

Двухфотонное возбуждение красителей в полимерной матрице фемтосекундным излучением титан-сапфирового лазера

Ю.П.Мешалкин, В.А.Светличный, **А.В.Резниченко**, А.Ю.Мячин,
С.С.Бахарева, С.М.Долотов, Т.Н.Копылова, Е.П.Пономаренко

Наблюдалась двухфотонно-возбуждаемая флуоресценция 18 органических красителей в полиметилметакрилатной (ПММА) матрице при воздействии фемтосекундным излучением титан-сапфирового лазера. Относительным методом (методом сравнения с флуоресценцией спиртового раствора родамина 6G) оценено произведение сечения двухфотонного поглощения на квантовый выход флуоресценции (сечение двухфотонно-возбуждаемой флуоресценции). По этому параметру подобраны типы красителей, флуоресценция которых наиболее четко регистрируется визуально, и их концентрации в ПММА. Предложено использовать кумариновые и родаминовые красители в полимерных матрицах в качестве визуализаторов фемтосекундного режима титан-сапфирового лазера, а также в качестве детектора в системах автозапуска.

Ключевые слова: красители, полиметилметакрилатная матрица, спектр и сечения двухфотонно-возбуждаемой флуоресценции.

1. Введение

В последнее десятилетие двухфотонное поглощение (ДФП) лазерного излучения органическими молекулами активно исследуется многими научными группами. Это связано с большими перспективами использования двухфотонных взаимодействий при адресной доставке излучения в элементарный объем и с получением в нем отклика в виде специфических физико-химических процессов (нелинейное поглощение, флуоресценция, фотоизомеризация, полимеризация и т. д.). Двухфотонные взаимодействия уже предложено использовать в многочисленных практических применениях, в том числе в 3D-оптической памяти [1, 2], 3D-дисплее [3], стереолитографии [4], оптических ограничителях [5], во флуоресцентной микроскопии [6], в фотодинамической диагностике и терапии [7, 8]. Во всех этих применениях ключевую роль играют вещества с большим сечением ДФП.

Типичные сечения ДФП органических молекул составляют $10^{-48} - 10^{-50} \text{ см}^4 \cdot \text{с} \cdot \text{фот.}^{-1} \cdot \text{мол}^{-1}$, или 1 – 100 ГМ, где ГМ (Гепперт – Майер) – единица измерения сечения ДФП, равная $10^{-50} \text{ см}^4 \cdot \text{с} \cdot \text{фот.}^{-1} \cdot \text{мол}^{-1}$ [9]. В тех случаях, когда регистрация ДФП происходит по вторичному процессу (флуоресценции), удобно использовать не сечение ДФП, а его произведение на квантовый выход флуоресценции – сечение двухфотонно-возбуждаемой флуоресценции (ДФВФ) [10]. При этом считается, что квантовый

выход флуоресценции при однофотонном возбуждении с точностью до множителя 1/2 совпадает с квантовым выходом флуоресценции при двухфотонном возбуждении. Очевидно, что в силу безразмерности квантового выхода флуоресценции сечение ДФВФ также можно измерять в ГМ.

В табл.1 приведены сечения ДФП и ДФВФ растворов ряда красителей в диапазоне длин волн Ti : сапфир-лазера, измеренные к настоящему времени. Наибольшие сечения ДФП имеют PPA – 309 ГМ (на $\lambda = 802 \text{ нм}$) и родамин В – 210 ГМ (840 нм). Необходимо отметить, что сечение ДФП сильно зависит от длины волны. Для ряда красителей максимальное сечение ДФП приходится не на удвоенную длину волны основной полосы поглощения, а сдвинуто в коротковолновую область на 150–200 нм («синий» сдвиг) [9]. Природа этого сдвига пока не установлена, однако отмечено, что «красного» сдвига в красителях не наблюдалось никогда. В силу этого обстоятельства красители, поглощающие в разных областях видимого диапазона, могут иметь близкие сечения ДФП и ДФВФ на фиксированной длине волны возбуждения, например на $\lambda = 800 \text{ нм}$ для титан-сапфирового лазера.

Органические красители, введенные в твердотельные полимерные матрицы, могут стать перспективным материалом для двухфотонных технологий при условии, что они будут обладать достаточно большим сечением ДФП или ДФВФ. Однако для красителей в полимерных матрицах таких измерений сделано явно недостаточно. К настоящему времени проведены лишь единичные измерения сечений ДФП ряда красителей в полимерных матрицах [11, 12]. При этом обнаружено, что сечения ДФП красителей в матрицах в несколько раз меньше сечений тех же красителей в растворах. Поскольку данный факт не нашел удовлетворительного объяснения, результаты измерений сечений ДФП растворов красителей не могут однозначно использоваться применительно к полимерным матрицам.

В настоящей работе приведены результаты измере-

Ю.П.Мешалкин, А.Ю.Мячин, С.С.Бахарева. Центр фотодинамических исследований ГУ НИИ физиологии СО РАМН, Россия, 630117 Новосибирск, ул. акад. Тимакова; e-mail: eldivypm@ref.nstu.ru;
В.А.Светличный, Т.Н.Копылова. Сибирский физико-технический институт им В.Д.Кузнецова при Томском государственном университете, Россия, 634050 Томск, Ново-Соборная пл.,1; e-mail: korylova@phys.tsu.ru

А.В.Резниченко, С.М.Долотов, Е.П.Пономаренко. Научно-производственная фирма «Альфа – Аконис», Россия, 141700 Долгопрудный, Московская обл., Лихачевский пр., 5

Поступила в редакцию 18 декабря 2002 г.

Табл.1. Сечения ДФП и ДФВФ органических красителей в растворах и матрицах.

Вещество	Раствор, матрица	Концентрация (М)	Длина волны (нм)	τ_p (фс)	Сечение ДФП (ГМ)	Сечение ДФВФ (ГМ)	Литература
Fura-2	Вода	10^{-4}	700	100	–	11	[9]
DAPI	Метанол	10^{-4}	700	100	–	0.16 ± 0.05	[13]
Dansyl	Вода	10^{-4}	700	100	–	0.72 ± 0.2	[13]
Indo-1	Вода	10^{-4}	700	100	12 ± 4	4.5 ± 1.3	[13]
Родамин В	Метанол	10^{-4}	840	100	210 ± 55	–	[13]
	Этанол	3.8×10^{-5}	802	1200	150*	–	[16]
Родамин 6G	Вода	11×10^{-5}	700	100	140**	–	[15]
	Метанол	3.3×10^{-5}	802	1200	134*	–	[16]
Родамин 123	DMF	0.01	800	127	80 ± 5	–	[14]
Флуоресцеин	Вода	8×10^{-5}	782	100	38 ± 9.7	–	[13]
	Вода	14.5×10^{-6}	800	100	36**	–	[15]
	Буфер	10^{-6}	800	180	54	–	[17]
Bis-MSB	Циклогексан	10^{-4}	690	100	6.3 ± 1.8	6.0 ± 1.8	[18]
Кумарин 138	DMF	0.01	800	127	10 ± 1	–	[14]
Кумарин 153	DMF	0.01	800	127	47 ± 2	–	[14]
Кумарин 307	Этанол	6×10^{-3}	800	127	65 ± 4	–	[14]
	Метанол	10^{-4}	776	100	–	19 ± 5.5	[13]
Каскадный синий	Вода	10^{-4}	750	100	–	2.1 ± 0.6	[13]
Люцифер желтый	Вода	10^{-4}	860	100	–	0.95 ± 0.3	[13]
Водіру	Вода	10^{-4}	920	100	–	17 ± 4.9	[13]
DiI	Метанол	10^{-4}	700	100	–	95 ± 28	[16]
	DMF	0.1	800	127	110 ± 6	–	[14]
APS	Метанол	2.6×10^{-4}	802	1200	60.6*	–	[16]
PPA	DCM	6.8×10^{-5}	802	1200	309*	–	[16]
DEDC	Трихлорметан	5×10^{-4}	800	120	29.5	–	[18]
АФ-50	Бензол	4×10^{-4}	800	8×10^6	1.94×10^4	–	[19]
	ПММА	5×10^{-3}	760	200	658	–	[11]

Примечания: APS – 4-[(гидрокси)-N-(метил)аминофенол]-(6-гидрокси) стильбен; AF 50 – N,N-дифенил-7[2-(4-пиридинил) эфир-99-ди-п-децил флуорен-2-амин; Bis MSB – пара-бис (О-метил-стерил) бензол; Водіру – 4,4-дифлуоро-1,3,5,7,8-пентометил-4-бора-3а, 4а-диазоиндопен-2,6-дисульфокислота; Dansyl – 5-диметиламинонафталин; DAPI – 4',6-диамидо-2-фенилиндол; DEDC – 7-диэтил-3'-(2'-бензоимидазол) кумарин; DiI – 1,1-диоктадецил-3,3,3',3'-тетраметилиндокарбоцианин; PPA – N,N,N-трис [4-{2-(4-{5-[4-(терт-бутил) фенол]-1,3,4-оксидиазол-2ол}-1-пропил} феноламин;

* – относительная точность измерения $\pm 15\%$; ** – относительная точность измерения $\pm 30\%$.

ния сечений ДФВФ 18 различных красителей в полиметилметакрилатной (ПММА) матрице при возбуждении излучением фемтосекундного Ti:сапфир-лазера с длиной волны 800 нм. Исследовались красители, поглощающие в интервале от ближнего УФ (кумарин 151, $\lambda_{ab} = 370$ нм) до желтой области спектра (родамин 101, $\lambda_{ab} = 580$ нм), концентрации которых составляли $10^{-5} - 10^{-2}$ М (см. табл. 2).

2. Эксперимент

Объектами исследования были образцы хорошо излучающих лазерных красителей, введенных в ПММА. Из цилиндрических образцов вырезались прямоугольные параллелепипеды, торцевая и боковая грани которых полировались. В качестве стандарта при измерениях сечений ДФП использовался раствор родамина 6G в этаноле (концентрация 1.9×10^{-5} М), находящийся в полистироловой кювете.

Оптическая схема измерений представлена на рис.1. Излучение Ti:сапфир-лазера через фильтр ОС-11 (для отсеечения излучения аргонового лазера) фокусировалось

в образец линзой с фокусным расстоянием 6 см. Излучение флуоресценции через боковую грань по оптическому волокну попадало на оптический анализатор спектра.

Лазерный комплекс представлял собой фемтосекундный генератор на Ti:сапфире FEMoS («Техноскан», Новосибирск) с накачкой аргоновым лазером Ar-5-150

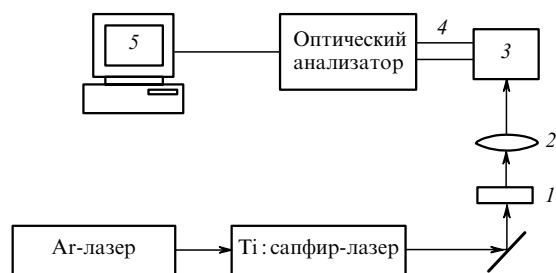


Рис.1. Оптическая схема измерений сечений ДФВФ красителей в полимерных матрицах:

1 – фильтр ОС-11; 2 – линза ($F = 6$ см); 3 – образец; 4 – оптическое волокно;

5 – персональный компьютер.

(«Инверсия», Новосибирск). При накачке фемтосекундного генератора всеми синие-зелеными линиями аргонового лазера со средней мощностью 6.0–7.0 Вт средняя мощность излучения фемтосекундного генератора составляла 300–400 мВт. В режиме синхронизации мод генерировались импульсы длительностью 40–50 фс.

Длительность фемтосекундных импульсов измерялась оптическим автокоррелятором FS-PS («Техноскан», Новосибирск), созданным на базе сканирующего интерферометра Майкельсона.

Спектры флуоресценции и лазерного излучения измерялись оптическим анализатором спектра «Ангстрем» («Ангстрем», Новосибирск) в диапазоне 350–950 нм с энергетической чувствительностью 1 пДж. Высокая чувствительность анализатора достигалась за счет применения линейки фотодиодов Toshiba TCD 1201 с увеличенной приемной площадью (14 × 200 мкм), а также благодаря охлаждению линейки при помощи термоэлектрического холодильника на базе элементов Пельтье. После выполнения измерений спектров ДФВФ красителей в ПММА с экспозициями 10, 30 и 50 мс для данного излучения использовался раствор родамина 6G, спектры которого измерялись с теми же экспозициями. Геометрия возбуждения и сбора при этом не изменялась. На рис.2 показаны зависимости суммарной регистрируемой энергии флуоресценции от времени экспозиции для красителя АС1F (азакумарин) в ПММА и родамина 6G в этаноле в интервале 10–350 и 10–100 мс соответственно. Линейный ход этой зависимости как для образца, так и для эталона позволяет усреднять результат измерений сечений ДФВФ по всем трем вышеуказанным экспозициям.

3. Результаты и их обсуждение

Запуск режима синхронизации мод в фемтосекундном осцилляторе FEMoS осуществлялся перемещением второй призмы двухпризменного компрессора, находящейся на подвижном держателе. Характерным признаком генерации фемтосекундных импульсов является резкое уширение спектра излучения лазера, которое можно регистрировать с помощью оптического анализатора (рис.3).

При работе лазера в режиме генерации фемтосекундных импульсов с частотой следования 88–100 МГц и средней мощностью 300–400 мВт энергия импульса составляла 3–4 нДж. При длительности импульсов 30–60 фс пиковая мощность достигала 50–130 кВт. Этого достаточно для возбуждения флуоресценции красителей

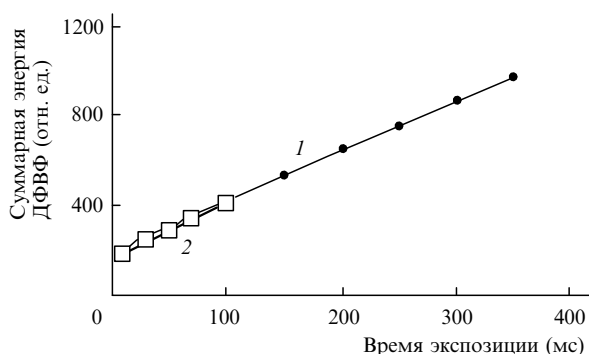


Рис.2. Зависимость суммарной регистрируемой энергии от времени экспозиции оптического анализатора при ДФВФ красителя АС1F (10⁻³ М) в ПММА (1) и родамина 6G в этаноле (2).

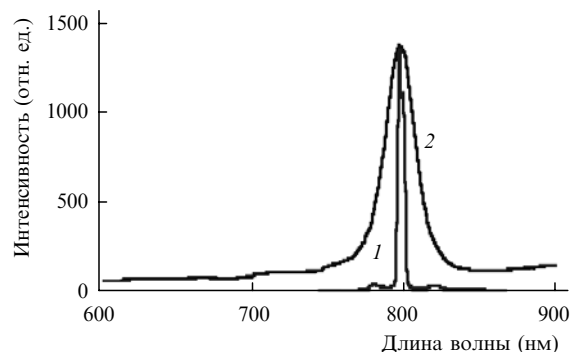


Рис.3. Спектры излучения титан-сапфирового лазера в непрерывном режиме генерации (1) и в режиме синхронизации мод (генерация фемтосекундных импульсов) (2).

по двухфотонному механизму даже без фокусировки возбуждающего излучения. В результате в матрицах с красителями наблюдается трек, вызванный ДФВФ. При фокусировке излучения накачки трек наиболее ярк в шейке каустики. В зависимости от типа красителя максимум спектра флуоресценции может лежать во всем видимом диапазоне спектра, что оптимально для задач визуализации. Спектры ДФВФ красителей кумарин 30 и родамин 11В в ПММА представлены на рис.4.

Очевидно, что при непрерывном режиме работы лазера флуоресценции красителя в ПММА не наблюдается. Таким образом, по наличию или отсутствию трека в полимерной матрице можно визуально отслеживать режим работы лазера. При регистрации ДФВФ красителя в полимерной матрице с помощью чувствительного фотодиода можно реализовать простой детектор фемтосекундного режима титан-сапфирового лазера и использовать его в системах автозапуска.

Яркость свечения красителя в первую очередь зависит от сечения ДФВФ и квантового выхода флуоресценции.

Сечение ДФВФ красителей в ПММА на длине волны излучения лазера на Тi:сапфире измерялось методом сравнения интенсивности ДФВФ образцов с эталоном при одинаковых временах экспозиции. Расчет выполнялся на основе выражения

$$\delta_x \eta_x = \frac{\delta_{et} \eta_{et} C_{et} I_{\text{п}x}}{C_x I_{\text{п}et}}$$

где C_x , C_{et} – концентрация исследуемого вещества и эталона соответственно; $I_{\text{п}x}$, $I_{\text{п}et}$ – интенсивность двухфотонно-возбуждаемой флуоресценции исследуемого

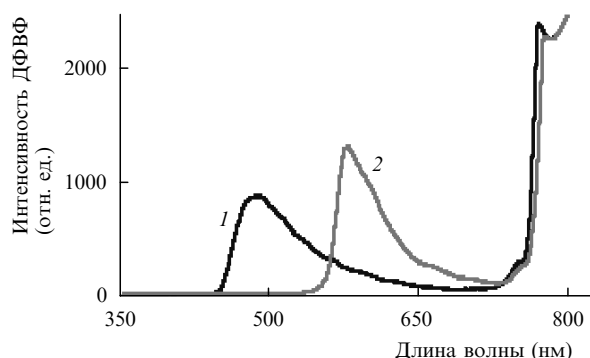


Рис.4. Спектры ДФВФ кумарина 30 (1) и родамина 11В (2) в ПММА при экспозиции 30 мс.

Табл.2. Сечения ДФВФ красителей* в ПММА.

Краситель	Концентрация (М)	λ_{abs} (нм)	$\lambda_{\text{п}}$ (нм)	Сечение ДФВФ (ГМ)
LD490	5×10^{-3}	370	452	2.24 ± 0.72
Кумарин 151	5×10^{-3}	370	469	1.79 ± 0.01
АС1F	10^{-2}	380	474	1.15 ± 0.18
Кумарин 307	5×10^{-3}	390	474	3.23 ± 0.15
Кумарин 547	5×10^{-3}	400	494	2.61 ± 0.14
Кумарин 314	5.4×10^{-3}	400	487	2.14 ± 0.20
Кумарин 314Т	5.4×10^{-3}	400	483	2.76 ± 0.40
Кумарин 522	5×10^{-3}	400	492	3.39 ± 0.41
Кумарин 30	10^{-3}	400	487	12.3 ± 1.14
Кумарин 7	10^{-3}	425	509	6.48 ± 0.43
Кумарин 6	5×10^{-3}	435	524	2.35 ± 0.22
Кумарин 153	5×10^{-3}	415	510	2.53 ± 0.14
Кумарин 525	2.5×10^{-3}	425	532	4.00 ± 0.24
Пиррометен 546	5×10^{-3}	460	543	0.36 ± 0.08
Родамин 11В	10^{-3}	530	580	38.66 ± 5.22
Феналемин 512	3.9×10^{-3}	550	609	0.40 ± 0.06
П220	2.5×10^{-3}	580	643	4.29 ± 0.23
Родамин 101	2.3×10^{-3}	580	660	2.76 ± 0.21

*LD490, АС1F – производные кумарина; П220 – замещенный стильбена.

вещества и эталона соответственно; $\eta_{\text{ет}}$ – квантовый выход родамина 6G в этаноле (0.94 [20]); $\delta_{\text{ет}}$ – сечение ДФП родамина 6G в этаноле на длине волны 800 нм (40 ГМ [13]). Результаты измерений приведены в табл.2. Все измерения выполнены при длительности импульсов 50 фс и средней мощности 300 мВт.

В синем диапазоне спектра, где излучают кумариновые красители, наибольшим сечением ДФВФ обладает кумарин 30, а самым малым – азокумарин АС1F.

В зелено-желтом диапазоне спектра наиболее высоким сечением ДФВФ обладает родамин 11В. Его можно рекомендовать в качестве визуализатора фемтосекундного режима Ti:сапфир-лазера. Малое сечение ДФВФ имеет пиррометен 546, близкий по спектральному диапазону к родамину 11В.

Красители с флуоресценцией в красном диапазоне спектра ($\lambda_{\text{п}} > 600$ нм) не имеют перспектив использования в качестве визуализаторов, т. к. их трек сильно замаскирован рассеянным излучением красной компоненты спектра возбуждения. Кроме того, и чувствительность глаза в этой спектральной области ниже, чем в желто-зеленой.

Сечения ДФВФ красителей в ПММА, измеренные в настоящей работе, позволяют сравнить эффективности ДФВФ в разных образцах. Вместе с тем требуют дальнейшего уточнения механизмы уменьшения эффективности ДФВФ в матрицах по сравнению с растворами.

1. Parthenopoulos D.A., Rentzepis P. *Science*, **245**, 843 (1989).
2. Strickler J., Webb W. *Opt. Lett.*, **16**, 1780 (1991)
3. Downing E., Hesselink L., Ralston J., MacFarlane R. *Science*, **273**, 1185 (1996).
4. Miwa M., Juodkakis S., Kawakami T., Matsuo S., Misawa H. *Appl. Phys. A*, **73**, 561 (2001).
5. He G., Jayant J., Bhawalkar D., Zhao C., Prasad P. *Appl. Phys. Lett.*, **67**, 2433 (1995).
6. Denk W., Strickler J., Webb W. *Science*, **248**, 73 (1990).
7. So P.T.C., Kim H., Kochewar I.E. *Opt. Express*, **3**, 339 (1998).
8. Fisher W.C., Partridge W.P., Dees C., Wachter E.A. *Photochem. Photobiol.*, **66**, 141 (1997)
9. Xu C., Zipfel W., Shear J.B., Williams R.M., Webb W.W. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **93**, 10763 (1996).
10. Xu C., Williams R.M., Zipfel W., Webb W.W. *Bioimaging*, **4**, 198 (1996).
11. Mukherjee N., Mukherjee A., Reinhardt B.A. *Appl. Phys. Lett.*, **70**, 1524 (1997).
12. Canva M., Roger G., Cassagne F., et al. *Opt. Mater.*, **18**, 391 (2002).
13. Xu C., Webb W.W. *J. Opt. Soc. Am. B*, **13**, 481 (1996).
14. Oulianov D.A., Tomov I.V., Dvornikov A.S., Rentzepis P.M. *Opt. Commun.*, **191**, 235 (2001).
15. Albota M., Xu C., Webb W.W. *Appl. Opt.*, **37**, 7352 (1998)
16. Wolleschensky R., Feurer T., Sauerbrey R., Simon U. *Appl. Phys. B*, **67**, 87 (1998).
17. Song J.M., Inoue T., Kawazumi H., Ogawa T. *Anal. Sci.*, **15**, 601 (1999).
18. Li C., Luo L., Wang S., et al. *Chem. Phys. Lett.*, **340**, 444 (2001).
19. He G.S., Yuan L., Cheng N., et al. *J. Opt. Soc. Am. B*, **14**, 1079 (1997).
20. Fisher M., Georges J. *Chem. Phys. Lett.*, **26**, 115 (1996).