

Cálculo numérico de la fluorescencia inducida por pulsos láser en moléculas esféricas con difusión rotacional

J. I. Etcheverry

Dto. Matemática - FCEN - UBA - Pabellón I, Ciudad Universitaria, 1428 Buenos Aires, Argentina

e-mail jetchev@mate.dm.uba.ar

J. Torga¹, M. Marconi²

Laboratorio de Electrónica Cuántica - Dto. Física - FCEN - UBA - Pabellón I, Ciudad Universitaria, 1428 Buenos Aires, Argentina

e-mail torga@dfuba.df.uba.ar - marconi@dfuba.df.uba.ar

Se analiza la energía de la fluorescencia inducida por pulsos láser polarizados de duración arbitraria en una población isotrópica de moléculas esféricas polares. Se supone que las moléculas decaen espontáneamente y que existe difusión rotacional. El modelo resultante se resolvió por el método de líneas, obteniendo información sobre la intensidad de fluorescencia para cada ángulo de polarización en función del tiempo, así como valores totales de la energía de fluorescencia por pulso. Se estudia en particular el caso de excitación con uno y dos pulsos láser separados por un intervalo de tiempo arbitrario. El programa permite incluir información detallada de la forma temporal de los pulsos láser.

1 Introducción

La determinación de los tiempos característicos de difusión rotacional de moléculas disueltas en un solvente (producida por las colisiones con moléculas del solvente) constituye una importante herramienta para analizar cambios en dicho medio. Cuando las moléculas del soluto presentan fluorescencia la medición de la anisotropía de la fluorescencia inducida luego de una excitación con un pulso láser polarizado proporciona información sobre la difusión rotacional. En el caso de moléculas aproximadamente esféricas, esta difusión rotacional se puede representar en forma relativamente simple mediante una constante de difusión [1, 2, 3].

En este trabajo se resuelve numéricamente un modelo que describe la excitación de una población de moléculas fluorescentes esféricas por un pulso láser polarizado, y su posterior decaimiento rotacional y por fluorescencia [4]. Comparando los resultados obtenidos para uno y dos pulsos consecutivos de láser con la misma polarización, se establecen correlaciones que permiten, en principio, determinar los tiempos característicos de difusión y fluorescencia a partir de la medición de la energía total de fluorescencia emitida a 90° de la dirección de incidencia, y como función del retardo entre pulsos. Se realiza además una comparación con los resultados obtenidos con un modelo para el cual la duración de los pulsos láser se supone mucho más pequeña que los demás tiempos involucrados en el problema [4].

2 Modelo

Consideramos el modelo de moléculas fluorescentes en un medio líquido descrito por Torga et al. [4]. Las moléculas se suponen esféricas dipolares. La distribución de orientaciones inicial de los dipolos, se supone isotrópica y se supone además que cualquier anisotropía en la distribución se "borra" gradualmente por colisiones con las moléculas de solvente.

Se designa con $\eta(\theta, \phi, t)$ a la densidad de moléculas en el estado fundamental, con dipolos en la dirección dada por (θ, ϕ) y con $\epsilon(\theta, \phi, t)$ a la densidad de moléculas excitadas con dipolos en dirección (θ, ϕ) . Los ángulos se miden respecto de un sistema de coordenadas esféricas con eje \hat{z} en la dirección de polarización del haz de excitación y eje \hat{y} en la dirección de incidencia del haz. La población inicial de moléculas en el estado fundamental se designa con η_0 .

Si se denota con τ el tiempo característico de fluorescencia, y con v_r la constante de difusión rotacional de los estados fundamental y excitado, se tiene el siguiente modelo para describir la excitación, difusión y fluorescencia de las moléculas al ser bombeadas por un pulso láser de intensidad $I(t)$, con dirección de polarización en la dirección \hat{z} :

$$\epsilon_t = +I(t) \frac{\Phi \sigma}{h\nu} \cos^2(\theta) (\eta_0 - \epsilon) - \frac{\epsilon}{\tau} + v_r \Delta \epsilon \quad (1)$$

donde Φ es el rendimiento cuántico de excitación, σ la sección eficaz de excitación, y $h\nu$ es la energía de los fotones incidentes.

Dato inicial:

$$\epsilon(\theta, \phi, 0) = 0$$

Condiciones de contorno:

$$\epsilon(\theta, 0, t) = \epsilon(\theta, 2\pi, t)$$

$$\epsilon_\phi(\theta, 0, t) = \epsilon_\phi(\theta, 2\pi, t)$$

$$\epsilon_\theta(0, \phi, t) = \epsilon_\theta(\pi, \phi, t) = 0$$

¹ Becario CONICET

² Investigador CONICET

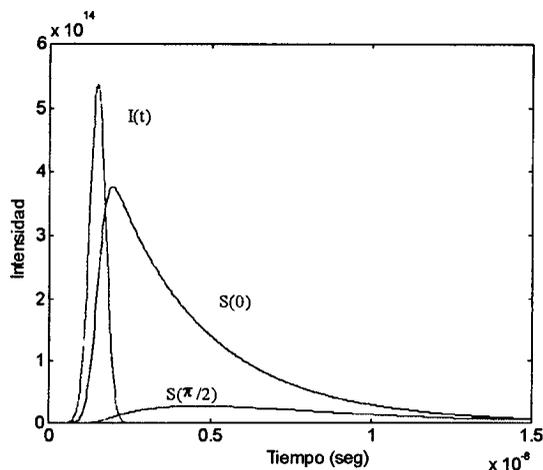


Figura 1: Intensidades del láser incidente y de la emisión a ángulos de polarización cero y $\pi/2$ respecto de la dirección de polarización del pulso láser. Duración del pulso: 500 ps FWHM. $\tau = \tau_d = 4\text{ns}$.

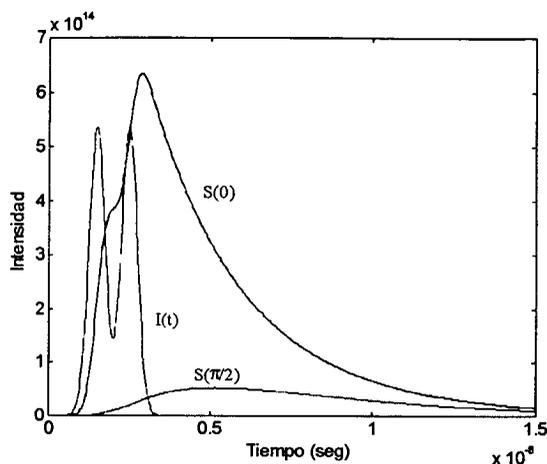


Figura 2: Intensidades del láser incidente y de la emisión a ángulos de polarización cero y $\pi/2$ respecto de la dirección de polarización del pulso láser. Corresponde a dos pulsos de 500 ps con un retardo de 1 ns. $\tau = \tau_d = 4\text{ns}$.

3 Resolución Numérica

La ecuación (1) se resuelve numéricamente utilizando una semidiscretización espacial (método de líneas). De este modo se obtiene un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias que debe ser resuelto numéricamente. Se resolvió mediante una rutina adaptativa, basada en una familia de métodos de Runge-Kutta de orden 2.

La intensidad de fluorescencia emitida a 90 grados de la dirección de incidencia y con dirección de polarización \hat{p} dada por (θ', ϕ') , se calcula integrando numéricamente por el método de trapecios:

$$I_f(\theta', \phi', t) = \int_{\Omega} (\hat{p} \cdot \hat{r})^2 \frac{\epsilon(\theta, \phi, t)}{\tau} d\Omega \quad (2)$$

Finalmente, se integra en tiempo por el método de trapecios, para hallar la energía total de fluorescencia con la dirección de polarización \hat{p} .

4 Resultados y Discusión

Las Figuras 1 y 2 muestran intensidades típicas de fluorescencia emitidas a 90° de la dirección del haz incidente, y con polarizaciones en la dirección de polarización del haz incidente y a $\pi/2$. La Figura 1 corresponde a un pulso gaussiano de 500 ps de duración FWHM, mientras que la Figura 2 corresponde a dos pulsos de 500 ps FWHM, separados por 1 ns. Se incluye en ambas figuras la forma temporal del pulso láser.

El especial interés de este trabajo, reside en determinar los tiempos característicos de fluorescencia y difusión a partir de mediciones de la fluorescencia no resuelta en el tiempo. De este modo, la magnitud que se considera de interés para determinar los tiempos ca-

racterísticos de fluorescencia y difusión es [4] :

$$S = 2 - \frac{\text{Energía emitida p/2 pulsos de igual intensidad}}{\text{Energía emitida para un pulso}}$$

La Figura 3 muestra la señal calculada numéricamente como función del tiempo característico de difusión normalizado al tiempo de fluorescencia τ , para pulsos de 500 ps con un retardo de 400 ps, junto con los resultados analíticos obtenidos suponiendo pulsos mucho más cortos que los tiempos característicos de difusión y fluorescencia [4]. A partir de esta Figura, es evidente que es posible determinar el cociente entre los tiempos característicos de difusión y de fluorescencia a partir de la medición experimental directa de la energía total de fluorescencia.

La Figura 4 muestra las señales calculadas numéricamente, y para el modelo de la referencia [4], ahora en función del retardo entre los pulsos, para $\tau = 4\text{ns}$, $\tau_d = 1/2/v_r = 20\text{ns}$.

En todos los casos, la intensidad del pulso láser es tal que la cantidad de moléculas excitadas no supere el 10 % de la población total, para descartar procesos no lineales de absorción.

5 Conclusiones

Las simulaciones demuestran la factibilidad de determinar el cociente entre los tiempos característicos de difusión y fluorescencia por la misma técnica mostrada para pulsos muy cortos [4], consistente en medir la fluorescencia producida por dos pulsos, normalizada con la producida por un pulso de la misma polarización y energía.

Además, se muestra que para la duración de pulso utilizada para las simulaciones, 500 ps, los resultados

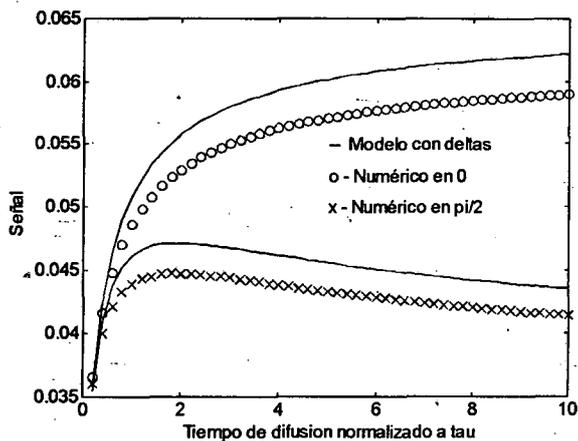


Figura 3: Señales obtenidas numéricamente para emisión a ángulo de polarización 0 y $\pi/2$ respecto de la dirección de polarización del láser, comparadas con las correspondientes a suponer los pulsos muy cortos, en función del cociente entre los tiempos de difusión y fluorescencia. Retardo: 400 ps . $\tau = 4 \text{ ns}$.

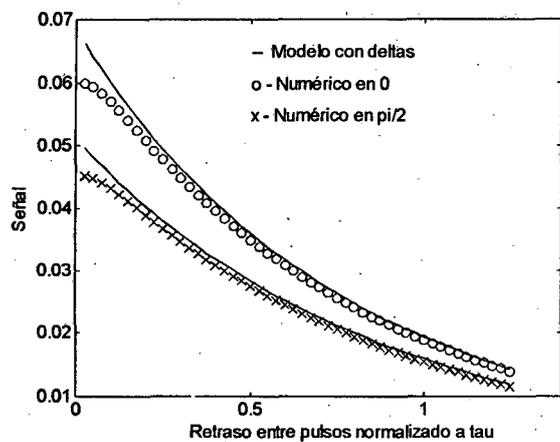


Figura 4: Señales obtenidas numéricamente para emisión a ángulo de polarización 0 y $\pi/2$ respecto de la dirección de polarización del láser, comparadas con las correspondientes a suponer los pulsos muy cortos, en función del retardo entre pulsos normalizado al tiempo de fluorescencia. Tiempo de difusión: 20 ns . $\tau = 4 \text{ ns}$.

son muy similares a los obtenidos con pulsos mucho más cortos. En particular, las señales a medir son también del orden de los pocos %. Este trabajo permite modelar la señal de fluorescencia que se produciría con pulsos de excitación de forma y duración arbitrarios, y deducir en forma sencilla tiempos de difusión rotacional midiendo la señal de fluorescencia integrada en el tiempo.

6 Agradecimientos

Este trabajo se realizó con el aporte de subsidios de la UBA y Fundación Antorchas.

Referencias

- [1] J.R.Lakowicz. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. Plenum Press, N.Y., London, 1983.
- [2] A.Kawski. *Fluorescence anisotropy: theory and applications of rotational depolarization*. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 23 (6), 459-529 (1983).
- [3] T. Tao. *Time-dependent fluorescence depolarization and Brownian rotational diffusion of macromolecules*. Biopolymers, 1969, 8, 609.
- [4] J.Torga, J.I.Etcheverry, M.Marconi. *Cálculo a segundo orden de la fluorescencia de moléculas esféricas dipolares*. En este mismo volumen.