

Учет рассеяния и перепоглощения при анализе спектров люминесценции наночастиц

В.И.Кочубей, Ю.Г.Конюхова, И.В.Забенков, Е.К.Волкова

Разработаны алгоритм и программа, позволяющие корректировать экспериментально полученные спектры люминесценции нанокомпозитных материалов с целью определения спектров люминесценции наночастиц или локальных областей образца. Исследованы оптические характеристики наночастиц CdS, синтезированных в полиэтилене высокого давления и в растворе ортоксидола. Показано, что спектры люминесценции наночастиц вследствие рассеяния и перепоглощения в образцах отличаются от экспериментально полученных. В области длин волн 500–550 нм в экспериментальных спектрах может возникать ложная полоса, обусловленная рассеянием и перепоглощением люминесценции в образце в области края полосы поглощения CdS.

Ключевые слова: наночастица, спектр люминесценции, рассеяние, перепоглощение.

1. Введение

Одним из перспективных методов неразрушающих исследований внутренней структуры биологических тканей и ее изменений является оптическая томография, использующая для визуализации лазерное излучение. Преимуществами этого метода являются высокая чувствительность, возможность работы с биообъектами субмикронного размера и регистрации быстропротекающих процессов с характерными временами субпикосекундного диапазона [1], неионизирующий характер зондирующего лазерного излучения, относительная простота, а также достаточно низкая себестоимость. Однако серьезной проблемой при использовании лазерного излучения для исследования биообъектов или в лазерной медицине являются процессы рассеяния, преломления и отражения оптического излучения в биотканях.

Рассеяние возникает на неоднородностях показателя преломления клеток, макроструктур и т. д. В средах с сильным светорассеянием увеличивается длина оптического пути фотонов в образце (и соответственно поглощение света) и уменьшается глубина проникновения света в образец, что ограничивает пространственное разрешение и глубину зондирования. Уменьшения светорассеяния можно достичь просветлением биологической ткани, основанным на выравнивании показателей преломления ее структурных элементов и их окружения путем введения в образец иммерсионной жидкости, а также выбором такой длины волны облучающего света, для которой разность показателей преломления мала (смещение в длинноволновую область спектра). Применение нового метода оптической диагностики – флуоресцентной оптической томографии – может решить проблему получения сигнала из исследуемой области, расположен-

ной в глубине биообъекта, введением малого количества флуоресцентного зондирующего вещества (красителя или люминесцирующих наночастиц), достаточного для регистрации, но физиологически безвредного. Параллельно с этим данный метод позволяет бороться с рассеянным на выше расположенных областях светом с помощью спектральной фильтрации возбуждающего излучения. В работе [2] с использованием математического моделирования на основе метода Монте-Карло нами показана возможность получения изображений, люминесцирующих под действием зондирующего лазерного излучения объектов, находящихся в коже на глубине более 1 мм, с поперечным разрешением в сотни микрометров при поверхностном просветлении кожи.

При использовании в методе флуоресцентной оптической томографии люминесцирующих веществ необходимо уделять существенное внимание влиянию на их люминесценцию окружающей среды. Взаимодействие с окружающей средой влияет как на структуру веществ, так и на их люминесцентные характеристики. При этом могут изменяться положения полос люминесценции и их интенсивность вследствие, например, безызлучательной передачи энергии молекулам окружающей среды. Поэтому одним из методов изучения биологических объектов может быть исследование изменений спектра люминесценции зондирующих веществ в зависимости от состава и свойств окружающей биологической среды при возбуждении лазерным излучением с необходимой интенсивностью на заданной глубине. Однако вследствие эффектов многократного рассеяния и перепоглощения в биологических тканях измеряемые спектры поглощения и люминесценции образца будут отличаться от истинных спектров. Регистрируемые спектры будут искажаться вышележащими слоями. В результате даже при одинаковых спектральных характеристиках излучения регистрируемые спектры для участков, расположенных на разных глубинах, будут различаться. Поэтому для получения реальной картины люминесценции необходимо восстановление истинных спектров с учетом рассеяния и перепоглощения.

В.И.Кочубей, Ю.Г.Конюхова, И.В.Забенков, Е.К.Волкова. Национальный исследовательский Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского, Россия, 410012 Саратов, ул. Астраханская, 83; e-mail: kochubey@optics.sgu.ru

Поступила в редакцию 17 марта 2011 г.

Целью данной работы является исследование влияния на спектры люминесценции образцов, содержащих люминесцирующие наночастицы, процессов рассеяния и перепоглощения. Это исследование проводилось на модельных средах (взвеси наночастиц в ортоксилоле и наночастицы в полиэтиленовой матрице).

Выбор нанообъектов в качестве люминесцирующего вещества связан с расширением области их биологических и медицинских применений [3]. Повышенный интерес исследователей к нанообъектам вызван обнаружением у них необычных физических и химических свойств, что обусловлено проявлением так называемых квантово-размерных эффектов. Оптические, электронные и каталитические свойства наночастиц существенно отличаются от таковых для макроразмерного вещества и зависят от размера частицы (эффект размерного квантования). Следовательно, изменяя размеры частиц, можно управлять их оптическими, электрическими и структурными свойствами. В настоящее время уникальные физические свойства наночастиц интенсивно изучаются.

В работах, посвященных исследованию оптических свойств наночастиц и нанокомпозитных материалов [4–7], рассматривается, главным образом, влияние рассеяния на спектры поглощения. Влияние рассеяния на формирование спектров люминесценции нанообъектов изучено недостаточно.

2. Методы и материалы

Исследовались образцы двух типов: изготовленные в СФ ИРЭ РАН нанокомпозитные образцы, состоящие из наночастиц CdS, синтезированных в объеме матрицы из полиэтилена высокого давления (ПЭВД) путем распада прекурсоров соответствующих комплексов [8–10], и синтезированные нами по оригинальной методике [11, 12] наночастицы CdS в ортоксилоле. Во втором случае синтез свободных наночастиц CdS малого размера осуществлялся выдерживанием в течение заданного времени при температуре 120 °С смеси пивалата кадмия $\text{Cd}(\text{piv})_2$ и элементарной серы S, растворенных в ортоксилоле.

Для расчета спектров люминесценции локальных областей образцов необходимы данные о коэффициентах поглощения и рассеяния этих образцов. Поэтому были получены, кроме люминесцентных характеристик образцов, спектры полного отражения и полного пропускания.

Спектры полного отражения и полного пропускания регистрировались двухлучевым спектрофотометром Lambda 950 (PerkinElmer) с использованием интегрирующей сферы. Спектры люминесценции и возбуждения получали с помощью люминесцентного спектрометра LS-55 (PerkinElmer). При этом осуществлялась их коррекция на мощность возбуждающего излучения и спектральную чувствительность прибора. Для эксперимента использовались кюветы из LiF толщиной 100 мкм. Измерения проводились при комнатной температуре. Все спектры люминесценции регистрировались при возбуждении в максимумах полос полученных спектров возбуждения люминесценции.

3. Методика расчета спектра люминесценции локальной области образца

Нами разработан алгоритм расчета истинных спектров люминесценции наночастиц в образце с использова-

нием спектральных зависимостей транспортного коэффициента рассеяния $\mu'_s(\lambda)$ и коэффициента поглощения $\mu_a(\lambda)$, а также экспериментального спектра люминесценции исследуемого образца. В основе алгоритма лежит идея о том, что отношение интенсивности люминесценции, регистрируемой фотоприемником, к интенсивности люминесценции исчезающего малого объема вещества, расположенного внутри нанокомпозитного образца, характеризует степень уменьшения исходной интенсивности люминесценции вследствие рассеяния и перепоглощения в образце. При этом спектр люминесценции данного объема вещества ввиду малости перепоглощения, значительно точнее соответствует спектру люминесценции наночастиц, чем полученный экспериментально. В результате достаточно рассчитать спектральную зависимость этой степени уменьшения, т. е. поправочную кривую $f(\lambda)$ для выбранного модельного спектра люминесценции. Спектр люминесценции локального объема образца $I_{\text{lum}}(\lambda)$ в этом случае можно получить делением экспериментального спектра люминесценции $I_{\text{exp}}(\lambda)$ на $f(\lambda)$:

$$I_{\text{lum}}(\lambda) = \frac{I_{\text{exp}}(\lambda)}{f(\lambda)}.$$

Процесс переноса излучения в рассеивающей среде с учетом многократного некогерентного рассеяния рассматривается в рамках теории переноса излучения [13]. Из-за сложности аналитического решения уравнения переноса излучения получили распространение различные численные методы [14]. В настоящей работе транспорт возбуждающего излучения и последующей люминесценции через слой образца моделировался методом Монте-Карло, основанным на расчете большого числа случайных траекторий фотонов в рассеивающей среде, от оптических свойств которой зависят длина и форма индивидуальных траекторий. Нами использовалась модификация метода с переменной длиной пробега фотона [15–17] и с учетом многослойной структуры образца [18]. При моделировании предполагалось, что наночастицы в образце распределены равномерно. В разработанном алгоритме учтены реальная геометрия эксперимента, а также, за счет представления образца в виде слоистой структуры, оптические характеристики кюветы, в которую помещался образец.

Модель многослойной среды представлена на рис.1. Основными входными параметрами при моделировании служили коэффициент поглощения $\mu_a(\lambda)$, транспортный коэффициент рассеяния $\mu'_s(\lambda)$ и показатель преломления

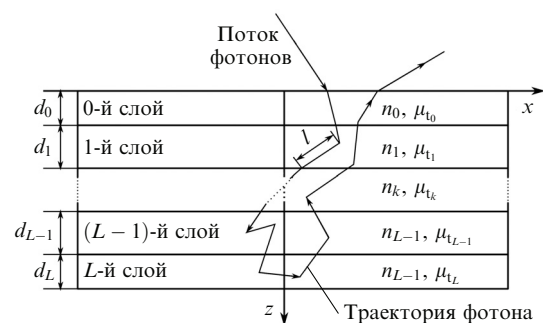


Рис.1. Схема процесса рассеяния фотона во внутренних областях многослойного образца:

l – длина пробега фотона; n_k и μ_k – показатель преломления и полный показатель ослабления для соответствующего слоя ($\mu_k = \mu'_s + \mu_a$).

среды. Оптические характеристики $\mu'_s(\lambda)$ и $\mu_a(\lambda)$ рассчитывались из измеренных спектров полного пропускания и полного отражения образцов с помощью инверсного метода добавления-удвоения [19]. Для биологических объектов фактор анизотропии равен 0.8–0.85, однако, поскольку в нанокompозитных материалах, в которых мы моделировали транспорт излучения, рассеивателями являются наночастицы с размерами, много меньшими длины волны света, то в качестве фазовой функции мы использовали функцию Хеньи–Гринштейна с фактором анизотропии, равным нулю. Число фотонов возбуждающего излучения на передней поверхности образца принималось равным $10^8 - 10^{12}$.

На первом этапе моделировалось распространение N фотонов возбуждающего излучения в образце. Те фотоны, которые по завершении цикла расчета выходят из образца в направлении назад или поглощаются на абсолютно черном покрытии кюветы (таким образом моделировалась полубесконечность биологической среды в направлении, перпендикулярном поверхности), не возбуждают люминесценцию наночастиц. Если же фотон возбуждения поглотился в некоторой точке образца с координатами x, y, z , то эта точка становится центром люминесценции, т. е. источником вторичных фотонов. В случае наночастиц вторичные фотоны испускаются в произвольных направлениях во всем исследуемом спектральном диапазоне.

На втором этапе моделировалось распространение вторичных фотонов от распределенного по объему образца источника с использованием той же процедуры Монте-Карло. При этом количество вторичных фотонов в конкретной точке образца считалось пропорциональным количеству поглощенных в данной точке фотонов возбуждения. Оптическая схема возбуждения и регистрации спектров люминесценции представлена на рис. 2.

Таким образом, для каждой длины волны люминесценции с использованием соответствующих данной длине волны спектральных характеристик среды моделировалось распространение M фотонов люминесценции. Каждый из фотонов люминесценции имеет статистический вес $\omega(\lambda) = 1/(N + M + S)$, где S – число спектральных составляющих в спектре люминесценции, т. е. длин волн λ . Цикл расчета завершается либо поглощением фотона в среде, либо выходом его в направлении задней полусферы образца. Расчет проводится последовательно для всех точек образца с ненулевым количеством поглощенных фотонов возбуждающего излучения. Суммирование всех фотонов люминесценции, вышедших в пределах телесного угла, имеющего вершину на передней поверхности образца в точке выхода и опирающегося на

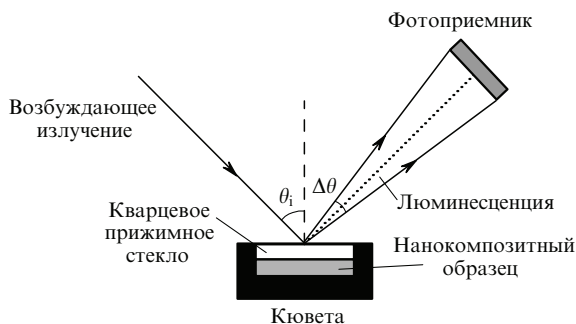


Рис. 2. Геометрия эксперимента по регистрации люминесценции.

поверхность фотоприемника, с точностью до квантового выхода люминесценции дает искомую поправочную кривую, которая может использоваться для получения спектра люминесценции, формируемого внутри объекта в месте ее испускания.

Данный метод предложен нами вместо стандартных методов решения обратной задачи путем моделирования транспорта люминесценции для распределенного в образце источника, использования в качестве исходных данных экспериментального спектра люминесценции и последующей минимизации функции невязки модельного и экспериментального спектров при варьировании квантового выхода люминесценции [20–24]. Преимущества метода заключаются в уменьшении времени расчета, возможности получения данных с малой погрешностью для очень больших плотностей потока возбуждающего излучения и в случае малых сигналов.

4. Результаты и их обсуждение

На рис. 3 и 4 приведены экспериментальные спектры полного отражения R и полного пропускания T , а также рассчитанные спектральные зависимости коэффициентов рассеяния (μ'_s) и поглощения (μ_a) наночастиц CdS, синтезированных в ПЭВД-матрице и ортоксилале. Из приведенных спектров следует, что, хотя в видимой области спектра коэффициенты поглощения и рассеяния для обоих образцов сравнимы, их поведение различно. Край по-

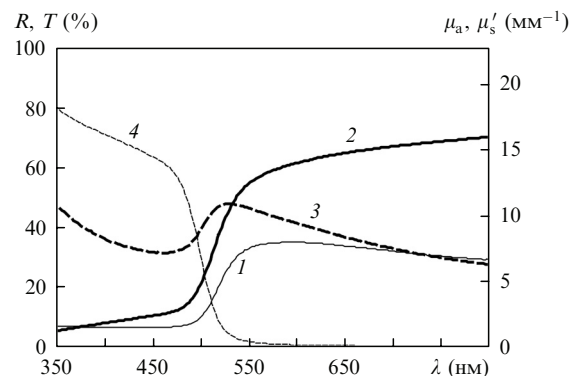


Рис. 3. Спектры полного отражения R (1), полного пропускания T (2), коэффициентов рассеяния (μ'_s ; 3) и поглощения (μ_a ; 4) образца толщиной 105 мкм с содержанием 30 вес.% наночастиц CdS, синтезированных в ПЭВД-матрице.

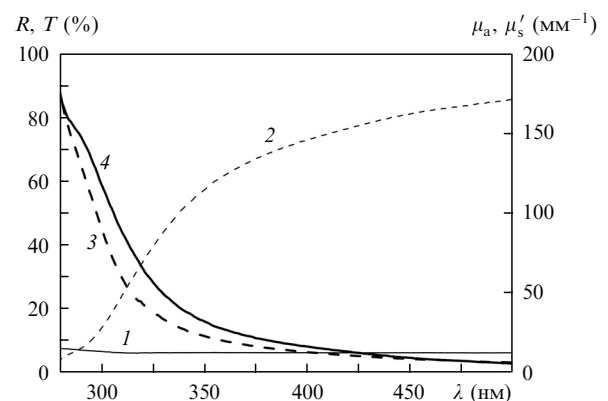


Рис. 4. Спектры полного отражения R (1), полного пропускания T (2), коэффициентов рассеяния (μ'_s ; 3) и поглощения (μ_a ; 4) наночастиц CdS, синтезированных в ортоксилале в течение 180 мин.

лосы поглощения (по точке перегиба) находится на длине волны 500 нм для ПЭВД-образцов и 320 нм для наночастиц в ортоксилоле. Наши исследования показали, что наночастицы в образцах обоих типов характеризуются гексагональной структурой [12], поэтому разное положение краев полос поглощения может быть обусловлено только размерами наночастиц, которые составляют 4–6 нм в ПЭВД-матрице [25] и 2–3 нм в ортоксилоле [12].

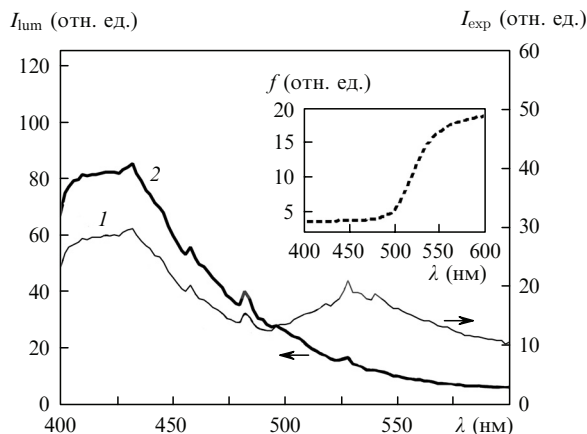


Рис.5. Экспериментальный (1) и скорректированный (2) спектры люминесценции образца толщиной 105 мкм с содержанием 30 вес.% наночастиц CdS, синтезированных в ПЭВД-матрице. На вставке – поправочная кривая, использованная при корректировке спектров.

Экспериментальные и скорректированные спектры люминесценции наночастиц CdS, синтезированных в ПЭВД-матрице и ортоксилоле, приведены на рис.5–7. В экспериментальных спектрах ПЭВД-образцов наблюдаются две широкие полосы с максимумами вблизи 420 и 530 нм. Сопоставление спектров поглощения и люминесценции показывает, что обе полосы люминесценции попадают в область сильного поглощения и рассеяния. Поэтому следует ожидать значительного различия между экспериментальными спектрами и спектрами люминесценции локальных областей образца. Это подтверждает и рассчитанная нами поправочная кривая (вставка на рис.5). В скорректированном спектре люминесценции (рис.5) полоса в области 530 нм отсутствует, т. е. ее наличие в экспериментальном спектре обусловлено сильным изменением поглощения в области 500–530 нм. Таким образом, наложение широкой полосы люминесценции на край полосы поглощения наночастиц в совокупности со значительным рассеянием приводит к формированию ложной полосы.

Для наночастиц в растворе экспериментально получены две полосы люминесценции с максимумами вблизи 446 и 550 нм (рис.6). Обе полосы находятся далеко от края полосы поглощения, поэтому можно ожидать появления их незначительных искажений по сравнению с полосами в спектрах люминесценции локальных областей образца. В то же время коротковолновая полоса люминесценции находится ближе к краю полосы поглощения, поэтому

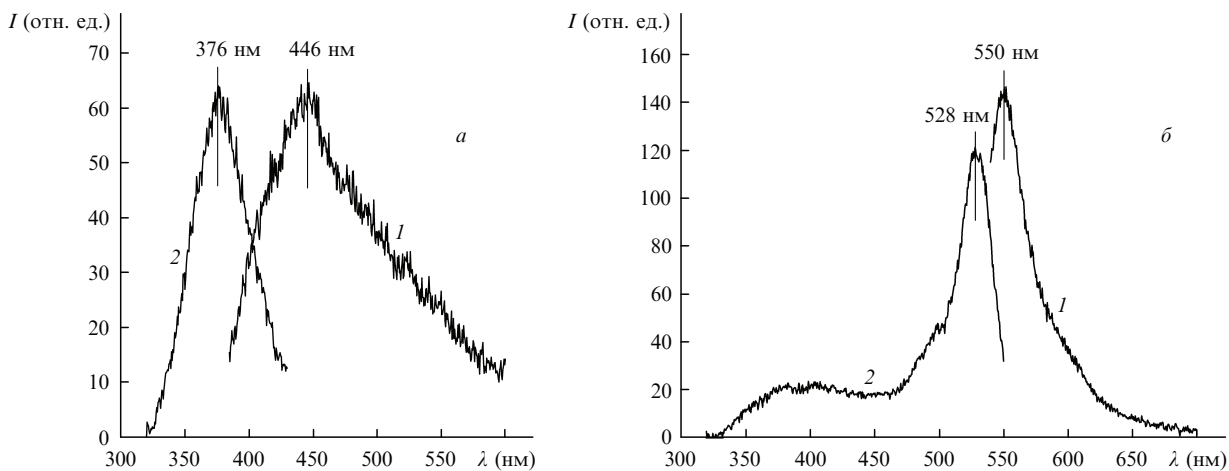


Рис.6. Экспериментальные спектры люминесценции (1) и возбуждения (2) образца с наночастицами CdS, синтезированными в ортоксилоле в течение 180 мин. Люминесценция возбуждалась излучением с длинами волн 376 (а) и 528 нм (б).

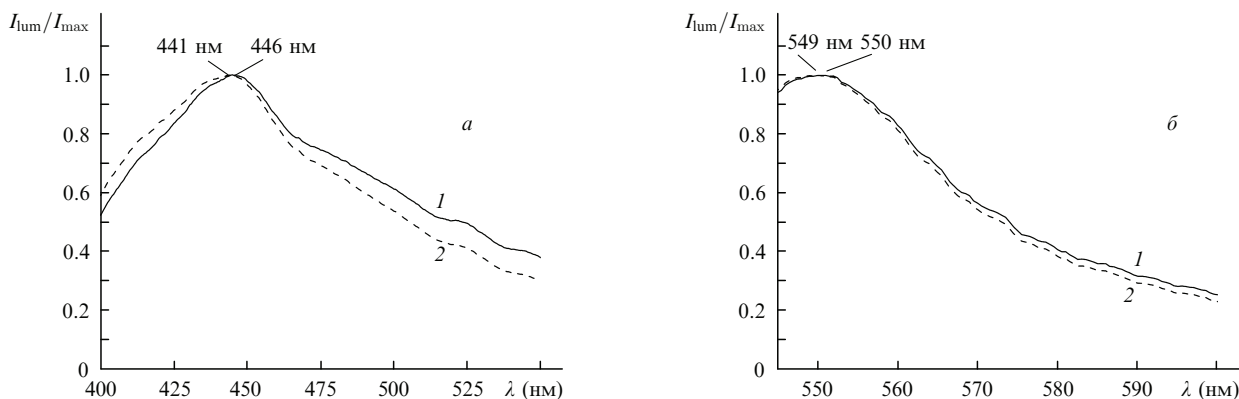


Рис.7. Нормированные на максимальную интенсивность экспериментальный (1) и скорректированный (2) спектры люминесценции наночастиц CdS, синтезированных в ортоксилоле в течение 180 мин. Люминесценция возбуждалась излучением с длинами волн 376 (а) и 528 нм (б).

из-за большей крутизны спектральной зависимости коэффициента поглощения образца следует ожидать больших ее искажений. Это и наблюдается в скорректированных спектрах: при малых поглощении и рассеянии (в области 550 нм) смещение максимума полосы составляет всего 1 нм, т.е. искажения практически отсутствуют (рис.7,б), а при увеличении поглощения и рассеяния (в области 446 нм) смещение максимума достигает 5 нм (рис.7,а) и различия в спектрах становятся более явными.

5. Заключение

Таким образом, можно сделать вывод о том, что разработанные алгоритм и программа для расчета интенсивности люминесценции поглощающе-рассеивающих образцов, в том числе и содержащих наночастицы, позволяют восстановить спектр люминесценции локальных областей образца. Увеличение коэффициентов поглощения и рассеяния окружения люминесцирующих частиц приводит к большему искажению спектров их люминесценции. Применение данного метода может играть существенную роль при анализе условий получения экспериментальных спектров люминесценции и причин их отличий от истинных.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 09-03-00369-а, а также государственных контрактов № 02.740.11.0879 и 02.740.11.0484.

1. *Оптическая биомедицинская диагностика. Учебное пособие.* Под ред. В.В.Тучина. (М.: Физматлит, 2007).
2. Забенков И.В., Кочубей В.И. *Оптика и спектроскопия*, **107** (6), 948 (2009).
3. Олейников В.А., Суханова А.В., Набиев И.Р. *Российские нанотехнологии*, **2** (1-2), 173 (2007).
4. Суздаев И.П. *Нанотехнология: физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов* (М.: КомКнига, 2006).
5. Venge E.F., Goncharenko A.V., Dmitruk M.L. *Optics of Small Particles and Disperse Media* (Kyiv: Naukova Dumka, 1999).
6. Van Dijk M.A., Tchegotareva A.L., Orrit M., Lippitz M., Berciaud S., Lasne D., et al. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **8**, 3486 (2006).
7. Svechnikov G.S., Zavyalova L.V., Roshchina N.N., Prokopenko I.V., Berezinsky L.I., Khomchenko V.S., Lytvyn O.S. *Semicond. Phys., Quantum Electron. Optoelectron.*, **7** (2), 157 (2004).
8. Журавлева М.Н., Кочубей В.И., Запис К.В., Кособудский И.Д., Пономарева К.Ю. *Вестник Северо-Кавказского гос. техн. ун-та*, **1**, 5 (2006).
9. Ponomareva K.Yu., Kosobudsky I.D., Tret'yachenko E.V., Yurkov G.Yu. *Inorg. Mat.*, **43** (11), 1160 (2007).
10. Пономарева К.Ю., Кособудский И.Д., Юрков Г.Ю., Кочубей В.И. *Вестник Саратовского гос. техн. ун-та*, **1** (2), 60 (2007).
11. Бабенко В.П., Одегова Г.Н., Кочубей Д.И., Кочубей В.И. *Тез. докл. VI Всерос. конф. по химии полиядерных соединений и кластеров* (Казань, 2009, с. 27).
12. Кочубей В.И., Кочубей Д.И., Конохова Ю.Г., Забенков И.В., Татаринцов С.И., Волкова Е.К. *Оптика и спектроскопия*, **109** (2), 182 (2010).
13. Исмару А. *Распространение и рассеяние волн в случайно-неоднородных средах* (М.: Мир, 1981).
14. Будак В.П. *Методы решения уравнения переноса излучения* (М.: изд-во МЭИ, 2007).
15. Prael S.A. *Ph.D. Thesis* (The University of Texas at Austin, 1988).
16. Забенков И.В., Кочубей В.И. *Матер. VI Междунар. научн. конф. «Химия твердого тела и современные микро- и нанотехнологии»* (Кисловодск – Ставрополь: изд-е Северо-кавказского ГТУ, 2006).
17. Кочубей В.И., Кособудский И.Д., Конохова Ю.Г., Забенков И.В. *Химия высоких энергий*, **44** (2), 188 (2010).
18. Wang L., Jacques S.L., Zheng L. *Comput. Meth. Prog. Bio.*, **47**, 131 (1995).
19. Prael S.A., van Gemert M.J.C., Welch A.J. *Appl. Opt.*, **32** (4), 559 (1993).
20. Chang J., Graber H.L., Barbour R.L. *J. Opt. Soc. Am. A*, **14** (1), 288 (1997).
21. Tikhonov E., Yashchuk V.P., Prygodjuk O., Bezrodny V., Filatov Yu. *Solid State Phenomena*, **153**, 99 (2004).
22. Сергеева Е.А., Катичев А.Р., Кириллин М.Ю. *Квантовая электроника*, **40** (12), 1053 (2010).
23. Бирюков А.А. *Изв. вузов. Сер. Физика*, **53** (8), 74 (2010).
24. Соколовский М.И., Миков С.Н. *Ученые записки УлГУ. Сер. физич.*, **1** (18), 122 (2006).
25. Ушаков Н.М., Юрков Г.Ю., Баранов Д.А., Запис К.В., Журавлева М.Н., Кочубей В.И., Кособудский И.Д., Губин С.П. *Оптика и спектроскопия*, **101** (2), 262 (2006).