

# Терагерцовая импульсная спектроскопия биологических тканей

М.М.Назаров, А.П.Шкуринов, Е.А.Кулешов, В.В.Тучин

*Исследованы терагерцовые спектры поглощения и дисперсия таких биологически важных веществ, как сахара, вода, гемоглобин, жиры и ткани. Выявлены характеристические линии поглощения в рабочем диапазоне частот терагерцового спектрографа (0.1–3.5 ТГц). Измерены показатели преломления и коэффициенты поглощения эмали и дентина зубов человека. Разработан метод терагерцовой фазовой спектроскопии отражения для сильнопоглощающих веществ. Развита простые и надёжные способы измерения свойств вещества с помощью импульсной терагерцовой техники с временным разрешением.*

**Ключевые слова:** терагерцовая спектроскопия, ткани, биомолекулы.

## 1. Введение

Терагерцовый частотный диапазон, занимающий промежуточное положение между ИК и микроволновым диапазонами частот (1 ТГц  $\rightarrow$  1 пс  $\rightarrow$  300 мкм  $\rightarrow$  33 см<sup>-1</sup>  $\rightarrow$  4.1 мэВ  $\rightarrow$  47.6 К), на сегодня является последним малоисследованным диапазоном во всей шкале электромагнитных волн – от радиочастотного диапазона до рентгеновского. Эффективные источники и малощумящие детекторы для этого диапазона появились только в последние два десятилетия, в основном благодаря развитию лазеров сверхкоротких импульсов. Терагерцовое излучение перспективно для применений в спектроскопии [1] и медицине [2–5]. Известно, что дисперсия биологических тканей в терагерцовом диапазоне частот мала, но поглощение значительно [6]. Многие колебательные переходы в простых биомолекулах находятся именно в этом диапазоне. Кроме того, неоднородности размером менее 0.1 мм, приводящие к сильному рассеянию в видимой и ближней ИК областях спектра, не дают значительного рассеяния в терагерцовом диапазоне. Использование сверхкоротких импульсов позволяет исследовать широкий диапазон частот за одно измерение, а также достичь высокого разрешения по времени.

Цель настоящей работы заключалась в разработке методов исследования биологических тканей в терагерцовом диапазоне частот, обеспечивающих детектирование и визуализацию метаболических и патологических процессов в тканях. Определение линий поглощения и окон прозрачности, характерных для участвующих в метаболических процессах конкретных биотканей и моле-

кул, необходимо для разработки терагерцового спектрометра с максимальной чувствительностью и селективностью к изменениям, происходящим с биомолекулами или со структурой вещества. Кроме того, такая информация о биотканях позволит обнаруживать присутствие и изменение веществ с характеристическим спектром комплексного показателя преломления. Подобные исследования важны для создания функционального терагерцового томографа, обладающего высокой чувствительностью к изменению концентраций метаболитов и осуществляющего точную маркировку границ патологического процесса при получении информации о комплексном показателе преломления биоткани с высоким пространственным разрешением.

## 2. Принципы измерения

В настоящей работе используются несколько известных методов генерации импульсного терагерцового излучения, в которых фотопроводящая антенна, поверхность полупроводника или нелинейный кристалл служат преобразователями коротких импульсов лазерного излучения в терагерцовый диапазон. В первых двух случаях генерация излучения обусловлена созданием нестационарной электронно-дырочной фотопроводимости полупроводника под действием импульсов света [7] и всплеском фототока под действием внешнего или внутреннего электрического поля. В последнем случае происходит генерация разностной частоты (оптическое выпрямление) в нелинейном кристалле [8].

Детектирование терагерцового импульса (ТГИ) осуществляется в аналогичной фотопроводящей антенне или на основе электрооптического эффекта в нелинейном кристалле [8]. Поле ТГИ наводит двулучепреломление в кристалле, при этом поляризация пробного лазерного импульса изменяется пропорционально амплитуде поля ТГИ в данный момент времени. В эксперименте определялась разность мощностей ортогональных компонент поляризации пробного лазерного импульса либо измерялся ток, наведённый в антенне в зависимости от временной задержки между терагерцовым и пробным оп-

М.М.Назаров, А.П.Шкуринов, Е.А.Кулешов. Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, физический факультет, Россия, 119992 Москва, Воробьевы горы; e-mail: maxim@lasmed.phys.msu.ru

В.В.Тучин. Научно-образовательный институт оптики и биофотоники Саратовского государственного университета им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; Институт проблем точной механики и управления РАН, Россия, 410028 Саратов, ул. Рабочая, 24; e-mail: tuchin@sgu.ru

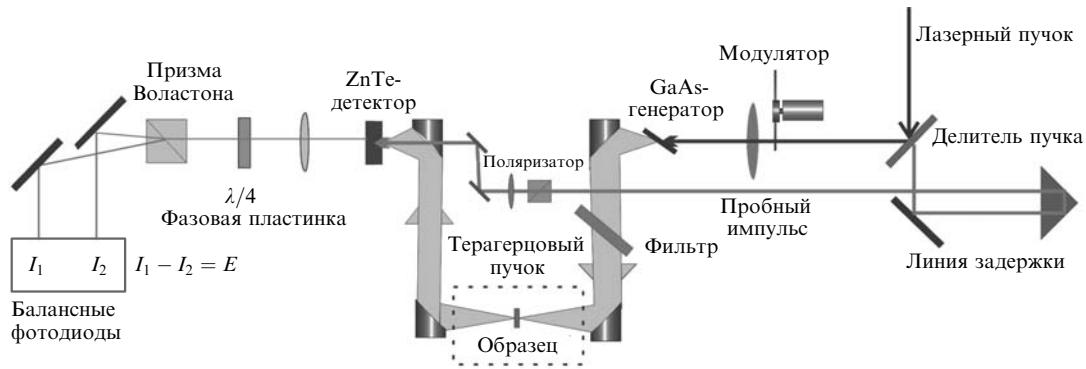


Рис.1. Схема импульсного терагерцового спектрометра.

тическим импульсами. Чувствительность детектора, так же как и эффективность генератора ТГИ, определяется параметрами фазового синхронизма, величиной нелинейной восприимчивости, длиной кристалла и длительностью лазерного импульса. При замене полупроводниковых устройств на нелинейно-оптические диапазон оптимальной работы спектрометра ( $0.5 \pm 0.45$  ТГц) сдвигался в высокочастотную область ( $2 \pm 1.5$  ТГц).

Схема терагерцового импульсного спектрометра, используемого в настоящем исследовании (рис.1), подробно описана в работе [9]. Тип детектора и генератора ТГИ выбирались в зависимости от поглощения образца и интересующего диапазона частот [10]. Например, для измерений в труднодоступном для импульсной спектроскопии диапазоне  $2.5-3.5$  ТГц использовалось излучение лазера на длине волны  $\lambda = 790$  нм с длительностью импульса  $\tau = 90$  фс, генератором являлась поверхность полупроводника, выращенная при низкой температуре (LT-GaAs); электрооптический детектор был изготовлен из кристалла ZnTe  $\langle 110 \rangle$  толщиной  $0.3$  мм. С помощью преобразования Фурье из временного профиля ТГИ вычислялся комплексный спектр, содержащий информацию о показателях преломления и поглощения среды, через которую прошёл ТГИ [11].

В большинстве измерений мы использовали временную выборку длительностью  $50$  пс из  $1024$  точек с временем накопления сигнала в каждой точке  $300$  мс. Это позволяло проводить измерения с отношением сигнал/шум (SNR) более  $10^2$  для частот в спектральном диапазоне  $0.3-2.5$  ТГц и со спектральным разрешением  $\sim 10$  ГГц. Лазерные и терагерцовые импульсы следовали с интервалом  $12$  нс, при этом энергия ТГИ, зондирующего биологическую ткань, составляла  $\sim 10^{-13}$  Дж. Такая малая энергия импульса не должна оказывать воздействия на ткань. Даже в случае резонансного поглощения в образце поглощается только малая доля спектральных компонент импульса.

**Методы измерения коэффициентов поглощения и преломления.** Отличительной особенностью метода импульсной терагерцовой спектроскопии является возможность непосредственного измерения величины и направления электромагнитного поля, что позволяет получить информацию об амплитуде и фазе поля прошедшего импульса и далее вычислить показатель преломления, коэффициент поглощения и дисперсию исследуемой среды.

Для вычисления оптических свойств ткани нужно провести реконструкцию оптических параметров по измеренным спектрам пропускания  $T(\omega)$  [12]. Из эксперимента и последующего преобразования Фурье времен-

ных профилей импульсов получаем амплитуду поля ТГИ, падающего на образец ( $E_{\text{ref}}(\omega)$ ) и прошедшего через него ( $E_{\text{sam}}(\omega)$ ), а затем рассчитываем спектральный коэффициент пропускания образца:

$$T(\omega) = \frac{E_{\text{sam}}}{E_{\text{ref}}} = T_0(\omega)FP(\omega)RL(\omega), \quad (1)$$

где

$$T_0(\omega) = \exp \left[ -i(n_{\text{sam}} - n_{\text{air}}) \frac{d\omega}{c} \right] \quad (2)$$

содержит основную информацию о среде, через которую прошёл ТГИ (коэффициенты поглощения и преломления образца);

$$RL(\omega) = \frac{4n_{\text{sam}}n_{\text{air}}}{(n_{\text{sam}} + n_{\text{air}})^2} = 1 - R^2(\omega) \quad (3)$$

описывает потери на отражение на границах образца;

$$FP(\omega) = \left[ 1 - R^2(\omega) \exp \left( -i2n_{\text{sam}} \frac{d\omega}{c} \right) \right]^{-1} \quad (4)$$

описывает импульсы переотражения в параллельной пластинке – моды Фабри–Перо;  $n(\omega) = n'(\omega) - in''(\omega)$  – комплексные показатели преломления для соответствующей среды;  $n''(\omega) = \alpha(\omega)c/\omega$  – поглощение, учтенное в мнимой части  $n$ ;  $\omega = 2\pi f$  – циклическая частота;  $R(\omega) = (n_{\text{sam}} - n_{\text{air}})/(n_{\text{sam}} + n_{\text{air}})$  – комплексный коэффициент отражения;  $c$  – скорость света;  $n_{\text{air}} \approx 1$ ;  $d$  – толщина образца. Отметим, что мы используем показатель поглощения  $\alpha$  для поля, тогда как в других методах обычно используется показатель поглощения для мощности, который является вдвое большим.

Уравнение (1) невозможно решить аналитически, но для большинства случаев подходит приближенное решение. Предположив, что  $RL(\omega) \approx \text{const}$  и  $FP(\omega) \approx 1$ , получим

$$\alpha(\omega) = \frac{-\ln |T(\omega)|}{d} + \frac{\ln(1 - R_{\text{av}}^2)}{d}, \quad (5)$$

где  $R_{\text{av}} = (n_{\text{av}} - 1)/(n_{\text{av}} + 1)$  – коэффициент отражения для действительной части показателя преломления образца, усредненной в диапазоне измеряемых частот. Усредненный показатель преломления  $n_{\text{av}}$  легко определяется во временном представлении из задержки импульса  $\Delta t$  при распространении через образец:

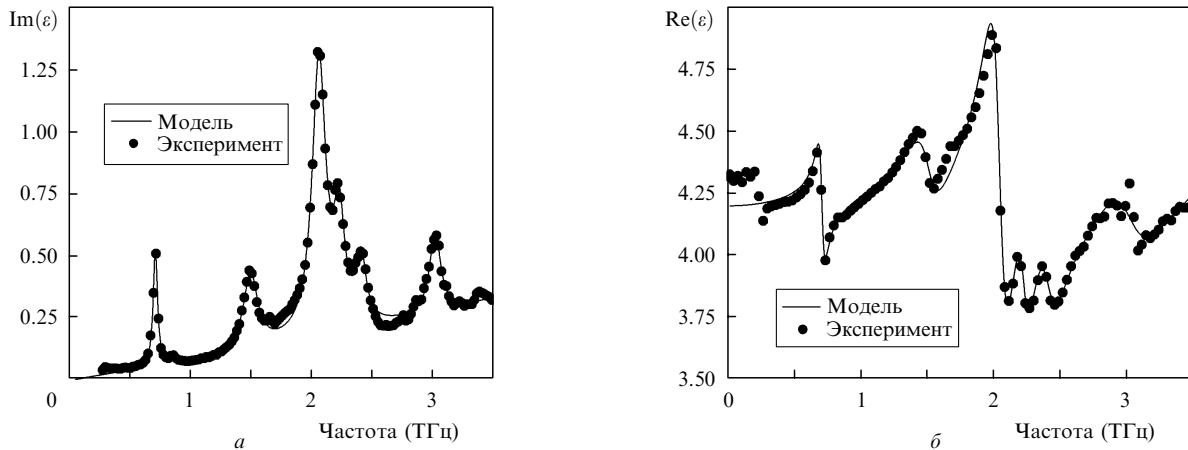


Рис.2. Спектр действительной (а) и мнимой (б) частей диэлектрической проницаемости L-Cystine.

$$n_{av} = 1 + \Delta t \frac{c}{d}. \quad (6)$$

Частотная зависимость показателя преломления

$$n'(\omega) = -\arg\{T(\omega)\} \frac{c}{\omega d} + 1. \quad (7)$$

В более строгом случае нужно также учесть переотражения на гранях образца – моды Фабри–Перо [9]; это актуально для случая большого показателя преломления и тонких пластинок исследуемых образцов, в нашем случае – при измерениях спектров срезов зубов и спектров прессованных таблеток сахаров.

**Модельные спектры.** Для анализа наблюдаемых изменений в тканях характеристические линии поглощения содержащихся в них веществ были описаны простой моделью. В качестве модели диэлектрической проницаемости была выбрана сумма лоренцевских осцилляторов [13]

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon_0 + \sum_j \frac{S_j \omega_j^2}{(\omega_j^2 - \omega^2) - i\Gamma_j \omega}, \quad (8)$$

где  $\omega_j$ ,  $\Gamma_j$ ,  $S_j$  – собственные частоты, коэффициенты затухания и силы осцилляторов соответственно;  $\varepsilon_0$  – диэлектрическая проницаемость вещества на низких частотах;  $j$  – номер резонанса в выбранном диапазоне частот. На рис.2 представлены измеренные нами спектры полипептида L-Cystine [1, 14] и модельные кривые, рассчитанные для его диэлектрической проницаемости.

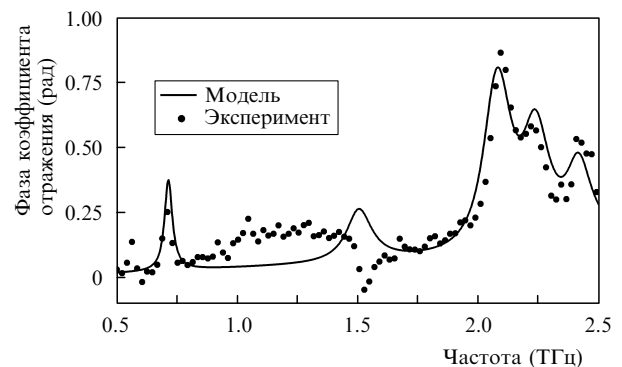
Проницаемость  $\varepsilon$  связана с комплексным показателем преломления  $n$  как  $\varepsilon = n^2$ , а коэффициенты поглощения и преломления можно измерить непосредственно в эксперименте, используя (5) и (7), после чего подобрать константы для  $\varepsilon$  в виде (8). Применимость модели для описания разных веществ была дополнительно проверена при использовании опубликованных данных по спектрам  $\varepsilon$  и  $n$  [13, 15].

**Терагерцовая спектроскопия отражения.** Для ряда объектов спектроскопия пропускания плохо применима из-за сильного поглощения (например, содержащие воду ткани) или из-за больших размеров объекта (in vivo). В таком случае более перспективно использовать спектроскопию отражения. Для этого измеряется содержащий информацию о веществе комплексный коэффициент отражения

$$\tilde{R}_p(\omega) = \frac{n^2(\omega) \cos(\theta) - [n^2(\omega) - \sin^2(\theta)]^{1/2}}{n^2(\omega) \cos(\theta) + [n^2(\omega) - \sin^2(\theta)]^{1/2}}, \quad (9)$$

характеризуемый амплитудой  $R$  и фазой  $\varphi$  ( $\tilde{R}_p = R e^{i\varphi}$ ). Индекс  $p$  обозначает поляризацию излучения в плоскости падения,  $\theta$  – угол падения луча, отсчитанный от нормали. Здесь использованы формулы Френеля с учетом комплексной составляющей показателя преломления. Сравнение модельных коэффициентов отражения для разных углов падения  $\theta$  показало, что наиболее информативной (в смысле чувствительности к наличию линий поглощения) является  $p$ -поляризация, особенно ее фазовая характеристика. Был подобран угол  $\theta_0 = \arctan(n')$   $-5^\circ$ , соответствующий высокой чувствительности метода к характеристическим линиям поглощения вещества и достоверности измерений. При  $\theta_0$ , близком к углу Брюстера ( $\theta_{Br} = \arctan(n')$ ), резонансные линии вещества наиболее сильно проявляются в спектре отражения, однако при  $\theta_0 = \theta_{Br}$  амплитуда  $R$  стремится к нулю, что усложняет эксперимент. Для примера измерен и промоделирован спектр отражения вещества L-Cystine (рис.3). Обратим внимание на то, что фаза спектра отражения фактически повторяет форму спектра коэффициента поглощения и соответственно форму мнимой части диэлектрической проницаемости (см. рис.2).

Возникают два вопроса, которые являются принципиальными при изучении биотканей, – это глубина зондирования и учёт слоистости среды. Предложенный способ измерения предоставляет информацию только о границе раздела (эффективная глубина, на которой форми-

Рис.3. Спектр фазы коэффициента отражения L-Cystine при угле падения  $63^\circ$ .

руется отражённый сигнал, составляет десятки микрон). Если же исследовать слоистые среды, то при толщинах слоёв  $\sim 100$  мкм и более можно разделять отражённые от разных поверхностей импульсы во времени. Далее можно применить формулу (9) для каждого слоя со своим коэффициентом отражения и объемными параметрами среды (слоя) между поверхностями, через которую дважды проходит излучение. В видимом диапазоне частот такая методика развита, например, для трехслойной модели кожи [16], которая может быть адаптирована для терагерцового диапазона.

**Полное внутреннее отражение.** Для исследования мягких тканей или водных растворов более перспективной оказалась спектроскопия отражения в условиях полного внутреннего отражения (ПВО). В такой схеме, в принципе, можно изменять и контролировать глубину проникновения поля в вещество. Была рассчитана и изготовлена призма Довэ из кремния с основанием  $1.5 \times 2$  см и углом при вершине  $90^\circ$ . Коэффициент преломления кремния в терагерцовом диапазоне составляет 3.42, а дисперсия и поглощение практически отсутствуют. Данная призма помещается в параллельный пучок терагерцового излучения; при этом она не меняет направление пучка. В качестве опорного сигнала используется отражение от чистого основания призмы, а в качестве измерительного – сигнал, полученный, когда исследуемое вещество прижато к основанию призмы (или на основание налита исследуемая жидкость). Были проведены тестовые эксперименты по ПВО для воды и водных растворов, а также для кожи кисти руки (*in vivo*).

Основное преимущество метода ПВО перед спектроскопией отражения заключается в простоте измерения опорного спектра (без вещества); кроме того, амплитуда коэффициента отражения близка к единице. Основная сложность, возникающая при использовании метода ПВО, – это необходимость обеспечения оптического контакта при исследовании твёрдых образцов. Моделирование трёхслойной системы (призма – воздух – исследуемое вещество) для используемых параметров эксперимента показало, что наличие прослойки воздуха всего в 10 мкм уже критично, поскольку в спектре отражения практически не будет информации об исследуемом веществе. В случае жидких образцов оптический контакт получается хорошим и такой проблемы нет. Формулы Френеля, описывающие спектр отражения, остаются применимыми и при ПВО, нужно только учесть показатель преломления материала призмы  $n_{\text{пр}}$  и заменить  $n$  на  $n/n_{\text{пр}}$  в формуле (9). При переходе от схемы измерения спектра отражения открытой поверхности к схеме с призмой качественный вид спектра фазы и амплитуды коэффициента отражения меняется.

Схему с призмой удобно использовать для исследования мягких тканей, поскольку прижатие к основанию призмы обеспечивает плоскую гладкую поверхность образца. Был измерен спектр отражения кожи кисти (мужчина, 32 года, белый, ладонь у основания большого пальца (рис.4)).

Поскольку высокая чувствительность метода ПВО обеспечивается в поверхностном слое ткани до 10 мкм, то кожа зондируется только на глубину рогового слоя, в котором содержание воды минимально (15%). В основном этот слой состоит из белков (70%) и липидов (15%) [17], поэтому спектр отражения кожи существенно отличается от спектра отражения воды.

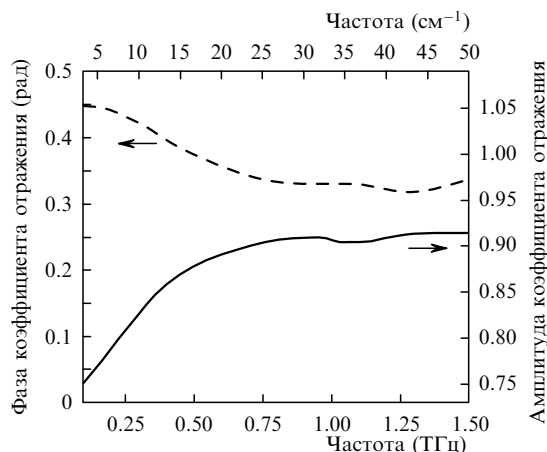


Рис.4. Спектр амплитуды и фазы коэффициента отражения кожи руки при ПВО.

С использованием описанных выше методов были измерены терагерцовые спектры поглощения и преломления ряда сахаров и других биологически важных веществ.

**Поглощение и преломление жидкостей.** Наиболее важным веществом для живых систем является жидкая вода, содержание которой в биологических тканях составляет в среднем 75% [18]. Поглощение жидкой воды очень велико в терагерцовом диапазоне – слой воды толщиной 200 мкм ослабляет на порядок амплитуду излучения на частоте 1 ТГц, а слой в 1 мм в исследуемом терагерцовом диапазоне частот практически непрозрачен. Диэлектрическая проницаемость воды известна из литературы [19] и может быть выражена двухкомпонентной моделью Дебая и лоренцевским слагаемым [4]:

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_1}{1 + i\omega\tau_D} + \frac{\varepsilon_1 - \varepsilon_\infty}{1 + i\omega\tau_2} + \frac{A}{\omega_0^2 - \omega^2 + i\omega\gamma}, \quad (10)$$

где  $\tau_D = 9.36$  пс,  $\tau_2 = 0.3$  пс – времена отклика первого и второго дебаевских слагаемых;  $\varepsilon_\infty = 2.5$  – проницаемость на высоких частотах;  $\varepsilon_s = 80.2$ ,  $\varepsilon_1 = 5.3$  – вклады в проницаемость на низких частотах от первого и второго дебаевских слагаемых;  $A = 38$  (ТГц/2 $\pi$ )<sup>2</sup>,  $\omega_0 = 5.6$  ТГц/2 $\pi$  и  $\gamma = 5.9$  ТГц – амплитуда, частота и ширина линии лоренцевского слагаемого. Спектр отражения жидкой воды, рассчитанный по формулам (9) и (10), а также измеренный спектр представлены на рис.5.а. Отметим, что переход к схеме ПВО позволил расширить диапазон измеряемого спектра воды от 1 ТГц [2] до 2.5 ТГц.

Многие вещества присутствуют в тканях в виде водных растворов. В принципе их можно обнаружить с помощью импульсной терагерцовой спектроскопии. Добавление в воду растворимых веществ заметно изменяет спектр ПВО, что продемонстрировано на примере спектра насыщенного раствора арабинозы (температура 21 °С, отношении масс арабиноза : вода составляет 1 : 1), который был измерен в схеме с призмой (рис.5.б).

Для сравнения на рис.6 приведены спектры поглощения сухой арабинозы (таблетка из порошка, толщина 200 мкм, диаметр 5 мм, спрессована под давлением 1 т) и раствора арабинозы в воде. При переходе к раствору фоновые линии поглощения пропадают, а собственные колебательные линии молекул сильно уширяются и их сложно различить. В нашем случае при большой концентрации арабинозы в растворе её спектр не только от-

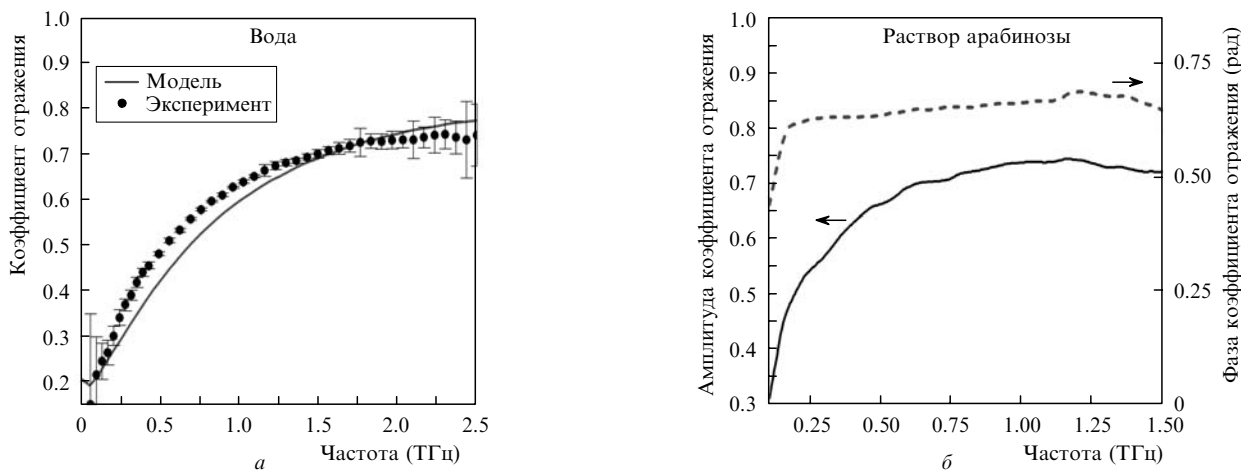


Рис.5. Спектры отражения воды (а) и насыщенного раствора арабинозы (б).

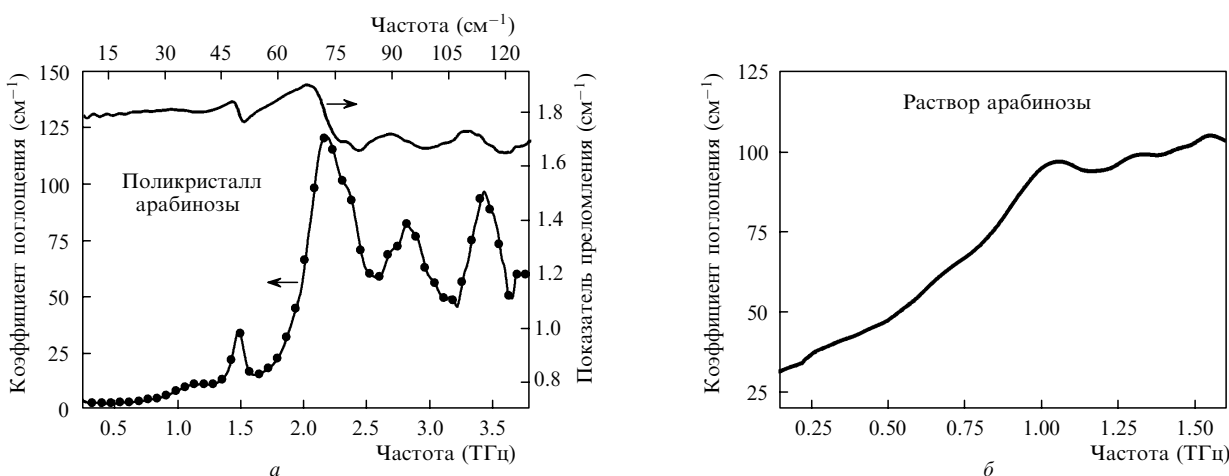


Рис.6. Спектры поглощения порошка арабинозы (а) и её насыщенного раствора (б).

личается от спектра чистой воды, но и изменяет форму (в районе 0.5–1 ТГц).

Спектры других жидкостей – куриного жира (при температуре 21 °С) и растительных рафинированных масел (подсолнечное и оливковое), представленные на рис.7, оказались практически совпадающими друг с другом в этом спектральном диапазоне. Отметим хорошую прозрачность жиров, слабовыраженную дисперсию и особенность в спектре поглощения в диапазоне 2–2.5 ТГц. Отсюда следует, что с помощью импульсной терагерцовой спектроскопии можно будет измерять толщину жи-

рового слоя (по задержке терагерцовых импульсов, отражённых от ближней и дальней границ слоя).

**Поглощение сахаров.** Измеренные спектры поглощения нескольких типов сахаров представлены на рис.8. Каждый сахар имеет свои характеристические линии поглощения. Отметим чувствительность терагерцовой спектроскопии к наличию связанной воды в молекулах (глюкоза моногидрат и глюкоза имеют разные спектры).

В разных типах сахаров наблюдаются как подобные линии поглощения (в диапазонах 1.6–1.9 и 2.6–2.8 ТГц), так и характеристические линии (рис.8 и 6,а). В общем

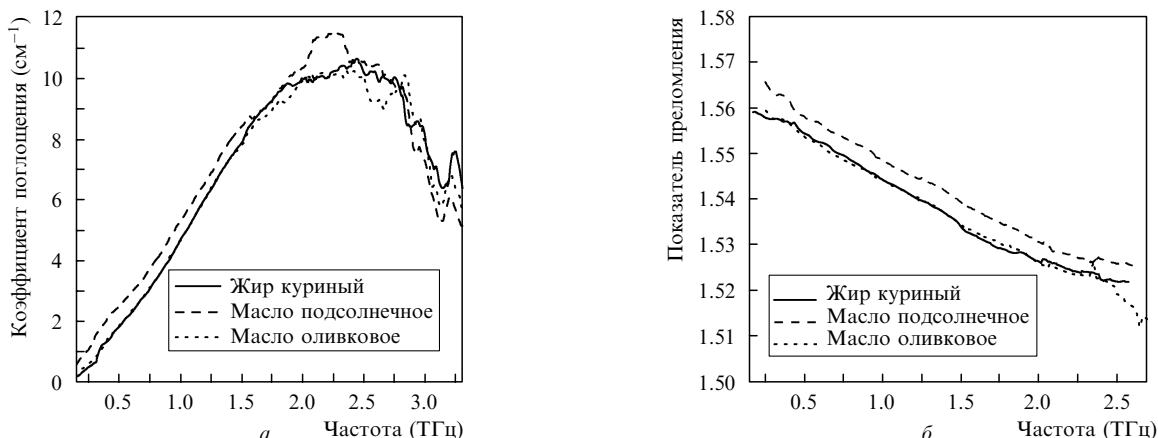


Рис.7. Спектры поглощения (а) и преломления (б) растопленного куриного жира и растительных масел.

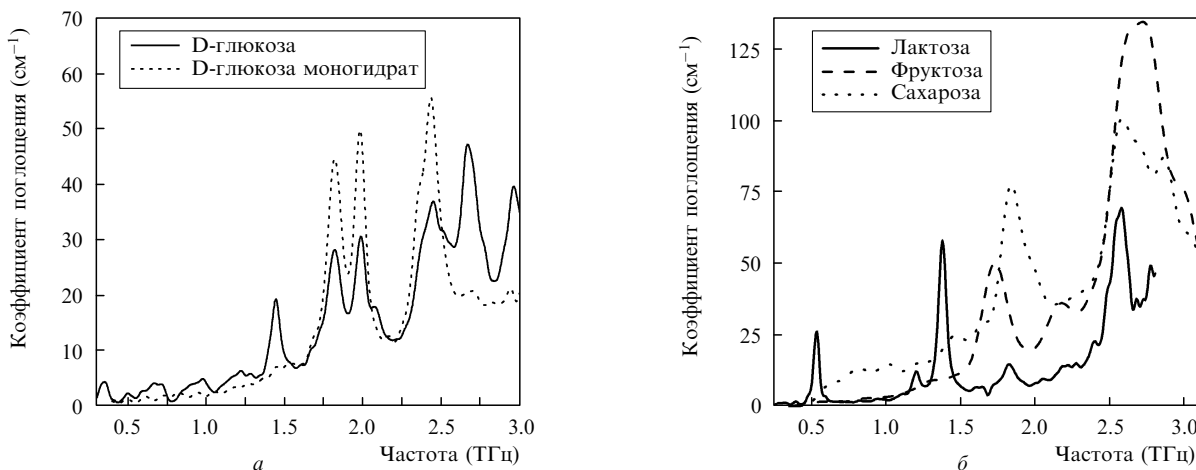


Рис.8. Спектры поглощения нескольких типов сахаров.

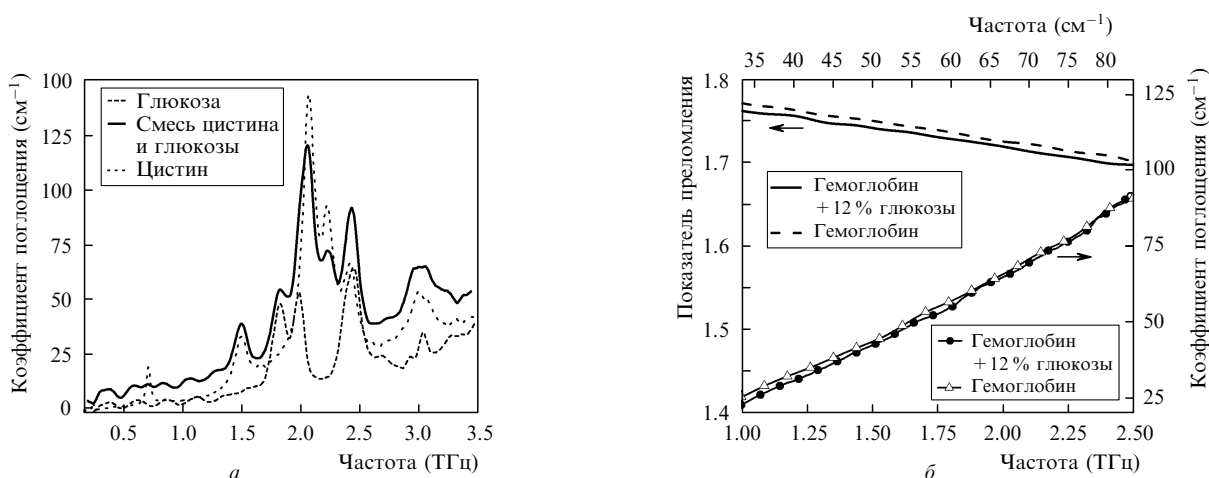


Рис.9. Терагерцовые спектры поглощения смеси веществ и отдельных чистых веществ (а), а также спектр поглощения гемоглобина с глюкозой (б).

случае с увеличением частоты число линий и нерезонансное фоновое поглощение возрастают. За характеристическую линию можно принимать самую низкочастотную, поскольку для каждого типа сахара эта линия имеет свою частоту: для лактозы – 0.54, глюкозы моногидрата – 1.44, арабинозы – 1.48, фруктозы 1.72, глюкозы – 1.82, сахарозы – 1.83 ТГц. Отсюда следует возможность определения относительного содержания отдельных компонентов в смеси веществ при их известных спектрах. На примере смеси глюкозы и цистина (рис.9,а) видно, что спектр смеси содержит информацию об обоих веществах, хотя и не является точной суммой спектров поглощения отдельных компонентов.

Была предпринята попытка обнаружить глюкозу в гемоглобине (в высушенном образце, рис.9,б), однако поглощение гемоглобина было большим во всем диапазоне и не имело каких-либо характерных спектральных особенностей [10], что не позволило выявить наличие глюкозы (12% по массе) по её пикам поглощения.

**Ткани.** Исследования ряда биологических тканей (рис.10) показали их высокое и сравнимое между собой поглощение, но довольно значительные различия в показателях преломления в рассматриваемом диапазоне частот. Последняя особенность позволит измерять амплитуды импульсов, отраженных от границ различных слоев ткани, если существенно увеличить отношение сигнал/шум в импульсном терагерцовом спектрометре.

Для исследованных тканей спектры поглощения (и преломления) имеют схожую форму. Частично это является следствием наличия воды в тканях (форма спектра воды [4, 10, 20] та же, но коэффициент поглощения воды в несколько раз больше). Более того, аналогичную форму (линейный либо квадратичный рост поглощения и уменьшение показателя преломления с частотой) имеют спектры биологических макромолекул. Одно из возможных объяснений отсутствия характеристических линий в «сухих» тканях такое: у биомолекул много линий, их число растёт на высоких частотах и, перекрываясь, эти линии образуют сплошной спектр. Однако этот вопрос требует более глубокого изучения.

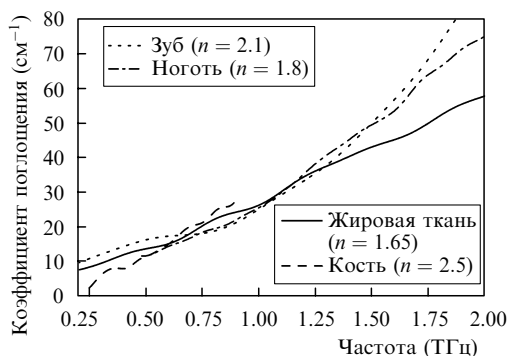


Рис.10. Спектры биологических тканей (значения n – усредненные).

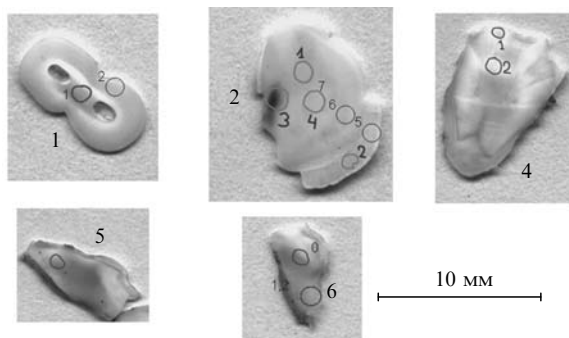
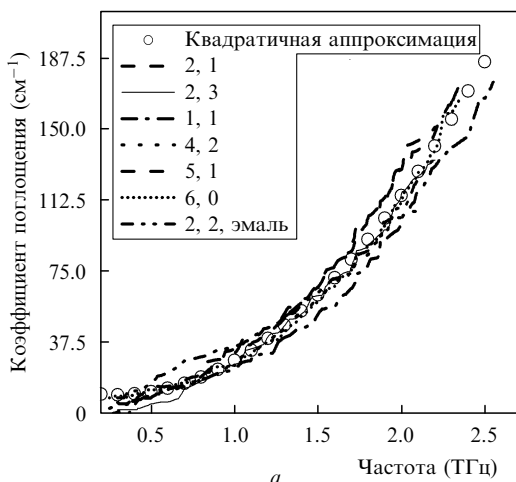


Рис.11. Изображения срезов зубов и областей измерения спектров.

### 3. Спектры различных участков зуба

Ранее [4, 19] была показана возможность исследования зубных тканей методами импульсной терагерцовой спектроскопии. В настоящее время требуется более полная информация об этих тканях, включая возможность мониторинга различий между разными типами дентина, а также получение более детальных спектральных характеристик. Наличие воды в дентине и эмали, хотя и малое, сказывается на их оптических свойствах, что было продемонстрировано и другими методами [21, 22]. Представленные здесь результаты измерений важны для развития терагерцовой томографии зубов [19], в частности для диагностики ряда заболеваний, связанных с изменением содержания воды в тканях зуба, для отслеживания диффузии лекарственных препаратов и движения зубного ликвора *in vivo*. Мониторинг патологических изменений в тканях зуба требует знания основных оптических характеристик различных зубных тканей в терагерцовом диапазоне частот. Нами были локально измерены (диаметр измеряемой области  $\sim 1$  мм) спектры пропускания различных участков срезов зуба (рис.11), включая участки дентина с различной концентрацией и ориентацией дентиновых канальцев [22, 23].

В результате исследований обнаружено существенное различие в показателях преломления эмали и дентина. При этом спектры поглощения для разных образцов без патологии практически совпадали. Другие участки измерения образцов показали аналогичные свойства и на рис.12 не представлены.



Усреднённый (по измеряемым частотам) показатель преломления практически одинаков для всех участков дентина ( $n = 2.4$ ) и существенно больше для эмали ( $n = 3.2$ ). При этом дисперсия показателя преломления [9] имеет небольшие различия в разных областях зуба. Спектр поглощения может быть аппроксимирован квадратичной зависимостью  $\alpha(f) = A + B_1f + B_2f^2$  (по крайней мере в диапазоне 0.2–2.5 ТГц), где коэффициент при  $f^2$  играет главную роль (рис.12,а). Усреднённые величины коэффициентов  $A$ ,  $B_1$ ,  $B_2$  соответственно равны 13,  $-21$  и 36, если  $f$  измеряется в ТГц, а  $\alpha$  – в  $\text{см}^{-1}$ . Показатель преломления для большинства приложений можно считать постоянным (рис.12,б).

При измерениях с пространственным разрешением, необходимых для исследования различных областей зуба (эмаль, дентин, переходная область между ними), пространственное (в плоскости образца) разрешение терагерцового спектрометра увеличивалось за счёт использования малой круглой диафрагмы ( $D = 1$  мм), помещаемой на поверхность образца, куда фокусировалось излучение. Однако на практике широкополосный ( $\lambda = 1000\text{--}100$  мкм) ТГИ можно сфокусировать только до 0.5–3 мм. При  $D = 1$  мм амплитуда прошедшего ТГИ уменьшается несущественно, что сохраняет отношение  $\text{SNR} = 10^3$ , необходимое для надежного измерения спектров.

Существенные потери имеют место в низкочастотной части спектра, где длины волн сравнимы с размером диафрагмы. Когда  $D$  становится меньше  $\lambda$ , амплитуда сигнала убывает пропорционально  $D^4$ . Таким образом, желаемое пространственное разрешение в 100 мкм требует увеличения SNR ещё на порядок, чего пока сложно достичь на практике. Для получения более контрастных изображений тканей методами импульсной терагерцовой спектроскопии мы не можем просто перейти в коротковолновую (высокочастотную) область терагерцового спектра по двум причинам: поглощение тканей существенно возрастает с частотой (рис.12) и эффективность генерации/детектирования ТГИ сильно уменьшается для частот более 2–3 ТГц [8]. Разумное компромиссное значение  $D$ , позволяющее достичь требуемых пространственного разрешения и качества спектра, в нашем случае составило 500 мкм при диапазоне частот 0.3–2.5 ТГц.

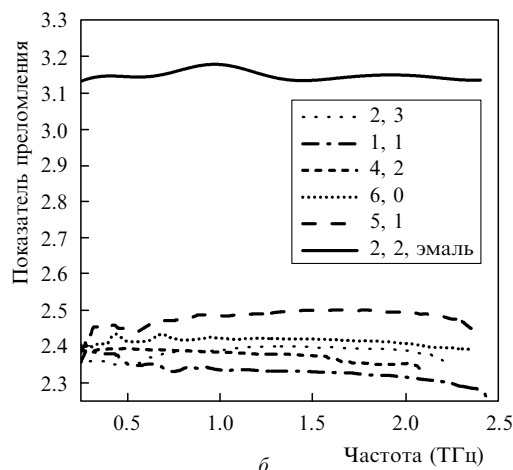


Рис.12. Спектры поглощения и преломления различных участков зуба. Первая цифра соответствует номеру образца на рис.11, вторая – обозначенному на этом образце участку.

#### 4. Заключение

Выбранные параметры терагерцового спектрометра и развитые методы обработки измерений позволили исследовать терагерцовые спектры поглощения ряда биологически важных веществ и тканей. Малые органические молекулы имеют характеристические линии в терагерцовом диапазоне частот. Большие молекулы и ткани имеют значительное поглощение, практически линейно возрастающее с частотой. Коэффициенты поглощения и преломления жидкой воды определяют применимость ТГИ (частоты ниже 0.5 ТГц) для исследования биологических объектов. Сильнопоглощающие вещества могут быть исследованы методом спектроскопии отражения. Измерены терагерцовые спектры ряда сахаров (глюкоза, фруктоза, сахароза, лактоза, арабиноза), в том числе их водных растворов и смесей, в новом, более широком (0.3 – 3.5 ТГц) диапазоне частот. Впервые измерены спектры поглощения и преломления различных участков зуба.

Работа поддержана программой CRDF BRHE (грант RUX0-006-SR-06) и РФФИ (грантом № 05-03-32877-а).

1. Brandt N.N., Chikishev A.Yu., Kargovsky A.V., Nazarov M.M., Parashchuk O.D., Sapozhnikov D.A., Smirnova I.N., Shkurinov A.P., Sumbatyan N.V. *Vibrational Spectroscopy*, **47**, 53 (2008).
2. Pickwell E., Cole B.E., Fitzgerald A.J., Pepper M., Wallace V.P. *Phys. Med. Biol.*, **49**, 1595 (2004).
3. Globus T., Woolard D., Crowe T.W., Khromova T., Gelmont B., Hesler J. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **39**, 3405 (2006).
4. Pickwell E., Wallace V.P. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **39**, R3010 (2006).
5. Фёдоров В.И., Попова С.С. *Миллиметровые волны в биологии и медицине*, **2**, 3 (2006).
6. Fitzgerald A.J., Berry E., Zinov'ev N.N., Homer-Vanniasinkam S., Miles R.E., Chamberlain J.M., Smith M.A. *J. Biol. Phys.*, **129**, 123 (2003).
7. Zhang X.-C., Hu B.B., Darrow J.T., Auston D.H. *Appl. Phys. Lett.*, **56**, 1011 (1990).
8. Nazarov M.M., Makarova S.A., Shkurinov A.P., Okhotnikov O.G. *Appl. Phys. Lett.*, **92**, 021114 (2008).
9. Nazarov M.M., Shkurinov A.P., Tuchin V.V. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **6791**, 679109 (2008).
10. Nazarov M.M., Shkurinov A.P., Tuchin V.V., Zhernovaya O.S. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **6535**, 65351J (2007).
11. Duvillelet L., Garet F., Coutaz J.-L. *J. Sel. Top. Quantum Electron.*, **2**, 739 (1996).
12. Withayachumnankul W., Ferguson B., Rainsford T., Micken S.P., Abbott D. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **5840**, 221 (2005).
13. Yamamoto K., Kabir Md.H., Tominaga K. *J. Opt. Soc. Am. B*, **22**, 2417 (2005).
14. Brandt N.N., Chikishev A.Yu., Nazarov M.M., Okhotnikov O.G., Parashchuk O.D., Shkelnyuk S.A., Sapozhnikov D.A., Shkurinov A.P. *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.*, **6194**, 619408 (2006).
15. Yamamoto K., Yamaguchi M., Myamaru F., Tani M., Hangyo M., Ikeda T., Matsushita A., Koide K., Tatsuno M., Minami Y. *Jpn. J. Appl. Phys.*, **43**, L414 (2004).
16. Dolotov L.E., Sinichkin Yu.P., Tuchin V.V., Utz S.R., Altshuler G.B., Yaroslavsky I.V. *Lasers in Surgery and Medicine*, **34**, 127 (2004).
17. Schaefer H., Redelmeier T.E. *Skin Barrier, Principles of Percutaneous Absorption* (Basel: Karger, 1996).
18. Tuchin V.V. *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis* (Bellingham, WA: SPIE Press, 2007, PM 166).
19. Crawley D.A., Lonbottom C., Wallace V.P., Cole B.E., Arnone D.D., Pepper M. *J. Biomed. Opt.*, **8**, 303 (2003).
20. Woods K.N., Wiedemann H. *J. Chem. Phys.*, **123**, 134507 (2005).
21. Wehrli F.W., Fernandez-Seara M.A. *Annal. Biomed. Eng.*, **33**, 79 (2005).
22. Kishen A., Rafique A. *J. Biomed. Opt.*, **11**, 054018 (2006).
23. Imbeni V., Nalla R.K., Bosi C., Kinney J.H., Ritchie R.O. *Inc. J. Biomed Mater. Res.*, **66A**, 1 (2003).