

СПЕКЛ-СПЕКТРОСКОПИЯ

Спекл-спектроскопия флуоресцирующих случайно-неоднородных сред

Д.А.Зимняков, И.А.Ашарчук, С.А.Ювченко, А.П.Свиридов

Предложен когерентно-оптический метод зондирования флуоресцирующих случайно-неоднородных сред, основанный на статистическом анализе пространственных флуктуаций спектрально-селектируемого флуоресцентного излучения. Разработана феноменологическая модель, устанавливающая взаимосвязь между индексом мерцаний пространственных распределений интенсивности флуоресценции на фиксированной длине волны и средней разностью путей распространения парциальных составляющих поля флуоресцентного излучения в зондируемой среде. Представлены результаты экспериментальной апробации разработанного метода с использованием слоев плотноупакованных частиц диоксида кремния, насыщенного водным раствором родамина 6Ж с высокой концентрацией красителя. Наблюдаемое в экспериментах значительное убывание индекса мерцаний при перестройке длины волны от краев спектра флуоресценции к его центральной части предположительно интерпретировано как проявление спектрально-зависимого отрицательного поглощения среды.

Ключевые слова: флуоресценция, случайно-неоднородная среда, узкополосная фильтрация, когерентность, спеклы.

1. Введение

Когерентно-оптические методы зондирования случайно-неоднородных сред являются в настоящее время одними из наиболее эффективных и востребованных в оптической диагностике объектов со сложной динамикой и структурой. К числу подобных методов относятся, например, различные модификации диффузионно-волновой спектроскопии, основанной на корреляционном анализе рассеянного зондируемой средой лазерного излучения [1–10]. При этом диагностируемыми величинами являются параметры, характеризующие динамику рассеивающих центров в среде на пространственных масштабах, сопоставимых с длиной волны зондирующего излучения.

Применительно к исследованиям структуры среды и особенностей взаимодействия с ней зондирующего излучения представляет интерес другая группа когерентно-оптических методов, основанных на анализе статистических характеристик стохастических интерференционных структур, формируемых при многократном рассеянии лазерного или узкополосного теплового излучения зонди-

руемыми объектами. В частности, метод зондирования случайно-неоднородных сред с использованием измерений контраста многократно рассеянного спекл-модулированного лазерного излучения был предложен в работе [11]. Исходя из общих представлений о стохастической интерференции парциальных составляющих рассеянного светового поля в случайно-неоднородных средах, можно предположить, что максимальная чувствительность контраста как диагностического параметра достигается в случае, когда длина когерентности зондирующего излучения сравнима с характерной длиной распространения $\tilde{\delta}$ зондирующего излучения в среде. В работе [12] рассмотрен подход к спекл-контрастной диагностике случайно-неоднородных сред с использованием зондирующего излучения с перестраиваемым спектром (и, соответственно, варьруемой длиной когерентности). Необходимый эффект в данном случае достигается за счет изменения тока накачки полупроводникового лазера в подпороговом режиме вблизи порога генерации. Подобная методика позволяет варьировать длину когерентности зондирующего излучения в интервале от 25–30 мкм до 3–4 мм (в зависимости от длины резонатора полупроводникового лазера). Характерной особенностью в данном случае является модовая структура спектра излучения с огибающей, имеющей близкий к лоренцевскому контур. Изменения тока накачки приводят к изменениям полуширины огибающей, определяющей длину когерентности зондирующего излучения. Периодичность модовой структуры излучения в подпороговом режиме ограничивает сверху диапазон возможных значений $\tilde{\delta}$ величиной примерно $\lambda^2/2\Delta\lambda_m$, где λ – длина волны и $\Delta\lambda_m$ – межмодовый интервал.

Спекл-контрастное зондирование может быть также осуществлено с использованием частотно-модулированного лазерного излучения при условии, что период модуляции существенно меньше времени экспозиции при регистрации спекл-модулированного рассеянного излучения многоэлементным фотоприемником. В простейшем

Д.А.Зимняков. Саратовский государственный технический университет им. Гагарина Ю.А., Россия, 410054 Саратов, ул. Политехническая, 77; Институт проблем точной механики и управления РАН, Россия, 410024 Саратов, ул. Рабочая, 24; e-mail: zimnykov@mail.ru

И.А.Ашарчук. Федеральный исследовательский центр «Кристаллография и фотоника» РАН, Россия, 119333 Москва, Ленинский просп., 59

С.А.Ювченко. Саратовский государственный технический университет им. Гагарина Ю.А., Россия, 410054 Саратов, ул. Политехническая, 77

А.П.Свиридов. Федеральный исследовательский центр «Кристаллография и фотоника» РАН, Россия, 119333 Москва, Ленинский просп., 59

Поступила в редакцию 8 августа 2016 г., после доработки – 7 октября 2016 г.

случае бинарной частотной модуляции, достигаемой в результате периодического переключения одномодового полупроводникового лазера между модами генерации (например, при использовании колеблющейся дифракционной решетки в качестве внешнего зеркала резонатора), эффективная функция когерентности зондирующего излучения может быть представлена гармонической функцией [13].

Следует отметить, что можно провести определенные аналогии между подобными методами и низкокогерентной рефлектометрией случайно-неоднородных сред [14], использующей принципы оптической когерентной томографии [15]. В обоих случаях информативные сигналы формируются в результате стохастической интерференции части световых волн, распрстраняющихся в среде по случайным путям и удовлетворяющих необходимому условию: разность хода волн должна быть меньше длины когерентности. В то же время, в отличие от низкокогерентной рефлектометрии, в которой используется опорный пучок с регулярной пространственной структурой, обсуждаемые методы могут быть классифицированы как «безопорная низкокогерентная интерферометрия».

В настоящей работе представлены результаты экспериментальной апробации и интерпретация полученных экспериментальных данных для специфического случая спекл-контрастного зондирования, когда источником зондирующего излучения является сама среда, способная флуоресцировать и накачиваемая непрерывным лазерным излучением в полосе поглощения флуорофора. Необходимая для выраженной спекл-модуляции флуоресцентного сигнала длина когерентности регистрируемого излучения, сопоставимая с характерной длиной его распространения в среде, достигается путем узкополосной спектральной фильтрации на стадии детектирования. Отметим, что предлагаемый метод представляет интерес не только с точки зрения дальнейшего развития спекл-контрастной диагностики случайно-неоднородных сред. В связи с интенсивным развитием флуоресцентных методов диагностики для различных приложений в биомедицине и материаловедении в последние три десятилетия (см., напр., [16–20]) применение спектральной селекции флуоресцентного излучения в комбинации со статистическим анализом обусловленных стохастической интерференцией флуктуаций интенсивности регистрируемого сигнала также может представлять значительный интерес.

2. Феноменологическая модель спекл-спектроскопии флуоресцентного излучения в случайно-неоднородной среде

Для дальнейшего анализа примем следующую модель:

– флуоресцирующая случайно-неоднородная среда накачивается непрерывным лазерным излучением в полосе поглощения флуорофора, характеризуемого высокой эффективностью поглощения излучения накачки, в результате чего поглощение лазерного излучения и последующая флуоресценция происходят в достаточно тонком поверхностном слое среды;

– флуоресцентное излучение многократно рассеивается в слое среды прежде чем достигнет детектора, регистрирующего флуоресцентный сигнал с глубин, превышающих толщину накачиваемого слоя. Процесс распростра-

нения сигнала может быть описан в рамках теории переноса излучения (ТПИ) [21];

– при детектировании осуществляется спектральная селекция излучения прямоугольным окном шириной $\Delta\lambda$ с центральной длиной волны λ_c ($\Delta\lambda \ll \lambda_c$).

В рамках данной модели мы абстрагируемся от процесса преобразования излучения накачки во флуоресцентное излучение, а рассматриваем только результат распространения флуоресценции от вторичных источников в поверхностном слое среды до детектора в условиях узкополосной спектральной фильтрации.

Отметим, что в подобной постановке задача может быть сведена к случаю зондирования случайно-неоднородного слоя узкополосным излучением с длиной когерентности $l_{\text{coh}} = \lambda_c^2/\Delta\lambda$. В соответствии с [12] индекс мерцаний $\beta_I = \sigma_I^2/\langle I \rangle^2$ многократно рассеянного линейно поляризованного излучения описывается следующим выражением:

$$\beta_{I_{lp}} = \int_0^\infty |g(l_{\text{coh}}, \Delta s)|^2 \rho(\Delta s) d(\Delta s). \quad (1)$$

Здесь σ_I^2 и $\langle I \rangle^2$ – соответственно дисперсия пространственных флуктуаций и среднее значение интенсивности рассеянного квазимонохроматического света; $|g(l_{\text{coh}}, \Delta s)|$ – модуль функции когерентности зондирующего излучения, контролирующей глубину модуляции пространственных флуктуаций интенсивности при эффекте стохастической интерференции парциальных составляющих рассеянного светового поля. Комплексная функция $g(l_{\text{coh}}, \Delta s)$ определяется как преобразование Фурье спектральной плотности зондирующего излучения на выходе из зондируемой среды (с учетом его узкополосной спектральной фильтрации перед детектором). Также в формуле (1) $\rho(\Delta s)$ – функция плотности вероятности значений разности путей парциальных составляющих рассеянного света в зондируемой среде. Индекс lp соответствует случаю детектирования линейно поляризованного многократно рассеянного света с произвольно выбранным азимутом поляризации. Отметим, что индекс мерцаний однозначно связан с величиной контраста V стохастических интерференционных структур (спекл-полей), также часто применяемого для их количественного описания: $\beta_I = V^2$.

В случае детектирования многократно рассеянного флуоресцентного излучения в отсутствие поляризационной дискриминации (выделения линейно поляризованной составляющей) необходимо принять во внимание, что детектируемый сигнал может рассматриваться как результат некогерентного сложения двух линейно поляризованных статистически независимых составляющих (поляризационных мод) с ортогональными направлениями поляризации. Предполагая идентичными статистические свойства случайных значений интенсивности для этих поляризационных мод распространяющегося в случайно-неоднородной среде излучения, получим индекс мерцаний результирующего сигнала в виде

$$\beta_{I\Sigma} = \frac{(\sigma_{I_{||}}^2 + \sigma_{I_{\perp}}^2)}{(\langle I_{||} \rangle + \langle I_{\perp} \rangle)^2} = 0.5 \frac{\sigma_{I_{||}}^2}{\langle I_{||} \rangle^2} = 0.5 \frac{\sigma_{I_{\perp}}^2}{\langle I_{\perp} \rangle^2}, \quad (2)$$

где индексы $||$, \perp относятся к соответствующим поляризационным модам. Таким образом, выражение (1) должно быть модифицировано следующим образом:

$$\beta_{I\Sigma} = 0.5 \int_0^\infty |g(l_{\text{coh}}, \Delta s)|^2 \rho(\Delta s) d(\Delta s). \quad (3)$$

В дальнейшем индекс Σ мы будем опускать.

Рассмотрим предельные частные случаи детектирования флуоресцентного света с высокой и низкой степенью временной когерентности. Понятия «высокая» и «низкая» степень пространственной когерентности следует рассматривать с точки зрения соотношения между l_{coh} и средним значением $\langle \Delta s \rangle$ разности путей интерферирующих парциальных составляющих флуоресцентного излучения в среде. При $l_{\text{coh}} \gg \langle \Delta s \rangle$ (высокая степень когерентности) $|g(l_{\text{coh}}, \Delta s)| \approx 1$ во всем интервале возможных значений $\langle \Delta s \rangle$ и, соответственно, $\beta_I \approx 0.5$. Заметим, что данная ситуация соответствует случаю наложения двух ортогонально-поляризованных статистически независимых развитых спекл-полей и описывается релеевским распределением локальных значений интенсивности [22]:

$$\rho(I(\lambda)) = [2/\langle I(\lambda) \rangle]^2 I(\lambda) \exp[-2I(\lambda)/\langle I(\lambda) \rangle]. \quad (4)$$

Напротив, при $l_{\text{coh}} \ll \langle \Delta s \rangle$ наблюдаемое пространственное распределение локальных значений интенсивности рассеянного излучения будет описываться гауссовой статистикой с малыми значениями индекса мерцаний β_I . При $l_{\text{coh}}/\langle \Delta s \rangle \rightarrow 0$ пространственное распределение близко к равномерному.

Функция плотности вероятности значений разностей путей распространения парциальных составляющих поля флуоресцентного излучения в среде $\rho(\Delta s)$ может быть записана [12, 13] как

$$\rho(\Delta s) = K \int_0^\infty \rho(s + \Delta s) \rho(s) ds, \quad (5)$$

где K – нормировочный коэффициент, определяемый из условия

$$K \int_0^\infty \rho(\Delta s) d(\Delta s) = 1.$$

Функция плотности вероятности $\rho(s)$ для заданных условий возбуждения и регистрации флуоресценции определяется формой светового импульса $\delta(t)$, регистрируемого детектором при возбуждении флуоресценции ультракоротким импульсом излучения накачки: $I(t) \propto \delta(t)$ (при условии, что разброс времен высвечивания после возбуждения существенно меньше характерного времени распространения света до детектора). В зависимости от оптических характеристик и геометрии среды функция $\rho(s)$ может быть получена либо путем приближенного аналитического решения нестационарного уравнения диффузии излучения, либо путем численного решения уравнения переноса излучения (УПИ) [21]. Одним из подходов к численному решению УПИ является моделирование переноса излучения в среде методом Монте-Карло, используемое для получения $\rho(s)$ в настоящей работе.

Исходя из прямоугольной формы спектрального окна, применяемого в рассматриваемом случае для узкополосной фильтрации излучения флуоресценции, модуль функции когерентности $|g(l_{\text{coh}}, \Delta s)|$ можно представить как

$$|g(l_{\text{coh}}, \Delta s)| = \left| \text{sinc} \left(\pi \frac{\Delta s}{l_{\text{coh}}} \right) \right|. \quad (6)$$

3. Методика проведения эксперимента и экспериментальные результаты

В качестве исследуемых образцов в нашем случае использовались слои плотноупакованных нанопористых частиц SiO_2 неправильной формы (рис.1). Статистический анализ электронно-микроскопических изображений отдельных частиц, проведенный по выборке из 200 фрагментов отдельных изображений, позволил получить среднее значение и среднеквадратичное отклонение от среднего для геометрических сечений частиц, равные приблизительно 1.95×10^4 мкм² и 7.23×10^3 мкм² соответственно. Используемый порошок диоксида кремния находился в цилиндрических металлических контейнерах высотой 2 мм с внутренним диаметром 5 мм, расположенных на стеклянных подложках, и слегка уплотнялся для получения плоских поверхностей. Волюмометрический анализ полученных образцов показал, что объемная доля частиц SiO_2 в слоях составляет приблизительно 0.35. Слои насыщались водным раствором родамина 6Ж с объемной долей красителя в слое, равной 0.005.

Флуоресценция красителя в поверхностной зоне слоев (рис.2) возбуждалась непрерывным лазерным излучением с длиной волны 532 нм (твердотельный Nd:YAG-лазер с диодной накачкой). Пучок лазерного излучения с выходной мощностью 50 мВт расширялся рассеивающей линзой с фокусным расстоянием 200 мм и направлялся на поверхность слоя под углом 45°, полностью перекрывая ее. Плотность мощности излучения накачки на поверхности слоя составила по оценке 80 мВт/см². В качестве системы регистрации флуоресцентного излучения в слое использовался конфокальный КР-микроскоп (LabRam HR800, Horiba Jobin Yvon). В ходе эксперимента осуществлялось сканирование слоев в направлениях, параллельных поверхности, на глубинах $h = 50, 100, 150$ и 200 мкм. Длина единичной трассы сканирования составляла 1 мм, шаг сканирования был 10 мкм. Для каждой глубины число совпадающих трасс сканирования равно 20. На каждом шаге производилась регистрация спектров флуоресцен-

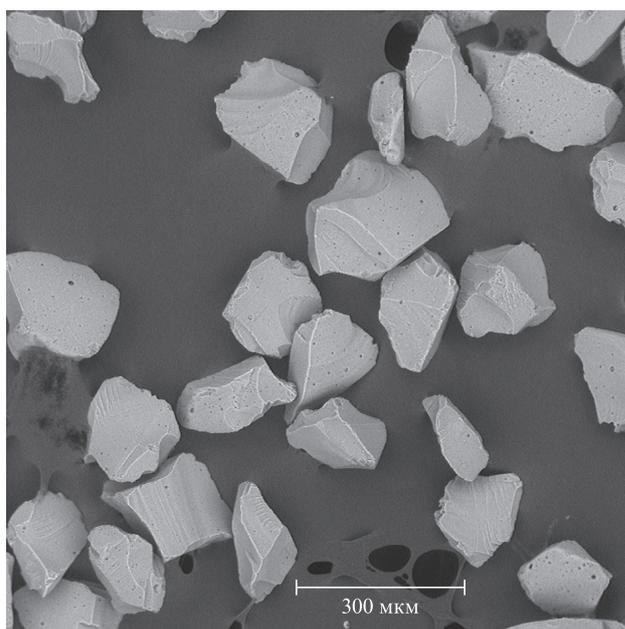


Рис.1. Электронно-микроскопическое изображение частиц SiO_2 , используемых для приготовления образцов.

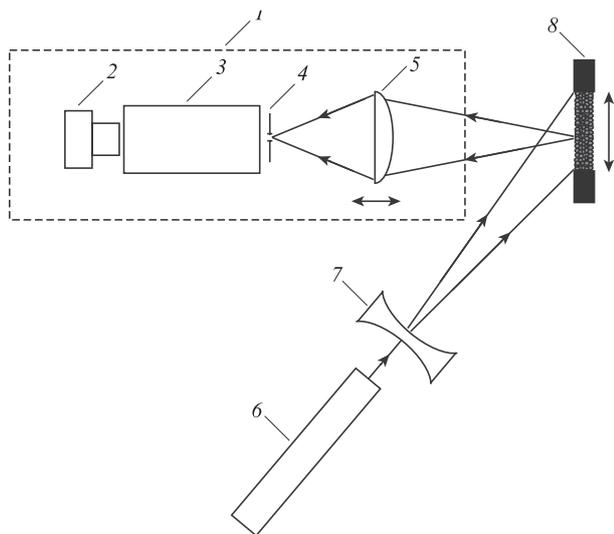


Рис.2. Схема экспериментальной установки:
 1 – оптический блок конфокального КР-микроскопа; 2 – ПЗС-фотоприемник; 3 – монохроматор; 4 – точечная диафрагма; 5 – микрообъектив; 6 – твердотельный лазер с диодной накачкой; 7 – рассеивающая линза; 8 – исследуемый образец в контейнере.

ции в интервале длин волн 570–700 нм с шириной щели 0.052 нм. Для отсежки излучения накачки в оптической схеме микроскопа применялся светофильтр, блокирующий излучение с длинами волн короче 533 нм. Малая ширина щели монохроматора КР-микроскопа, используемого для спектральной селекции флуоресцентного излучения, позволяла получать достаточно большие длины когерентности детектируемого излучения (6.25 мм для высокочастотного края спектра излучения на 570 нм и 9.42 мм – для 700 нм). Поперечный размер зоны детектирования в объеме образца для используемой конфокальной системы, состоящей из точечной диафрагмы и микрообъектива, не превышал 2 мкм.

В ходе эксперимента выявлены следующие особенности пространственно-спектральных распределений регистрируемых сигналов флуоресценции:

- спектры флуоресценции исследуемых образцов, регистрируемые в различных точках трасс сканирования, характеризуются достаточно высокой вариабельностью положений максимумов на шкале длин волн и макси-

мальных значений. Усредненное значение длин волн, соответствующих максимумам флуоресценции, $\langle \lambda_{\max} \rangle \approx 596.5$ нм, а среднееквадратичное значение отклонений положений максимумов от $\langle \lambda_{\max} \rangle$ составляет приблизительно 14.8 нм. Кроме того, все локальные спектры флуоресценции, регистрируемые в объеме слоя, существенно сдвинуты в длинноволновую область по отношению к референтному спектру, в качестве которого принят спектр флуоресценции используемого водного раствора красителя. Среднее значение сдвига составляет приблизительно 37.8 нм;

- пространственные распределения интенсивности флуоресценции на фиксированной длине волны демонстрируют высокую стохастичность (рис.3) с глубиной модуляции, существенным образом зависящей от длины волны. Глубина стохастической модуляции уменьшается по мере ухода от краев спектра флуоресценции к центральной части;

- статистические характеристики вариативности локальных спектров флуоресценции, равно как и статистические характеристики пространственных флуктуаций интенсивности флуоресценции на фиксированной длине волны (величины средних значений и дисперсии), незначительно изменяются при изменении глубины сканирования в используемом интервале 50–200 мкм. В связи с этим при статистическом анализе пространственных флуктуаций интенсивности для различных фиксированных длин волн применялось усреднение не только по различным трассам сканирования для λ_c заданной глубины, но и по различным глубинам зондирования.

На рис.4 представлены спектральные зависимости индекса мерцаний $\beta_I(\lambda_c)$, демонстрирующие отмеченную выше слабую зависимость от глубины зондирования h . Несущественный разброс β_I для различных h не имеет систематического характера, а скорее обусловлен ограниченностью объемов выборок. Доверительные интервалы на зависимости $\beta_I(\lambda_c)$ для равномерно распределенных длин волн в интервале 570–700 нм, соответствующие уровню значимости 0.9 (рис.5), иллюстрируют разброс в вычисляемых по экспериментальным данным значениях $\langle \beta_I \rangle$, усредненных по зондируемому объему. На рис.5 представлен также нормированный на максимальное значение спектр флуоресценции $\langle I(\lambda_c) \rangle / \langle I_{\max}(\lambda_c) \rangle$. Характерной особенностью является то, что минимальное значение ин-

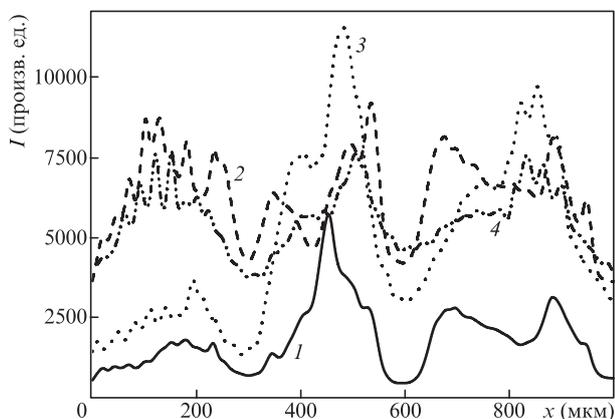


Рис.3. Распределения интенсивности флуоресценции на фиксированных длинах волн вдоль трасс сканирования при глубине сканирования $h = 50$ мкм (1, 2) и $h = 150$ мкм (3, 4) для $\lambda_c = 565.40$ (1), 632.10 (2), 570.49 (3) и 637.51 нм (4).

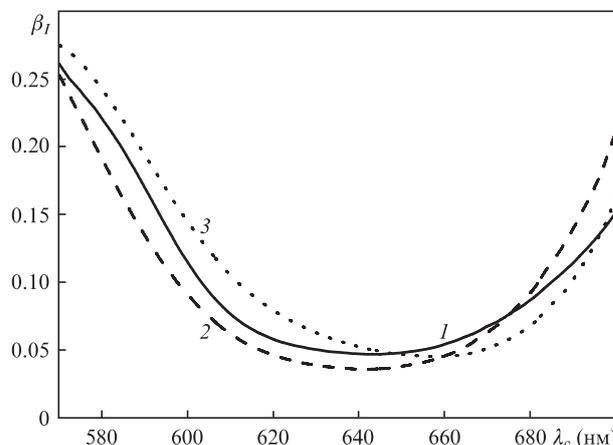


Рис.4. Спектральные зависимости индекса мерцаний пространственных распределений интенсивности для глубин зондирования $h = 50$ (1), 150 (2) и 200 мкм (3).

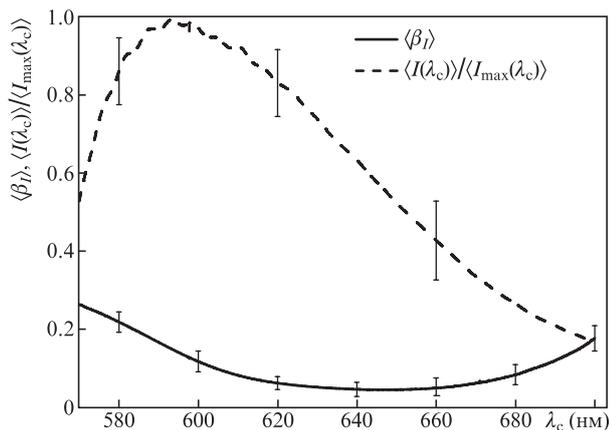


Рис.5. Усредненные по различным глубинам зондирования зависимости $\beta_I(\lambda_c)$ и нормированного на максимальное значение спектра флуоресценции. Доверительные интервалы приведены для выборочных длин волн и соответствуют уровню значимости 0.9.

декса мерцаний достигается не вблизи максимума спектра флуоресценции $\langle I(\lambda)\rangle/\langle I_{\max}(\lambda)\rangle$, а ближе к его точке перегиба.

Следует также отметить существование периодических низкоамплитудных осцилляций, проявляющихся в спектрах в области максимальных значений интенсивности флуоресценции для различных положений зоны детектирования. Эти осцилляции имеют интерференционную природу, не относятся к исследуемым образцам и предположительно обусловлены паразитной интерференцией в оптической системе конфокального КР-микроскопа.

4. Обсуждение экспериментальных результатов

Наблюдаемый в эксперименте эффект существенного убывания индекса мерцаний β_I при перестройке по длине волны к центру спектра $\langle I(\lambda)\rangle/\langle I_{\max}(\lambda)\rangle$ (см. рис.5) обусловлен в рамках рассмотренного подхода существенным возрастанием величины

$$\langle\Delta s\rangle = \int_0^{\infty} \Delta s \rho(\Delta s) d(\Delta s).$$

Зондируемая среда в силу ее крупногранулярной структуры должна характеризоваться достаточно большими значениями транспортной длины распространения излучения в среде l^* и параметра анизотропии рассеяния g [21]. В частности, прикидочные оценки данных параметров для неупорядоченной системы SiO_2 сферических рассеивателей в воде с таким же геометрическим сечением, что и усредненное по ансамблю геометрическое сечение для частиц исследуемой системы, и с равной объемной долей частиц дают l^* в интервале 10–30 мкм и $g \sim 0.95$ –0.97. Однако следует отметить, что крайне неправильная форма частиц в нашем случае, характеризующаяся наличием значительного количества граней и углов, а также нанопористость частиц могут приводить к существенному уменьшению значений транспортной длины для исследуемой системы по сравнению с приведенными оценочными данными. Тем не менее, для рассматриваемого спектрального интервала значение l^* должно быть достаточно большим и, как показано ниже, сопоставимым с толщиной слоя.

Для «пассивной» случайно-неоднородной среды в отсутствие флуоресцентного излучения существенное воз-

растание $\langle\Delta s\rangle$ для зондирующего излучения в некотором интервале длин волн должно быть обусловлено сильными зависимостями ее оптических транспортных параметров (транспортной длины, параметра анизотропии рассеяния и длины поглощения) от длины волны для данного интервала. Внешне это должно проявляться в спектрально-селективных свойствах исследуемых слоев (в частности, в их окрашенности). Однако подобное поведение не наблюдается. Отметим также, что поглощение исследуемой нами системы в интервале длин волн 600–700 нм крайне незначительно. Увеличение длины когерентности регистрируемого излучения с ростом длины волны при неизменной ширине спектрального окна должно приводить к эффекту, противоположному по отношению к наблюдаемому при неизменном значении $\langle\Delta s\rangle$ (значения β_I для длинноволнового края спектра флуоресценции должны быть больше, чем для коротковолнового). Эффективным фактором, приводящим к уширению распределения парциальных составляющих $\rho(s)$ по длинам распространения в среде и, соответственно, возрастанию $\langle\Delta s\rangle$, может служить отрицательное поглощение (т.е. усиление) распространяющегося в среде излучения. При этом функция $\rho(s)$ подвергается следующему преобразованию: $\rho(s) \rightarrow \rho(s)\exp(\tilde{\mu}_a s)$, где $\tilde{\mu}_a$ – отрицательный коэффициент поглощения. Подобное преобразование приводит к возрастанию вкладов во флуоресцентный сигнал парциальных составляющих с большими значениями s . Появление отрицательного поглощения для интервала длин волн, соответствующего центральной части спектра флуоресценции $\langle I(\lambda)\rangle/\langle I_{\max}(\lambda)\rangle$, предположительно обусловлено высокой концентрацией красителя в системе, приводящей к возрастанию вероятности проявления элементарных процессов индуцированного излучения при распространении парциальных составляющих в среде.

Для количественных оценок влияния параметра $\langle\Delta s\rangle$ и предполагаемого спектрально-зависимого эффекта отрицательного поглощения на индекс мерцаний регистрируемого флуоресцентного сигнала был применен метод Монте-Карло моделирования переноса излучения в случайно-неоднородном слое. Процедура моделирования, аналогичная описанной ранее в [12, 13], была модифицирована с целью учета особенностей эмиссии и детектирования флуоресцентного излучения. Вследствие чрезвычайно высокой концентрации красителя в растворе оценочная толщина области слоя, в которой происходит преобразование излучения накачки во флуоресцентное излучение, составляет всего несколько микрометров [23], в то время как регистрация флуоресцентного сигнала производится в существенно более глубоких областях. При моделировании методом Монте-Карло нами использован подход, при котором учет поглощения среды (положительного или отрицательного) осуществляется путем изменения веса распространяющегося «фотонного» пакета с помощью бугеровского множителя $\exp(-\mu_a s)$. В рамках подобного подхода вес пакета, распространяющегося в среде между излучающей областью и детектором на расстояние s , определяется плотностью вероятности $\rho(s)$. При этом на начальной стадии моделирование выполняется для непоглощающей случайно-неоднородной среды, после чего полученная функция плотности вероятности $\rho(s)$ преобразуется с помощью бугеровского множителя для учета поглощения.

В ходе моделирования фазовая функция среды [21] представлялась функцией Хеньи–Гринштейна [24], адек-

ватно описывающей угловые распределения интенсивности рассеянного излучения для случайно-неоднородных сред различных типов практически во всем диапазоне возможных значений параметра анизотропии рассеяния g (за исключением малой области вблизи 1). На первом этапе моделирования исследовалась взаимосвязь между значениями l^* и $\langle \Delta s \rangle$ для плоских непоглощающих случайно-неоднородных слоев толщиной 2 мм с параметрами анизотропии рассеяния в интервале 0.80–0.97. Моделируемая схема (накачка поверхностной области среды и детектирование излучения из нижележащей области в геометрии обратного рассеяния) соответствовала геометрии эксперимента. Число вводимых в моделируемую среду «фотонных» пакетов N равно 10^6 ; анализ полученных выходных данных показал отсутствие закливания процедуры при данном N . Из-за отсутствия априорных значений оптических параметров исследуемой системы в ходе моделирования значение l^* в качестве входного параметра процедуры выбиралось в интервале 0.05–25 мм (с целью перекрытия неизвестной величины транспортной длины для зондируемых образцов). На рис.6 в качестве примера приведены типичные функции $\rho(s)$ и $\rho(\Delta s)$, полученные в результате моделирования (функции $\rho(s)$ строились на основе частотного анализа полученных в результате моделирования наборов случайных значений s для распространяющихся в среде «фотонных» пакетов; функции $\rho(\Delta s)$ рассчитывались в соответствии с выражением (5), после чего для заданных значений l^* и g вычислялись величины $\langle \Delta s \rangle$).

Анализ полученных результатов позволил установить слабую зависимость $\langle \Delta s \rangle$ от параметра анизотропии рассеяния: при изменении g в интервале 0.80–0.97 и $l^* = 25$ мм соответствующие значения $\langle \Delta s \rangle$ различаются не более чем на 5%–6% и становятся пренебрежимо малыми при меньших значениях l^* . Данное обстоятельство предположительно обусловлено преимущественно диффузионным режимом распространения света между излучающей областью и приемником для используемой схемы детектирования. Несмотря на заметный вклад в регистрируемый сигнал парциальных составляющих, испытавших однократное отражение от нижней границы и распространяющихся в слое на относительно небольшие расстояния (соответствующий пик на рис.6 показан стрелкой), модельное значение s для данного пика существенно превышает

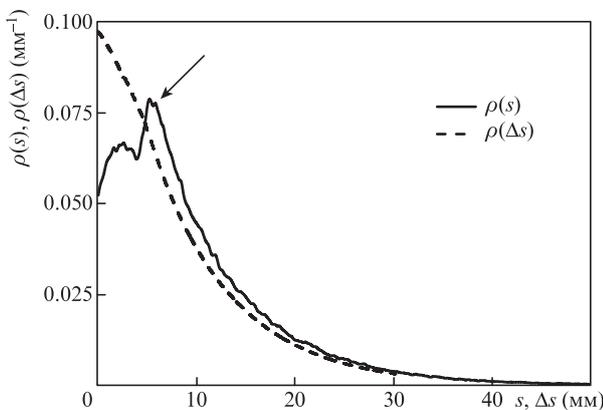


Рис.6. Примеры функций $\rho(s)$ и $\rho(\Delta s)$, полученные в результате моделирования Монте-Карло. Транспортная длина $l^* = 1.96$ мм. Стрелкой показан пик, соответствующий парциальным составляющим поля флуоресцентного излучения, однократно отраженным от задней поверхности слоя.

удвоенную толщину слоя. Это косвенным образом свидетельствует о диффузионном режиме распространения флуоресцентного излучения в слое.

Вследствие слабой зависимости $\langle \Delta s \rangle$ от g на втором этапе моделирования значение g было зафиксировано равным 0.90 исходя из следующих соображений: приведенные выше оценочные данные для систем крупных сферических SiO_2 дают значения g , близкие к 1, причем выраженная неправильная форма частиц в исследуемой среде должна несколько уменьшать анизотропию рассеяния, несмотря на чрезвычайно большие значения волнового параметра рассеивателей $\pi a/\lambda \approx 600\text{--}800$ (здесь a – характерный размер частиц). Возникает вопрос о применимости используемого подхода, основанного на теории переноса излучения, для описания столь крупногранулярных систем. Следует отметить, что в рамках проводимого феноменологического анализа оцениваемые параметры переноса излучения в среде (прежде всего $\langle \Delta s \rangle$) никоим образом не связываются с характеристиками единичных рассеивателей (например, с фактором эффективности рассеяния), а интерпретируются на основе интегральных эффектов взаимодействия излучения со средой (стохастической интерференции при узкополосной фильтрации многократно рассеянного флуоресцентного излучения). В то же время применимость ТПИ для описания переноса излучения в случайно-неоднородных средах с использованием оптических транспортных параметров (транспортной длины, длины рассеяния, параметра анизотропии рассеяния) пока никем не опровергнута.

При дальнейшем моделировании для различных распределений $\rho(\Delta s)$ (и, соответственно, различных $\langle \Delta s \rangle$) согласно выражениям (3) и (6) вычислялись значения β_I в зависимости от длины волны λ_c . Полученные данные представлены на рис.7 семейством кривых $\beta_I = f(\Delta s, \lambda_c)$, различие которых обусловлено разными длинами когерентности $l_{\text{coh}} = \lambda_c^2/\Delta\lambda$. Увеличение средней разности путей парциальных составляющих флуоресцентного поля в зондируемой среде приводит к спаду β_I ; большим длинам волн соответствуют большие значения β_I , что обусловлено большей длиной когерентности детектируемого излучения при неизменной ширине спектрального окна.

На графиках рис.7 точками отмечены полученные в эксперименте усредненные значения β_I для соответствующих длин волн. Отметим, что в случае слабой зависимости

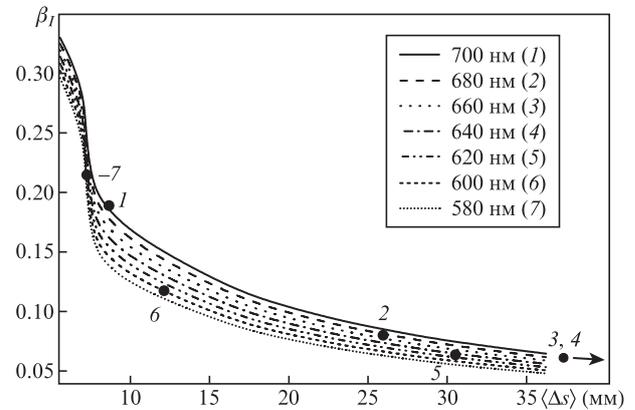


Рис.7. Теоретические зависимости β_I от $\langle \Delta s \rangle$ для различных выборочных длин волн λ_c . Точки – усредненные по зондируемому объему экспериментальные значения индекса мерцаний (см. зависимость $\beta_I(\lambda_c)$ на рис.4). Для λ_c , равных 630 и 640 нм, соответствующие точки находятся за пределами отображаемого интервала $\langle \Delta s \rangle$.

сти $\langle \Delta s \rangle$ от λ_c (или отсутствия таковой) для исследуемой системы экспериментальные значения были бы локализованы в компактной области на плоскости $(\langle \Delta s \rangle, \beta_I)$, причем вариации индекса мерцаний при перестройке монохроматора по длинам волн от 580 до 700 нм не превышали бы 0.04–0.05. Наблюдаемые же в эксперименте изменения β_I при перестройке λ_c от 570 до 630 нм на основании полученных модельных зависимостей соответствуют более чем четырехкратному возрастанию Δs . Столь резкое уширение распределения парциальных составляющих поля флуоресцентного излучения по длинам путей в среде $\rho(s)$ в достаточно узком спектральном диапазоне не может быть объяснено в рамках представлений о «пассивной» линейной случайно-неоднородной среде со слабым поглощением, для которой при заданной толщине основное влияние на Δs оказывает транспортная длина l^* . Фактором, столь кардинально влияющим на статистику путей парциальных составляющих в среде, может являться спектрально-зависимое отрицательное поглощение, обусловленное высокой концентрацией красителя. Предположим, что коэффициент отрицательного поглощения $\tilde{\mu}_a$, определяющий усиление распространяющегося флуоресцентного излучения в среде, стремится к нулю вблизи коротковолнового края спектра флуоресценции и возрастает по мере приближения к его центральной части. Полученное для $\lambda_c = 700$ нм значению $\Delta s \approx 8.5$ мм в рамках рассмотренной модели соответствует транспортная длина $l^* \approx 1.96$ мм, сопоставимая с толщиной исследуемых образцов.

Методом Монте-Карло было проведено моделирование влияния $\tilde{\mu}_a$ на Δs для слоя среды с данным значением l^* , предположительно соответствующим исследуемой нами системе. Рис.8 иллюстрирует взаимосвязь $\tilde{\mu}_a$ и Δs ; на вставке показана полученная спектральная зависимость $\tilde{\mu}_a(\lambda)$ с максимумом, находящимся вблизи точки перегиба нормированного усредненного спектра флуоресценции $\langle I(\lambda) \rangle / \langle I(\lambda_{\max}) \rangle$. Анализ взаимосвязи значений $\tilde{\mu}_a(\lambda)$ и первой производной $d/d\lambda \{ \langle I(\lambda) \rangle / \langle I(\lambda_{\max}) \rangle \}$ выявил довольно большой (примерно -0.8) коэффициент корреляции Пирсона (отрицательное значение соответствует росту одной величины при убывании другой).

Вывод о существовании достаточно существенного спектрально-зависимого усиления флуоресцентного излучения в накачиваемой непрерывным лазерным излучением крупногранулярной среде представляется несколь-

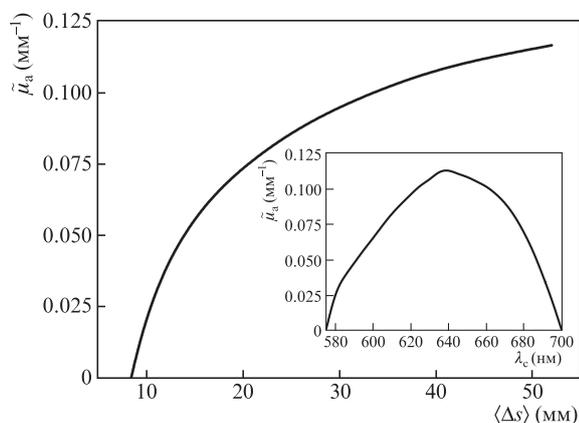


Рис.8. Расчетная зависимость $\tilde{\mu}_a$ от $\langle \Delta s \rangle$ при $l^* = 1.96$ мм. На вставке – рассчитанный в рамках предложенной модели на основе полученных экспериментальных данных спектр μ_a .

ко неожиданным. Как правило, эффекты усиления и генерации лазерного излучения в случайно-неоднородных средах исследуются при накачке импульсным лазерным светом и несравнимо высоких плотностях мощности (порядка МВт/мм 2 ; см., напр., [25]). В то же время следует отметить, что вопросы влияния спектрально-зависимого выхода флуоресценции на диффузионный перенос флуоресцентного излучения в случайно-неоднородной среде, подобной нашей, существенно ниже порога лазерной генерации до настоящего времени специально не рассматривались. Исследованная в настоящей работе система по морфологии и оптическим свойствам матричной среды (плотноупакованных слоев частиц диоксида кремния) частично сопоставима с некоторыми исследованными случайными лазерными средами при существенно более высокой концентрации лазерного красителя [25]. На наш взгляд, дополнительным косвенным аргументом в поддержку гипотезы о проявлении активных свойств среды при диффузионном переносе флуоресцентного излучения в исследуемой системе является сильная корреляционная связь восстановленных значений $\tilde{\mu}_a$ и дисперсии нормированного спектра флуоресценции $d/d\lambda \{ \langle I(\lambda) \rangle / \langle I(\lambda_{\max}) \rangle \}$.

Отметим, что существенное влияние на перенос флуоресцентного излучения с длинами волн короче 580 нм также должно оказывать поглощение родамина 6Ж, соответствующее низкочастотному крылу спектра поглощения красителя. На наш взгляд, именно этим обстоятельством и объясняются наблюдаемые в эксперименте особенности спектральных зависимостей β_I – их асимметрия и сдвиг минимума в длинноволновую область по отношению к максимуму флуоресценции.

5. Заключение

Таким образом, в настоящей работе предложен метод зондирования флуоресцирующих случайно-неоднородных сред на основе исследования спектральной зависимости индекса мерцаний регистрируемого флуоресцентного сигнала при его узкополосной фильтрации. Разработанная феноменологическая модель позволяет установить взаимосвязь между значением индекса мерцаний на фиксированной длине волны и средней разностью путей парциальных составляющих поля флуоресцентного излучения в среде. В свою очередь, из полученной средней разности путей могут быть восстановлены в рамках теории переноса излучения оптические транспортные параметры зондируемой среды. Применение разработанного метода к накачиваемой непрерывным лазерным излучением флуоресцирующей среде, состоящей из плотноупакованных гранул диоксида кремния и насыщенного водным раствором родамина 6Ж, позволило установить сильную зависимость средней разности путей парциальных составляющих от длины волны. Максимальное значение средней разности путей достигается вблизи точки перегиба спектра флуоресценции. Подобные особенности предположительно обусловлены влиянием спектрально-зависимого отрицательного поглощения (усиления) флуоресцентного излучения в исследуемой системе.

Полученные результаты могут служить физической основой для создания и развития новых подходов во флуоресцентной диагностике для биомедицинских и материаловедческих применений. Спекл-спектроскопия рассеянного флуоресцентного излучения, подобно другим оптическим диффузионным методам (спектроскопии диф-

фузного отражения и пропускания, спектроскопии когерентного обратного рассеяния [26, 27], низкокогерентной рефлектометрии [14]) и в комбинации с ними, может быть применена для оценки оптических транспортных параметров зондируемой среды. В свою очередь, по полученным значениям транспортных параметров (транспортной длины, параметра анизотропии рассеяния, эффективного показателя преломления) с использованием моделей эффективной среды (см., напр., [27, 28]) могут быть оценены структурные характеристики зондируемых систем (средний размер рассеивающих центров, их концентрация в среде и показатель преломления для длины волны зондирующего излучения). Метод спекл-спектроскопии рассеянного флуоресцентного излучения применим к различным классам рассеивающих сред (биологическим тканям, композитным материалам, полимерным системам) при условии, что характерная длина распространения флуоресцентного излучения в среде сопоставима с длиной когерентности детектируемого излучения, определяемой шириной спектрального окна.

Работа поддержана РНФ (гранты № 16-19-10455 и 14-25-00055) в части создания экспериментальной установки, изготовления образцов и проведения экспериментальных исследований и Минобрнауки РФ в рамках государственного задания высшим учебным заведениям на проведение научных исследований (грант № 549) в части теоретического анализа полученных данных.

1. Pine D.J., Weitz D.A., Chaikin P.M., Herbolzheimer E. *Phys. Rev. Lett.*, **60**, 1134 (1988).
2. Lemieux P.-A., Vera M.U., Durian D.J. *Phys. Rev. E*, **57**, 4498 (1998).
3. Boas D.A., Campbell L.E., Yodh A.G. *Phys. Rev. Lett.*, **75**, 1855 (1995).
4. Boas D.A., Yodh A.G. *J. Opt. Soc. Am. A*, **14**, 192 (1997).
5. Bandyopadhyay R., Gittings A.S., Suh S.S., Dixon P.K., Durian D.J. *Rev. Sci. Instrum.*, **76**, 093110 (2005).
6. Viasnoff V., Lequeux F., Pine D.J. *Rev. Sci. Instrum.*, **73**, 2336 (2002).
7. Scheffold F., Romer S., Cardinaux F., Bissig H., Stradner A., Rojas-Ochoa L.F., Trappe V., Urban C., Skipetrov S.E., Cipelletti L., Schurtenberger P. *Prog. Colloid Polym. Sci.*, **123**, 141 (2004).
8. Brunel L., Brun A., Snabre P., Cipelletti L. *Opt. Express*, **15**, 15250 (2007).
9. Zakharov P., Cardinaux F., Scheffold F. *Phys. Rev. E*, **73**, 011413 (2006).
10. Duri A., Sessoms D.A., Trappe V., Cipelletti L. *Phys. Rev. Lett.*, **102**, 085702 (2009).
11. Thompson C.A., Webb K.J., Weiner A.M. *J. Opt. Soc. Am. A*, **14**, 2269 (1997).
12. Zimnyakov D.A., Oh J.-T., Sinichkin Yu.P., Trifonov V.A., Gurianov E.V. *J. Opt. Soc. Am. A*, **21**, 59 (2004).
13. Zimnyakov D.A., Vilensky M.A. *Opt. Lett.*, **31**, 429 (2006).
14. Зимняков Д.А., Сина Д.С., Ювченко С.А., Исаева Е.А., Чекмасов С.П., Ушакова О.В. *Квантовая электроника*, **44**, 59 (2014).
15. Huang D., Swanson E.A., Lin C.P., Schuman J.S., Stinson W.G., Chang W., Hee M.R., Flotte T., Gregory K., Puliafito C.A., Fujimoto J.G. *Science*, **254**, 1178 (1991).
16. Wu J., Perelman L., Dasari R.R., Feld M.S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 8783 (1997).
17. Zhang Q., Muller M.G., Wu J., Feld M.S. *Opt. Lett.*, **25**, 1451 (2000).
18. Bechger L., Koenderink A.F., Wos W.L. *Langmuir*, **18**, 2444 (2002).
19. Vogel R., Meredith P., Harvey M.D., Rubinsztein-Dunlop H. *Spectrochimica Acta Part A*, **60**, 245 (2004).
20. Amelink A., Kruijt B., Robinson D.J., Sterenborg H.J.C.M. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 054051 (2008).
21. Исимару А. *Распространение и рассеяние волн в случайно-неоднородных средах* (М.: Мир, 1981).
22. Goodman J.W. *Statistical Optics* (New York: Wiley Classics Library Edition, 2000).
23. <http://omlc.org/spectra/PhotochemCAD/html/083.html> (2012).
24. Henyey L.G., Greenstein J.L. *Astrophys. J.*, **93**, 70 (1941).
25. Van der Molen K.L., Mosk A.P., Lagendijk A. *Opt. Commun.*, **278**, 110 (2007).
26. Kim J.L., Liu Y., Roy H.K., Wali R.K., Backman V. *Opt. Lett.*, **29**, 1906 (2004).
27. Zimnyakov D.A., Pravdin A.B., Kuznetsova L.A., Kochubey V.I., Tuchin V.V., Wang R.K., Ushakova O.V. *J. Opt. Soc. Am. A*, **24**, 711 (2007).
28. Зимняков Д.А., Ювченко С.А., Сина Дж.С., Ушакова О.В. *Письма в ЖЭТФ*, **98**, 366 (2013).