

Università Cattolica del Sacro Cuore

Sede di Brescia

Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali

Corso di Laurea Specialistica in Fisica



PROGETTO E REALIZZAZIONE DI UN
APPARATO PER SPETTROSCOPIA OTTICA
RISOLTA IN TEMPO MEDIANTE ONDA
EVANESCENTE

Relatore:

Dott. Gabriele Ferrini

Correlatore:

Dott. Claudio Giannetti

Laureando: **Simone Peli**

mat. 3709459

Anno Accademico 2009/2010

INDICE

1	Introduzione	3
2	Tecnica Pump & Probe	5
2.1	Confronto tra tecnica tradizionale e ASOPS	6
3	Teoria dell'onda evanescente	11
3.1	Flusso del vettore di Poynting	24
3.2	Spessore Efficace	25
4	Setup sperimentale	32
4.1	Caratterizzazione dell'impulso	41
5	Misure sperimentali	44
5.1	Misura in riflessione	44
5.2	Misura in riflessione totale interna	46
5.3	Prime applicazioni in campo biologico	51
6	Conclusioni	55

A Leggi di Fresnel

57

1. INTRODUZIONE

La **Riflessione Totale interna (TIR)** è un fenomeno che interviene quando, incidendo con un fascio sull'interfaccia fra un mezzo più denso e uno meno denso, e superato un certo angolo di incidenza (angolo critico), il fascio viene completamente riflesso all'interno del materiale più denso. In questo caso, nel mezzo con indice di rifrazione minore si crea una regione in cui è presente un'onda elettromagnetica, detta **onda evanescente**, che penetra nel mezzo per una frazione della lunghezza d'onda del fascio incidente. La riflessione totale interna è impiegata in microscopia e in spettroscopia, generalmente utilizzando radiazione infrarossa, per studiare sistemi fluorescenti [5].

Il fenomeno della riflessione totale interna è estremamente sensibile alle variazioni dell'indice di rifrazione complesso dei materiali, e questa caratteristica è sfruttata per misurare l'assorbimento mediante l'attenuazione della riflessione totale interna (ATIR), dovuta all'interazione del campo elettromagnetico con il materiale ad indice di rifrazione minore. Il fatto che la lunghezza di penetrazione dell'onda evanescente sia una frazione della lunghezza d'onda conferisce a questa tecnica una specifica sensibilità alla

superficie del campione. Questa caratteristica è fondamentale nello studio di materiali biologici.

Con questo lavoro ci siamo proposti di mettere a punto un apparato che permetta misure di spettroscopia risolte in tempo con la tecnica pump & probe. La sonda che ha il compito di valutare le variazioni del campione eccitato dalla pompa, è l'onda evanescente generata in riflessione totale interna da un prisma. Si evidenzierà il fatto che una misura fatta in questa configurazione è più sensibile ad una misura fatta in riflessione o in trasmissione. In altre parole otteniamo una variazione di segnale più ampia che ci permette di andare a valutare le dinamiche che avvengono su dei campioni biologici. Le prime misure sono state effettuate su un prisma ricoperto da uno strato d'oro di 4 nm al quale, successivamente, sono state ancorate delle soluzioni biologiche (Thrombin Binding Aptamer (TBA) a singola elica ed a doppia elica (DS)). Su questi campioni sono state fatte delle prime misure e se ne ripostano i primi risultati qualitativi.

2. TECNICA PUMP & PROBE

L'utilizzo di fasci laser ad impulsi ultra-corti permette di analizzare fenomeni fisici con una risoluzione temporale al femtosecondo, avere impulsi di ampiezza elevata pur utilizzando modeste energie medie e quindi senza correre il rischio di rovinare i campioni testati. Con l'utilizzo di laser Titanio-Zaffiro, si è in grado di ottenere impulsi ad una lunghezza d'onda di circa 800 nm con una lunghezza temporale inferiore ai 4 – 5 fs [6].

Grazie a questo tipo di tecnologia, se si ha a che fare con campioni che contengono molecole o atomi che assorbono la radiazione incidente, si riesce a fare esperimenti detti di *pump & probe*, letteralmente *pompa e sonda*. La maggioranza degli esperimenti di spettroscopia ultra-veloce utilizza la tecnica pump & probe. Il fascio di pompa è tipicamente molto più intenso di quello di sonda (in modo che quest'ultimo produca il minimo disturbo sul campione), e i due fasci possono anche avere lunghezze d'onda diverse. L'impulso di pompa induce, sul campione, un processo che può essere, per esempio, un processo chimico o un'eccitazione elettronica. Una volta eccitato, il campione, dopo un certo tempo (più lungo rispetto alla lunghezza dell'impulso) si

rilasserà e tornerà nel suo stato non perturbato, per poi essere nuovamente eccitato dall'impulso successivo. L'impulso di sonda, arrivando con ritardo rispetto a quello di pompa, subirà un'alterazione a causa del cambiamento subito dal campione. La potenza della tecnica sta nel fatto che il ritardo dell'impulso di sonda rispetto a quello di pompa può essere variato; in questo modo siamo in grado di valutare tutta la dinamica di eccitazione e rilassamento del campione. La sonda "sentirà" un forte cambiamento quando arriva sul campione simultaneamente alla pompa, e resterà pressochè immutata quando il suo ritardo è tale per cui il campione si è già rilassato. Una volta che si possiede il grafico dell'eccitazione in funzione del ritardo, si può risalire alle proprietà fisiche del campione testato. Una tipica misura di pump & probe fornisce una curva simile a quella mostrata in Figura 2.1. Il picco si ha nel momento in cui l'impulso di sonda è simultaneo a quello di pompa; man mano che questo ritardo aumenta, la sonda "vede" il campione che tende a tornare nel suo stato imperturbato.

2.1 Confronto tra tecnica tradizionale e ASOPS

Se si tiene conto che la velocità della luce, e quindi del fascio laser, è di circa 300000 Km/s [8], si ricava che in un nano-secondo essa percorre circa 30 cm. La tecnica tradizionale che permette di ritardare l'impulso di sonda da quello di pompa consiste nel variare la lunghezza del percorso della sonda. E per poter variare il ritardo, è necessario che si possa cambiare il percorso volta per volta. Per farlo, tipicamente, si utilizza una slitta motorizzata che, spostandosi, varia il percorso del fascio laser (come si vede in Figura 2.2). Le dinamiche che interessano i nostri campioni sono dell'ordine di qualche

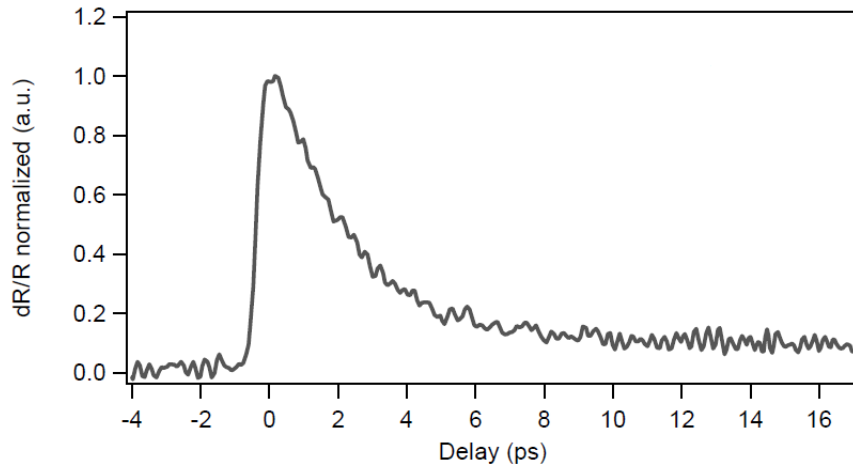


Figura 2.1: Misura pump & probe effettuata in stato superconduttore su un campione di Bi2212 [7].

nano-secondo.

Le principali problematiche che sorgono con il metodo tradizionale sono le seguenti:

- come già accennato, sondare una finestra temporale di 10 ns richiederebbe l'utilizzo di slitte lunghe 1.5 m. Lo spot dei fasci focalizzati sul campione ha un diametro dell'ordine di μm . Mantenere un allineamento così accurato spaziando per tali lunghezze è molto difficile.
- l'allineamento del fascio che passa nella linea di ritardo deve essere accuratissimo, qualsiasi piccolo disallineamento dovuto alla meccanica della slitta può inficiare i dati acquisiti;
- Durante il movimento della slitta non è possibile prendere alcuna misura. Questo porta ad avere tempi di acquisizione molto lunghi, da parecchi minuti a delle ore.

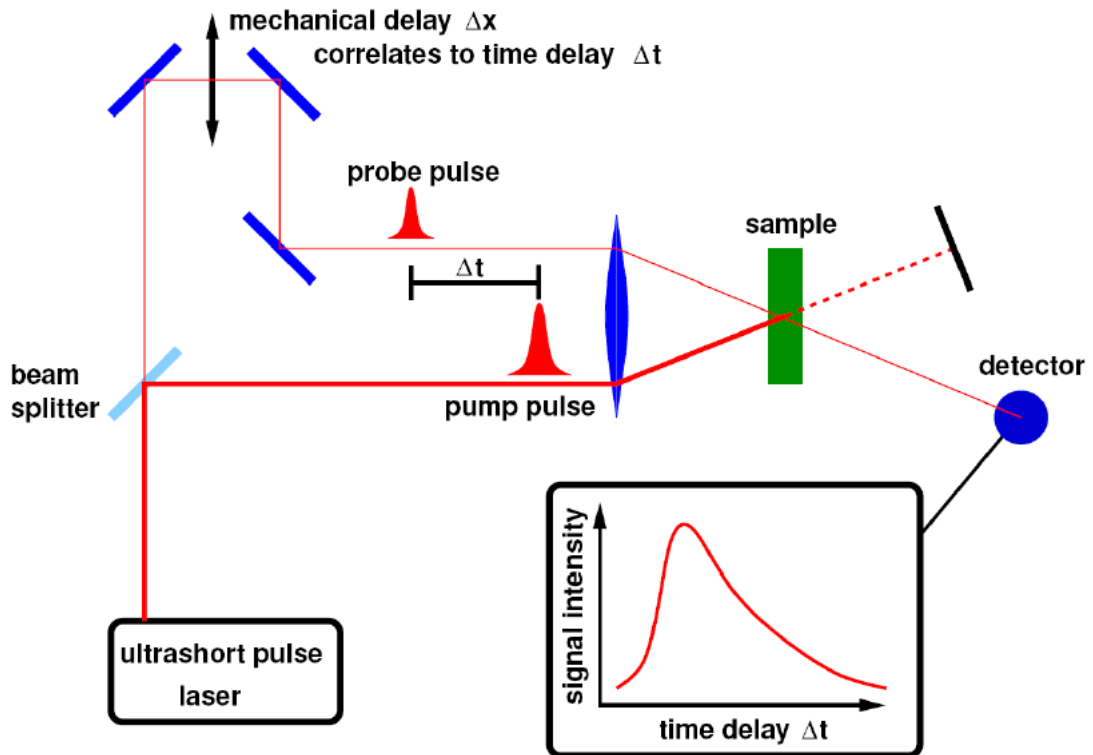


Figura 2.2: Tecnica pump & probe con ritardo indotto dal movimento della slitta meccanica [6].

Il nuovo metodo che permette di aggirare questi ostacoli è detto *Campionamento Ottico Asincrono* (**AS**ynchronous **OP**tical **S**ampling) abbreviato con la sigla **ASOPS**. Con questa tecnica è possibile ottenere una risoluzione temporale inferiore ai 100 fs in una finestra di misura superiore ai 10 ns.

Questo metodo di campionamento è basato su due laser ad impulso corto con una frequenza di ripetizione lievemente diversa. Quella del primo laser differisce leggermente da quella del secondo di un certo valore Δf . Per cui si può scrivere:

$$f_{\text{probe}} = f_{\text{pump}} - \Delta f \quad \text{con} \quad \Delta f \ll f_{\text{pump}} \quad (2.1)$$

. Se gli impulsi da entrambi i laser sono emessi simultaneamente al tempo t_0 , i due impulsi successivi saranno separati da:

$$\Delta t = \left| \frac{1}{f_{\text{pump}}} - \frac{1}{f_{\text{probe}}} \right| = \frac{\Delta f}{f_{\text{probe}} \cdot f_{\text{pump}}} \approx \frac{\Delta f}{f_{\text{pump}}^2} \quad (2.2)$$

per cui si genera un ritardo fra pompa e sonda. Per gli impulsi successivi questo ritardo aumenta di volta in volta fino a che essi non tornano ad essere emessi simultaneamente al tempo $\frac{1}{\Delta f}$. In questo modo la finestra temporale di $\frac{1}{f_{\text{pump}}}$ fra due impulsi di pompa successivi sarà campionata da impulsi di sonda con una risoluzione temporale di Δt in un tempo di scan di $\frac{1}{\Delta f}$ (Figura 2.3).

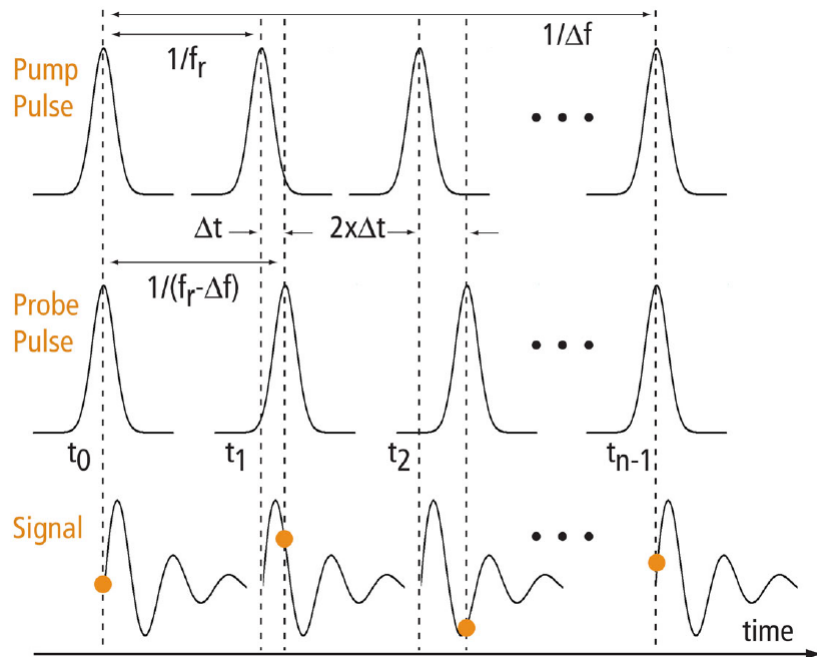


Figura 2.3: Ritardo fra gli impulsi di sonda e quelli di pompa con relativo campionamento del segnale [6].

Ci sono varie configurazioni per poter effettuare una misura di pump &

probe, e si differenziano dal modo con cui il fascio di sonda interagisce col campione. Infatti si possono fare misure in trasmissione (il fascio di sonda passa attraverso il campione ed esce dal lato opposto rispetto al lato su cui incide la pompa) o in riflessione (il fascio viene riflesso dal campione, ripreso e mandato nel fotodiodo). Chiaramente, questi diversi tipi di misure portano ad indagare effetti differenti. Una misura in trasmissione fornirà informazioni su ciò che succede nel bulk del campione, una misura in riflessione darà informazioni su ciò che succede sulla superficie del campione. Esiste però un'ulteriore possibilità per indagare il cambiamento subito dal campione in superficie; questo modo presuppone di andare a valutare la perturbazione subita dall'**onda evanescente** che si genera sulla superficie del campione in presenza di *riflessione totale interna*.

3. TEORIA DELL'ONDA EVANESCENTE

Un'onda elettromagnetica piana che incide sull'interfaccia fra due materiali con indice di rifrazione diversi, presenta certe caratteristiche che, sotto specifiche condizioni portano ad avere il fenomeno della **riflessione totale interna** [1].

Per analizzare il problema, partiamo dal caso descritto in figura Figura A.1 in cui abbiamo un fascio incidente sull'interfaccia fra due mezzi; il mezzo **1** è caratterizzato da *permittività elettrica* ε_1 e *permeabilità magnetica* μ_1 ; il mezzo **2** è caratterizzato da ε_2 e μ_2 . Entrambi i mezzi sono lineari, isotropi e omogenei. In generale, un'onda elettromagnetica incidente su un'interfaccia si divide in due onde distinte:

- un'onda *riflessa* che si propaga nel mezzo **1**;
- un'onda *trasmessa* (o rifratta) che si propaga nel mezzo **2**.

Conoscendo i parametri del fascio incidente, è possibile ricavare le caratteristiche degli altri due fasci. Per farlo, dobbiamo valutare le condizioni al

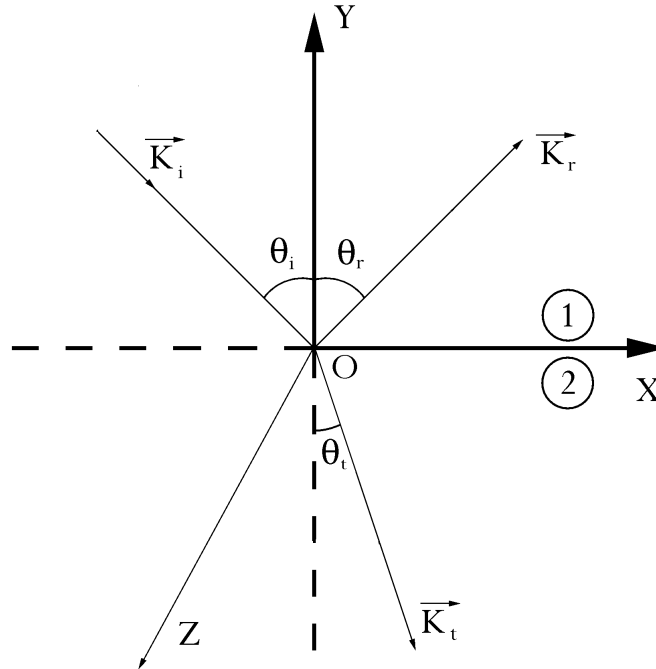


Figura 3.1: Fascio incidente su un'interfaccia con conseguente fascio rifratto e fascio riflesso.

contorno sull'interfaccia (per i passaggi espliciti si rimanda all'Appendice A).

I risultati che si trovano dai passaggi teorici sono:

- **Legge di Snell**

$$n_1 \sin \theta_i = n_2 \sin \theta_t \quad (3.1)$$

- **Leggi di Fresnel e Coefficienti di riflessione e di trasmissione**

(riassunti in tabella per le due polarizzazioni)

Polarizzazione p	$t_p = \frac{2}{\alpha + \beta}$	$r_p = \frac{\alpha - \beta}{\alpha + \beta}$
Polarizzazione s	$t_s = \frac{2}{1 + \alpha\beta}$	$r_s = \frac{1 - \alpha\beta}{1 + \alpha\beta}$

$$\text{dove } \alpha = \frac{\cos \theta_t}{\cos \theta_i} \quad ; \quad \beta = \frac{\mu_1 n_2}{\mu_2 n_1}, \quad (3.2)$$

n_1 e n_2 sono gli indici di rifrazione dei due mezzi e μ_1 e μ_2 le due permeabilità magnetiche.

Per polarizzazione **p** si intende che il campo elettrico **E** è polarizzato parallelamente al piano di incidenza (giace su di esso) e, di conseguenza, il campo magnetico **H** è trasversale ad esso (TM). La polarizzazione **s** si ha quando **E** è trasverso (TE) e **H** è parallelo al piano di incidenza.

Partendo da questi risultati possiamo andare a studiare nel dettaglio l'onda evanescente. Essa è un'onda che si forma sull'interfaccia fra due mezzi nel caso in cui ci sia riflessione totale interna. Dalla legge di Snell si capisce che un'onda che viaggia in un mezzo, quando passa in un altro mezzo con indice di rifrazione diverso, in generale, cambia la sua direzione di propagazione. I casi che possono presentarsi sono due:

- (a) $n_1 < n_2$, il mezzo **2** è più denso del mezzo **1**;
- (b) $n_2 < n_1$, il mezzo **1** è più denso del mezzo **2**

Se ci troviamo nel primo caso, l'onda verrà trasmessa con un angolo di trasmissione minore rispetto all'angolo di incidenza. Nel secondo caso, al contrario, l'angolo di trasmissione sarà maggiore rispetto a quello di incidenza; lo si può vedere dalla Figura 3.2

Supponiamo di essere nel caso in cui $n_2 < n_1$; dalla Figura 3.3 si vede che, all'aumentare dell'angolo di incidenza, aumenta anche quello di trasmissione fino ad arrivare nel caso critico in cui quest'ultimo è pari a $\frac{\pi}{2}$. L'angolo di incidenza per il quale l'angolo di trasmissione è pari a $\frac{\pi}{2}$, si chiama **angolo critico** (θ_c). Se, con l'angolo di incidenza superiamo l'angolo critico, il fascio

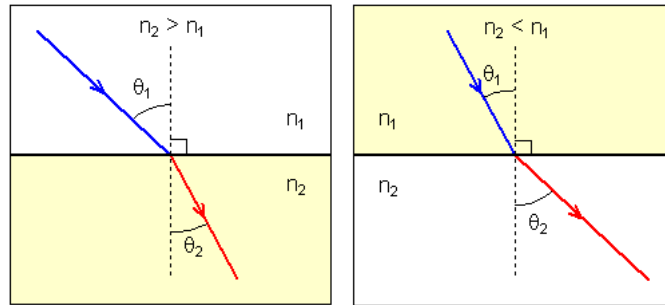


Figura 3.2: Direzioni dei raggi incidente e trasmesso (a) da un mezzo meno denso a uno più denso; (b) da un mezzo più denso ad uno meno denso.

rifratto non esisterà più poichè sarà totalmente riflesso all'interno del mezzo con indice n_1 . Dalla legge di Snell (e supponendo $\mu_1 = \mu_2 = \mu$) si ricava che l'angolo critico è fornito da questa relazione:

$$\sin \theta_c = \beta \quad \text{con} \quad \beta = \frac{n_2}{n_1} \quad (3.3)$$

Analiticamente, se l'angolo di incidenza supera l'angolo critico, succede che

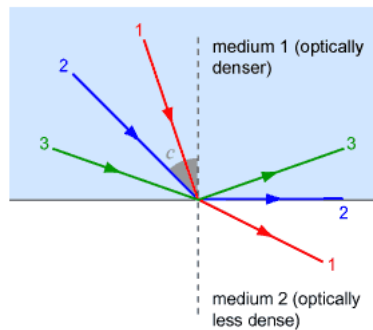


Figura 3.3: Variazione della direzione del raggio trasmesso in funzione dell'angolo incidente.

il $\cos \theta_t$ diventa puramente immaginario, infatti:

$$\begin{cases} \sin \theta_t = \frac{\sin \theta_i}{\beta} \\ \cos \theta_t = \sqrt{1 - \frac{\sin^2 \theta_i}{\beta^2}} \quad \theta_i > \theta_c \quad i \sqrt{\frac{\sin^2 \theta_i}{\beta^2} - 1} \end{cases} \quad (3.4)$$

dove, per α e β abbiamo utilizzato le relazioni di A.18. Come conseguenza di questo fatto, ogni volta che nelle formule troveremo $\alpha = \frac{\cos \theta_t}{\cos \theta_i}$, anch'essa dovremo trattarla come quantità puramente immaginaria. Analizziamo la situazione illustrata in Figura 3.4. Andiamo a considerare i campi elettrici e

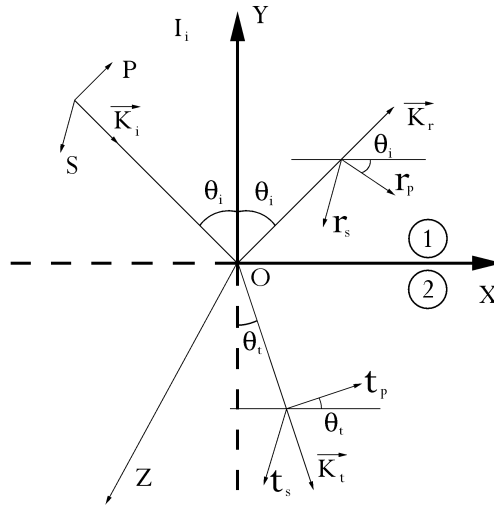


Figura 3.4: Situazione generale della direzione dei campi elettrici all'interfaccia fra due mezzi, nelle due distinte polarizzazioni **p** e **s**.

magnetici presenti all'interno del mezzo **2**. Lungo le tre direzioni avremo:

$$\begin{cases} E_x = t_p \cos \theta_t e^{i\tau} \\ E_y = t_p \sin \theta_t e^{i\tau} \\ E_z = t_s e^{i\tau} \end{cases} \quad \begin{cases} H_x = -\sqrt{\frac{\varepsilon_2}{\mu}} t_s \cos \theta_t e^{i\tau} \\ H_y = -\sqrt{\frac{\varepsilon_2}{\mu}} t_s \sin \theta_t e^{i\tau} \\ H_z = \sqrt{\frac{\varepsilon_2}{\mu}} t_p e^{i\tau} \end{cases} \quad (3.5)$$

dove si è tenuto conto che $H = \sqrt{\frac{\varepsilon}{\mu}}E$ e si è definito $\tau = \mathbf{k}_t \cdot \mathbf{r} - \omega t$. Nel mezzo **1** la situazione è questa:

$$\begin{cases} E_x = r_p \cos \theta_i e^{i\Gamma} \\ E_y = -r_p \sin \theta_i e^{i\Gamma} \\ E_z = r_s e^{i\Gamma} \end{cases} \quad \begin{cases} H_x = \sqrt{\frac{\varepsilon_1}{\mu}} r_s \cos \theta_i e^{i\Gamma} \\ H_y = -\sqrt{\frac{\varepsilon_1}{\mu}} r_s \sin \theta_i e^{i\Gamma} \\ H_z = -\sqrt{\frac{\varepsilon_1}{\mu}} r_p e^{i\Gamma} \end{cases} \quad (3.6)$$

dove si è definito $\Gamma = \mathbf{k}_i \cdot \mathbf{r} - \omega t$.

Componente z Partiamo considerando la componente z del campo elettrico $E_z = t_s e^{i\tau}$ nel mezzo **2**. Dalle Fresnel si ha

$$t_s = \frac{2}{1 + \alpha\beta}. \quad (3.7)$$

Quando superiamo l'angolo critico, α diventa immaginario e così anche il t_s il quale, dalla definizione di numero complesso, può essere scritto come un modulo per una fase:

$$t_s \equiv |t_s| e^{i\delta_s} = \frac{2}{1 + i\alpha\beta} \quad (3.8)$$

Moltiplicando sopra e sotto per il complesso coniugato del denominatore si ottiene:

$$\frac{2}{1 + i\alpha\beta} = \frac{2(1 - i\alpha\beta)}{1 + \alpha^2\beta^2} \quad (3.9)$$

Valutiamo l'espressione di $i\alpha\beta$:

$$i\alpha\beta = \frac{\beta i}{\cos \theta_i} \sqrt{\frac{\sin^2 \theta_i}{\beta^2} - 1} = i \frac{\sqrt{\sin^2 \theta_i - \beta^2}}{\cos \theta_i} \doteq if \quad (3.10)$$

Con questa semplificazione, il modulo di t_s diventa:

$$|t_s| = \left| \frac{2}{1 + if} \right| = \left| \frac{2(1 - if)}{1 + f^2} \right| = \frac{2\sqrt{1 + f^2}}{1 + f^2} = \frac{2}{\sqrt{1 + f^2}} \quad (3.11)$$

dove, per la terza uguaglianza, si è tenuto conto che il modulo di un numero complesso è la radice quadrata della somma dei quadrati della parte reale e immaginaria. Il denominatore del risultato appena trovato lo possiamo anche esprimere come:

$$\sqrt{1+f^2} = \frac{\sqrt{1-\beta^2}}{\cos \theta_i} \quad (3.12)$$

Unendo i vari risultati si ottiene:

$$|t_s| = \frac{2 \cos \theta_i}{\sqrt{1-\beta^2}} \quad (3.13)$$

In conclusione, l'espressione per l'ampiezza del campo elettrico lungo z è:

$$E_z = \frac{2 \cos \theta_i}{\sqrt{1-\beta^2}} e^{i\delta_s} e^{i\tau}. \quad (3.14)$$

Per quanto riguarda la fase di t_s si tenga conto che la tangente della fase di un numero complesso è il rapporto fra la parte immaginaria e quella reale:

$$\tan \delta_s = -\alpha\beta = -f \quad (3.15)$$

Se analizziamo la fase del campo elettrico vediamo che:

$$\tau = \mathbf{k}_t \cdot \mathbf{r} - \omega t \quad (3.16)$$

dove $\mathbf{k}_t = k_t(\sin \theta_t \hat{x} - \cos \theta_t \hat{y})$ e $k_t = \frac{\omega n_2}{c}$. Sostituendo in esse le relazioni di $\sin \theta_t$ e $\cos \theta_t$ ricavate dalla legge di Snell in 3.4 si ottiene:

$$e^{i(\mathbf{k}_t \cdot \mathbf{r} - \omega t)} = e^{i\left(\frac{\omega}{c} n_1 \sin \theta_i x - \omega t\right)} \cdot e^{\frac{\omega}{c} \sqrt{n_1^2 \sin^2 \theta_i - n_2^2} \cdot y} \quad (3.17)$$

Questo ci fa capire che il campo elettrico presente nel secondo mezzo, oltre ad avere una fase oscillante lungo la direzione x , ha anche un termine esponenziale lungo y che, al decrescere di y (cioè andando all'interno del mezzo **2**) tende a smorzare l'oscillazione del campo. In sostanza, l'onda evanescente è

un'onda *inomogenea*: i piani equifase non coincidono con i piani equiampiezza. In particolare, i piani equifase li troviamo nella direzione x , quelli equiampiezza, nella direzione y . La Figura 3.5 aiuta a visualizzare questi concetti. Da questa considerazione si può definire il parametro **lunghezza**

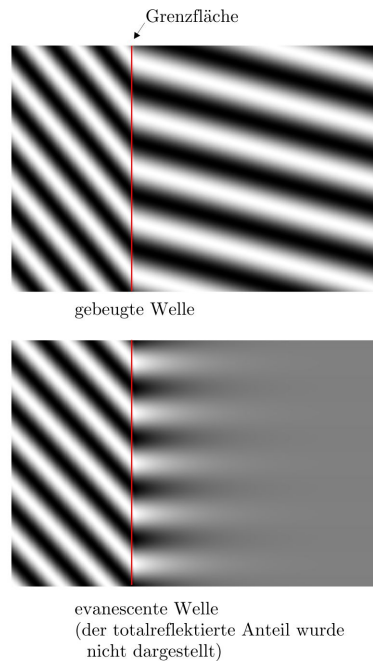


Figura 3.5: Visualizzazione di un'onda elettromagnetica incidente su un'interfaccia che genera (a) onda rifratta o (b) onda evanescente [9].

di penetrazione (d_p) che dà l'idea di quanto l'onda evanescente riesca effettivamente a penetrare il mezzo meno denso. Questo parametro dipende dall'indice di rifrazione dei due mezzi, dalla lunghezza d'onda e dall'angolo d'incidenza del fascio incidente e ha la seguente espressione:

$$d_p = \frac{\lambda}{2\pi\sqrt{n_1^2 \sin^2 \theta_i - n_2^2}} \quad (3.18)$$

È interessante notare che la lunghezza di penetrazione tende all'infinito quando l'angolo di incidenza tende all'angolo critico.

Componente x Spostiamo la nostra attenzione sulla componente x del campo elettrico nel mezzo meno denso.

$$E_x = t_p \cos \theta_t e^{i\tau} \quad (3.19)$$

Sostituendo nell'equazione le espressioni di t_p e $\cos \theta_t$ in funzione di α e β si ha:

$$t_p \cos \theta_t = \frac{2\alpha}{\alpha + \beta} \cos \theta_i \quad (3.20)$$

Quando l'angolo di incidenza supera l'angolo critico, seguendo un'algebra simile a quella del caso precedente, si ha:

$$t_p \cos \theta_t = \frac{2 \cos \theta_i \alpha}{\alpha^2 + \beta^2} (\alpha + i\beta) \doteq |t_p \cos \theta_t| e^{i\delta_x} \quad (3.21)$$

Ora, se ragioniamo solo sul modulo abbiamo:

$$|t_p \cos \theta_t| = \frac{2 \cos \theta_i \alpha}{\sqrt{\alpha^2 + \beta^2}} \quad (3.22)$$

Poichè

$$\cos \theta_i \alpha = \frac{\cos \theta_i}{\cos \theta_i} \sqrt{\frac{\sin^2 \theta_i}{\beta^2} - 1} = \frac{1}{\beta} \sqrt{\sin^2 \theta_i - \beta^2} \quad (3.23)$$

e

$$\alpha^2 \beta^2 + \beta^4 = \frac{1}{\cos^2 \theta_i} [\sin^2 \theta_i - \beta^2 + \cos^2 \theta_i \beta^4] \quad (3.24)$$

Si arriva al seguente risultato:

$$E_x = \frac{2 \cos \theta_i \sqrt{\sin^2 \theta_i - \beta^2}}{\sqrt{\sin^2 \theta_i - \beta^2 + \cos^2 \theta_i \beta^4}} e^{i\delta_x} e^{i\tau} \quad (3.25)$$

Se definiamo

$$\tan \delta_p = -\frac{\alpha}{\beta} \quad (3.26)$$

abbiamo

$$\tan \delta_x = \frac{\beta}{\alpha} = \tan \left(\delta_p + \frac{\pi}{2} \right) \quad (3.27)$$

dove, se si considera $\tan \left(\delta_p + \frac{\pi}{2} \right) = \frac{\sin \left(\delta_p + \frac{\pi}{2} \right)}{\cos \left(\delta_p + \frac{\pi}{2} \right)}$, si ottiene facilmente l'ultima uguaglianza.

Componente y Per la componente y si ha:

$$E_y = t_p \sin \theta_t e^{i\tau} = |t_p \sin \theta_t| e^{i\delta_y} e^{i\tau} \quad (3.28)$$

Seguendo gli stessi passaggi di prima si ottiene:

$$E_y = \frac{2 \sin \theta_i \cos \theta_i}{\sqrt{\sin^2 \theta_i - \beta^2 + \cos^2 \theta_i \beta^4}} e^{i\delta_y} e^{i\tau} \quad (3.29)$$

posto, come prima, $\tan \delta_p = -\frac{\alpha}{\beta}$, in questo caso abbiamo che $\tan \delta_y = -\frac{\alpha}{\beta}$, per cui $\delta_p = \delta_y$

Riassumendo, le componenti del campo elettrico nel mezzo **2** quando l'interfaccia è colpita da un campo \mathbf{E}_i sono:

$$\left\{ \begin{array}{l} E_x = \frac{2 \cos \theta_i \sqrt{\sin^2 \theta_i - \beta^2}}{\sqrt{\sin^2 \theta_i - \beta^2 + \cos^2 \theta_i \beta^4}} e^{i\delta_x} e^{i\tau} \\ E_y = \frac{2 \sin \theta_i \cos \theta_i}{\sqrt{\sin^2 \theta_i - \beta^2 + \cos^2 \theta_i \beta^4}} e^{i\delta_y} e^{i\tau} \\ E_z = \frac{2 \cos \theta_i}{\sqrt{1 - \beta^2}} e^{i\delta_s} e^{i\tau} \end{array} \right. \quad (3.30)$$

Con le stesse procedure, si ottengono i risultati delle ampiezze delle componenti del campo elettrico nel mezzo più denso, quello in cui c'è la presenza sia del raggio incidente che di quello riflesso. I risultati completi sono i seguenti:

$$\left\{ \begin{array}{l} E_x = e^{2i\delta_p} \cos \theta_i e^{i\Gamma} \\ E_y = -e^{2i\delta_p} \sin \theta_i e^{i\Gamma} \\ E_z = e^{2i\delta_s} e^{i\Gamma} \end{array} \right. \quad (3.31)$$

dove $\Gamma = \mathbf{k}_r \cdot \mathbf{r} - \omega t$

$$\left\{ \begin{array}{l} \Gamma = \mathbf{k}_r \cdot \mathbf{r} - \omega t \\ \mathbf{k}_r = k_r (\cos \theta_i \hat{x} + \sin \theta_i \hat{y}) \\ k_r = \frac{\omega}{c} n_1 \end{array} \right. \quad (3.32)$$

In conclusione, il campo elettrico risultante nel mezzo **2** (in cui c'è l'onda evanescente) è, a seconda della polarizzazione:

$$\left\{ \begin{array}{l} E_s = E_z \hat{z} = \frac{2 \cos^2 \theta_i}{\sqrt{1 - \beta^2}} e^{i\delta_s} e^{i\tau} \\ E_p = E_x \hat{x} + E_y \hat{y} \\ = \frac{2 \cos \theta_i}{\sqrt{\sin^2 \theta_i - \beta^2 + \cos^2 \theta_i \beta^4}} e^{i\delta_p} \left(\sqrt{\sin^2 \theta_i - \beta^2} e^{i\frac{\pi}{2}} \hat{x} + \sin \theta_i \hat{y} \right) e^{i\tau} \end{array} \right. \quad (3.33)$$

Nel mezzo **1** (in cui c'è il raggio riflesso) si ha:

$$\left\{ \begin{array}{l} E_s = E_z \hat{z} = e^{2i\delta_s} e^{i\Gamma} \\ E_p = E_x \hat{x} + E_y \hat{y} = e^{2i\delta_p} (\cos \theta_i \hat{x} + \sin \theta_i \hat{y}) e^{i\Gamma} \end{array} \right. \quad (3.34)$$

Commentiamo questi risultati. La lunghezza di penetrazione dà l'idea del confinamento dell'onda evanescente sull'interfaccia. Solo un piccolo spessore del mezzo meno denso riesce a "sentire" il campo dell'onda evanescente. Questo ci fa capire che il fenomeno della riflessione totale interna presenta un'alta sensibilità allo stato fisico dell'interfaccia fra i due mezzi. È possibile fare un commento anche sulle polarizzazioni. Se incidiamo con un campo polarizzato **p** (con il campo elettrico parallelo al piano di incidenza), nel secondo mezzo la polarizzazione non è più lineare, bensì ellittica. Questo lo si evince dalla presenza dello sfasamento di $\frac{\pi}{2}$ che si genera nel campo evanescente fra le sue componenti x e y . In generale, incidere con un fascio polarizzato **p** porta ad avere un'onda evanescente con campo elettrico polarizzato ellitticamente e campo magnetico trasverso. Viceversa, incidere con polarizzazione **s** porta ad avere un'onda evanescente con campo magnetico polarizzato ellitticamente e campo elettrico trasverso, come spiega la Figura 3.6. Nella riflessione da un'interfaccia, ciò che si genera nel mezzo

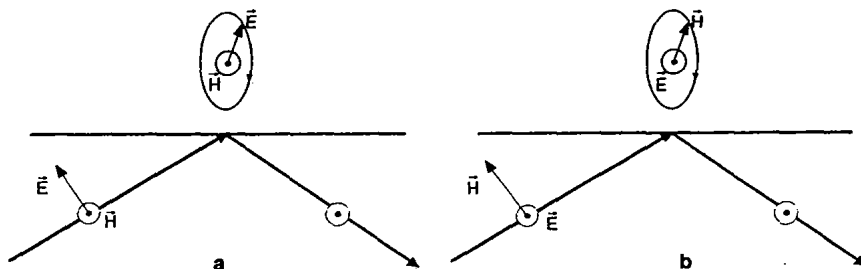


Figura 3.6: Polarizzazione dell'onda evanescente in riflessione totale interna (a) in polarizzazione TM e (b) in polarizzazione TE [2].

più denso è un'onda stazionaria che deve soddisfare le condizioni al contorno sull'interfaccia [3]:

$$\begin{cases} E_{x1} = E_{x2} \\ E_{z1} = E_{z2} \end{cases} \quad (3.35)$$

Per la componente E_y normale all'interfaccia, al contrario, deve esserci una discontinuità nel passaggio fra un mezzo e l'altro, in modo che il vettore spostamento elettrico $\mathbf{D} = \varepsilon\mathbf{E}$ sia continuo. Deve valere

$$D_{y1} = D_{y2} \quad (3.36)$$

In termini di campo elettrico

$$\varepsilon_1 E_{y1} = \varepsilon_2 E_{y2} \quad (3.37)$$

dal momento che, nel nostro caso, $\varepsilon_1 > \varepsilon_2$ risulta che

$$E_{y2} > E_{y1} \quad (3.38)$$

In definitiva, attraversando la superficie di separazione la componente normale del campo elettrico subisce una discontinuità mentre quella tangenziale non si modifica. Il tutto è visibile in Figura 3.7. Da queste curve si capisce

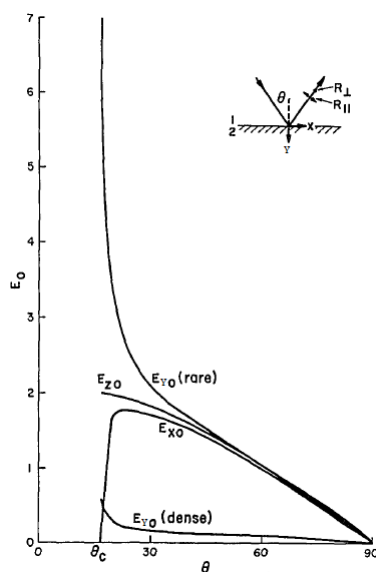


Figura 3.7: Ampiezza dei campi elettrici, in funzione dell'angolo di incidenza, su un'interfaccia totalmente riflettente. Sono mostrati due valori del campo E_y ; quello maggiore si riferisce al mezzo meno denso [3].

che l'interazione del campo elettrico con un' eventuale presenza di materiale assorbente (dipoli) sull'interfaccia dipende molto dalla loro direzione. Un accoppiamento molto forte lo avremo con dipoli orientati normalmente alla superficie poichè il campo E_{y2} è maggiore rispetto alle altre componenti. Inoltre, in un film sottile di dipoli orientati casualmente, l'accoppiamento maggiore si avrà con le componenti del campo parallele al piano di incidenza (E_x ed E_y) piuttosto che con la componente perpendicolare E_z .

Inoltre, dalle equazioni di Maxwell, si ricava che l'onda incidente e quella riflessa, sovrapponendosi formano un'onda stazionaria perpendicolare all'interfaccia nel mezzo più denso (questo avviene sempre nel caso di riflessione metallica). Nel mezzo meno denso, come abbiamo visto, in condizione di riflessione totale interna, c'è lo smorzamento dell'onda evanescente

(Figura 3.8).

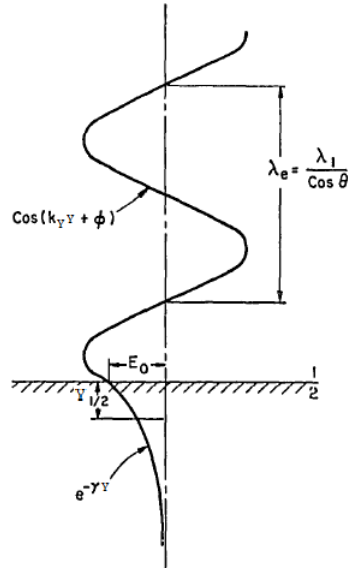


Figura 3.8: Ampiezza dell'onda stazionaria formata vicino ad una superficie totalmente riflettente [3].

3.1 Flusso del vettore di Poynting

La caratterizzazione di un'onda elettromagnetica richiede che sia determinata l'energia che essa trasporta [10]. Come si vedrà, se le condizioni di riflessione totale interna sono soddisfatte, l'onda evanescente, in media, non trasporta energia nel secondo mezzo. L'espressione del vettore di Poynting \mathbf{S} è

$$\mathbf{S} = \mathbf{E} \times \mathbf{H} \quad (3.39)$$

dove \mathbf{E} ed \mathbf{H} sono le parti reali dei campi complessi descritti in precedenza. Tenendo presenti le formule in 3.5 è possibile scrivere la media temporale del vettore di Poynting nelle tre direzioni, ricordando che $\cos \theta_t$ è immaginario:

$$\left\{ \begin{array}{l} S_x = \frac{1}{2} \operatorname{Re} \left[\sqrt{\frac{\varepsilon_2}{\mu}} |t_p|^2 \sin \theta_t + \sqrt{\frac{\varepsilon_2}{\mu}} |t_s|^2 \sin \theta_t \right] = \frac{1}{2} (|t_p|^2 + |t_s|^2) \sin \theta_t \\ S_y = \frac{1}{2} \operatorname{Re} \left[-\sqrt{\frac{\varepsilon_2}{\mu}} |t_p|^2 \cos \theta_t - \sqrt{\frac{\varepsilon_2}{\mu}} |t_s|^2 \cos^* \theta_t \right] = 0 \\ S_z = \frac{1}{2} \operatorname{Re} \left[\sqrt{\frac{\varepsilon_2}{\mu}} t_p t_s^* \sin \theta_t \cos^* \theta_t - \sqrt{\frac{\varepsilon_2}{\mu}} t_p t_s^* \sin \theta_t \cos \theta_t \right] = \\ = \frac{1}{2} \operatorname{Re} \left[-\sqrt{\frac{\varepsilon_2}{\mu}} t_p t_s^* \sin \theta_t \cos \theta_t \right] \end{array} \right. \quad (3.40)$$

Dalle equazioni precedenti si nota che la media temporale del vettore di Poynting nella direzione perpendicolare all'interfaccia è sempre nulla, cioè l'onda evanescente, in media, non trasporta energia nel secondo mezzo. Infatti, sebbene in un quarto di periodo il flusso medio abbia valori non nulli, nel successivo quarto di periodo i segni dell'equazione sono opposti, motivo per il quale il trasporto medio di energia attraverso l'interfaccia è nullo. C'è invece un trasporto netto di energia nella direzione x , dovuto allo shift longitudinale dell'onda (Effetto Goos-Hanchen).

3.2 Spessore Efficace

Quando, in condizione di riflessione totale interna, l'onda evanescente investe un mezzo assorbente, il raggio riflesso subisce una diminuzione di intensità. La perdita di riflessione dovuta a questa interazione è alla base di molti esperimenti di spettroscopia (Attenuated Total Internal Reflection) e non segue una legge semplice, a meno che non si utilizzi l'approssimazione di *basso assorbimento*. La trattazione può essere fatta avendo come mezzo assorbente un materiale spesso oppure un film sottile [3].

Analizziamo ciò che succede ad un'onda quando viene trasmessa all'interno di un materiale assorbente. Se trascuriamo il raggio riflesso, la trasmissione segue una semplice legge esponenziale:

$$\frac{I_t}{I_0} = e^{-ad} \quad (3.41)$$

con l'approssimazione di basso assorbimento otteniamo:

$$\frac{I_t}{I_0} \simeq (1 - ad) \quad (3.42)$$

dove d è lo spessore del mezzo assorbente e a il suo coefficiente di assorbimento. Per analogia, nella riflessione totale interna, possiamo scrivere la riflessione come $R = 1 - \alpha_{abs}d_e$ dove definiamo d_e come lo **spessore efficace** e α_{abs} come il coefficiente di assorbimento del materiale. Lo spessore efficace dà l'idea dell'interazione fra il mezzo assorbente e l'onda evanescente. Se la si compara all'espressione per la trasmissione attraverso un film sottile poco assorbente, questo spessore effettivo rappresenta lo spessore che il film sottile dovrebbe avere per dare lo stesso assorbimento di quello ottenuto in una misura in trasmissione.

Partendo da questa analogia cerchiamo di ottenere un'espressione per d_e . Partiamo dal rapporto fra l'intensità trasmessa e quella incidente. La potenza per unità di area che raggiunge la superficie è data da $\mathbf{S} \cdot \hat{x}$ (dove \hat{x} è la direzione in Figura 3.4); da questa otteniamo:

$$\begin{cases} I_i = \frac{1}{2}n_1E_i^2 \cos \theta_i \\ I_r = \frac{1}{2}n_1E_r^2 \cos \theta_i \\ I_t = \frac{1}{2}n_2E_t^2 \cos \theta_t \end{cases} \quad (3.43)$$

Quello che ci interessa è:

$$\frac{I_t}{I_i} = \frac{E_t^2}{E_i^2} \alpha \beta \quad (3.44)$$

Nel mezzo meno denso abbiamo $E_t = E_{0t}e^{-\frac{y}{d_p}}$. Da cui si ha $I_t = E_{0t}^2e^{-2\gamma y}$, dove $\gamma = \frac{1}{d_p}$, $\alpha = \frac{\cos \theta_t}{\cos \theta_i}$ e $\beta = \frac{n_2}{n_1}$. Per semplicità, supponendo che l'intensità del campo incidente sia unitaria, abbiamo:

$$I_t = E_t^2 \alpha \beta \quad (3.45)$$

Il fattore α tiene conto dell'incidenza obliqua e il fattore β rende conto della differenza tra le velocità di fase nei due mezzi. L'onda evanescente è un'onda inhomogenea, cioè i piani equifase si propagano nella direzione x mentre lungo la direzione y si possono individuare dei piani ad ampiezza costante. La direzione y è quindi la direzione di smorzamento dell'onda evanescente. In questo caso l'angolo complesso θ_t è sostituito dall'angolo a cui si propagano i piani equiampiezza, cioè 0. In questo modo si ha che $\alpha = \frac{\cos \theta_t}{\cos \theta_i} = \frac{1}{\cos \theta_i}$. La variazione dell'intensità del raggio trasmesso man mano che ci si allontana dall'interfaccia è data da:

$$\frac{dI_t}{dy} = -\alpha_{abs} I_t \quad (3.46)$$

A questo punto dobbiamo distinguere due casi estremi:

- assorbimento dovuto ad un materiale spesso considerato semi-infinito;
- assorbimento dovuto ad un film sottile.

Materiale spesso Per quanto riguarda l'assorbimento da un materiale spesso dobbiamo integrare la 3.46 tra 0 e ∞ :

$$\int_0^\infty \frac{dI_t}{dy} dy = - \int_0^\infty \alpha_{abs} E_{0t}^2 e^{-2\gamma y} \frac{\beta}{\cos \theta_i} dy \quad (3.47)$$

da cui si ricava:

$$I_t - I_{0t} = \frac{\alpha_{abs} E_{0t}^2 \beta}{2\gamma \cos \theta_i} e^{-2\gamma y} \Big|_0^\infty = -\frac{\alpha_{abs} E_{0t}^2 \beta}{2\gamma \cos \theta_i} \doteq -\alpha_{abs} d_e \quad (3.48)$$

dove

$$d_e = \frac{E_{0t}^2 \beta}{2\gamma \cos \theta_i} \quad (3.49)$$

Tenendo conto delle due possibili polarizzazioni e ricordando che:

$$\begin{cases} |E_p|^2 = |t_p \cos \theta_t|^2 + |t_p \sin \theta_t|^2 \\ |E_s|^2 = |t_s|^2 \end{cases} \quad (3.50)$$

e sostituendo le espressioni in Tabella A si ottengono le formule dello spessore efficace per le due polarizzazioni

$$\begin{cases} d_{e\perp} = \frac{|E_s|^2 \beta}{2\gamma \cos \theta_i} = \frac{2 \cos \theta_i \beta d_p}{(1 - \beta^2)} & \text{polarizzazione s} \\ d_{e\parallel} = \frac{|E_p|^2 \beta}{2\gamma \cos \theta_i} = \frac{2 \cos \theta_i \beta (2 \sin^2 \theta_i - \beta^2) d_p}{(\beta^4 \cos^2 \theta_i + \sin^2 \theta_i - \beta^2)} & \text{polarizzazione p} \end{cases} \quad (3.51)$$

Con un po' di algebra su quest'ultimo denominatore possiamo scrivere:

$$d_{e\parallel} = \frac{2 \cos \theta_i \beta (2 \sin^2 \theta_i - \beta^2) d_p}{(1 - \beta^2)((1 + \beta^2) \sin^2 \theta_i - \beta^2)} \quad \text{polarizzazione p} \quad (3.52)$$

Solitamente lo spessore efficace è scritto mettendolo in rapporto alla lunghezza d'onda utilizzata come raggio d'incidenza e all'indice di rifrazione del primo mezzo. Per farlo definiamo $\frac{d_p}{\lambda_1} = \frac{d_p n_1}{\lambda} = \frac{1}{2\pi \sqrt{\sin^2 \theta_i - \beta^2}}$, da cui, sostituendolo nelle formule precedenti, derivano le seguenti scritte:

$$\begin{cases} \frac{d_{e\perp}}{\lambda_1} = \frac{\cos \theta_i \beta}{\pi(1 - \beta^2) \sqrt{\sin^2 \theta_i - \beta^2}} & \text{polarizzazione s} \\ \frac{d_{e\parallel}}{\lambda_1} = \frac{\cos \theta_i \beta (2 \sin^2 \theta_i - \beta^2)}{\pi(1 - \beta^2)((1 + \beta^2) \sin^2 \theta_i - \beta^2) \sqrt{\sin^2 \theta_i - \beta^2}} & \text{polarizzazione p} \end{cases} \quad (3.53)$$

Questo spessore efficace è controllato da due fattori:

1. l'area del campione investita dall'onda incidente che varia come $\frac{1}{\cos \theta_i}$;
2. l'indice di accoppiamento β fra i due mezzi.

Poichè le ampiezze di campo elettrico nel mezzo meno denso sono diverse a seconda della polarizzazione, diverso sarà anche lo spessore efficace: quello per la polarizzazione parallela è sempre maggiore. Bisogna sottolineare che sono $d_{e\perp}$ e $d_{e\parallel}$ le quantità che determinano la forza di interazione dell'onda evanescente con il mezzo assorbente, non la lunghezza di penetrazione che non è il solo fattore a governare lo spessore efficace. In Figura 3.9 sono mostrati gli spessori efficaci nelle due polarizzazioni a confronto con la lunghezza di penetrazione. Come si può notare, lo spessore efficace per polarizzazione parallela è sempre maggiore a quello per polarizzazione perpendicolare. Se ci mettiamo ad un angolo di incidenza di 45° notiamo che il rapporto fra $d_{e\perp}$ e $d_{e\parallel}$ è :

$$\frac{d_{e\perp}}{d_{e\parallel}} \Big|_{\theta_i=45^\circ} \equiv \frac{1}{2} \quad (3.54)$$

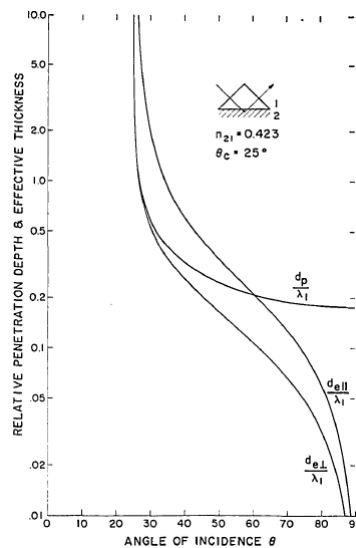


Figura 3.9: Lunghezza di penetrazione e spessore efficace in funzione dell'angolo di incidenza per un'interfaccia con $\beta = 0.423$ [4].

Film sottile [4] Nel caso di film sottile, la situazione è più complicata poichè la fisica del sistema cambia. Infatti non siamo più in presenza di due soli materiali, bensì tre. Allora, per evitare confusioni, definiamo:

$$n_{21} = \frac{n_2}{n_1}; \quad n_{31} = \frac{n_3}{n_1}; \quad n_{32} = \frac{n_3}{n_2} \quad (3.55)$$

dove n_1 è l'indice di rifrazione del mezzo più denso in cui c'è riflessione totale interna, n_2 è l'indice di rifrazione del film sottile e n_3 è l'indice di rifrazione del mezzo meno denso. In questa situazione, essendo il film molto più sottile rispetto alla lunghezza di penetrazione dell'onda evanescente, è possibile considerare il campo trasmesso costante su tutto lo spessore del film d . Tutti gli effetti della lunghezza di penetrazione sono eliminati. L'integrale da risolvere è il seguente:

$$I_t - I_{0t} = -\frac{\alpha_{abs} E_{0t}^2 \beta}{\cos \theta_i} y \Big|_0^d = -\frac{\alpha_{abs} d E_{0t}^2 \beta}{\cos \theta_i} \doteq -\alpha_{abs} d_e \quad (3.56)$$

con

$$d_e = \frac{E_{0t}^2 d n_{21}}{\cos \theta_i} \quad (3.57)$$

Ora, le ampiezze del campo elettrico all'interno del film sono controllate maggiormente dal mezzo **1** e **3** piuttosto che dal mezzo **1** e **2**. Questi campi sono:

$$E_s = \frac{2 \cos \theta_i}{\sqrt{1 - n_{31}^2}} \quad (3.58)$$

e

$$E_p = \frac{2 \cos \theta_i \sqrt{(1 + n_{32}^4) \sin^2 \theta_i - n_{31}^2}}{\sqrt{1 - n_{31}^2} \sqrt{(1 + n_{31}^2) \sin^2 \theta_i - n_{31}^2}} \quad (3.59)$$

Sostituendo questi campi nell'espressione di d_e si ottiene:

$$d_{e\perp} = \frac{4n_{21}d \cos \theta_i}{1 - n_{31}^2} \quad \text{polarizzazione s} \quad (3.60)$$

$$d_{e\parallel} = \frac{4n_{21}d \cos \theta_i [(1 + n_{32}^4) \sin^2 \theta_i - n_{31}^2]}{(1 - n_{31}^2)[(1 + n_{31}^2) \sin^2 \theta_i - n_{31}^2]} \quad \text{polarizzazione p} \quad (3.61)$$

dove, a seconda di n_{ij} e θ_i , d_e può essere maggiore rispetto allo spessore del film. Sottolineiamo che:

- l'angolo critico per misure su film sottili è determinato da n_{31} , non da n_{21} ; cioè l'indice di rifrazione del film non incide sull'intervallo di angoli che possono essere indagati.
- lo spessore efficace è indipendente dalla lunghezza di penetrazione mentre è condizionato dallo spessore del film.
- a differenza del materiale bulk $d_{e\parallel}$ può essere maggiore o minore di $d_{e\perp}$.

La situazione sperimentale con cui avremo a che fare è proprio quest'ultima: imponiamo riflessione totale interna da un prisma sulla faccia del quale è stato messo uno strato d'oro di 4 nm e andremo a fare delle misure di pump & probe sia in riflessione che in riflessione totale interna e valuteremo quale delle due tecniche è più indicata per indagare i cambiamenti subiti dal campione (lo strato d'oro) quando questo viene eccitato da una pompa.

4. SETUP SPERIMENTALE

Una misura risolta in tempo sfruttando l'assorbimento dell'onda evanescente richiede una particolare attenzione soprattutto nell'allineamento dei fasci laser. Per fare queste misure utilizzeremo l'ASOPS. Come già illustrato precedentemente, le lunghezze d'onda del fascio di pompa e di sonda sono diverse, rispettivamente 1560 nm e 780 nm. La difficoltà maggiore nella realizzazione dell'apparato sperimentale sta nel focalizzare i due raggi in modo che coincidano spazialmente sul campione, poi riprendere il fascio di sonda riflesso (o riflesso internamente) ed indirizzarlo all'interno di un fotodiodo per valutarne la variazione subita.

Il primo aspetto che merita una spiegazione è proprio quest'ultimo. È molto difficile essere sensibili ad una variazione assoluta dell'intensità del fascio di sonda poiché è molto piccola (dell'ordine di 10^{-5} V) rispetto al segnale continuo (~ 1 V). Allora, quello che si fa, è andare a valutare una differenza di intensità fra il fascio che incide sul campione e un fascio di riferimento che non passa attraverso il campione. Così facendo, la differenza tra le due intensità si avvicina a zero e anche la più piccola variazione subita

dal fascio di sonda può essere apprezzata, eliminando le eventuali fluttuazioni di intensità del laser. Per poter fare la differenza di due segnali utilizziamo un **fotodiodo differenziale** che, ricevendo in input i due fasci, come output fornisce direttamente la loro differenza.

L'elemento principale per ottenere riflessione totale interna, e quindi, onda evanescente, è il prisma. Quello che utilizziamo noi è un prisma "right angle" composto da UV Fused Silica con lato di 1 cm e con una base emi-quadrata (l'angolo fra i due cateti di base è di 90°). La faccia sulla quale si genera riflessione totale è quella dell'ipotenusa. La caratteristica dei prismi "right angle" è che, per avere riflessione totale interna basta incidere normalmente al cateto del prisma. Infatti, tenendo conto che l'indice di rifrazione del materiale del prisma a 780 nm è $n_p = 1.4585$ e quello dell'aria è $n_a = 1.0003$, l'angolo critico nel passaggio fra prisma e aria risulta essere:

$$\theta_c = \arcsin \frac{n_a}{n_p} = 43.45^\circ \quad (4.1)$$

Ciò significa che incidere sull'ipotenusa con un angolo di 45° ci assicura di essere in riflessione totale interna. Quest'angolo di incidenza sull'ipotenusa, in un prisma siffatto, si traduce in un angolo di incidenza sul cateto di 90° . La Figura 4.1 rappresenta la situazione. Nel nostro caso specifico il prisma si

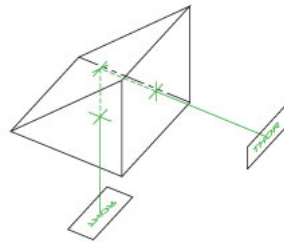


Figura 4.1: Right angle prism

trova nella configurazione in Figura 4.2 in cui la pompa arriva perpendicolare

all'ipotenusa e la sonda è totalmente riflessa nel modo descritto in figura.

Fatte queste premesse, guardando anche lo schema del setup in Figura 4.3

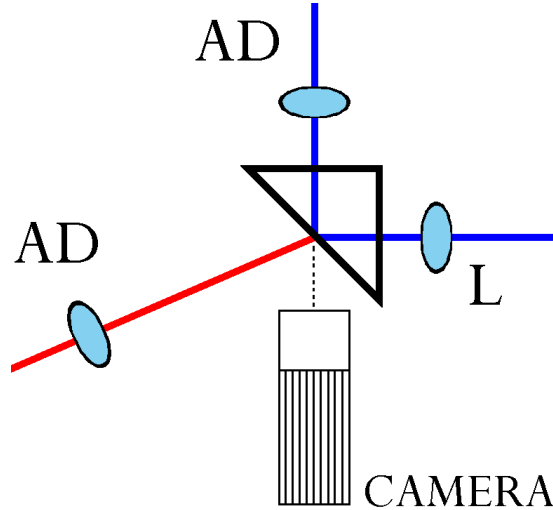


Figura 4.2: Riflessione totale interna della sonda (blu) e fascio di pompa (rosso).

andiamo ad analizzare nel dettaglio il percorso e le caratteristiche dei vari fasci laser.

Pompa Il fascio di pompa, una volta uscito dalla cavità, viene fatto passare attraverso un sistema composto da un polarizzatore e una lamina $\frac{\lambda}{2}$. La lamina ha la caratteristica di ritardare di mezzo periodo una delle componenti ortogonali in cui si è scomposto il campo elettrico. Come effetto netto, questo ritardo porta ad una variazione della polarizzazione dell'onda. Tenendo il polarizzatore fisso nella direzione desiderata e variando la rotazione della lamina si riesce a modificare l'intensità del fascio. Inoltre, la lamina è montata su un rotatore motorizzato cosicchè è possibile comandarlo da un computer. Questo ci permette di programmare delle misure di

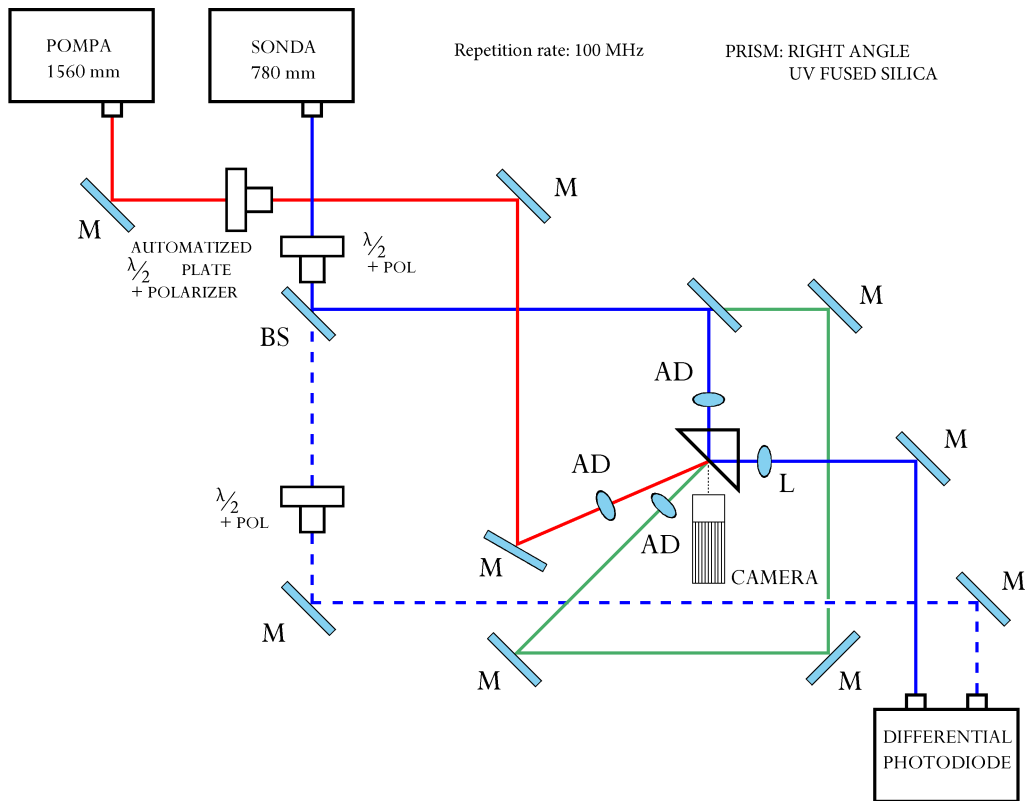


Figura 4.3: Schema del setup sperimentale utilizzato per misure pump & probe in onda evanescente

acquisizione in funzione della fluensa del fascio di pompa a vari angoli di rotatore.

Dopo che il fascio è uscito dal polarizzatore, con l'ausilio di specchi viene indirizzato sul campione in modo che vada ad incidere normalmente alla superficie del prisma. Per focalizzarlo su di essa abbiamo utilizzato un doppietto acromatico con focale di 10 cm al posto di una semplice lente. Un doppietto è composto da due lenti singole di vetri con diversi indici di rifrazione, che introducono quindi una diversa dispersione. I doppietti acromatici sono ottimizzati per ridurre l'aberrazione cromatica e sferica in un determinato

intervallo di lunghezze d'onda. (Figura 4)

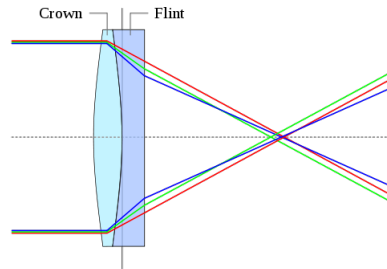


Figura 4.4: Doppietto acromatico

Sonda per Riflessione Totale Interna La sonda ha un percorso diverso. Uscita dalla cavità passa attraverso un sistema polarizzatore- $\frac{\lambda}{2}$ con cui è possibile variarne l'intensità; a questo punto si divide il fascio in due con un beam splitter che ne trasmette il 50% e riflette l'altro 50%. Il fascio riflesso è la sonda vera e propria, quello trasmesso diventerà il riferimento. Il fascio di sonda, con degli specchi viene indirizzato e focalizzato sul campione tramite un doppietto acromatico di focale 5 cm. Dopo essere stato riflesso totalmente viene indirizzato nel canale positivo del fotodiode differenziale.

Riferimento Il raggio trasmesso dal beam splitter entra in un sistema polarizzatore- $\frac{\lambda}{2}$ con cui se ne regola l'intensità e poi, senza passare per il campione, entra nel canale negativo del fotodiode differenziale. Poter regolare l'intensità del riferimento è fondamentale; con esso, infatti, si deve cercare di uguagliare l'intensità del fascio di sonda per avvicinare a zero la differenza fra i due. Questo si traduce in un rumore di segnale molto basso quando si va a fare l'acquisizione.

Gli elementi per poter fare una misura di pump & probe in onda evanescente

ci sono tutti, il problema, ora, è riuscire a trovare la coincidenza spaziale dei due fasci sulla superficie del prisma, tenendo conto che la dimensione dello spot di un fascio focalizzato è di qualche μm . Il problema maggiore è dato dalla pompa. Essa, infatti ha una lunghezza d'onda di 1560 nm che, poichè il range di lunghezze d'onda a cui la nostra vista è sensibile va da 400 nm a poco meno di 800 nm, è invisibile. In laboratorio, per visualizzare questo fascio, si utilizza una speciale cartina sensibile a quelle lunghezze d'onda, ma è chiaro che non è possibile pensare di sovrapporre due spot di pochi μm con l'uso di questi strumenti. La procedura standard utilizzata per l'allineamento dei fasci è abbastanza complicata. Innanzitutto, per avvicinarsi ad una sovrapposizione, si sostituisce il campione con un *pinhole* del diametro di 25 μm . Esso è un piccolo disco che ha, nel centro, un foro del diametro di 25 μm . In esso si cerca di indirizzare i due fasci in modo che entrambi passino attraverso. In questo modo si è sicuro che i due fasci sono molto vicini tra loro. A questo punto si sostituisce il *pinhole* con un cristallo di BBO. Esso è un cristallo non lineare che ha la caratteristica di generare, in uscita, un nuovo fascio che ha, come frequenza, la somma delle frequenze dei due fasci incidenti. Dette ω_1 , ω_2 , ω_3 le frequenze dei due fasci d'entrata e di quello nuovo in uscita si ha:

$$\omega_3 = \omega_1 + \omega_2 \quad (4.2)$$

In termini di lunghezze d'onda:

$$\frac{1}{\lambda_3} = \frac{1}{\lambda_1} + \frac{1}{\lambda_2} \quad (4.3)$$

Nel nostro specifico caso, il nuovo fascio ha una lunghezza d'onda di 520 nm. Esso è visibile ad occhio nudo ed è possibile indirizzarlo in un fotodi-
odo avalanche ad alta sensibilità (MenloSystems APD210) per visualizzarlo

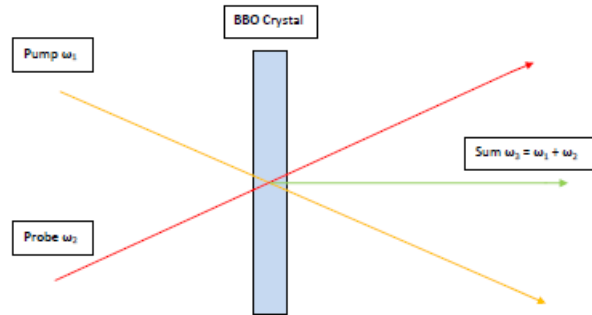


Figura 4.5: Misura della variazione relativa del fascio di sonda, in riflessione, su uno strato d'oro di 4 nm in funzione del ritardo tra gli impulsi

sull'oscilloscopio. La somma in frequenza, però, si verifica solo sotto certe condizioni:

- il cristallo deve essere ruotato di un certo angolo rispetto ai raggi incidenti. Questo angolo si dice di *phase matching*
- basta scostarsi di poco rispetto all'angolo di phase matching per perdere il segnale di somma in frequenza
- deve esserci coincidenza spaziale dei due raggi.

È vero pure il viceversa: se da un cristallo viene generato un fascio con frequenza somma, allora i due fasci originari soddisfano alle condizioni precedenti e quindi sono anche spazialmente coincidenti. A questo punto, allora, si toglie il pinhole e lo si sostituisce con il cristallo di BBO. Regolando leggermente l'angolo di phase matching (noto) e la profondità del cristallo rispetto al fuoco delle lenti, si riesce a trovare la somma in frequenza. Una volta trovata, la si massimizza regolando la profondità del campione, la direzione dei fasci incidenti e il fuoco dei doppietti (per evitare che uno focalizzi prima

o dopo l'altro). Con questo stratagemma siamo sicuri che i due fasci focalizzano allo stesso livello in un certo punto dello spazio. Però è ovvio che quando noi togliamo il cristallo e mettiamo il campione di interesse, non sappiamo più dove si trova il punto esatto in cui i due raggi coincidono. In qualche modo dobbiamo allora "fissarlo". Per farlo utilizziamo una telecamera. Questo è uno strumento con una focale di 3.5 cm sensibile solo alle lunghezze d'onda vicine a 800 nm che fornisce un'immagine dello spot sullo schermo del computer. Sistemandola su un supporto regolabile lungo tre direzioni (altezza, trasversale e longitudinale), si è in grado di fissarla in modo che metta a fuoco lo spot generato dal fascio a 780 nm (la 1560 nm è invisibile pure per la telecamera ma, se c'è la somma in frequenza, la sua posizione è nota) sulla superficie del cristallo di BBO. Una volta fatto questo, la telecamera non dovrà più essere mossa poiché ci fornisce il punto di riferimento per ritrovare la coincidenza spaziale. Infatti, dopo aver tolto il cristallo di BBO, basta regolare il campione in modo da vedere lo spot sulla sua superficie nello stesso punto dello schermo trovato precedentemente e a fuoco. In questo modo si è sicuri di stare eccitando il campione con la pompa nello stesso punto in cui lo si va a testare con la sonda.

Purtroppo, però, la configurazione del nostro esperimento non ci permette di usare questo metodo previo alcune accortezze. Infatti i raggi di pompa e di sonda formano, fra loro, un angolo che si discosta molto dall'angolo di phase matching necessario per avere somma in frequenza. In realtà, a causa dell'angolo relativo che formano, si ha pure difficoltà a farli passare entrambi nel pinhole.

Quello che abbiamo provato a fare è stato mettere un sistema formato

da lente-cristallo BBO-lente sulla linea della pompa in modo da farle generare seconda armonica collineare per avere un riferimento visibile della sua posizione. Questo metodo è stato però accantonato poichè risulta molto difficile riparallelizzare il fascio uscente dal cristallo in modo che sia poi ben focalizzabile nuovamente sul campione.

L'idea che abbiamo seguito è, al contrario, molto più realizzabile ed affidabile. Abbiamo diviso ulteriormente il fascio di sonda in due tramite un beam splitter. La parte riflessa la si indirizza sul campione, quella trasmessa la si utilizza per una nuova linea. Questa nuova linea permette al fascio di raggiungere il campione dalla stessa parte della pompa in modo che i due abbiano un angolo di convergenza il più piccolo possibile (limiti sperimentali permettendo). Così facendo possiamo utilizzare il metodo descritto in precedenza fra la pompa e la nuova sonda. Infatti, una volta trovata la coincidenza spaziale fra le due (utilizzando il cristallo), basta far coincidere la sonda vera e propria con quella della nuova linea in modo che, grazie ad una sorta di proprietà transitiva, abbiamo la certezza della coincidenza fra la sonda e la pompa, pur essendo invisibile. Aggiungiamo che tutti i nostri campioni presentano delle superfici semitrasparenti per cui anche se il raggio che passa per il prisma è totalmente riflesso, un minimo di scattering sulla superficie ci consente di vederlo con la telecamera, pur giungendo dalla parte opposta. Un ulteriore vantaggio di questo metodo è il fatto che la nuova sonda può essere utilizzata per fare misure di pump & probe in semplice riflessione. Tutto quello che bisogna fare è spostare uno specchio per indirizzare nel fotodiodo un fascio di probe o l'altro. L'ultima accortezza da segnalare è l'esigenza di bloccare un probe o l'altro a seconda del tipo di misura che si intende fare.

4.1 Caratterizzazione dell'impulso

Una prima misura per verificare la coincidenza spaziale fra i raggi è stata fatta sulla somma in frequenza generata dal cristallo di BBO. Più precisamente la misura riporta lo svuotamento della pompa quando si genera la somma in frequenza. Infatti la generazione di un nuovo fascio con frequenza somma avviene a discapito di una perdita di energia da parte della pompa. Questa misura ci permette di caratterizzare l'impulso e di valutarne la sua lunghezza temporale.

In una misura di autocorrelazione, quando i due impulsi coincidono sia spazialmente che temporalmente, il segnale ottenuto avrà un picco di ampiezza. Mano a mano che un impulso viene ritardato rispetto all'altro, questo picco diminuisce fino a scomparire quando gli impulsi non sono sovrapposti. La situazione è illustrata in Figura 4.6 Per questo motivo il segnale trasmesso

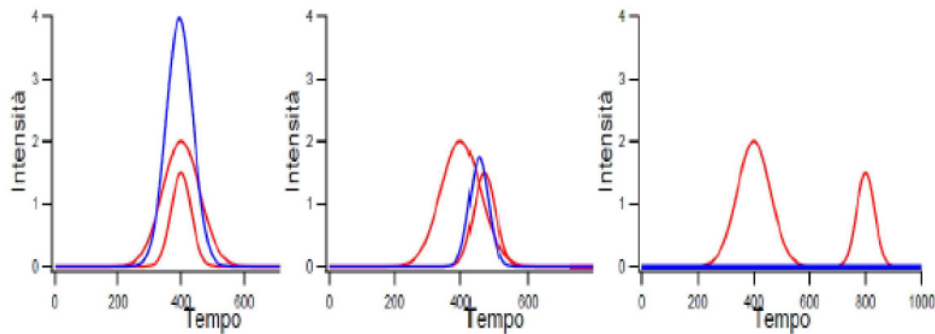


Figura 4.6: Autocorrelazione di due impulsi gaussiani

so dipende dal ritardo (τ) dei due impulsi. L'autocorrelazione ad un certo

ritardo è così definita:

$$A(\tau) = \int_{-\infty}^{\infty} I_1(t)I_2(t - \tau)dt \quad (4.4)$$

Le espressioni per le intensità degli impulsi gaussiani sono:

$$I_1(t) = I_1 e^{-\frac{(t-t_1)^2}{2\sigma_1^2}} \quad I_2(t) = I_2 e^{-\frac{(t-t_2)^2}{2\sigma_2^2}} \quad (4.5)$$

La convoluzione di due impulsi gaussiani con σ_1 e σ_2 è ancora una gaussiana

$$A(\tau) = I_1 I_2 \int_{-\infty}^{\infty} I_1(t)I_2(t - \tau)dt \quad (4.6)$$

da cui si ottiene

$$A(\tau) = I_1 I_2 \sqrt{2\pi} e^{-\frac{\tau^2}{2(\sigma_1^2 + \sigma_2^2)}} \quad (4.7)$$

che è una gaussiana con larghezza $\sqrt{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}$.

La misura sperimentale è stata fatta con due sorgenti di trigger differenti:

- **Trigger esterno:** il trigger è settato su un canale esterno. A causa del jitter (oscillazione temporale dell'impulso), la scheda di acquisizione vede tutte le singole gaussiane oscillare attorno ad un tempo t_0 (centro della gaussiana); come conseguenza, si ha un allargamento della gaussiana reale.
- **Autotrigger:** settiamo la sorgente del trigger sulla gaussiana stessa; in questo modo tutte le successive gaussiane sono centrate esattamente sullo stesso tempo t_0 e la larghezza della gaussiana risulta essere quella reale.

In entrambi i casi abbiamo ottenuto le misure mediando per un numero elevato di acquisizioni (10000) con una scheda PCI-5922 (15MHz, 16 bits).

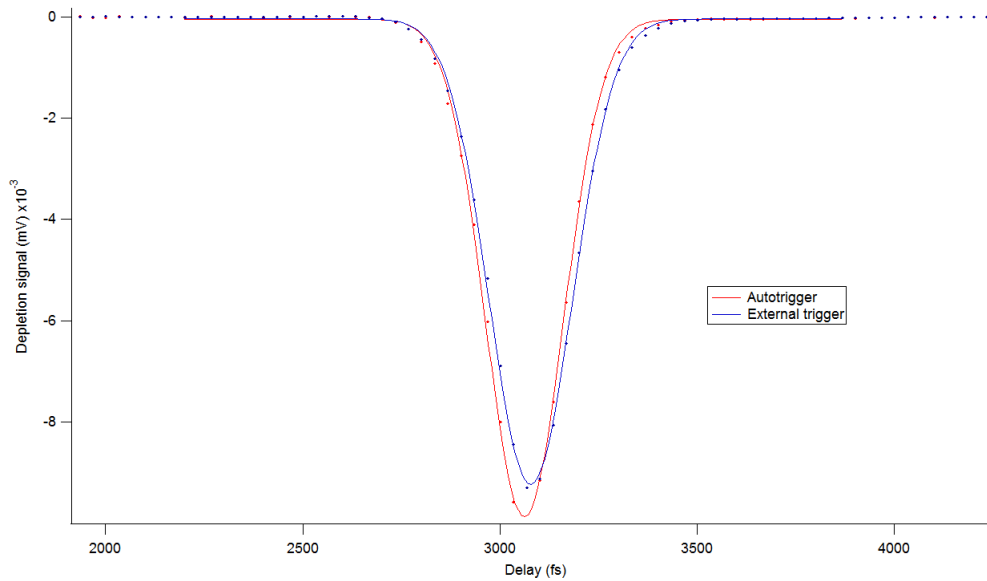


Figura 4.7: Svuotamento della pompa per una misura di autocorrelazione in funzione del ritardo fra gli impulsi

Trigger	w (fs)	FWHM (fs)
External	148.98 ± 0.75	248.1 ± 0.9
Auto	139.72 ± 0.85	232.6 ± 1

La differenza fra le due FWHM ci permette di stimare l'ampliamento del segnale dovuto al jitter. (Figura 4.7) Dai fit sulle misure si ottiene Da questa tabella si capisce che l'allargamento temporale del segnale acquisito con il trigger esterno è di 15.5 fs ogni 160 secondi. Nelle misure noi useremo sempre un trigger esterno perchè il segnale che vogliamo vedere è molto piccolo e la scheda di acquisizione non riesce a triggerarsi su di esso. Per questo motivo il calcolo sull'allargamento temporale è molto importante per avere misure quantitative accurate.

5. MISURE SPERIMENTALI

In sostanza, come abbiamo visto, in questo esperimento si misurano delle variazioni di intensità del fascio di sonda quando interagisce con il campione eccitato dalla pompa. Dalla teoria, e in particolare dal concetto di spessore efficace, siamo portati a pensare che l'intensità dell'interazione fra l'onda evanescente e il campione in configurazione di riflessione totale interna è maggiore della variazione di intensità che avremmo in una misura in trasmissione o in riflessione. Sarà quello che dimostreremo.

Il nostro setup ci permette di fare misure in riflessione e in riflessione totale interna spostando solamente uno specchio e lasciando inalterata la posizione del campione. La prima misura che abbiamo eseguito è quella in riflessione.

5.1 Misura in riflessione

La configurazione per effettuare questo tipo di misura è la medesima usata per trovare la coincidenza spaziale con il cristallo di BBO, con i fasci di pompa

e di sonda che arrivano sul campione con un piccolo angolo di convergenza. Il fascio di sonda arriva sull'ipotenusa del prisma ricoperta da uno strato di 4 nm d'oro. Questo rivestimento è tanto sottile che, alla vista, esso risulta essere trasparente. Per cui una parte del fascio verrà trasmessa all'interno del prisma, una parte verrà riflessa e indirizzata nel fotodiodo. Il risultato ottenuto è mostrato in Figura 5.1.

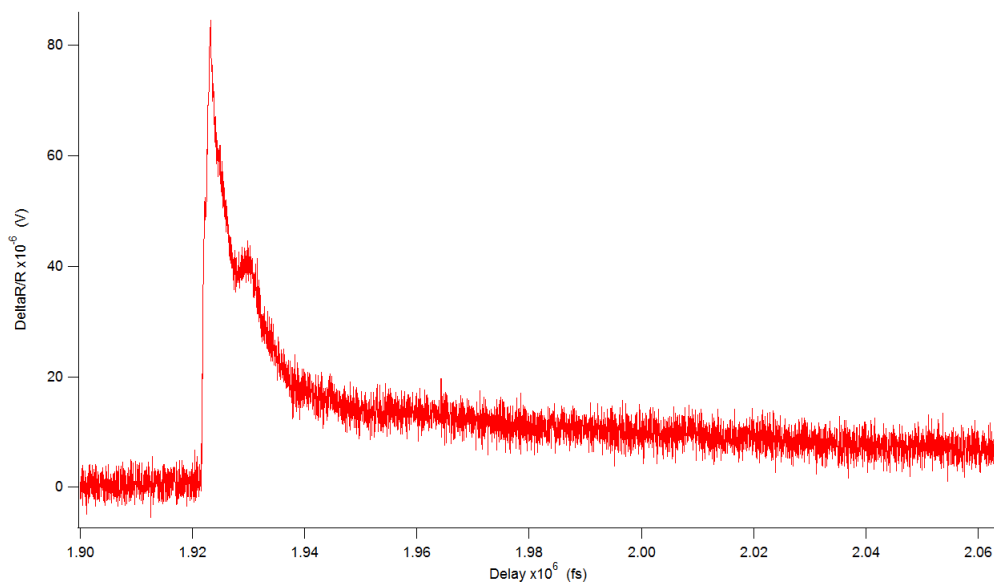


Figura 5.1: Misura della variazione relativa del fascio di sonda, in riflessione, su uno strato d'oro di 4 nm in funzione del ritardo tra gli impulsi.

commento sul rimbalzo

Si potrebbe essere portati a pensare che l'ampiezza della variazione dipenda dallo spessore dello strato d'oro e che, con uno spessore più elevato si possa ottenere una variazione di segnale più accentuata. Per testare anche questa possibilità abbiamo sostituito il prisma con uno specchio rivestito con diverse centinaia di nanometri d'oro. E anche su di esso abbiamo preso una misura (Figura 5.2).

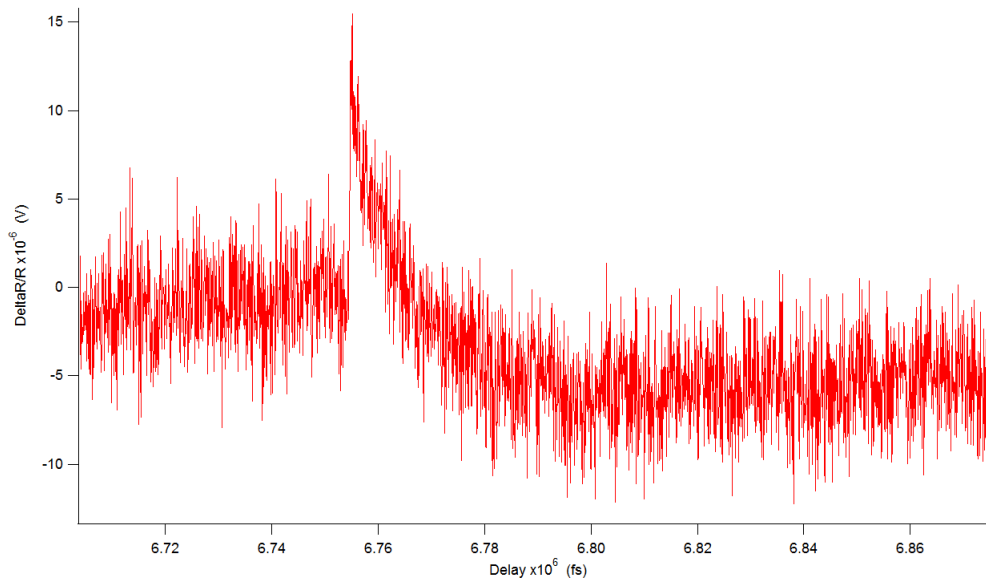


Figura 5.2: Misura della variazione relativa del fascio di sonda, in riflessione, su uno specchio d'oro in funzione del ritardo tra gli impulsi

Come si può facilmente notare, l'ampiezza del segnale, al contrario di quanto ci aspettavamo, non è aumentata. Infatti nella sovrapposizione fra raggio incidente e raggio riflesso, quello che si genera nello spazio della riflessione è un'onda stazionaria. Affinchè ci sia un'onda stazionaria è necessario che ci sia un nodo ($E=0$) molto vicino alla superficie a causa dell'alta conducibilità del metallo ($\sigma \approx \infty$). Questo è il motivo per cui non può esserci una forte interazione sulla superficie del metallo pur avendo uno spessore di materiale maggiore.

5.2 Misura in riflessione totale interna

Ora confrontiamo le misure precedenti con quelle eseguite in riflessione totale interna che vedono, come protagonista, l'onda evanescente. L'ampiezza

dell'interazione, in questa configurazione, è data esclusivamente dall'onda evanescente che investe lo strato d'oro. In Figura 5.3 sono rappresentati i dati ottenuti.

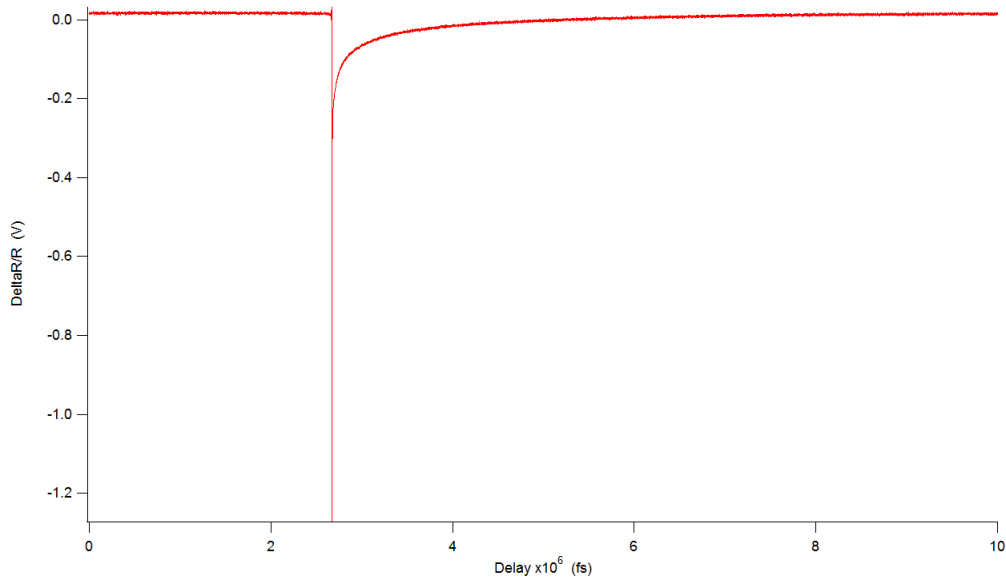


Figura 5.3: Misura della variazione relativa del fascio di sonda, in riflessione totale interna, su uno strato d'oro di 4 nm in funzione del ritardo tra gli impulsi.

Come si può ben notare, l'ampiezza relativa del segnale dell'onda evanescente è circa due ordini di grandezza maggiore rispetto al segnale ottenuto in riflessione. Da questo fatto possiamo affermare che la misura in riflessione totale interna è molto più sensibile di quella in riflessione. Poiché l'interazione su 4 nm d'oro è considerabile a tutti gli effetti come un'interazione di superficie, possiamo anche affermare che la misura di pump & probe in onda evanescente, è la tecnica ideale per analizzare proprio queste dinamiche di superficie.

Dal grafico si nota che l'interazione fra la pompa e il campione presenta due dinamiche distinte. La prima è una dinamica veloce (dell'ordine di centinaia di femto-secondi), la seconda è una dinamica più lenta dell'ordine di nano-secondi. Se pensiamo al campione come ad un reticolo accoppiato agli elettroni, la "dinamica veloce" è data dagli elettroni che vengono eccitati e raggiungono energie molto alte tali da farli disaccoppiare dalla struttura cristallina. Col passare del tempo, questi elettroni, perdendo energia, tornano a riaccoppiarsi con il reticolo al quale cedono energia che, sotto forma di calore, viene dissipata. Questa dinamica di dissipazione impiega un tempo più lungo della prima ed è detta "dinamica lenta".

Si noti, inoltre, che la misura in riflessione totale interna ha un picco di segno opposto rispetto a quella in riflessione. Alla luce del concetto di spessore efficace, la misura in riflessione totale interna è assimilabile ad una misura di trasmissione, quindi è giusto che ci sia un'inversione del segnale da positivo a negativo.

Da questo grafico, si possono apprezzare le caratteristiche dell'ASOPS in tutti i suoi aspetti. La qualità della misura è ottima, ed è stata ottenuta con un tempo di acquisizione molto più breve rispetto ai tempi del metodo tradizionale. Sull'asse delle ascisse è riportato il ritardo massimo (10 ns) che è possibile ottenere fra gli impulsi. Con la tecnica tradizionale si va ad indagare soltanto la dinamica di interesse, con l'ASOPS, ogni acquisizione è fatta su tutta la finestra di 10 ns, in questo modo, avendo informazioni su tutto il processo di rilassamento, è possibile selezionare la dinamica voluta (lenta o veloce) come fatto in Figura 5.2 .

Dalla 2.2 si può notare che la risoluzione temporale dipende dalla differenza

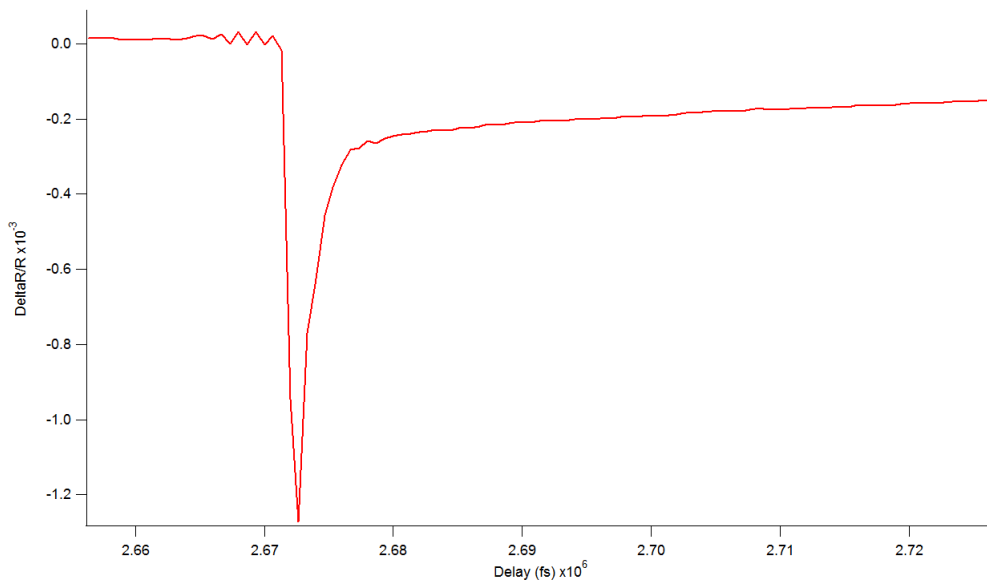


Figura 5.4: Misura della variazione relativa del fascio di sonda, in riflessione totale interna, su uno strato d'oro di 4 nm in funzione del ritardo tra gli impulsi con ingrandimento sulla parte della dinamica veloce

in frequenza tra i fasci di pompa e sonda. Maggiore è la differenza in frequenza, minore sarà la risoluzione temporale $\left(\frac{1}{\Delta t}\right)$, e viceversa. Chiaramente, una misura con basso Δf impiega più tempo di una con Δf maggiore, poichè è maggiore il numero di punti da acquisire fra un impulso di pompa e l'altro. Per indagare le dinamiche veloci è necessaria una risoluzione temporale elevata e quindi un Δf basso (50 Hz). Per le dinamiche lente la risoluzione temporale può essere più bassa e quindi si utilizza un Δf maggiore (1000 Hz) guadagnando sul tempo di acquisizione. Il tempo impiegato per prendere una misura è proporzionale alla qualità della misura. Per apprezzare variazioni di segnale molto piccole, è necessario che si medino fra loro molte misure, in modo che gli eventuali rumori si annullino e che venga evidenziato il segnale. Questo è il motivo per cui le acquisizioni possono durare molti

minuti, poichè pur essendo brevissimo il tempo di uno scan ($1s \div 0.1 \text{ ms}$), per avere una buona misura, bisogna integrare su molti scan (tipicamente $1000 \div 1000000$ di scan).

Se cambiamo la scala dell'asse y in scala logaritmica possiamo apprezzare ancor di più il decadimento esponenziale della curva all'aumentare del ritardo fra gli impulsi (Figura 5.5)

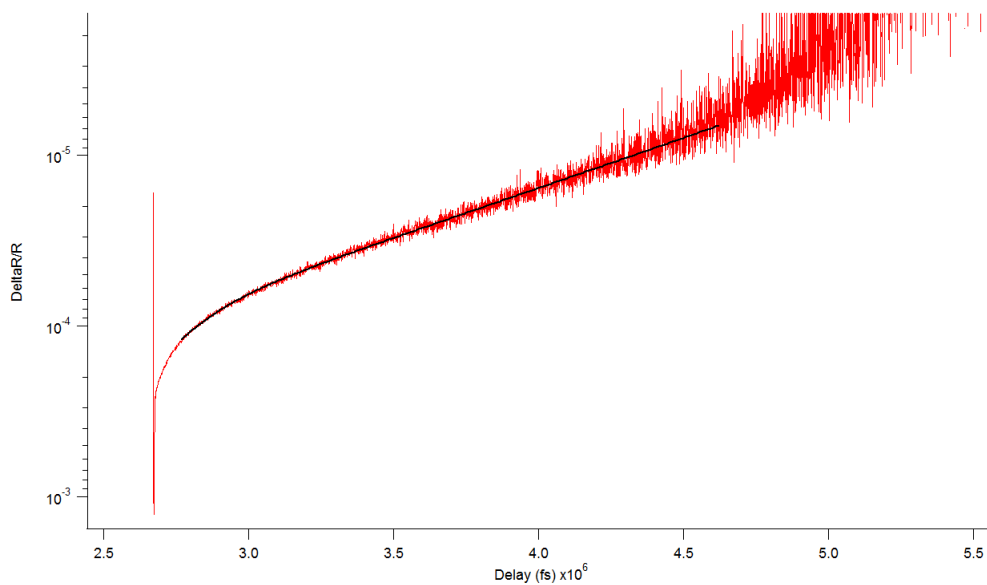


Figura 5.5: Misura della variazione relativa del fascio di sonda, in riflessione totale interna, su uno strato d'oro di 4 nm in funzione del ritardo tra gli impulsi (scala semi-log)

Queste misure ci confermano che la tecnica di misure risolte in tempo con l'utilizzo di onda evanescente, oltre a dare informazioni relative soltanto alle dinamiche sulla superficie del campione, è anche molto più sensibile di una misura fatta in riflessione. Allora, è possibile, con questo metodo, andare ad indagare certe dinamiche di superficie che, con altre tecniche, non si riesce a valutare. ??????. In effetti, la scelta di ricoprire i prismi con uno strato

d'oro e non di altro, è stata proprio dettata da queste esigenze: i campioni biologici riescono a depositarsi molto meglio su uno starto d'oro (per quanto sottile) piuttosto che sul quarzo.

5.3 Prime applicazioni in campo biologico

I prismi sono stati ricoperti con un coating d'oro di 4 nm al fine di permettere l'ancoraggio del sistema biologico preso in esame attraverso la convenzionale chimica *Au-tiolo*. Il sistema biologico studiato comprende una breve catena di oligonucleotidi, chiamata *aptamero*. Gli aptameri sono molecole selezionate per legarsi in modo specifico ad una proteina target predefinita, in questo caso particolare alla α -trombina umana, una glicoproteina che gioca un ruolo fondamentale nel processo di coagulazione del sangue. I meccanismi di inibizione della trombina sono alla base del funzionamento dei farmaci anticoagulanti. Il Thrombin Binding Aptamer (TBA) è un oligodeossinucleotide costituito da 15 nucleotidi (15mer), avente sequenza 5'-GGTTGGTGTGGTTGG-3', che lega selettivamente la trombina e ne è considerato un inibitore diretto. Lo studio del complesso TBA-trombina riveste un ruolo fondamentale nell'impiego clinico di farmaci anticoagulanti, viste le pesanti limitazioni dei farmaci generalmente ad oggi utilizzati (vedi per esempio, le risposte allergiche dell'eparina, oppure la natura quasi irreversibile del complesso irudina-trombina con conseguente pericolo di emorragie). Per permettere l'ancoraggio del TBA al prisma, è stata commissionata alla ditta FAMBiotech la sintesi di una sequenza di TBA tiolata in 5' (SH-TTTTTTTTTTTTTTTTTTGGTTGGTGTGGTTGG), in cui la sequenza di Timine (polyT) funge da distanziatore per il TBA dalla superficie. La

Campione	Tau1 (fs)
Oro	1248 ± 23
TBA	1089.3 ± 110
DS	1133.3 ± 141

funzione dello spacer è quella di evitare che la molecola si adagi sulla superficie per interazione elettrostatiche e favorire la formazione di un monolayer uniforme sia come densità che orientamento delle molecole (Figura 5.6)

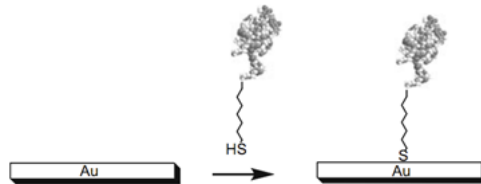


Figura 5.6: Formazione di un monolayer di TBA su uno strato d'oro

Su questo prisma funzionalizzato con un monolayer di TBA ($\approx 10^{12}$ molecole/cm²) sono state fatte delle misure risolte in tempo cercando di analizzare separatamente le due dinamiche veloce e lenta.

Per quanto riguarda la dinamica veloce (Figura 5.7), il confronto con i tempi di decadimento forniti dal solo strato d'oro non visualizza grandi differenze; ciò significa che questa dinamica è dominata dagli elettroni dell'oro e i campioni biologici non portano sensibili variazioni.

Dai fit delle misure risultano i seguenti tempi di rilassamento che fra loro sono molto simili:

Per quanto riguarda la dinamica lenta, invece, si possono notare delle differenze sensibili. Per ampliare ancor di più il campo di indagine abbiamo fatto delle misure anche su dei campioni di TBA con una struttura a doppia

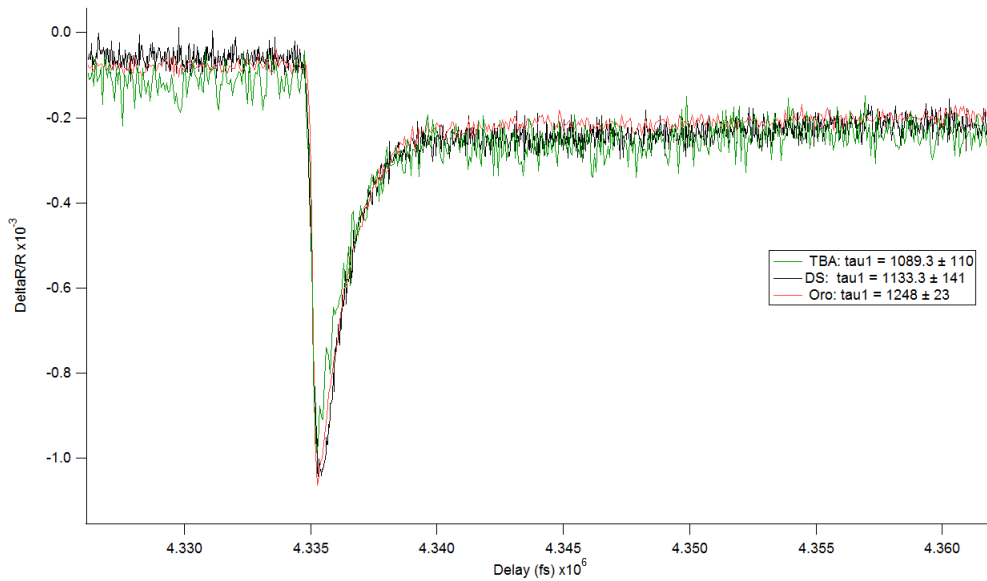


Figura 5.7: Confronto delle dinamiche veloci su Oro, TBA e DS.

Campione	Tau1 (fs)
Oro	54520 ± 505
TBA	110340 ± 1110
DS	105310 ± 6820

elica. In questo caso il prisma è stato funzionalizzato con una doppia elica precedentemente ibridizzata di TBA con il relativo complementare. Le misure fra il solo strato d'oro (ORO), il TBA single strand (TBA) e il TBA double strand (DS) sono mostrate in Figura 5.8

Come si può notare dalla tabella 5.3, il decadimento dello strato d'oro è più veloce di quello dell'oro con i campioni biologici i quali, fra loro stessi, sono confrontabili. Dai fit, infatti, si evince che il tempo di decadimento dei campioni biologici è circa il doppio di quello dello strato d'oro.

I risultati di questa indagine pilota gettano le basi per studi successivi

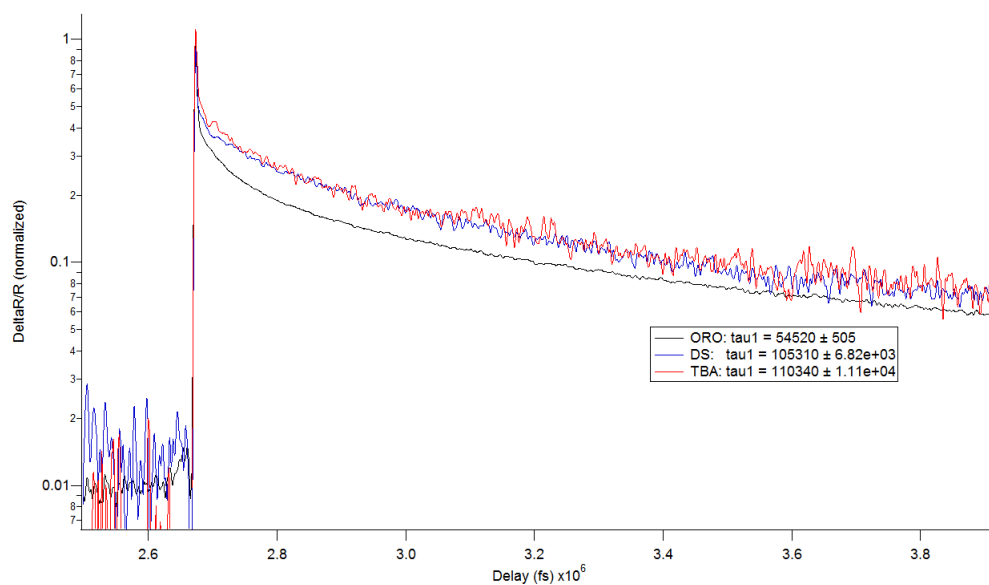


Figura 5.8: Confronto sulle dinamiche lente fra campioni di Oro, TBA e DS

di interazione TBA-trombina e permettono l'avanzamento delle conoscenze necessarie per poter passare allo studio di altri sistemi biologici.

6. CONCLUSIONI

Con questo lavoro siamo riusciti a realizzare un apparato sperimentale per poter effettuare misure di spettroscopia risolta in tempo utilizzando, come fascio di sonda, l'onda evanescente generata da riflessione totale interna su un prisma.

La riflessione totale interna all'interfaccia tra due mezzi con indici di rifrazione diversi è sensibile alle variazioni dell'indice di rifrazione complesso del mezzo otticamente meno denso. Per questo motivo, l'attenuazione della riflessione totale interna, dovuta all'interazione tra il campione e l'onda evanescente che si genera all'interfaccia, è utilizzata per misure di assorbimento. Un'altra importante caratteristica della tecnica dell'attenuazione della riflessione totale interna è il fatto che è sensibile alla superficie del campione analizzato, in quanto la lunghezza di penetrazione dell'onda evanescente è una frazione della lunghezza d'onda. Evidenze teoriche presenti in letteratura ci assicurano che esistono delle configurazioni tali per cui l'onda evanescente è più sensibile alle variazioni in superficie di quanto non lo siano misure in riflessione o in trasmissione.

Il nostro lavoro era indirizzato a provare queste previsioni teoriche. Abbiamo fatto delle misure su uno strato d'oro di 4 nm depositato su un prisma e abbiamo comparato i risultati ottenuti in riflessione e in riflessione totale interna. Abbiamo constatato che il fascio di sonda in una misura in riflessione subisce una variazione di due ordini di grandezza inferiore ad una misura in riflessione totale interna. Questo risultato ci dà la garanzia di poter indagare fenomeni di superficie su campioni biologici. Misure di dinamica lenta e veloce sono state fatte, con questa tecnica, su campioni di Thrombin Binding Aptamer (TBA) a singola elica ed a doppia elica (DS). Per quanto riguarda la dinamica veloce (determinata dall'eccitazione degli elettroni) non si notano differenze di tempi di rilassamento fra i campioni di TBA e DS rispetto a quello con il solo strato d'oro. Nella dinamica lenta (determinata dalla dissipazione di energia del reticolo) si sono riscontrate delle differenze. I campioni di TBA e DS presentano un tempo di rilassamento doppio rispetto a quello dello strato d'oro.

Con l'ausilio della tecnica del pump & probe in onda evanescente, è possibile, in futuro, effettuare studi successivi di interazione TBA-trombina e permettere l'avanzamento delle conoscenze necessarie per poter passare allo studio di altri sistemi biologici. In particolare, l'obiettivo da perseguire è quello di effettuare misure risolte in tempo mentre questi campioni biologici si trasformano cambiando le loro proprietà elettroniche. Inoltre, una maggiore quantità di informazioni è possibile ottenerla utilizzando, come fascio di sonda, un fascio super-continuo contenente un largo intervallo di lunghezze d'onda.

A. LEGGI DI FRESNEL

Consideriamo la situazione in Figura A.1 e partiamo dalle due equazioni di Maxwell che, sotto le nostre ipotesi, sono [1]:

$$\begin{cases} \nabla \times \mathbf{E} = -\frac{\partial \mathbf{B}}{\partial t} \\ \nabla \times \mathbf{H} = \mathbf{J} + \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t} \end{cases} \quad (\text{A.1})$$

Ora, se le integriamo sulla superficie delimitata dal contorno e trasformiamo l'integrale di superficie in un integrale di linea col teorema di Stokes otteniamo:

$$\int_S \nabla \times \mathbf{E} \cdot \mathbf{n} ds = \int \mathbf{E} \cdot d\mathbf{l} = -\frac{\partial}{\partial t} \int_S \mathbf{B} \cdot \mathbf{n} ds \quad (\text{A.2})$$

Se consideriamo l'ultima uguaglianza e ragioniamo sul campo elettrico \mathbf{E} possiamo scrivere:

$$E_{\parallel}^1 - E_{\parallel}^2 + \text{contributo } dh = -\frac{\partial}{\partial t} \Phi_B \quad (\text{A.3})$$

ma, se facciamo tendere $dh \rightarrow 0$, allora tenderanno a 0 anche il contributo laterale dh e il flusso di \mathbf{B} , per cui otteniamo:

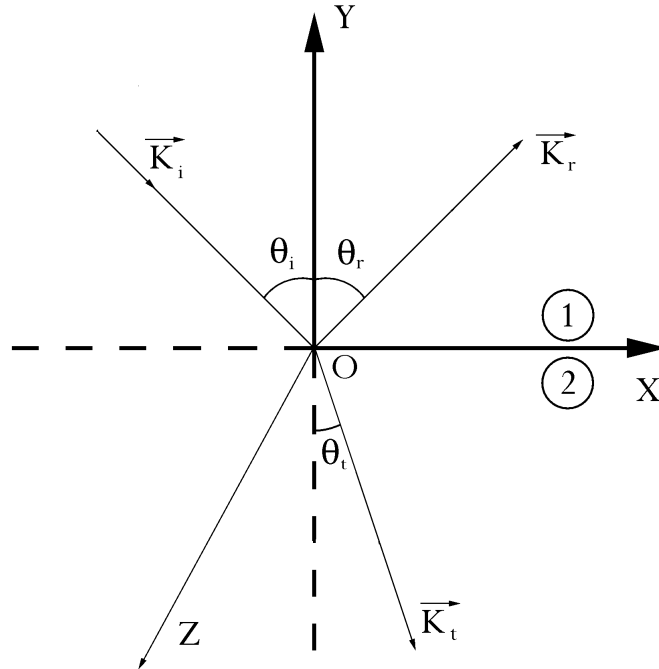


Figura A.1: Fascio incidente su un'interfaccia con conseguente fascio rifratto e fascio riflesso.

$$E_{\parallel}^1 = E_{\parallel}^2 \quad (\text{A.4})$$

Se non sono presenti correnti di superficie, lo stesso ragionamento può essere fatto sul campo magnetico \mathbf{H} e si ottiene:

$$H_{\parallel}^1 = H_{\parallel}^2 \quad (\text{A.5})$$

Visto che E_{\parallel}^j indica la somma dei campi elettrici paralleli nel mezzo j , per la nostra situazione, la A.4 si esplicita in:

$$\mathbf{E}_{i\parallel} + \mathbf{E}_{r\parallel} = \mathbf{E}_{t\parallel} \quad (\text{A.6})$$

e, ancor più esplicitamente:

$$E_{i\parallel} e^{i(\mathbf{k}_i \cdot \mathbf{r} - \omega_i t)} + E_{r\parallel} e^{i(\mathbf{k}_r \cdot \mathbf{r} - \omega_r t)} = E_{t\parallel} e^{i(\mathbf{k}_t \cdot \mathbf{r} - \omega_t t)} \quad (\text{A.7})$$

Questa uguaglianza deve valere per ogni t e per ogni punto sul piano di separazione (in questo caso \mathbf{r} giace sul piano). Per questo motivo gli esponenziali devono essere uguali sul piano di separazione, e questa considerazione porta ad avere:

$$\omega_i = \omega_r = \omega_t \quad (\text{A.8})$$

cioè, le onde riflesse e trasmesse non cambiano colore.

Inoltre:

$$\mathbf{k}_i \cdot \mathbf{r} = \mathbf{k}_r \cdot \mathbf{r} = \mathbf{k}_t \cdot \mathbf{r} \quad (\text{A.9})$$

cioè le tre onde incidente, riflessa e trasmessa sono **complanari**. Inoltre, guardando la prima uguaglianza della ?? si ottiene:

$$k_i \sin \theta_i = k_r \sin \theta_r \quad (\text{A.10})$$

ma k_i e k_r si trovano nello stesso mezzo per cui $k_i = k_r = \frac{\omega}{v_1}$. Ne deriva che:

$$\theta_i = \theta_r \quad \text{Legge della riflessione} \quad (\text{A.11})$$

Sempre dalla ?? si ricava:

$$k_i \sin \theta_i = k_t \sin \theta_t \quad (\text{A.12})$$

poichè $k_i = \frac{\omega}{v_1}$ e $k_t = \frac{\omega}{v_2}$ segue che:

$$\frac{\sin \theta_i}{v_1} = \frac{\sin \theta_t}{v_2} \quad (\text{A.13})$$

Se vogliamo scrivere la relazione in funzione dell'indice di rifrazione, dal momento che $n_j = \frac{c}{v_j}$ si ha:

$$n_1 \sin \theta_i = n_2 \sin \theta_t \quad \text{Legge di Snell} \quad (\text{A.14})$$

Fino ad ora abbiamo ragionato sugli esponenti della A.7, adesso ragioniamo sulle ampiezze:

$$E_{i\parallel} + E_{r\parallel} = E_{t\parallel} \quad ; \quad H_{i\parallel} + H_{r\parallel} = H_{t\parallel} \quad (\text{A.15})$$

A questo punto dobbiamo considerare le possibili configurazioni con cui abbiamo a che fare. Se l'onda incidente ha il campo elettrico polarizzato linearmente e parallelo al piano di incidenza, ci troviamo nella cosiddetta *polarizzazione p*. Come conseguenza, visto che E , H e k formano un sistema ortonormale completo, il campo magnetico H sarà ortogonale al piano di incidenza; ecco perchè la polarizzazione p si chiama anche *trasverso magnetico* (TM). La *polarizzazione s*, al contrario, ha il campo magnetico H parallelo al piano di incidenza, e il campo elettrico E ortogonale (TE).

Mettiamoci nella situazione di polarizzazione s (TE) figura ??????????????; per analogia, si possono ricavare i risultati in polarizzazione p (TM).

Dalla condizione al contorno per i campi elettrico e magnetico si ricavano le due condizioni:

Polarizzazione p	$\mathbf{t}_p = \frac{2}{\alpha+\beta}$	$\mathbf{r}_p = \frac{\alpha-\beta}{\alpha+\beta}$
Polarizzazione s	$\mathbf{t}_s = \frac{2}{1+\alpha\beta}$	$\mathbf{r}_s = \frac{1-\alpha\beta}{1+\alpha\beta}$

$$\left\{ \begin{array}{l} E_i + E_r = E_t \\ -\frac{E_i}{\mu_1 v_1} \cos \theta_i + \frac{E_r}{\mu_1 v_1} \cos \theta_i = -\frac{E_t}{\mu_2 v_2} \cos \theta_t \end{array} \right. \quad (\text{A.16})$$

con un po' di algebra, e considerando $v_j = \frac{c}{n_j}$ si ottiene:

$$\left\{ \begin{array}{l} E_i + E_r = E_t \\ -E_i + E_r = -\frac{\mu_1 n_2 \cos \theta_t}{\mu_2 n_1 \cos \theta_i} E_t \end{array} \right. \quad (\text{A.17})$$

Definiamo:

$$\alpha = \frac{\cos \theta_t}{\cos \theta_i} \quad ; \quad \beta = \frac{\mu_1 n_2}{\mu_2 n_1} \quad (\text{A.18})$$

Sommando le due equazioni di ?? si ottiene:

$$\frac{E_t}{E_r} = \frac{2}{1 - \alpha\beta} \quad (\text{A.19})$$

Sottraendole si ottiene:

$$\frac{E_t}{E_i} = \frac{2}{1 + \alpha\beta} \quad \mathbf{t}_s \quad (\text{A.20})$$

Siccome vogliamo avere E_r ed E_t in funzione di E_i , facciamo il rapporto fra le due e otteniamo:

$$\frac{E_r}{E_i} = \frac{1 - \alpha\beta}{1 + \alpha\beta} \quad \mathbf{r}_s \quad (\text{A.21})$$

Allo stesso modo si ricavano le espressioni di t_p e r_p nel caso di polarizzazione **p**. Riassumiamo nella tabella i risultati trovati:

BIBLIOGRAFIA

- [1] D.J. Griffiths, *Introduction to Electrodynamics*, 3ed., PH, 1999
- [2] F. de Fornel, *Evanescent Waves*, Springer, 1997
- [3] N. Harrick, *J. Opt. Soc. Am.* **55**, 851 (1965)
- [4] N. Harrick and F. du Prè, *Appl. Opt.* **5**, 1739 (1966).
- [5] D. Axelrod, E. Hellen, and R. Fullbright, *Total Internal Reflection Fluorescence*, in *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, J. Lakovicz, Plenum Press, New York (1992)
- [6] Menlo System, *ASOPS white paper*, April 15 2009
- [7] F. Cilento, *Dinamiche Elettroniche Fotoindotte in Superconduttori ad Alta Temperatura Critica*, 2007
- [8] http://it.wikipedia.org/wiki/Velocità_della_luce
- [9] http://en.wikipedia.org/wiki/Evanescent_wave

-
- [10] L. De Carlo, *Spettroscopia con onda evanescente mediante spettro continuo prodotto da una fibra non lineare*, 2006