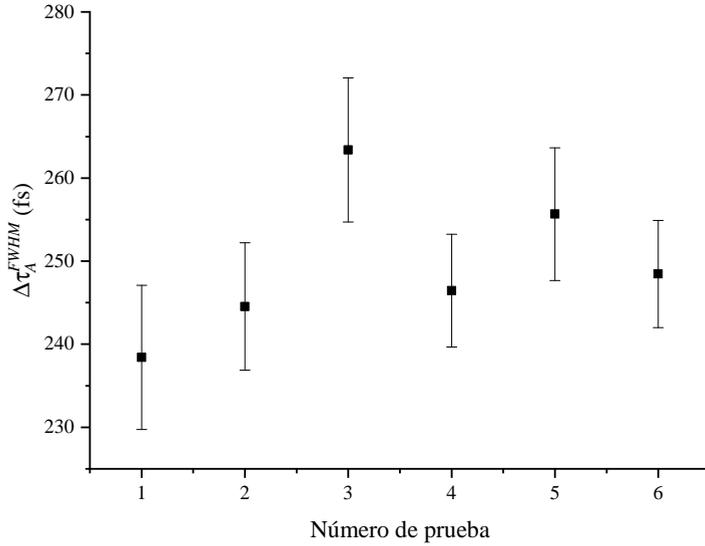


Figura 5.5. Reproducibilidad del valor de $\Delta\tau_A^{FWHM}$ en trazo de autocorrelación del pulso emitido por el láser Chameleon implementando la etapa de traslación 1.

Por lo tanto, se obtiene que el trazo de autocorrelación tiene una duración promedio de $\Delta\tau_A^{FWHM} = 249.5 \pm 8.1$ fs, donde el error corresponde a la desviación estándar de las seis pruebas.

En el Cuadro 5.2 se presentan los resultados de los trazos de autocorrelación empleando la etapa de traslación 1, así como la duración del pulso $\Delta\tau_p^{FWHM}$ calculado a partir de la ecuación B.21 suponiendo una forma gaussiana del pulso medido

Duración del pulso con etapa de traslación 1		
Pulso de luz láser	$\Delta\tau_A^{FWHM}$ [fs]	$\Delta\tau_p^{FWHM}$ [fs]
Tsunami	76.4 ± 5.8	76.4 ± 4.1
Chameleon	249.5 ± 8.1	177 ± 5.7

Cuadro 5.2. Duración de pulsos medidos con la etapa de traslación 1.

5.1.2. Etapa de traslación 2

En la gráfica 5.6 se muestran las pruebas implementando del método de la navaja para un láser de onda continua (533 nm, 5mW, JDS Uniphas) enfocado con una lente de distancia focal de $f = 100mm$, la medición se hizo a una distancia z cercana al plano focal de la lente, desde una distancia x perpendicular a la dirección de propagación del haz hasta eclipsarlo, aprovechando las dos direcciones de movimiento de esta etapa de traslación; el paso mínimo de la etapa de traslación 2 elegido es de $5 \mu m$. De forma manual se regresó la etapa de traslación 2 hasta la posición x .

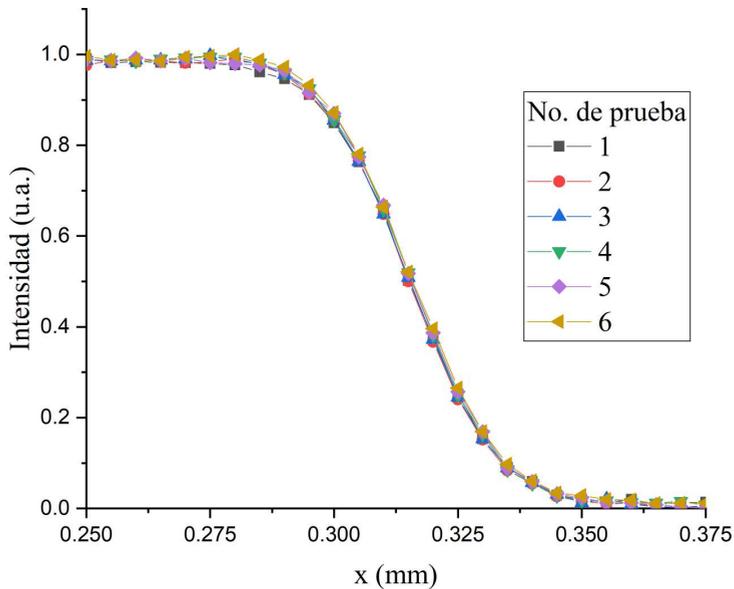


Figura 5.6. Reproducibilidad del sistema de adquisición de datos y etapa de traslación implementando el método de la navaja usando la etapa de traslación 2 en el haz de el láser continuo JDS Uniphase a 533 nm.

Para probar la reproducibilidad del sistema de adquisición de datos y etapa de traslación se realizó el procedimiento descrito en el apéndice B, haciendo uso del programa OriginPro 2018 para aplicar la función derivada a la curva del cambio de transmisión debido a la obstrucción gradual del haz; así mismo se ajustó una función gaussiana para determinar el ancho a media altura del máximo (FWHM); los anchos a media altura de cada prueba se muestran graficados en la Figura 5.7, las barras de error corresponden al error del ajuste gaussiano; a partir de la ec. (B.15) se obtiene que la cintura del haz es $\omega_0 = 20.1 \pm 0.17 \mu\text{m}$.

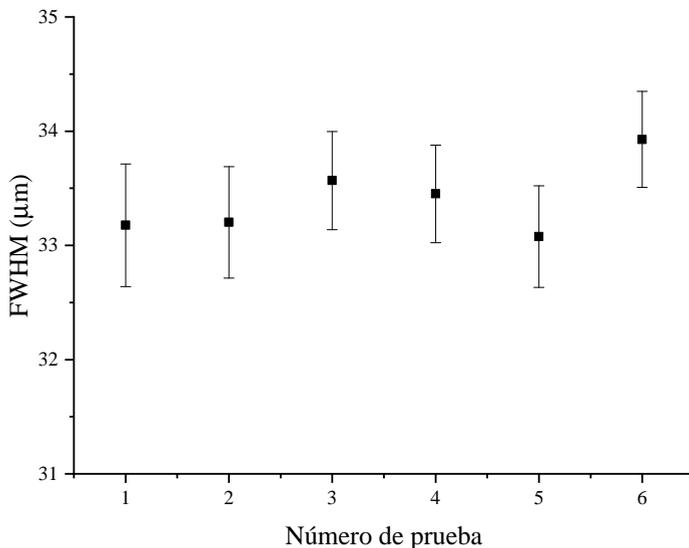


Figura 5.7. Reproducibilidad del FWHM en la primera derivada de la curva de la transmitancia medida para cada prueba implementando el método de la navaja usando la etapa de traslación 2 en el haz de el láser continuo JDS Uniphase a 533 nm.

Una vez que se analizó la reproducibilidad en la adquisición de datos y la posible pérdida de datos en el uso de las etapas trasladadoras, se procedió a medir la cintura de haz usando el láser Tsunami (Fig. 5.8), donde se determinó que la cintura mínima del haz enfocado medida aproximadamente en el plano focal de la lente es de $\omega_0 = 16.5 \pm 0.5 \mu\text{m}$.

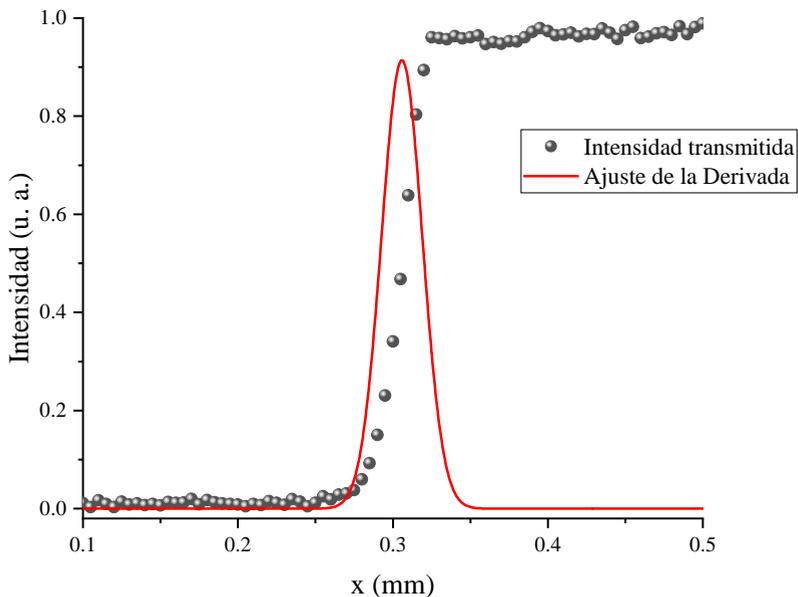


Figura 5.8. Cintura mínima del haz enfocado emitido por el láser Tsunami usando la etapa trasladora 2.

La etapa de traslación 2 también se empleó para medir pulsos ultracortos a través de la técnica de autocorrelación. En la Figura 5.9 se muestran los trazos de autocorrelación del pulso emitido por el láser Tsunami (Spectra Physics) y el láser Chameleon (Coherent); repitiendo las condiciones descritas usando la etapa de traslación 1, ambos pulsos sintonizados a 800 nm, con una potencia de entrada al experimento de 200 mW. La diferencia de potencial aplicado al PMT fue de -750 V, y la longitud de salida del monocromador se configuró a 400 nm. El desplazamiento mínimo hecho por el retardo óptico creado con la etapa de traslación 2 en el experimento de autocorrelación fue

de $2.5 \mu\text{m}$, lo que equivale a tener una medición de la intensidad de autocorrelación aproximadamente cada 8.33 fs .

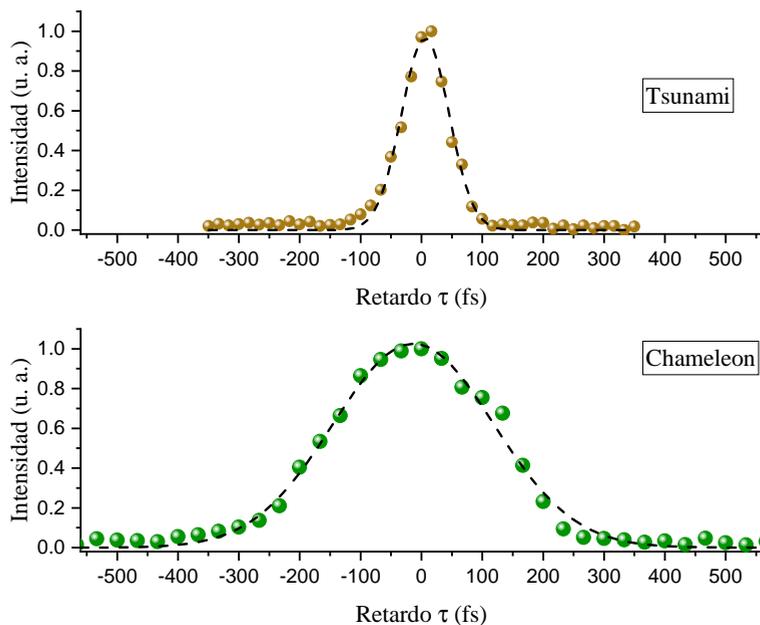


Figura 5.9. Trazo de autocorrelación para un tren de pulsos cortos emitidos por un par de láseres, Tsunami (Spectra Physics) y Chameleon (Coherent) usando la etapa de traslación 2.

En la Figura (5.10) se muestran las pruebas hechas con la misma lógica descrita en la subsección 5.1.1 para obtener los trazos de autocorrelación en dos direcciones.

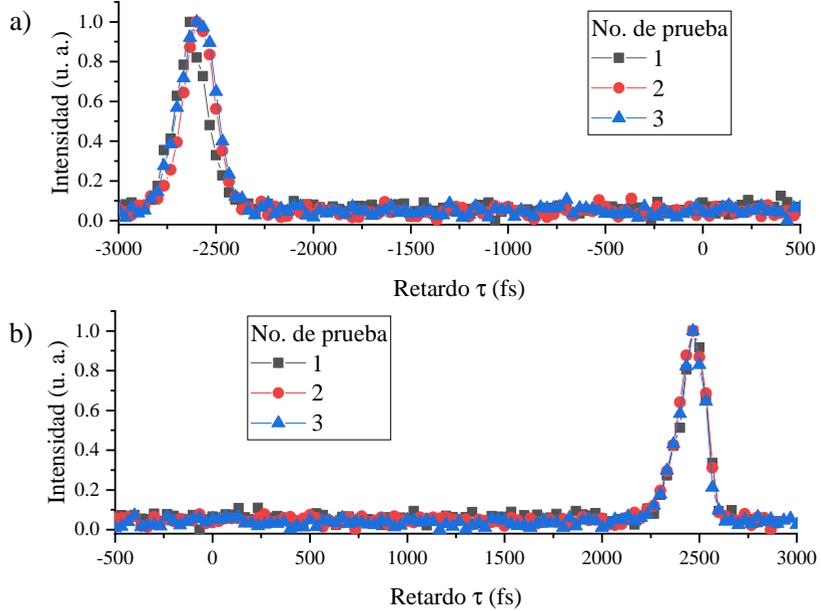


Figura 5.10. Reproducibilidad del sistema de adquisición de datos y etapa de traslación implementando el experimento de autocorrelación del pulso emitido por el láser Chameleon usando la etapa de traslación 2; a) trazo adquirido en la dirección 1, b) trazo adquirido en la dirección 2.

La reproducibilidad del experimento puede confirmarse al hacer el análisis de cada trazo de autocorrelación obtenido. En la Figura (5.11) se presenta la variación de la duración del pulso $\Delta\tau_A^{FWHM}$ para cada prueba realizada; las barras de error corresponden al error en el ajuste gaussiano.

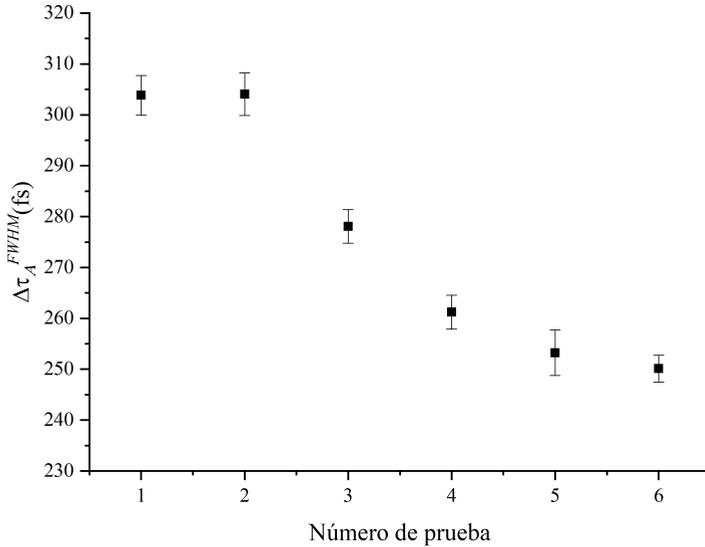


Figura 5.11. Variación de la duración del pulso de autocorrelación con el láser Chameleon, usando la etapa de traslación 2.

El valor promedio de la duración del pulso de autocorrelación es $\Delta\tau_A^{FWHM} = 275.1 \pm 22.2$ fs para el pulso emitido por el láser Chameleon, donde el error es la desviación estándar de las seis pruebas.

Así mismo, la etapa de traslación 2 se usó para obtener a través de la autocorrelación del pulso emitido por la cavidad Tsunami, cuyas pruebas de reproducibilidad se presentan en la Figura 5.12, las barras corresponden al error en el ajuste gaussiano

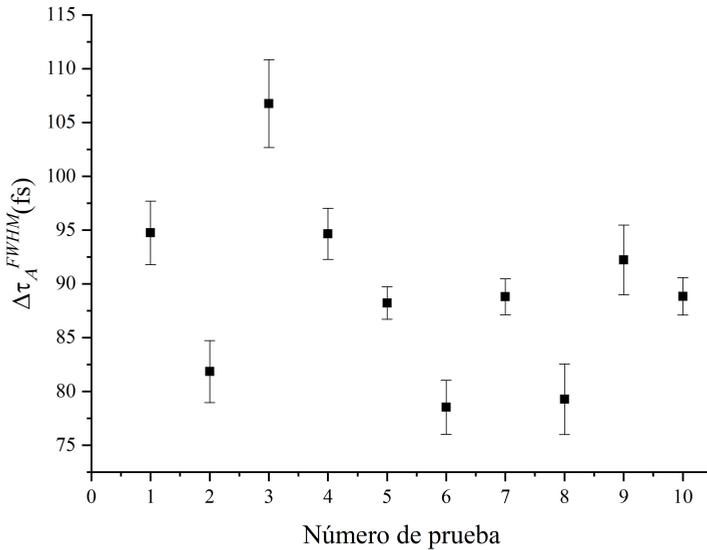


Figura 5.12. Variación de la duración del pulso implementando Autocorrelación con el láser Tsunami usando la etapa de traslación 2.

Se obtuvo un promedio de duración del pulso de $\Delta\tau_A^{FWHM} = 90 \pm 8$ fs, donde el error corresponde a la desviación estándar de las diez pruebas realizadas. De igual manera, en el Cuadro 5.3 se presentan los resultados de los trazos de autocorrelación empleando la etapa de traslación 2, con $\Delta\tau_p^{FWHM}$ calculado a partir de la ecuación B.21 suponiendo una forma gaussiana del pulso medido.

Duración del pulso con etapa de traslación 2		
Pulso de luz láser	$\Delta\tau_A^{FWHM}$ [fs]	$\Delta\tau_p^{FWHM}$ [fs]
Tsunami	90 ± 8	63.8 ± 5.6
Chameleon	275.1 ± 22.2	195.1 ± 15.7

Cuadro 5.3. Duración de pulsos medidos con la etapa de traslación 2.

5.1.3. Resultado de prueba del sistema Monocromador-Amplificafor Lock-In

Se hizo una prueba de la reproducibilidad, sensibilidad y calibración del sistema constituido por el monocromador, PMT y amplificador Lock-In (Fig 4.1); para ello se midió primero el espectro de emisión de las moléculas de prueba a partir de la luz de fluorescencia generada por el pulso de excitación a 400 nm. Los parámetros elegidos en el programa del sistema Monocromador-Amplificador Lock-In para esta medición fueron $\lambda_{inicio} = 400nm$, $\lambda_{fin} = 950nm$, “Intervalo”: 0.1 nm, “Muestras”: 10, “Velocidad”: 50 nm/min. Las moléculas de prueba se encontraban a concentración de 10^{-3} M para su experimentación.

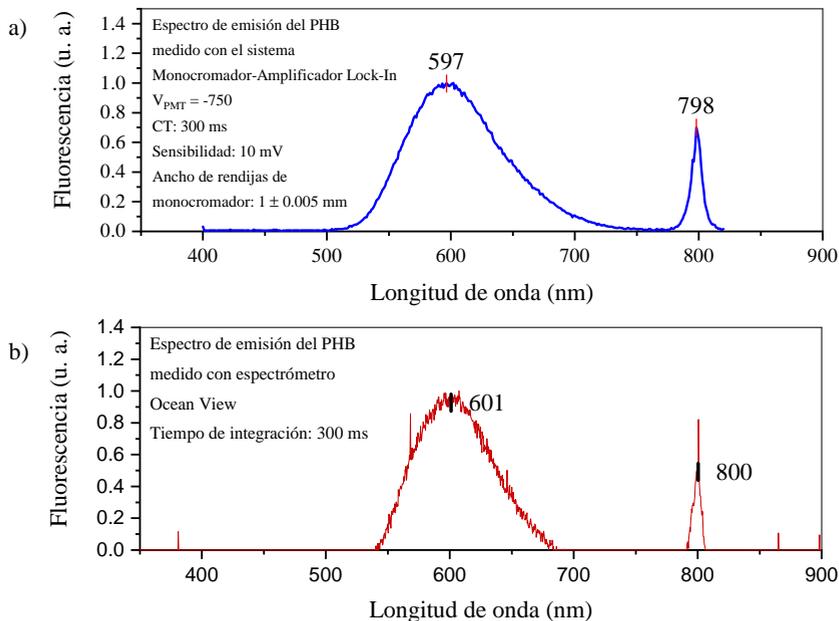


Figura 5.13. Fluorescencia de PHB medida con un sistema implementado a) y comercial b). CT, constante de tiempo.

En primera instancia y con el fin de comprobar la calibración espectral del sistema Monocromador-Amplificador Lock-In, se detectó el espectro de emisión de PHB, pues presenta una intensidad de fluorescencia menor a las otras muestras fluorescentes (Fig. 4.2), y se comparó con el espectro medido con un espectrómetro comercial (Ocean View); así mismo se midió el espectro del haz fundamental sintonizado a 800 nm; ambos espectros se muestran en la Figura 5.13. Los espectros de emisión de Rodamina 6G y PF se muestran en la figura 5.14, a su vez se muestran los espectros medidos con un fluorómetro comercial (Edinburgh Instruments).

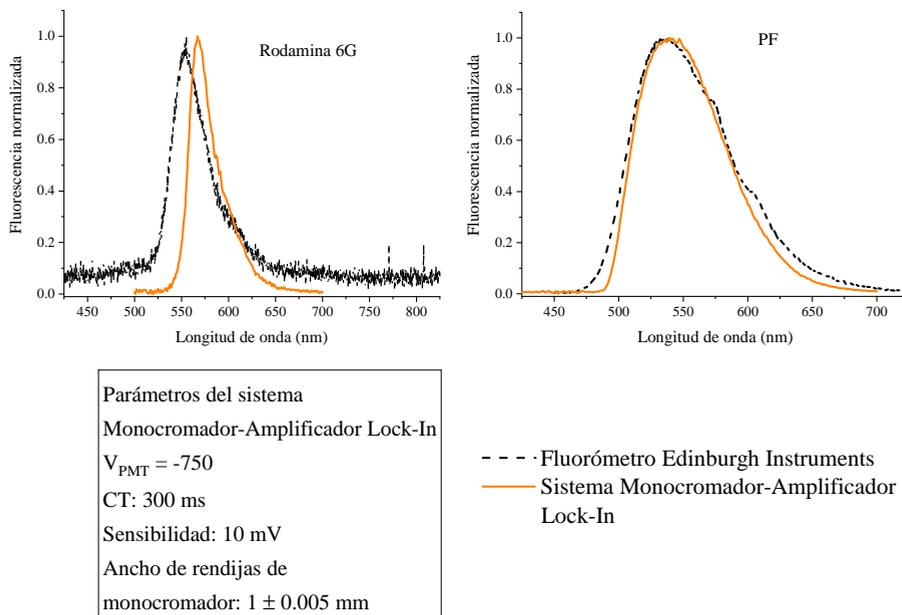


Figura 5.14. Fluorescencia de muestras de prueba medida con un sistema implementado y comercial. CT, constante de tiempo.

En el Cuadro 5.4 se muestra la comparación de las longitudes de onda máximas (λ_{em}) identificadas en las mediciones realizadas. Podemos ver que el error relativo más bajo se presentó en el espectro medido de PHB de 0,66 %.

Muestra de prueba	λ_{em}^{S-I} [nm]	λ_{em}^C [nm]	E_r [%]
Rodamina 6G	555.1	566.1	1.94
PF	534	539	0.93
PHB	597	601	0.66

Cuadro 5.4. Comparación de longitudes de onda máxima de espectros medidos con el sistema Monocromador-Amplificador Lock-In (λ_{em}^{S-I}) y equipos comerciales (λ_{em}^C); E_r , error relativo.

5.2. Resultados de sensibilidad del sistema de adquisición de datos y movimiento de etapa de traslación

Se muestran a continuación los resultados de la eficiencia de conversión de la intensidad de SHG no-colineal producida por el haz *compuerta* y el haz de prueba (Fig. 4.1), ambos a una longitud de onda de 800 nm, a partir de haz fundamental del láser Chameleon; se realizaron dos variaciones del experimento, el primero consiste en obtener la eficiencia de conversión de SHG a medida que el haz *compuerta* se mantiene a una potencia fija y el haz de prueba es atenuado gradualmente, hasta encontrar los mínimos de potencia del haz *compuerta* y de prueba que permiten obtener detección de señal. Estos valores de potencia definen los valores mínimos de sensibilidad del sistema. La segunda versión del experimento consiste en obtener la eficiencia de conversión de SHG a medida que el haz de prueba se mantiene a una potencia fija y el haz *compuerta* es atenuado gradualmente, hasta encontrar los mínimos de potencia del haz de

prueba y el compuerta, que generan una señal detectable de SHG no-colineal. Estos niveles mínimos de potencia en ambos haces definen la sensibilidad del sistema. Obsérvese que en este caso el proceso de SHG no-colineal es un caso degenerado del proceso de SFG pues en el medio no lineal se están mezclando dos haces de la misma frecuencia (longitud de onda).

El proceso aquí descrito de SFG degenerado difiere del proceso de conversión ascendente de fluorescencia en que tanto el haz compuerta como el haz de prueba son radiación coherente, mientras que en el caso de conversión ascendente de fluorescencia mediante SFG el haz de prueba consiste en radiación no coherente (fluorescencia). Tomando en cuenta esto, es evidente que los mínimos de potencia requeridos para generar SFG con el haz de fluorescencia serán mayores que los requeridos para el caso cuando con el haz de prueba es coherente. De ahí la importancia de determinar las potencias mínimas requeridas para generar SFG usando haces coherentes en el arreglo óptico de este trabajo pues esas potencias establecen los niveles de sensibilidad. Es igualmente importante señalar que un objetivo de la tesis es determinar si es posible detectar SFG en el arreglo óptico de la Figura 4.1 con los niveles de intensidad de fluorescencia que se alcanzan al usar pulsos láser de de fs de baja energía y alta frecuencia de repetición.

Para todos los experimentos realizados las rendijas del monocromador de entrada y salida tenían una abertura fija de 1 ± 0.005 mm, la diferencia de potencial para amplificar la señal detectada por el PMT se fijó en -750 V, ya que, al hacer las pruebas correspondientes variando este parámetro, se observó que para

diferencias de potencial superiores a este valor, la fluctuación en la medición de una señal adquirida por el Amplificador Lock-In causada por el ruido electrónico es del orden de mV, mientras que las señales que se desean medir son inferiores a este valor; la constante de tiempo (CT) y la sensibilidad del Amplificador Lock-In se fijó en 300 ms y 10 mV respectivamente, para tener un tiempo de respuesta entre adquisición de dato corto y así poder resolver el proceso a medir; la frecuencia de modulación del chopper se fijó a 200 Hz.

En la Figura 5.15 se muestra la variación de la intensidad de SHG (I_{SHG}) en función de la variación de la potencia del haz de prueba, para diferentes potencias del haz compuerta; el haz fundamental se sintonizó a 800 nm y se procuró filtrar el remanente de los haces compuerta y prueba a esta longitud de onda con un iris (Fig. B.5). El error mostrado en la figura es la desviación estándar de 10 datos tomados para cada medición. El valor de la intensidad de SHG no-colineal medido es un valor relativo a la potencia de los haces compuerta y de prueba, que es tomado como el valor de voltaje detectado por el Amplificador lock-In.

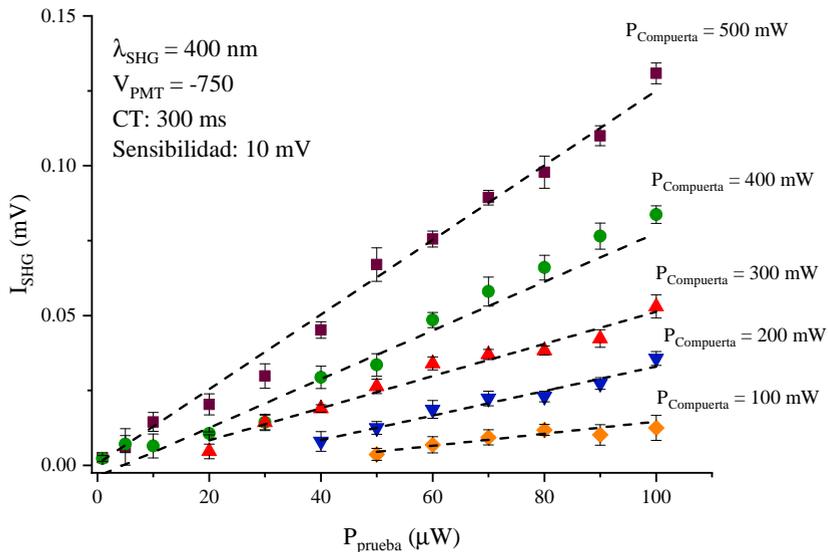


Figura 5.15. Curvas de variación de la intensidad de SHG en función de la atenuación gradual del haz de prueba.

Se logró estimar que la potencia promedio mínima del haz de prueba para poder generar señal de SHG no-colineal es de $50 \pm 0.15 \mu W$ cuando el haz de compuerta es de 100 mW, cuyo error está dado por la mínima resolución del medidor de potencia; por otra parte, cuando la potencia del haz compuerta se aumenta a 500 mW, que es el máximo disponible en nuestro experimento, la potencia mínima del haz de prueba para obtener señal de SHG es de $0.9 \pm 0.15 \mu W$. Para verificar que la señal obtenida por el monocromador era efectivamente señal de SHG, se obtuvo el espectro de la señal adquirida a potencias del haz compuerta y de prueba mínima, ilustrada en la Figura 5.16. Cabe recalcar que la transmitancia del filtro pasabandas (GUV11) colocado a la entrada del monocromador solo transmite el $1.64E-02 \%$ a $\lambda_{SHG} = 400 \text{ nm}$, por lo que la señal de

SHG generada con estos mínimos de potencia del haz compuerta y el haz prueba corresponde a una señal atenuada aproximadamente al 99.99836 %. En otra palabras, con potencias mínimas de 100 mW y 50 μ W para los haces de compuerta y prueba, respectivamente, se genera una señal de SHG detectada en el PMT-Lock-in de 10 μ V, siendo que en realidad que el haz de SHG original es 6097 veces más intenso que el detectado pues es atenuado 99.99836 % por el filtro pasa bajas FPB a la entrada del monocromador.

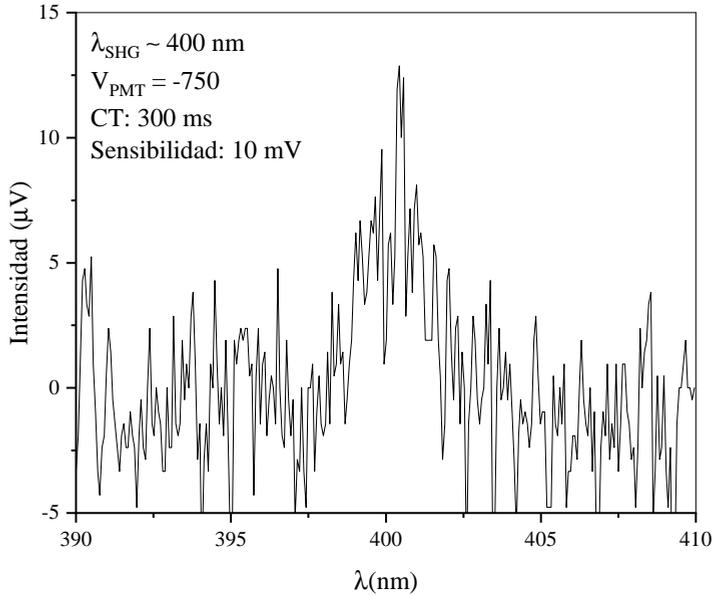


Figura 5.16. Espectro de señal SHG con el mínimo de potencia, con $P_{compuerta}=100$ mW y $P_{prueba}=50$ μ W.

Posteriormente se sintonizó la longitud de onda del haz fundamental a 700 nm, lo cual implica que ahora el haz compuerta y de prueba están

a esa misma longitud de onda y por lo tanto la señal de SHG a $\lambda_{SHG} = 350$ nm. A esta longitud de onda, el filtro FPB tiene una alta transmisión (78.26 %) como se ve en la Figura 4.6.

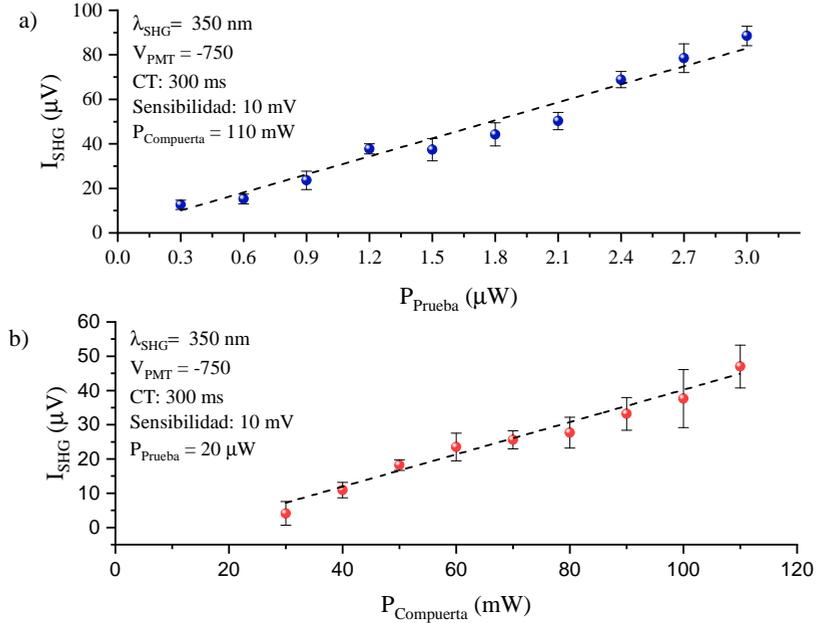


Figura 5.17. Curva de variación de la intensidad de SHG a $\lambda_{SHG} = 350$ nm en función de la atenuación del a) haz de prueba y b) haz compuerta.

Una vez sintonizado los haces de prueba y compuerta a 700 nm, se procedió nuevamente a encontrar los valores de potencia mínimos que son necesarios para generar SHG no-colineal. Los resultados se ilustra en la Figura 5.17; en la curva a) se fijó la potencia del haz compuerta a $P_{compuerta} = 110 \pm 0.0015$ mW, disminuyendo la potencia del haz de prueba de 3 μW hasta obtener la señal mínima detectable de SHG no-colineal relativa, de $\sim 0.3 \pm 0.15$ μW y en la

curva b) se fijó la potencia del haz de prueba $P_{prueba} = 20 \pm 0.15 \mu\text{W}$, disminuyendo la potencia del haz compuerta desde 110 mW hasta $\sim 30 \pm .0015 \text{ mW}$, donde también se obtuvo la señal mínima relativa de conversión de SHG no-colineal, de $\sim 5 \mu\text{V}$. Ambas curvas presentan un comportamiento lineal en la variación de la intensidad relativa de SHG no-colineal. Se obtuvieron además los espectros de la señal de SHG no-colineal correspondiente a cada caso, mostrados en la Figura 5.18.

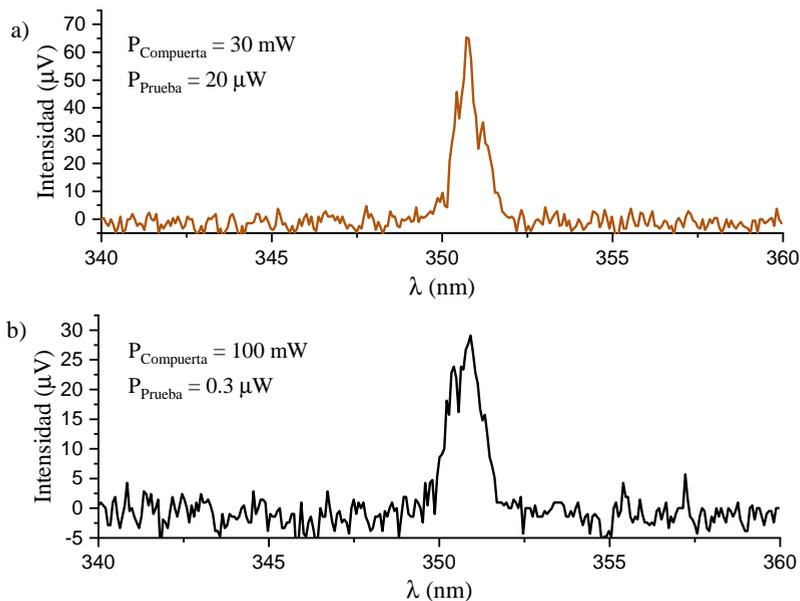


Figura 5.18. Resolución espectral de SHG no-colineal a $\lambda_{SHG} \sim 350 \text{ nm}$ con el haz fundamental a 700 nm .

Se puede observar que la señal de SHG no-colineal centrada en $\sim 350 \text{ nm}$, y para el espectro de a) la señal es más intensa en relación al espectro tomado en b). Para ambos casos el ancho espectral es de $\sim 1.25 \text{ nm}$.

Con la finalidad de comprobar que el sistema es sensible en un rango de longitudes de onda donde es posible encontrar la señal de SFG no-colineal, se realizó el experimento de correlación cruzada de intensidad para producir señal de SFG no-colineal a partir de dos haces coherentes, sintonizando el haz fundamental del láser Chameleon para obtener el pulso compuerta a $\lambda_{compuerta} = 990$ nm y por SHG del fundamental obtener el pulso de prueba a $\lambda_{prueba} = 495$ nm (Fig. 4.7). Las potencias de los haces compuerta y de prueba son $110 \text{ mW} \pm 0.15 \text{ } \mu\text{W}$ y $\sim 0.7 \pm 0.15 \text{ } \mu\text{W}$ respectivamente. La resolución espectral y temporal de la señal de SFG no-colineal se ilustran en la Figura 5.19. Se estima que la duración del pulso de correlación es $\Delta\tau_C^{FWHM} = 352.3 \pm 24.8$ fs, como resultado se obtiene una duración del pulso de prueba de $\Delta\tau_p^{FWHM} = 249.8 \pm 17.6$ fs, con un ancho espectral de la señal es de ~ 2.5 nm.

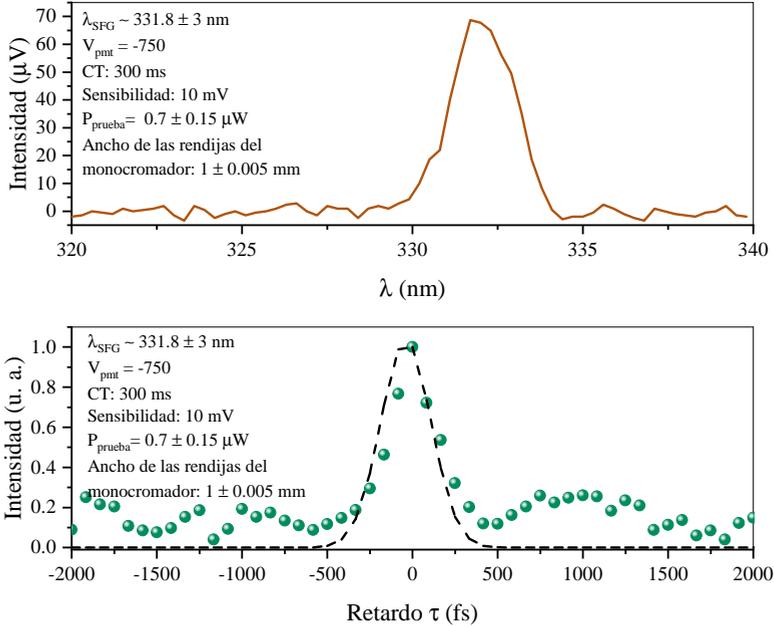


Figura 5.19. Resolución espacio-temporal de Suma de frecuencias generada con $\lambda_{\text{compuerta}}=990$ nm y $\lambda_{\text{prueba}}=445$ nm.

También se sintonizó el fundamental del láser Chameleon a $\lambda = 960, 930$ y 900 nm para obtener los espectros de SFG no-colineal con $\lambda_S = 320, 310$ y 300 , cuyos ángulos de empatamiento de fase estimados con ayuda de la ec. (3.6) de $\theta_m = 33.9^\circ, 35.2^\circ, 36.5^\circ$ y 38° respectivamente. La potencia del haz compuerta se fijó a 110 mW, esto con la intención de observar el cambio de intensidad de SFG no-colineal bajo las mismas condiciones de intensidad de pulso para cada longitud de onda sintonizada. La potencia medida del haz de prueba es de $\sim 0.7 \mu\text{W}$. Los espectros se presentan en la Figura 5.20. En el inciso a) la longitud máxima se encuentra en ~ 300 nm con un ancho de banda espectral de ~ 3.75 nm.

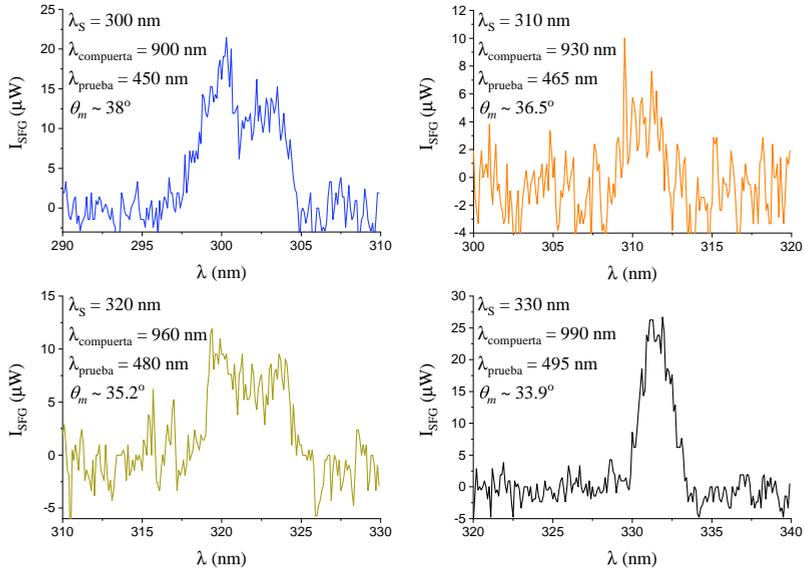


Figura 5.20. Espectros de señal de SFG de 300 a 330 nm. Se fijó la potencia del haz compuerta en cada caso a ~ 110 mW y con un haz de prueba de ~ 0.7 μ W

En el inciso b) el máximo de la señal se encuentra en ~ 310 nm, con un ancho espectral de ~ 2.5 nm; en relación con los espectros presentados en los demás incisos, la relación entre señal de SFG no-colineal y señal a ruido es de aproximadamente 2 a 1, sin embargo debe recordarse que diversos factores influyen en la adquisición de la señal como el ajuste del ángulo de empatamiento de fase, el ángulo de aceptación, sensibilidad del PMT, etc. y que estos cambian para cada longitud de onda de SFG no-colineal. En el inciso c) la longitud de onda máxima se encuentra en ~ 320 nm y posee un ancho espectral de ~ 3.75 nm. Al igual que en a), esta forma del espectro que pareciera estar formado por dos bandas en realidad constituyen a una sola, y puede ser debido a la baja resolución

con la que se cuenta. Finalmente en el inciso d) se muestra el espectro con una longitud de onda máxima en ~ 331 nm, y posee un ancho espectral de 2.5 nm. Haciendo una comparación entre incisos se puede observar que la señal SFG no-colineal a 330 nm posee una intensidad relativa superior a los otros espectros, sin embargo, es del orden de mV. En vista de que esta señal se encuentra en la región espectral donde se espera encontrar la SFG generada a partir de un pulso de prueba no coherente y de baja intensidad, región determinada por la longitud de onda de emisión máxima de las moléculas de prueba y el rango de sintonización en longitud de onda de los osciladores láser utilizados, se realizó una estimación de la mínima intensidad requerida por el pulso compuerta y el pulso de prueba coherentes para generar la conversión de señal de SFG. El resultado se muestra en la Figura 5.21.

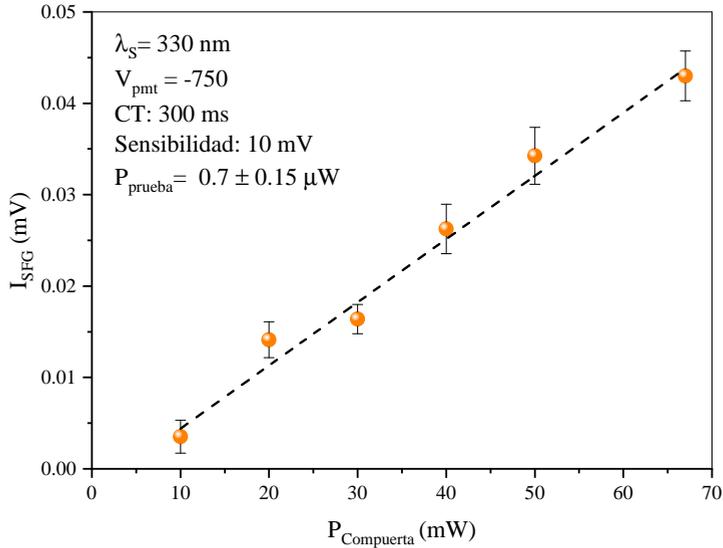


Figura 5.21. Curva de intensidad de SFG a $\lambda_S=330 \text{ nm}$ a partir de la disminución de la potencia del haz compuerta.

El valor de la potencia del haz de prueba a $\lambda_{\text{prueba}} = 495 \text{ nm}$ medido es $P_{\text{prueba}} \sim 0.7 \pm 0.15 \mu\text{W}$, este es generado a partir del doblamiento en frecuencia del haz fundamental a $\lambda = 990 \text{ nm}$.

5.3. Conclusiones generales del sistema de conversión ascendente

A partir de los experimentos realizados podemos ver que existe reproducibilidad del sistema con un error del desplazamiento diferente para cada etapa de traslación; para la etapa de traslación 1 se determinó para un movimiento en las dos direcciones posibles una

pérdida de paso aproximadamente entre 30 y 60 μm al adquirir el trazo de autocorrelación de SHG no-colineal; para la etapa de traslación 2 la pérdida de paso al utilizar las dos direcciones de movimiento para obtener el trazo de autocorrelación SHG es de $\sim 75 \mu\text{m}$. En ambas etapas de traslación la pérdida de paso solo delimita el cambio del retardo cero $\tau = 0$ como puede observarse en las Figuras 5.3 y 5.10, pues la variación de la duración del pulso de autocorrelación $\Delta\tau_A^{FWHM}$ entre número de pruebas es mínima (Figs. 5.4 y 5.11).

De la calibración del sistema Monocromador-Amplificador Lock-In, vemos que el espectro medido para la emisión de fluorescencia del PHB y del haz láser fundamental (Fig. 5.13), su intensidad máxima se encuentra en 590 nm, y 798 nm respectivamente, en comparación con el resultado obtenido por el espectrómetro comercial, vemos que hay un error relativo porcentual del 0.6%. En el caso del colorante LDS 968 pudo haber ocurrido un error en la determinación del espectro, debido a la luz espuria la cual probablemente se midió por error; en general el sistema Monocromador-Amplificador Lock-In presenta una variación pequeña en el error con relación al fluorómetro comercial y el espectrómetro usados para su comparación.

En cuanto a la sensibilidad que otorga el sistema de adquisición de datos y movimiento de etapa de traslación al reproducir las condiciones necesarias para generar la conversión ascendente de fluorescencia mediante un haz de prueba coherente, se puede observar que las potencias mínimas para obtener conversión de segundo armónico y suma de frecuencias se encuentran en escalas de potencia de decenas a centenas de microwatts, escala en la cual es posible resolver resolver temporalmente y espectralmente los pulsos resultantes

de la correlación óptica. Como se describió en la sección 5.2, en el caso de la señal de SFG generada a $\lambda_S = 330$ nm, esta señal no puede resolverse espectralmente ni temporalmente al intentar atenuar la señal del haz de prueba ($\lambda_{prueba} = 495$ nm) con $P_{prueba} = 0.7 \pm 0.15$ μ W, correlacionado con un haz compuerta de 10 mW ± 0.15 μ W por lo tanto, se considera que es la potencia mínima para observar señal generada por suma de frecuencias. En el caso de conversión ascendente de fluorescencia, se esperaría que la potencia del haz de fluorescencia recolectado para generar conversión ascendente debe ser igual o mayor a 0.7 ± 0.15 μ W, correlacionado con un haz de compuerta a una potencia de 10 ± 0.15 μ W.

Es necesario recalcar que esta estimación del resultado se realizó con un haz pulsado de prueba coherente, con un pulso de ancho temporal aproximadamente igual al pulso compuerta o compuerta, esto no es así en el experimento de conversión ascendente, pues comúnmente el pulso de prueba producido por la fluorescencia de la molécula de prueba tiene un ancho temporal mucho mayor que el pulso compuerta. Además, la emisión de fluorescencia es no coherente y de intensidad baja comparado con un pulso de luz láser; también es necesario considerar que no toda la luz de fluorescencia recolectada y enfocada en el cristal BBO es convertida ascendentemente por dos limitantes principales, el ángulo de aceptación y el ancho de banda espectral. Se debe recordar que el ángulo de aceptación delimita la fracción de la luz enfocada en el cristal que será convertida ascendentemente, y éste depende del inverso del ancho del cristal empleado, en el Cuadro 4.1 vemos que los ángulos de aceptación son pequeños, parámetro que podría ser optimizado usando un cristal BBO más delgado pues el usado en el sistema diseñado para generar

conversión ascendente es de $100 \mu\text{m}$. En el caso del ancho de banda espectral, como solo una fracción mínima de las frecuencias que componen a la fluorescencia será convertida ascendentemente, la sintonización adecuada del ángulo de empatamiento de fase es crucial para la detección de señal convertida ascendentemente, por tanto el error en el paso micrométrico de la montura en la que se instaló el cristal BBO para generar conversión ascendente ($\pm 0.041665^\circ$) podría afectar la producción de esta señal.

En cuanto a la alineación del sistema de conversión ascendente diseñado para esta tesis se refiere, lograr obtener un ángulo α pequeño ha implicado en la recolección de fluorescencia el uso de una configuración de lentes a L_4, L_5 magnificadora, es decir, que la imagen de la sección transversal del haz de fluorescencia formada en el cristal BBO es más grande, pues en el experimento la lente que colima la luz de fluorescencia posee una distancia focal menor ($f_4 = 45 \text{ mm}$) que la distancia focal de la lente que enfoca la fluorescencia en el cristal BBO ($f_5 = 200 \text{ mm}$), esto para mantener el ángulo α que hay entre el haz de fluorescencia y el haz compuerta de $\sim 5^\circ$, evitando así el traslape entre las lentes que enfocan los haces de fluorescencia y compuerta y la obstrucción de alguno de los dos haces. Por otro lado, la magnificación del haz de fluorescencia de $M \sim 4.44$ producto de la recolección hecha por la configuración de lentes a L_4, L_5 , aumenta el tamaño de la sección transversal de la fluorescencia formada en el cristal BBO haciéndola de mayor tamaño en comparación con la sección transversal del haz de compuerta enfocado en el BBO; de acuerdo con el resultado mostrado en la sección 5.1.2 para la cintura del haz $\omega_0 = 16.5 \pm 0.47 \mu\text{m}$ el tamaño de la sección transversal es $\sim 213 \pm 24.36 \mu\text{m}^2$. Como consecuencia, solo una fracción de la luz de fluorescencia recolectada se

correlaciona con el haz de compuerta, disminuyendo la eficiencia de conversión ascendente. Si bien es posible modificar el tamaño del haz compuerta de forma que sea correlacionado con mayor luz del haz de fluorescencia, se trabajó bajo la hipótesis de que el haz compuerta posee mucho mayor densidad de energía concentrada en el cristal BBO, facilitando el proceso de conversión ascendente; aunado a esto, el haz de fluorescencia enfocado en el cristal BBO presenta aberraciones debido a la naturaleza de su recolección, por lo que su intensidad se concentraría de mejor forma en una sección aun más pequeña.

Otro factor a tomar en cuenta en el experimento es el filtro pasabandas FGUV11 instalado a la entrada del monocromador, con transmisión en un rango de 245–375 nm, si bien su función es discriminar la luz proveniente de otras fuentes y transmitir la señal convertida ascendentemente, su máximo de transmisión centrado en 326 nm es del 82%; para conversión ascendente de fluorescencia de las moléculas de prueba, considerando su correlación con un pulso fundamental sintonizado en 800 nm, la señal de SFG se encontraría de acuerdo al Cuadro 4.1 para Rodamina 6G, PF, PHB y LDS 698 son $\lambda_S = 334.8, 322.6, 346.1$ y 363.7 nm respectivamente, por lo tanto, la posible transmisión a través del filtro pasabandas FGUV11 sería $\sim 81.7\%, 82.9\%, 79.2\%$ 69.2% respectivamente, restringiendo aun más la observación de señal convertida ascendentemente.

Los osciladores usados como fuente del haz fundamental juegan el papel principal en la implementación de esta técnica y la obtención de la señal convertida ascendentemente; hablando del oscilador láser Chameleon, si bien cuenta con un amplio rango de sintonización, su potencia promedio disminuye considerablemente por debajo de 700 nm

y arriba de 900 nm, por lo tanto, la sintonización del fundamental a una longitud de onda adecuada para correlacionar un haz compuerta se ve comprometida por su intensidad; así mismo se ve comprometido el haz de excitación, pues es posible que la longitud de onda del haz compuerta sea la adecuada para correlacionarse con el haz de fluorescencia, pero el haz de excitación que también proviene del fundamental puede no ser el adecuado para excitar a la muestra de prueba, generando una intensidad de fluorescencia baja, y así disminuyendo la señal convertida ascendentemente.

Otro parámetro importante a considerar es la detección hecha con el sistema monocromador-PMT-Amplificador Lock-In, en específico el foto-multiplicador o PMT, pues como se discutió en la sección 4.2, la respuesta de detección en el rango donde se espera encontrar la señal convertida ascendentemente corresponde a un rango de detección limitado por el PMT. Este parámetro podría ser optimizado como en [9] donde se implementa un contador de fotones para discriminar el ruido, o como en [23] donde el fotomultiplicador está conectado a sistema de enfriamiento para reducir el ruido de fondo (dark noise) y una técnica de conteo de fotones para discriminar los pequeños pulsos de ruido, o bien, implementando un PMT con una mejor respuesta espectral en el rango UV.

Apéndice A

Código y adquisición de datos

Para el arreglo de conversión ascendente de fluorescencia es importante automatizar el retardo óptico que permite retrasar temporalmente el pulso de prueba y la adquisición la evolución temporal de la intensidad de fluorescencia a través de la SFG; la sincronización de ambas acciones nos permiten obtener un trazo que relaciona la evolución de la intensidad de la SFG en función del retardo temporal entre los pulsos de prueba y fluorescencia; en el presente apartado se muestran la descripción de una rutina que permite tener el control de ambas acciones, los parámetros configurables, la pantalla principal donde se encuentran los controles de estos parámetros, así como las pruebas hechas para determinar la resolución de la línea de retardo y el ruido en la adquisición de datos. Así mismo es importante tener la resolución espectral de la señal detectada por el sistema, para confirmar que se trata de una señal producida por SFG y no de ruido causado por luz espuria. Se presenta además la descripción de la rutina

que permite el control del monocromador usado en el experimento de conversión ascendente de fluorescencia, así como la adquisición de datos del espectrógrafo, a partir de la señal amplificada por el PMT y adquirida por el amplificador Lock-In.

Los programas utilizados en la implementación de conversión ascendente de fluorescencia se escribieron en LabVIEW.

A.1. programa de control de etapa trasladora y adquisición de datos.

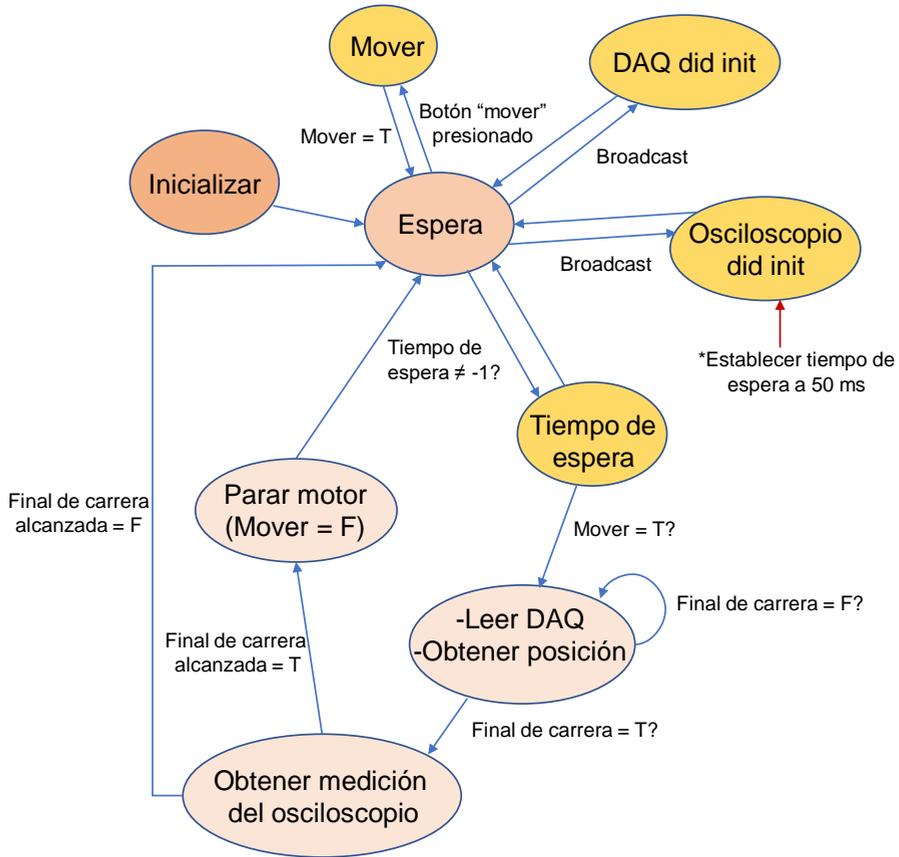


Figura A.1. programa de control de etapa de traslación 1 y adquisición de datos.

En la Figura A.1 se presenta la máquina de estados que describe la lógica empleada para la elaboración del programa; la pantalla principal del programa se presenta en la Figura A.2. Una vez que se establecieron las conexiones necesarias, como la tarjeta DAQ y el dispositivo implementado para adquisición de datos, en este caso se usó un osciloscopio, se activan los siguientes botones en la pantalla principal del programa: el botón “*Lanzamiento*”, activa el movimiento de la línea de retardo y la adquisición de datos; “*Home*”, moviliza la placa de la línea de retardo hasta una posición de referencia; “*Configuración*” permite reconectar los puertos correspondientes a la DAQ y al osciloscopio, así como indicar la longitud mínima de desplazamiento propia de la etapa de traslación; “*Salida*” finaliza las acciones del programa. En el panel de “*Parámetros del motor*” se puede seleccionar la dirección en la que se quiere mover la plataforma, tiene las opciones “*Avance*” y “*Retroceso*”. En “*Tipo de paso*” se tiene la opción de configurar la longitud del desplazamiento mínimo de la etapa de traslación 1, eligiendo medios pasos o pasos completos; para la etapa de traslación 1, usada en el sistema de conversión ascendente de fluorescencia, el desplazamiento mínimo es de $12.5 \mu\text{m}$, que corresponde a medios pasos, y $25 \mu\text{m}$ para pasos completos; en la sección de “*Velocidad*” se permite elegir la velocidad, en revoluciones por minuto (“*RPM*”) del desplazamiento de la línea de retardo, con un rango de 1 a 100 RPM; en el parámetro llamado *Cantidad de pasos* se indica el desplazamiento total que realizará la etapa de traslación, con un límite de desplazamiento para la línea de retardo usada para conversión ascendente de $\sim 40 \text{ cm}$; el parámetro “*Pasos por medición*” se usa para configurar la longitud del desplazamiento por cada adquisición de una medida por parte del osciloscopio, acción que se hará de manera recursiva hasta llegar al desplazamiento total o final.

El botón rojo tiene como función hacer un paro de emergencia, deteniendo las acciones activadas por el botón de “*Iniciar experimento*”, este puede desactivarse y es posible volver a presionar el botón de “*Iniciar experimento*” para continuar con la configuración aplicada antes de iniciar el experimento. El panel de “*Estado del sistema*” indica el arranque del programa la DAQ y el osciloscopio se han conectado correctamente, el final del desplazamiento de la línea de retardo, así como la finalización del experimento.

Los paneles de “*Posición*” e “*Intensidad*” indican la distancia que ha recorrido la línea de retardo y la intensidad obtenida por un detector que es enviada en forma de voltaje a un osciloscopio, todo esto en tiempo real; estos dos paneles tienen como función encontrar, en el caso de conversión ascendente de fluorescencia, el retardo $\tau = 0$ indicando su posición y la intensidad máxima.

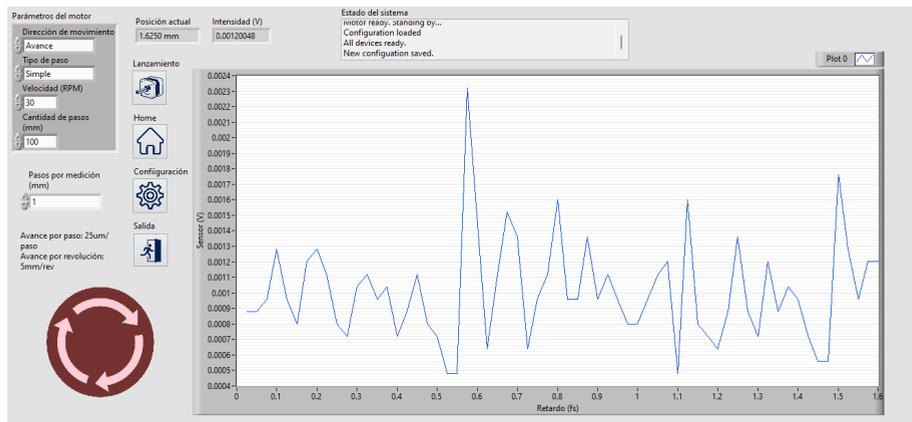


Figura A.2. Pantalla principal del programa de control elaborado en LabVIEW usando la etapa de traslación 1.

Derivado de este programa se desarrolló una segunda versión del mismo, con la finalidad de manipular la etapa de traslación 2 que posee

mayor resolución; una de las ventajas de esta etapa de traslación 2 es la resolución de paso, lo cual permitió medir la cintura mínima de un haz láser enfocado, cuyo valor obtenido es $\sim 8 \mu\text{m}$, así como obtener con mayor resolución la autocorrelación de intensidad de luz pulsada, con un FWHM de ~ 100 fs. En la figura A.3 se muestra la pantalla principal del segundo programa desarrollado.

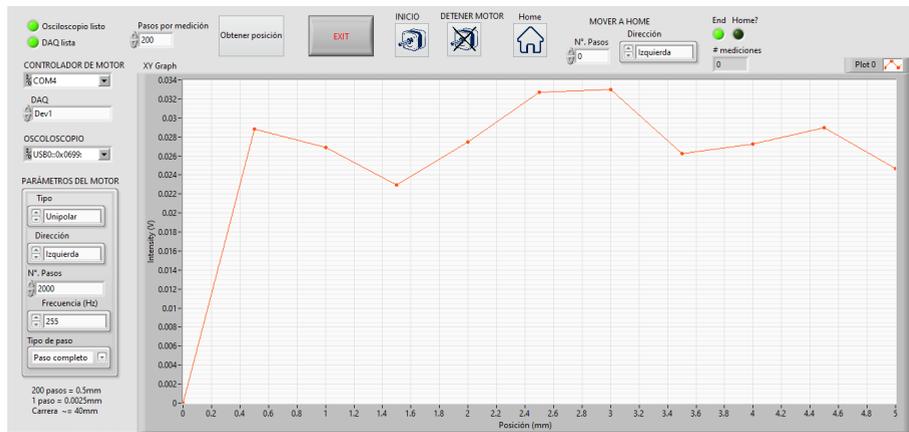


Figura A.3. Programa de control de etapa de traslación 2 y adquisición de datos.

A.2. Programa de control de monocromador-Lock-In.

En la Figura A.1 se presenta la máquina de estados que describe la lógica empleada para la elaboración del programa.

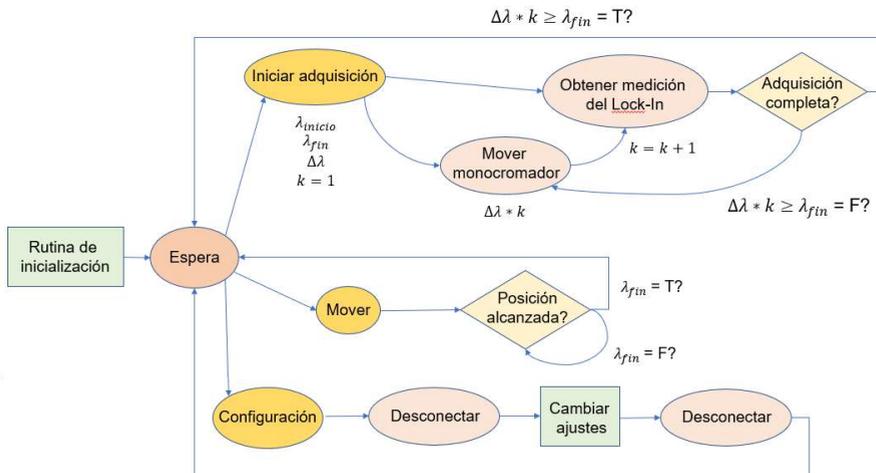


Figura A.4. Máquina de estados para espectrógrafo.

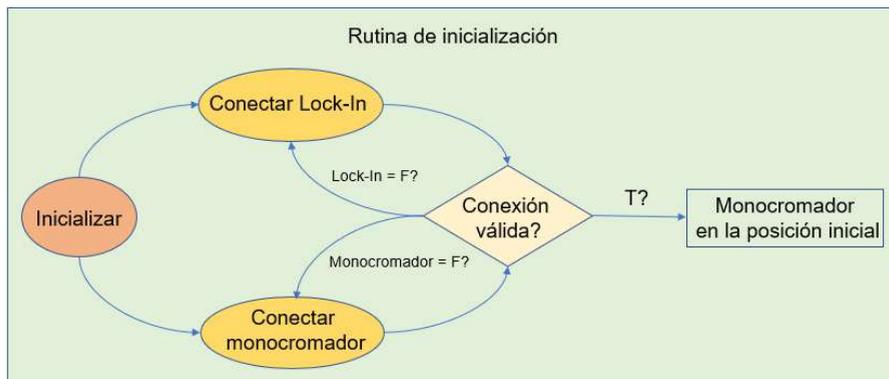


Figura A.5. Rutina de inicialización.

La figura A.6 se presenta el panel donde se controlan las funciones del espectrógrafo; En la sección llamada “Panel de control” se presenta el panel de “Configuración”, donde se eligen los puertos donde se encuentran las conexiones del monocromador y del Lock-In; la opción

“*Exportar*” permite generar un archivo en Excel con el trazo adquirido por el sistema; en el control llamado “*Muestras*” permite elegir el número de datos adquiridos por el Lock-In para un solo punto en la medición hecha; el botón “*Salir*” finaliza las acciones del programa.

En el panel de “*Adquisición*” se tienen cuatro controles configurables; “*Velocidad*” es usado para controlar la velocidad del barrido en longitud de onda hecho por el monocromador, “*Intervalo*” permite elegir el paso mínimo de barrido en longitud de onda que el monocromador hará antes de adquirir una medición con el Lock-In; “*Inicio*” permite definir la longitud de onda donde iniciará el barrido, y en “*Fin*” se define la longitud de onda donde terminará el barrido. En el panel de “*Calibración*” se tiene el control llamado “*Posición*” que permite mover el monocromador a una longitud de onda fija, y al activar el botón de “*Adquisición continua*” el indicador “*Medición*” permite visualizar la señal adquirida por el Lock-In en tiempo real. El panel de “*Estado*” permite verificar la conexión tanto del Lock-In como del monocromador, la inicialización y el término del experimento y el estado del programa. En el panel de “*Resultado*” se despliega el trazo del espectro adquirido, donde se tiene la longitud de onda en el eje horizontal y el voltaje en el eje vertical.

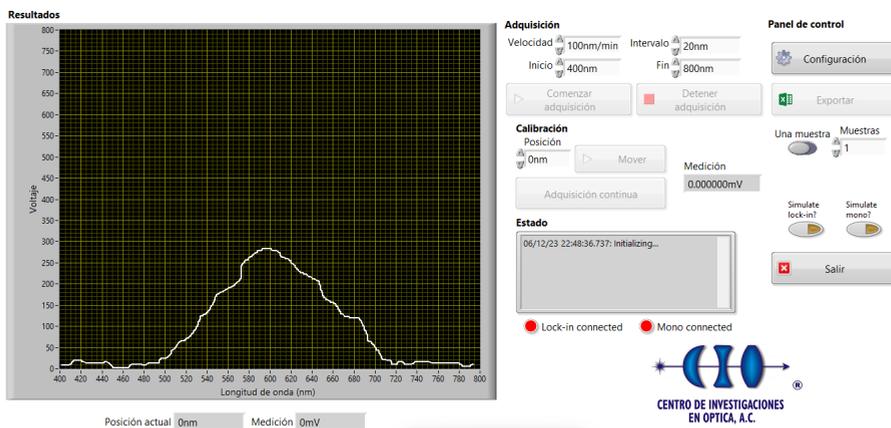


Figura A.6. Panel frontal del programa para controlar el monocromador-Amplificador Lock-In elaborado en LabVIEW.

Apéndice B

Caracterización del pulso láser ultrarrápido

Como se describió en la sección 3 uno de los parámetros que deben conocerse para la realización de la técnica de conversión ascendente de fluorescencia es la duración del pulso de la fuente láser que se emplea, para determinar si cumple con la aproximación de un pulso descrito por la función δ de Dirac y poder determinar la resolución del sistema a partir de su duración; el método de autocorrelación cruzada de intensidades permite caracterizar al pulso en función de su duración; así mismo, es importante conocer la sección transversal del haz empleado cuando éste se encuentra enfocado, principalmente en el cristal no-lineal dentro del sistema óptico de conversión ascendente, para determinar si la sección transversal es pequeña y lograr una conversión ascendente de fluorescencia óptima; el método de la navaja es una técnica rutinaria empleada para determinar el radio del haz enfocado por una lente, a través de la obstrucción gradual del haz empleado.

Ambas técnicas serán descritas a lo largo de este apartado, mostrando los diferentes resultados obtenidos.

B.1. Método de la navaja

El método de la navaja es una técnica rutinaria en los laboratorios de óptica cuyo fin es determinar el tamaño mínimo de la cintura de un haz Gaussiano. El arreglo experimental se muestra en la figura B.1

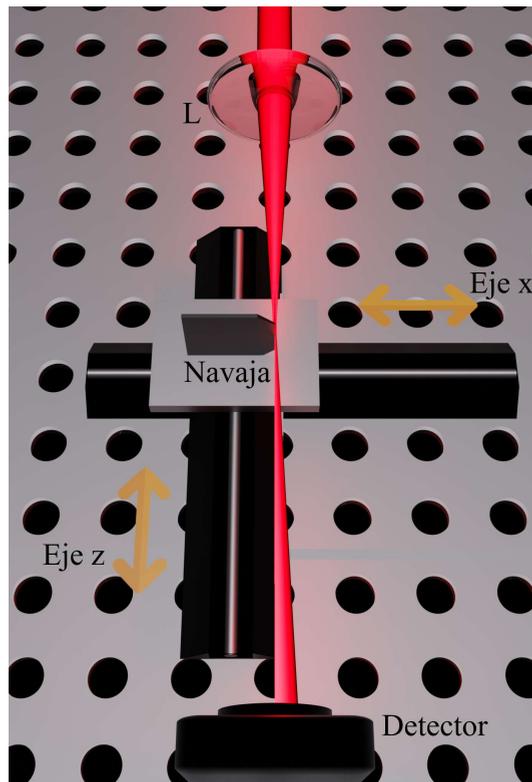


Figura B.1. Diseño experimental del método de la navaja.

En este método, una navaja obstruye gradualmente el haz de forma

transversal mientras que un detector mide la potencia de la parte del haz que se está transmitiendo (figura B.2). Es un método simple y de fácil implementación, y en comparación con otros métodos de medición utilizados para medir la cintura de un haz láser, el método de la navaja tiene la ventaja de que el detector no se coloca donde se desea medir la sección transversal del haz, evitando así daños a detectores para mediciones de cinturas muy pequeñas de láseres de altas intensidades.

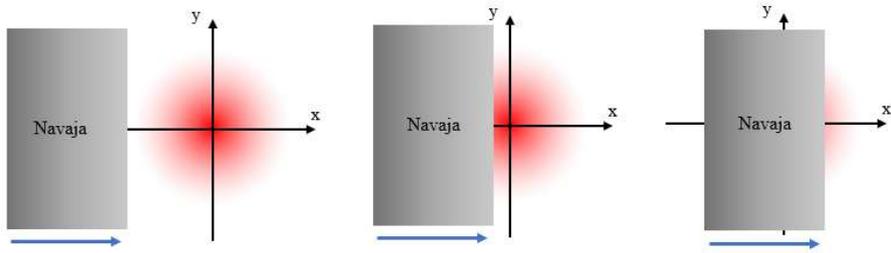


Figura B.2. Obstrucción del haz en la dirección x .

Suponiendo que se tiene un perfil de intensidad transversal Gaussiano propagándose en la dirección del eje z , dado por

$$G(x, y) = I_0 e^{-\frac{r^2(x, y)}{\omega_0^2}} \quad (\text{B.1})$$

con I_0 la intensidad máxima del haz, $r = \sqrt{(x - x_0)^2 + (y - y_0)^2}$, x_0 y y_0 las coordenadas del centro del perfil del haz y ω_0 es el radio al cual $G(x, y) = I_0 \frac{1}{e}$, es decir, la distancia desde el centro del haz al punto donde la intensidad decae $\frac{1}{e}$. Suponiendo la simetría radial que presenta un haz Gaussiano ideal, la obstrucción del perfil transversal del haz puede realizarse en una sola dirección x o y .

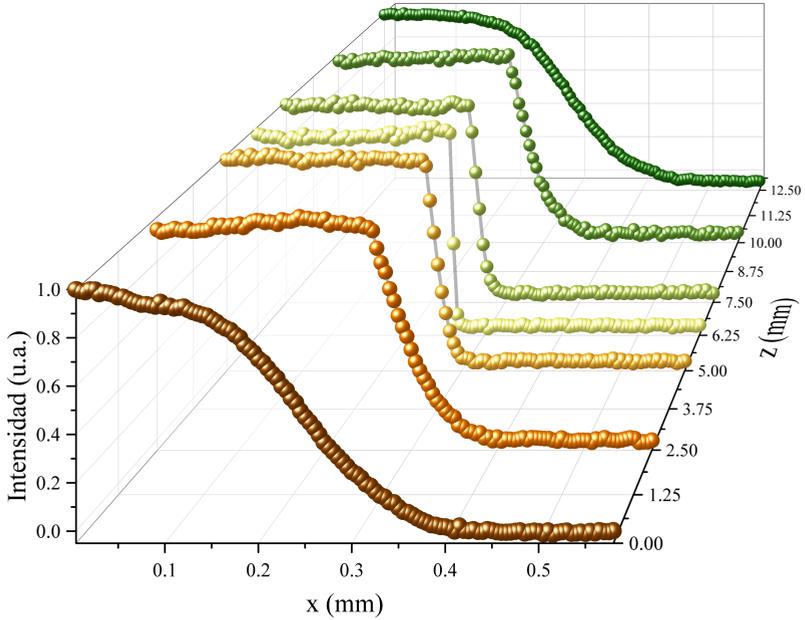


Figura B.3. Transmitancias normalizadas adquiridas en el laboratorio de un láser de onda continua a través del método de la navaja para diferentes distancias alrededor del foco de una lente.

Considerando x la dirección en la que la sección transversal del haz es obstruido, además de considerar que el área con la que se obstruye el haz es mucho más grande que la sección del haz transversal, desde que la intensidad es cero hasta una distancia x_b , la transmitancia medida será de la forma

$$T(x_b) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{x_b} G(x, y) dx dy. \quad (\text{B.2})$$

De la ecuación (B.1) se identifica que una parte de (B.2)

$$\int_{-\infty}^{\infty} e^{-\frac{(y-y_0)^2}{\omega_0^2}} dy = \omega_0 \sqrt{\pi} \quad (\text{B.3})$$

por lo tanto, la transmitancia se simplifica

$$T(x_b) = I_0 \omega_0 \sqrt{\pi} \int_{-\infty}^{x_b} e^{-\frac{(x-x_0)^2}{\omega_0^2}} dx. \quad (\text{B.4})$$

De manera experimental se requiere hacer un barrido de la navaja hasta una distancia en la que el haz esté completamente obstruido, es decir $x_b \rightarrow \infty$ por lo que la gráfica de la transmitancia del haz contra la distancia x recorrida desde $-\infty$ hasta ∞ . La transmitancia normalizada está dada por la expresión

$$T_n(x_b) = \frac{T(x_b)}{T(x = -\infty)} = \frac{1}{\omega_0 \sqrt{\pi}} \int_{-\infty}^{x_b} e^{-\frac{(x-x_0)^2}{\omega_0^2}} dx \quad (\text{B.5})$$

recordando la distribución normal estándar

$$N(z) = \sqrt{2\pi} \int_{-\infty}^z e^{-\frac{1}{2}t^2} dt \quad (\text{B.6})$$

identificando que la transmitancia puede ser descrita en términos de la ec. (B.6) haciendo el cambio de variable $\frac{t^2}{2} = \frac{(x-x_0)^2}{\omega_0^2}$ se tiene

$$T_n(x_b) = N\left(\sqrt{2} \frac{x_b - x_0}{\omega_0}\right) \quad (\text{B.7})$$

en términos de la función de erf, la transmitancia se expresa como

$$T_n(x_b) = \frac{1}{2} \left[1 + \operatorname{erf}\left(\frac{x_b - x_0}{\omega_0}\right) \right]. \quad (\text{B.8})$$

Del cambio de variable empleado para el desarrollo de la teoría se puede obtener la siguiente expresión

$$t = \frac{\sqrt{2}}{\omega_0}x - \frac{\sqrt{2}}{\omega_0}x_0 \quad (\text{B.9})$$

resolviendo para x

$$x = \frac{\omega_0}{\sqrt{2}}t + x_0 \quad (\text{B.10})$$

evaluado en el valores particulares $x_b, t = z$

$$x_b = \frac{\omega_0}{\sqrt{2}}z + x_0 \quad (\text{B.11})$$

Como la ecuación (B.10) es una ecuación lineal con dos cantidades desconocidas, solo dos pares de datos (z, x_b) son necesarios para determinar ambas cantidades. Un ejemplo es el de medir los valores para una distancia x_b para la cual la intensidad medida cae al 10 y 90 % de su valor total, ya que para un valor de z de la distribución normal es igual a 0,10 y 0,90 el valor es $\pm 1,28$, dando las ecuaciones siguientes

$$x_{10} = 1,28 \frac{\omega_0}{\sqrt{2}} + x_0 \quad (\text{B.12})$$

$$x_{90} = -1,28 \frac{\omega_0}{\sqrt{2}} + x_0 \quad (\text{B.13})$$

Resolviendo para ω_0 resulta

$$\omega_0 \approx 0,552(x_{10} - x_{90}). \quad (\text{B.14})$$

Sin embargo, cada medición experimental para x_b tiene un error aleatorio que es propagado para ω_0 a través de la ecuación (B.11). El método usado en el presente trabajo consiste en hacer la primera derivada a la curva experimental de transmisión adquirida con un

software, como resultado se obtiene una curva tipo gaussiana a la cual se le ajusta una curva del mismo tipo para así obtener el ancho a media altura (FWHM por sus siglas en inglés); teóricamente, se define el ancho a media altura como

$$FWHM = 2\sqrt{\ln(2)}\omega_0. \quad (\text{B.15})$$

La descripción hecha hasta ahora funciona para encontrar la cintura del haz gaussiano en cualquier posición cuando se utiliza una lente para enfocar el haz. Para calcular la cintura del haz en el punto focal de la lente se utiliza la función que describe la propagación de un haz Gaussiano a lo largo del eje de propagación [41]

$$\omega(z) = \omega_0 \sqrt{1 + \left(\frac{z}{z_0}\right)^2} \quad (\text{B.16})$$

con $\omega(z)$ la cintura del haz en función de una posición a lo largo de la propagación (z) ω_0 es la cintura del haz en $z = 0$ y $z_0 = \frac{\pi\omega_0^2}{\lambda}$ es la longitud de difracción o longitud de Rayleigh, con λ la longitud de onda del láser. Para este caso se obtuvo la evolución de $\omega(z)$ para diferentes valores de z alrededor de la distancia focal de la lente (figuras B.3 y B.4).

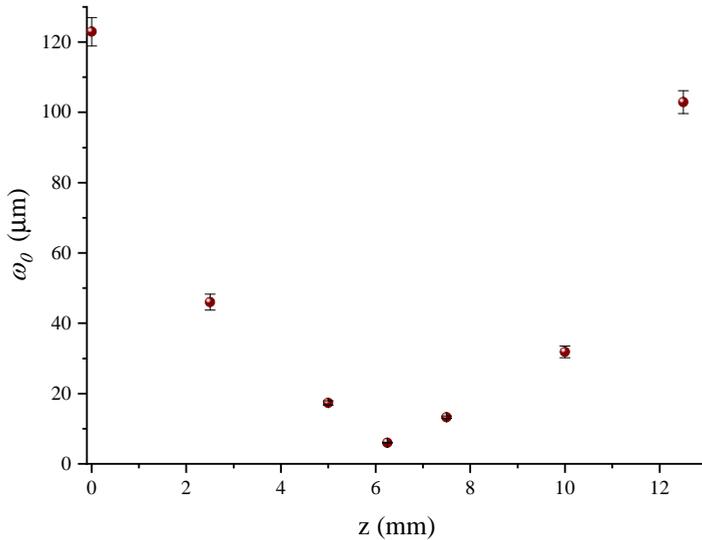


Figura B.4. Cintura a lo largo de la dirección de propagación del haz $w(z)$ de los datos ilustrados en la figura B.3; la cintura mínima encontrada es de $\omega_0 = 6 \pm 0,1\mu m$.

B.2. Autocorrelación de intensidad

La autocorrelación de intensidad es una técnica muy utilizada en el laboratorio pues permite caracterizar la duración del pulso de una fuente de luz láser; en este proceso, el pulso interactúa consigo mismo en el dominio del tiempo [38]; en el auto-correlador de intensidad (B.5) un divisor de haz fracciona la intensidad de luz de la fuente, formando dos pulsos de luz, uno de ellos viaja a través de una línea de retardo mientras que el otro pulso viaja por un camino óptico fijo, ambos se enfocan e interactúan en un medio no-lineal. Cuando el retardo τ que existe entre

ambos pulsos es cero y el medio no-lineal se orienta debidamente, se produce una emisión no-colineal por SHG con un campo dado por

$$E_{sig}^{SHG}(t, \tau) \propto E(t)E(t - \tau) \quad (\text{B.17})$$

al variar el retardo τ es posible obtener el trazo de intensidad de autocorrelación vs. el retardo. Este campo tiene una intensidad proporcional al producto de intensidades de los dos pulsos

$$I_{sig}^{SHG}(t, \tau) \propto I(t)I(t - \tau). \quad (\text{B.18})$$

Al ser un proceso ultrarrápido, los detectores se consideran muy lentos para resolver $I_{sig}^{SHG}(t, \tau)$, por lo que la medición produce la integral de correlación

$$A^{(2)}(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} I(t)I(t - \tau)dt \quad (\text{B.19})$$

la intensidad de autocorrelación se denomina “libre de ruido de fondo”, pues la señal de SHG se desvanece para retardos τ grandes.

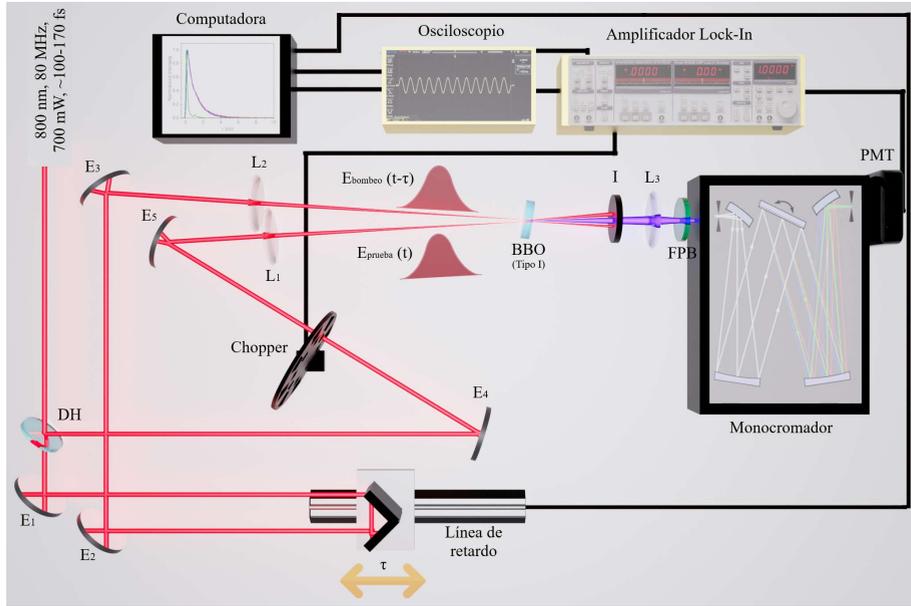


Figura B.5. Diseño experimental del autocorrelador de intensidad para un BBO Tipo I.

La autocorrelación siempre tendrá su máximo a $\tau = 0$ esto debido a que nunca se podrá tener un área de traslape en el integrando donde los dos factores (pulsos) se traslapan perfectamente. Además, la autocorrelación es siempre simétrica, por lo que, con un cambio de variable en la ecuación (B.19) de t a $t - \tau$ se tiene

$$A^{(2)}(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} I(t + \tau)I(t)dt \quad (\text{B.20})$$

al conmutar los factores en el integrando se traduce a la expresión de autocorrelación donde τ es reemplazada por $-\tau$ por lo que $A^{(2)}(\tau) = A^{(2)}(-\tau)$.

A partir de este método es posible conocer parámetros físicos de la luz pulsada, como el *rms* [38]. Comunmente el ancho a media altura o

FWHM es más interesante ya que la longitud del *rms* del pulso depende mucho de los de talles de la intensidad del pulso en las *alas* del trazo de autocorrelación; el FWHM para este caso se traduce como la duración del pulso de autocorrelación, sin embargo, debe asumirse que el perfil del trazo de autocorrelación se comporta como una función conocida, el ejemplo más común es la función gaussiana, donde la duración es $\sqrt{2} = 1.41$ más amplio que el FWHM del pulso, relacionando así la duración del pulso τ_p^{FWHM} :

$$\tau_p^{FWHM} = \frac{1}{\sqrt{2}} \tau_A^{FWHM}. \quad (\text{B.21})$$

La ecuación (B.21) representa una aproximación a la duración real del pulso a partir de la autocorrelación de intensidad.

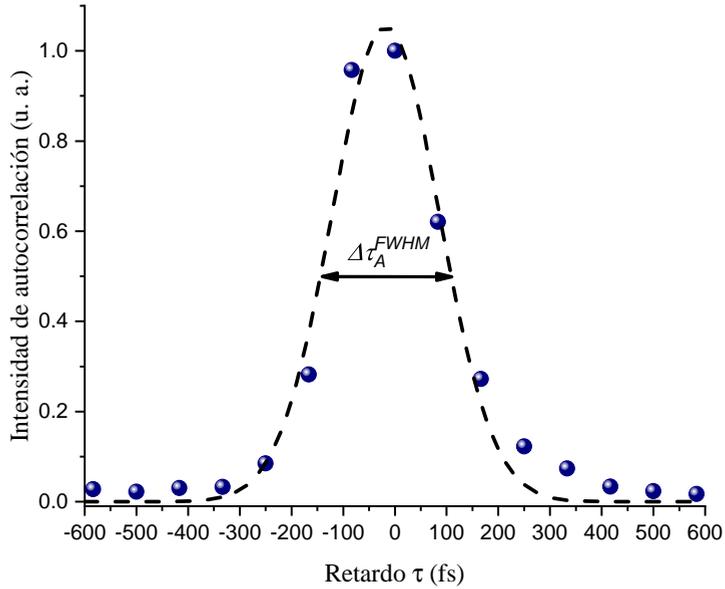


Figura B.6. Trazo de autocorrelación normalizado de un pulso a 808 nm (Chameleon Ultra, Coherent) medido en el laboratorio; la duración del pulso de autocorrelación resultó de $\Delta\tau_A^{FWHM} = 244.1 \pm 8.67$ fs.

Bibliografía

- [1] Shi-Jie Zou y col. “Recent advances in organic light-emitting diodes: toward smart lighting and displays”. En: *Materials Chemistry Frontiers* 4.3 (ene. de 2020), págs. 788-820. DOI: 10.1039/c9qm00716d.
- [2] Joseph R. Lakowicz. *Principles of fluorescence spectroscopy*. Ene. de 1999. DOI: 10.1007/978-1-4757-3061-6.
- [3] Di Wu y col. “Fluorescent chemosensors: the past, present and future”. En: *Chemical Society Reviews* 46.23 (ene. de 2017), págs. 7105-7123. DOI: 10.1039/c7cs00240h.
- [4] J. Novák y col. “Laser photolysis and spectroscopy: a new technique for the study of rapid reactions in the nanosecond time range”. En: *Proceedings of the Royal Society of London* 308.1492 (dic. de 1968), págs. 95-110. DOI: 10.1098/rspa.1968.0210. URL: <https://doi.org/10.1098/rspa.1968.0210>.
- [5] Haik Chosrowjan y col. “Ultrafast fluorescence upconversion technique and its applications to proteins”. En: *FEBS Journal* 282.16 (ene. de 2015), págs. 3003-3015. DOI: 10.1111/febs.13180.

- [6] Edinburgh Instruments. *TCSPC - What is Time-Correlated Single Photon Counting?* [Online; accessed January 2, 2024]. URL: <https://www.edinst.com/blog/what-is-tcspc/>.
- [7] Mehran Shahmohammadi. “Ultrafast spectroscopy of wide bandgap semiconductor nanostructures”. Available at https://www.researchgate.net/publication/283465540_Ultrafast_spectroscopy_of_wide_bandgap_semiconductor_nanostructures. Docteur és sciences. Suisse: École Polytechnique Fédérale de Lausanne, 2015.
- [8] Helge Lemmetyinen y col. “Time-resolved fluorescence methods (IUPAC Technical Report)”. En: *Pure and Applied Chemistry* 86.12 (dic. de 2014), págs. 1969-1998. DOI: 10.1515/pac-2013-0912.
- [9] Haik Chosrowjan. *Fluorescence up-conversion Methods and Applications*. Ene. de 2017, págs. 654-660. DOI: 10.1016/b978-0-12-409547-2.12088-8.
- [10] Herbert Mahr y col. “An optical up-conversion light gate with picosecond resolution”. En: *Optics Communications* 13.2 (feb. de 1975), págs. 96-99. DOI: 10.1016/0030-4018(75)90017-6.
- [11] X. Y. Zhang y col. “Femtosecond broadband fluorescence upconversion spectroscopy: Improved setup and photometric correction”. En: *Review of Scientific Instruments* 82.6 (jun. de 2011), pág. 063108. DOI: 10.1063/1.3597674.
- [12] Beltrán Martínez. “Steady-state and time-resolved spectroscopic analysis of porphyrins and novel carbo-benzenes: A comparative study”. Available at <https://cio.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1002/1239/3/18201.pdf>. Tesis de

- Maestría en Ciencias (Óptica). León, Guanajuato: Centro de Investigaciones en Óptica, A.C., 2022.
- [13] Barba Barba. “Estrategias para la optimización de propiedades ópticas en tres familias de moléculas -conjugadas y su caracterización espectroscópica”. Available at <https://cio.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1002/1227/1/18025.pdf>. Tesis de Doctorado en Ciencias (Óptica). León, Guanajuato: Centro de Investigaciones en Óptica, A.C., 2021.
- [14] Jorge Peón. “Femtosecond resolved fluorescence studies of molecular processes and ultrafast photochemistry in solution”. En: *Revista Mexicana De Fisica* 56.2 (ene. de 2010), págs. 18-23. URL: <http://www.redalyc.org/pdf/570/57030352003.pdf>.
- [15] Konrad Jakubowski y col. “Recent advances in photoluminescent polymer optical fibers”. En: *Current Opinion in Solid State and Materials Science* 25 (mar. de 2021), pág. 100912. DOI: 10.1016/j.cossms.2021.100912.
- [16] Harekrushna Sahoo. “Förster resonance energy transfer – A spectroscopic nanoruler: Principle and applications”. En: *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* 12.1 (mar. de 2011), págs. 20-30. DOI: 10.1016/j.jphotochemrev.2011.05.001.
- [17] Ankur Jain y col. *Fluorescence Lifetime spectroscopy and imaging of visible fluorescent proteins*. Ene. de 2009, págs. 147-176. DOI: 10.1016/b978-0-444-53075-2.00004-6.
- [18] Robert W. Boyd. *Nonlinear Optics*. Academic Press, abr. de 2020.

- [19] P. A. Franken y col. “Generation of optical harmonics”. En: *Physical Review Letters* 7.4 (ago. de 1961), págs. 118-119. DOI: 10.1103/physrevlett.7.118.
- [20] G.H.C. New. *Introduction to nonlinear optics*. Abr. de 2011. DOI: 10.1017/cbo9780511975851.
- [21] Robert B. Leighton. “The Feynman Lectures on Physics”. En: *Physics Today* 17.8 (ago. de 1964), págs. 45-46. DOI: 10.1063/1.3051743.
- [22] Ichiro Shoji y col. “Second-order nonlinear susceptibilities of various dielectric and semiconductor materials”. En: *Optical and Quantum Electronics* 34.8 (ene. de 2002), págs. 797-833. DOI: 10.1023/a:1016545417478.
- [23] Jagdeep Shah. “Ultrafast luminescence spectroscopy using sum frequency generation”. En: *IEEE Journal of Quantum Electronics* 24.2 (ene. de 1988), págs. 276-288. DOI: 10.1109/3.124.
- [24] Jianhua Xu y col. *Chapter 8 Ultrafast fluorescence spectroscopy via Upconversion*. Ene. de 2008, págs. 159-183. DOI: 10.1016/s0076-6879(08)03408-3.
- [25] F. Zernike y col. “Applied Nonlinear Optics”. En: *Physics Today* 28.9 (sep. de 1975), págs. 59-60. DOI: 10.1063/1.3069167.
- [26] Gilles Grégoire y col. “Ab initio Study of the Excited-State Deactivation Pathways of Protonated Tryptophan and Tyrosine”. En: *Journal of the American Chemical Society* 129.19 (abr. de 2007), págs. 6223-6231. DOI: 10.1021/ja069050f.
- [27] Agathe Espagne y col. “Ultrafast photoisomerization of photoactive yellow protein chromophore analogues in solution:

- influence of the protonation state”. En: *ChemPhysChem* 7.8 (ago. de 2006), págs. 1717-1726. DOI: 10.1002/cphc.200600137.
- [28] Bogumil Zelent y col. “Protonation of excited State Pyrene-1-Carboxylate by phosphate and organic acids in aqueous solution studied by fluorescence spectroscopy”. En: *Biophysical Journal* 91.10 (nov. de 2006), págs. 3864-3871. DOI: 10.1529/biophysj.106.088740.
- [29] Jennifer L. Dashnau y col. “Tryptophan interactions with glycerol/water and trehalose/sucrose cryosolvents: infrared and fluorescence spectroscopy and ab initio calculations”. En: *Biophysical Chemistry* 114.1 (abr. de 2005), págs. 71-83. DOI: 10.1016/j.bpc.2004.10.003.
- [30] James M. May y col. “Monitoring conformational change in the human erythrocyte glucose carrier: Use of a fluorescent probe attached to an exofacial carrier sulfhydryl”. En: *Biochemistry* 32.11 (mar. de 1993), págs. 2907-2915. DOI: 10.1021/bi00062a022.
- [31] Gunnar F. Schröder y col. “Simulation of Fluorescence Anisotropy Experiments: Probing protein dynamics”. En: *Biophysical Journal* 89.6 (dic. de 2005), págs. 3757-3770. DOI: 10.1529/biophysj.105.069500.
- [32] M. A. Duguay y col. “OPTICAL SAMPLING OF SUBNANOSECOND LIGHT PULSES”. En: *Applied Physics Letters* 13.5 (sep. de 1968), págs. 178-180. DOI: 10.1063/1.1652560.
- [33] Jinlou Gu y col. “Incorporation of Highly Dispersed Gold Nanoparticles into the Pore Channels of Mesoporous Silica Thin Films and their Ultrafast Nonlinear Optical Response”. En:

- Advanced Materials* 17.5 (mar. de 2005), págs. 557-560. DOI: 10.1002/adma.200401085.
- [34] Jun Takeda y col. “Time-resolved luminescence spectroscopy by the optical Kerr-gate method applicable to ultrafast relaxation processes”. En: *Physical review* 62.15 (oct. de 2000), págs. 10083-10087. DOI: 10.1103/physrevb.62.10083.
- [35] Luyuan Zhang y col. “Femtosecond studies of tryptophan fluorescence dynamics in proteins: local solvation and electronic quenching”. En: 110.37 (ago. de 2006), págs. 18097-18103. DOI: 10.1021/jp063025e.
- [36] Ralph Jimenez y col. “Femtosecond solvation dynamics of water”. En: *Nature* 369.6480 (jun. de 1994), págs. 471-473. DOI: 10.1038/369471a0.
- [37] Tetsuo Tomi y col. “Energy and electron transfer in the photosynthetic reaction center complex of *Acidiphilium rubrum* containing Zn-bacteriochlorophyll a studied by femtosecond up-conversion spectroscopy”. En: *Biochimica Et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1767.1 (ene. de 2007), págs. 22-30. DOI: 10.1016/j.bbabi.2006.10.008.
- [38] Rick Trebino. *Frequency-Resolved optical gating: the measurement of ultrashort laser pulses*. Ene. de 2000. DOI: 10.1007/978-1-4615-1181-6.
- [39] Laura Aparicio-Ixta y col. “Two-photon excited fluorescence of silica nanoparticles loaded with a fluorene-based monomer and its cross-conjugated polymer: their application to cell imaging”. En: *Nanoscale* 4.24 (ene. de 2012), pág. 7751. DOI: 10.1039/c2nr31925j.

- [40] Pengcheng Zhou y col. “Thiophene-Fused benzothiadiazole: a strong Electron-Acceptor unit to build D–A copolymer for highly efficient polymer solar cells”. En: *Chemistry of Materials* 26.11 (mayo de 2014), págs. 3495-3501. DOI: 10.1021/cm501052a.
- [41] H. Hora. “Anthony E. Siegman, “Lasers” Oxford University Press, University Science Books, Oxford, England, 1283 pages, £60.00.” En: *Laser and Particle Beams* (ago. de 1987). DOI: 10.1017/S0263034600003050.