

УДК 621.378.9

## ГЕНЕРАЦИЯ ИК-ИЗЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПЛЕНОК ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ШИРОКОПОЛОСНОЙ ОПТИЧЕСКОЙ НАКАЧКИ

Е. Л. Терпугов<sup>1,2</sup>, О. В. Дегтярева<sup>2</sup>, А. Г. Гагаринов<sup>2</sup>, В. В. Савранский<sup>1</sup>

*В тонких пленках наблюдали генерацию инфракрасного излучения в средней ИК-области спектра между 400 и 4000 см<sup>-1</sup> при использовании широкополосного источника видимого света мощностью 100 Вт. Обнаружено, что интенсивность спектральных полос имеет нелинейную зависимость от мощности возбуждающего света. Полученный эффект обсуждается с позиции превалирующего действия комбинированного оптического излучения.*

Ключевые слова: стимулированное ИК-излучение, нелинейные эффекты, ИК-Фурье спектроскопия.

В 1997 г. впервые было экспериментально зарегистрировано ИК-излучение от молекулы бактериородопсина в виде дискретного спектра в среднем ИК-диапазоне при использовании широкополосного источника видимого света умеренной мощности [1]. Затем было обнаружено, что интенсивности спектральных линий в ИК-спектрах эмиссии бактериородопсина нелинейно зависят от мощности, что было приписано обратным фотохимическим реакциям, которые могут иметь место в этом фотохромном белке при данных условиях освещения [2]. Дальнейшие исследования на разнообразных образцах с широкой вариацией условий возбуждения показали, что обнаруженный феномен отличается от того, что наблюдается при термальной эмиссии или при поглощении энергии (первичном поглощении и последующем ее излучении в виде спонтанного процесса

<sup>1</sup>Центр естественно-научных исследований Института общей физики им. А.М. Прохорова РАН, 117942 Москва, ул. Вавилова, 38 корп. А-2.

<sup>2</sup>Институт биофизики клетки РАН, 142290 г. Пущино Московской области, ул. Институтская, 3.

инфракрасной флуоресценции) [3]. Во-первых, наблюдаемая ИК-эмиссия всегда характеризуется дискретным распределением в виде набора отдельных линий в спектре; во-вторых, испускание инфракрасного излучения в данных экспериментальных условиях представляет собой неравновесный процесс [4]. В-третьих, зависимость от спектрального состава действующего света проявляется весьма своеобразно, например, при возбуждении монохроматическим видимым светом генерацию ИК-излучения не удается зарегистрировать даже с использованием более мощного лазерного излучения. Было высказано предположение и получены первые свидетельства о том, что ИК-эмиссия может быть обусловлена комбинированным действием на исследуемый объект различных частот широкого спектра оптического излучения.

Настоящая работа посвящена изучению закономерностей генерации ИК-излучения в зависимости от мощности действующего света на примере аминокислотной пленки лизина. Предпринята попытка объяснить полученные данные на основе представлений о нелинейных оптических процессах.

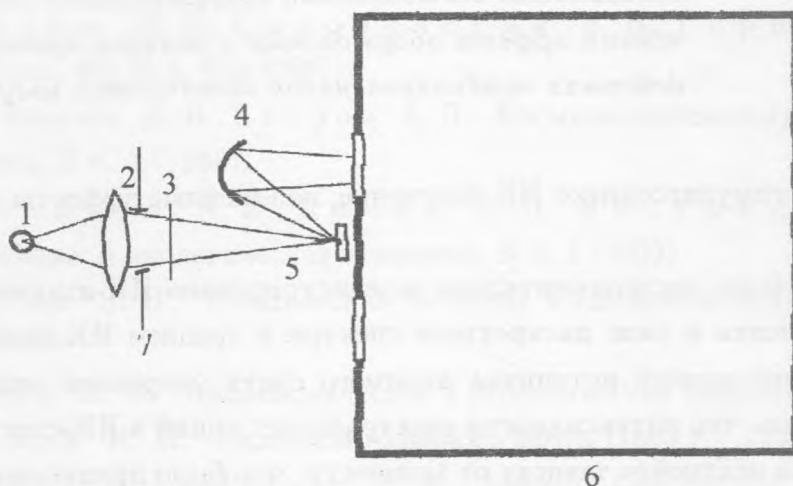


Рис. 1. Схема установки, используемой для возбуждения эмиссии: 1 - ксеноновая лампа (100 Вт), 2 - короткофокусная стеклянная линза, 3 - широкополосные стеклянные фильтры, 4 - сферическое зеркало, 5 - образец: пленка лизиновой аминокислоты, 6 - интерферометр Майкельсона, 7 - диафрагма.

*Методика экспериментов.* В работе использовали оптическую схему (рис. 1), которая была детально описана ранее [3]. В качестве источника видимого излучения света была взята ксеноновая лампа мощностью 100 Вт.

Для наблюдения влияния спектрального состава и мощности падающего излучения в качестве образца использовали пленку лизиновой аминокислоты (Sigma), высаженной тонким слоем из концентрированного водного раствора на подложку из кремния.

Инфракрасное излучение регистрировали с помощью отечественного повышенной чувствительности ИК-Фурье спектрофотометра ФС-02 с низкотемпературными (ртуть-кадмий-теллур) приемниками, специально приспособленного к регистрации эмиссии. ИК-Фурье спектры эмиссии лизина записывали в диапазоне от 400 до 4000  $\text{см}^{-1}$  со спектральным разрешением 4  $\text{см}^{-1}$ . Накопление и усреднение сигнала проводили по 400 сканам.

Все эксперименты проводили при комнатной температуре.

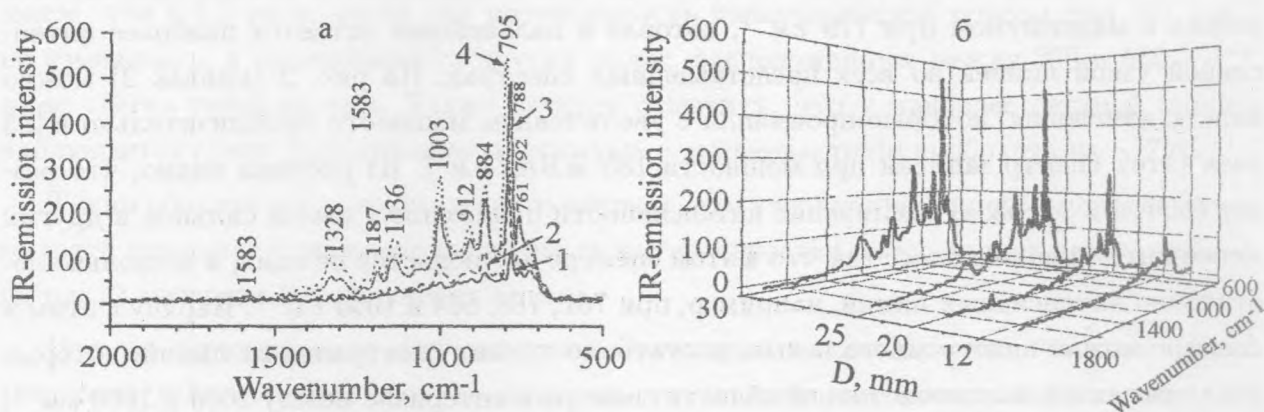


Рис. 2. а – ИК-спектры излучения лизина представлены в области между 500 и 2000  $\text{см}^{-1}$ . Спектры записаны на ИК-Фурье спектрометре ФС-02 при спектральном разрешении 4  $\text{см}^{-1}$  с усреднением по 400 сканам. Образец освещали участком видимого света между 610 и 750 нм (красный полосовой фильтр) при разной апертуре ирисовой диафрагмы: (а) – диаметр ирисовой диафрагмы равен 12 мм, мощность действующего света равна 73  $\text{мВт}/\text{мм}^2$  (кривая 1); (б) – диаметр диафрагмы – 20 мм, мощность действующего света – 185  $\text{мВт}/\text{мм}^2$  (кривая 2); (в) – диаметр диафрагмы – 25 мм, мощность действующего света равна 270  $\text{мВт}/\text{мм}^2$  (кривая 3); (г) – диаметр диафрагмы – 29 мм, мощность действующего света 340  $\text{мВт}/\text{мм}^2$  (кривая 4); б – трехмерное изображение спектров ИК-излучения лизина в зависимости от мощности и размера ирисовой диафрагмы.

**Результаты и обсуждение.** На рис. 2 представлены спектры ИК-эмиссии лизина в диапазоне от 500 до 2000  $\text{см}^{-1}$  в зависимости от мощности падающего света, которую варьировали с помощью ирисовой диафрагмы, установленной на кожухе ксеноновой лампы. Образец освещали участком видимого света от 610 до 750  $\text{см}^{-1}$ , используя

стеклянный окрашенный фильтр. Для наглядности спектры представлены в пространственном и двухмерном изображении при 4-х значениях размера диаметра раскрытой диафрагмы: 12, 20, 25 и 29 мм. Из рис. 2 можно видеть, что повышение мощности зондирующего излучения за счет изменения размера диафрагмы сопровождается, в целом, немонотонным ростом интенсивности ИК-эмиссии, причем возрастание интенсивности происходит неравномерно по всему спектру. Наряду с этим в спектрах происходят качественные изменения (рис. 2а и б). Например, спектр, записанный при самом малом раскрытии диафрагмы и, соответственно, при самой малой мощности действующего света ( $73 \text{ мВт/мм}^2$ ) (кривая 1), демонстрирует не только меньшую интенсивность всех полос, но значительно меньший их набор. Эти полосы группируются, в основном, в узком интервале между  $700$  и  $900 \text{ см}^{-1}$ . Среди них наблюдается только одна сильная полоса с максимумом при  $779 \text{ см}^{-1}$ , которая в дальнейшем остается наиболее интенсивной узкой линией во всех представленных спектрах. На рис. 2 (кривая 2) можно видеть изменения, которые произошли с увеличением мощности приблизительно в 2.5 раза (этот спектр записан при мощности  $185 \text{ мВт/мм}^2$ ). Из рисунка видно, что резкое (почти в 2.5 раза) увеличение интенсивности произошло у самой сильной и других менее интенсивных полос, так что в этом спектре наблюдается не одна, а несколько достаточно интенсивных линий, например, при  $761$ ,  $788$ ,  $864$  и  $1003 \text{ см}^{-1}$ . Наряду с этим в спектре можно видеть много новых, достаточно четких спектральных линий, которые локализованы в высокочастотной области спектра в интервале между  $1000$  и  $1600 \text{ см}^{-1}$ , например, полосы, максимумы которых расположены при  $1003$ ,  $1136$  и  $1583 \text{ см}^{-1}$ . Самая высокочастотная линия в этом спектре более наглядно проявляется в трехмерном изображении (рис. 2а). Заметим, что в низкочастотной области спектра ниже  $650 \text{ см}^{-1}$  не наблюдается практически никаких изменений. Спектр (кривая 3), представленный на рис. 2, записан при мощности падающего света  $270 \text{ мВт/мм}^2$ . В отличие от предыдущего случая мощность действующего света увеличилась всего в  $\sim 1.5$  раза. Однако это привело к более сильному возрастанию интенсивности почти всех полос в спектре. Хотя, как и в предыдущем спектре, это возрастание было неравномерным по всему спектру. Так, в два раза увеличилась интенсивность наиболее сильной полосы при  $792 \text{ см}^{-1}$  и соседних с ней полос при  $761$  и  $864 \text{ см}^{-1}$ , а в 2,5 и 3 раза увеличилась интенсивность высокочастотных полос при  $1136$  и  $1003 \text{ см}^{-1}$ , соответственно, в то время как интенсивность низкочастотных полос в области ниже  $650 \text{ см}^{-1}$  практически не изменилась. Также как и в предыдущем, в этом спектре можно видеть дополнительные полосы, например, с положением максимумов при  $1187$ ,  $1328$  (дублет) и  $1400 \text{ см}^{-1}$ , так что общее



число наблюдаемых полос увеличилось. Также увеличилось число интенсивных линий, например, это полосы с положением максимумов при 761, 792, 864, 912, 1003, 1136, 1187, 1328  $\text{см}^{-1}$ .

На рис. 2 кривая 4 представляет спектр, записанный при мощности 340  $\text{мВт/мм}^2$ . В этот раз мощность действующего света увеличилась приблизительно во столько же раз, что и в предыдущем случае (в  $\sim 1.3$  раза), что, однако, не вызвало аналогичных изменений. Как видно, в данном случае наибольшее увеличение интенсивности составило величину  $\sim 1.7$  раз и наблюдается только у нескольких полос, расположенных в высокочастотной области спектра, например, при 1103, 1136, 1187 и 1328  $\text{см}^{-1}$ . Интенсивность наиболее сильной полосы и соседних с ней высокочастотных полос изменилась менее, чем в 1.2 раза, тогда как интенсивность низкочастотной полосы при 761  $\text{см}^{-1}$  не изменилась, а интенсивность других полос, расположенных между 760 и 650  $\text{см}^{-1}$ , даже слегка уменьшилась. Также следует отметить, что у наиболее сильной полосы наблюдается сдвиг положения ее максимума в высокочастотную область на  $\sim 7 \text{ см}^{-1}$ .

Таким образом, из представленного следует, что увеличение мощности действующего света приводит к немонотонному росту интенсивностей полос во всех изображенных на рис. 2 спектрах ИК-излучения лизина.

Что же характеризует эти спектры? Детальный анализ показал, что при малой мощности действующего света в спектрах отсутствуют высокочастотные полосы, а в низкочастотной области наблюдается их ограниченное число, которое располагается, в основном, в узком частотном интервале. С увеличением мощности возбуждающего света наибольшие изменения происходят в высокочастотной области спектра – увеличивается как число новых линий, так и их интенсивность. Такое поведение не объяснимо с точки зрения линейной спектроскопии, за счет общего изменения интенсивности возбуждающего света. Однако этому найдено свое объяснение, которое будет представлено несколько позже.

Прежде рассмотрим данные еще одного эксперимента, в котором мы варьировали мощность и, одновременно, спектральный состав действующего света.

На рис. 3 представлены результаты двух вариаций условий возбуждения. Спектр (1) записан при мощности действующего света 125  $\text{мВт/мм}^2$  и использовании стеклянного окрашенного фильтра, который выделяет “синюю” область между 340 и 460  $\text{нм}$ . Другой спектр (2) записан при освещении участком видимого “красного” света между 530 и 750  $\text{нм}$  при мощности 210  $\text{мВт/мм}^2$ . Как видно из рисунка, в этом случае, в отличие от рассмотренного выше, увеличение мощности действующего света в  $\sim 1.7$  раза не вы-

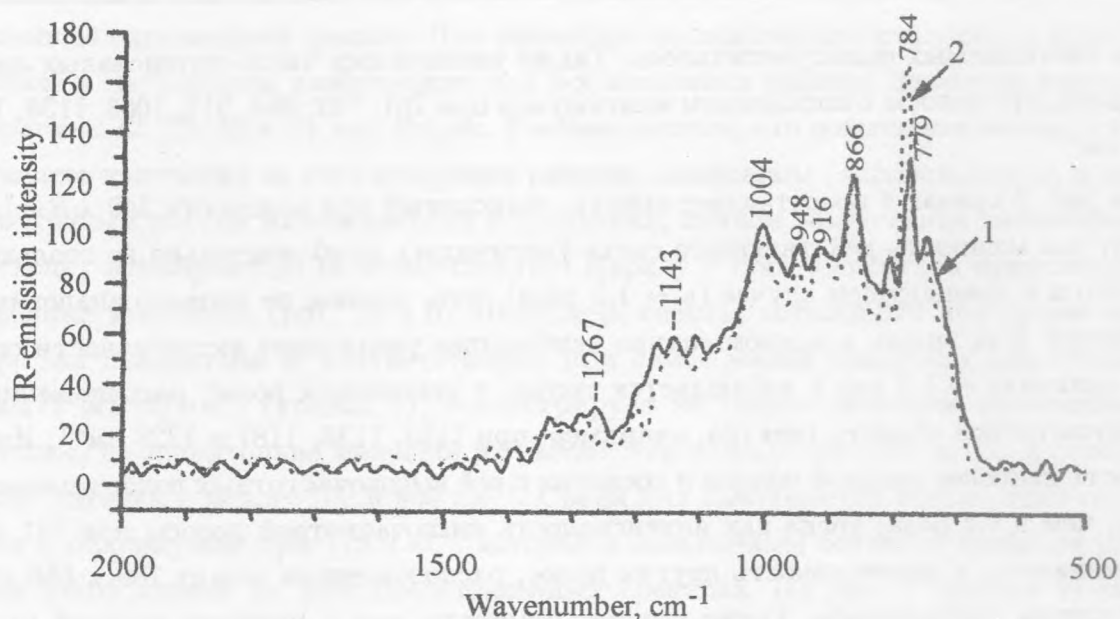


Рис. 3. Колебательные ИК-спектры излучения лизина в области между 500 и 2000  $\text{см}^{-1}$ . Спектры записаны с помощью ИК-Фурье спектрометра ФС-02 при спектральном разрешении  $4 \text{ см}^{-1}$  с усреднением по 400 сканам. Образец освещали с использованием стеклянных фильтров, выделяющих интервал: (а) – между 340 и 460 нм, при мощности  $125 \text{ мВт/мм}^2$  (кривая 1); (б) – между 530 и 750 нм при мощности  $210 \text{ мВт/мм}^2$  (кривая 2).

звало соответствующего изменения интенсивностей всех полос в наблюдаемом спектре ИК-испускания образца. В этом случае кратное увеличение интенсивности наблюдалось лишь у одной, наиболее сильной полосы, максимум которой сместился от  $779$  к  $784 \text{ см}^{-1}$ . Интенсивность других полос или не изменилась, или слегка уменьшилась, и в целом отношение интенсивностей одинаковых по своему положению полос (за исключением упомянутой выше) в этих двух спектрах осталось неизменным и составило величину  $\sim 1.0$ .

Таким образом, воздействие меньшего по интенсивности “синего” света вызвало эффект, сопоставимый по тому, что инициировал более интенсивный “красный” свет. Следовательно, наблюдаемая в данном случае генерация ИК-излучения зависит в большей степени от частоты, чем от мощности. Это станет более очевидным, если в обоих спектрах интенсивности полос нормировать на мощность действующего света. В этом случае получается, что нормированная величина интенсивностей полос для спектра, записанного при мощности  $125 \text{ мВт/мм}^2$  (кривая 1), почти в два раза больше, чем

для спектра, записанного при мощности  $210 \text{ мВт/мм}^2$  (кривая 2). Такая разница при освещении разными участками видимого света, которые мы условно определили как “синий” и “красный”, может быть результатом разной эффективности синего и красного действующего света в заселении возбужденных колебательных подуровней, по аналогии с комбинационным (стоксовым) рассеянием света [5, 6].

Следовательно, рассматриваемый оптический эффект включает в себя обычный процесс комбинационного рассеяния (КР) света с большим числом промежуточных квантовых состояний, что также означает, что в процессе генерации ИК-излучения участвуют комбинационно-активные переходы, заселение которых происходит в соответствии с правилами отбора, справедливыми для КР. В соответствии с теорией КР (см., например, [5 – 7]) суммарная интенсивность рассеянного света  $I$

$$I \sim I_0 * \omega^4$$

пропорциональна произведению интенсивности возбуждающего света на его частоту  $\omega$  в 4-й степени.

Следует заметить, что рассматривая эту теорию, мы имеем в виду прежде всего то, что при стоксовом КР заселение горячих колебательных состояний происходит через виртуальные уровни, расположенные ниже первого возбужденного электронного уровня  $S_1$ . При этом полагаем, что рассеяние света происходит с рождением ИК-квантов, которые в наших экспериментальных условиях, потенциально, могут быть источником наблюдаемого ИК-излучения. Тогда в нулевом приближении соотношение, приведенное для интенсивности рассеянного света, должно соблюдаться для интенсивности испускаемого ИК-излучения. Сопоставим отношение интенсивностей  $I_c$  и  $I_k$  при возбуждении синим и красным светом, которые определили как среднее для всех наблюдаемых линий в двух спектрах (рис. 3), с отношением расчетных интенсивностей  $I_1$  и  $I_2$ , которые определили по формуле, приведенной выше:

$$I_1 = P_c \omega_c^4, \text{ а } I_2 = P_k \omega_k^4,$$

где  $P_c$  и  $P_k$  – мощности падающего излучения при синей и красной подсветке, соответственно, а  $\omega_c$  ( $\omega_c = 7673$ ) и  $\omega_k$  ( $\omega_k = 5898$ ) – значение частоты середины соответствующих интервалов между  $340 - 460 \text{ нм}$  и между  $530$  и  $750 \text{ нм}$ , в  $\text{см}^{-1}$ . В результате получаем разную величину отношений  $I_1/I_2$  и  $I_c/I_k$  ( $I_c/I_k \approx 1$ , тогда как  $I_1/I_2 > 2$ ). Аналогичный результат получается, если в расчетной формуле вместо значения интенсивности действующего света взять его квадрат. Однако, если в последнем случае

вместо среднего значения  $\omega$  взять величину спектрального интервала  $\Delta\omega$  (в  $\text{см}^{-1}$ ), то между экспериментально определенными интенсивностями и их расчетными значениями наблюдается полное соответствие. Таким образом, получается, что интенсивность испускаемого ИК-излучения пропорциональна  $I_0^2$  и  $(\Delta\omega)^4$  возбуждающего света:

$$I \sim I_0^2(\Delta\omega)^4.$$

Из этого следует, что рассматриваемый оптический эффект при отсутствии поглощения в образце включает в себя не только обычное спонтанное КР. Из-за смещения электромагнитных полей в плоскости образца определенный вклад дают нелинейные оптические эффекты, обусловленные резонансным взаимодействием комбинационного типа [8, 9], на что указывает квадратичная зависимость от мощности.

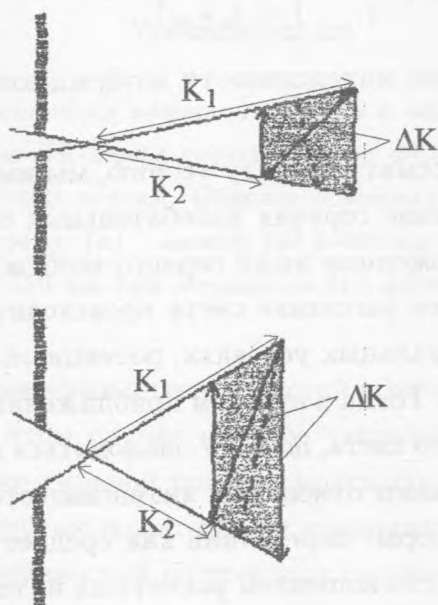


Рис. 4. Векторное представление падающих лучей при разных диаметрах ирисовой диафрагмы.  $K_1$ ,  $K_2$  – “длинный” и “короткий” вектора,  $\Delta K$  – набор их разностей.

С позиции резонансного взаимодействия двух волн с частотами  $\omega_1$  и  $\omega_2$  в плоскости образца, когда последний имеет резонанс комбинационного типа на частоте  $\Omega = \omega_1 - \omega_2$ , где  $\Omega$  – частота собственной колебательной моды, рассмотрим результаты эксперимента, описанного в самом начале. В данном случае логично дать геометрическое объяснение, как, например, представлено на рис. 4, на котором изображен векторный ход лучей в падающем световом пучке при разном раскрытии диафрагмы. Видно, что изменяя



размер диафрагмы, мы одновременно изменяем угол фокусировки падающего на образец света. Это, в свою очередь, приводит к изменению модуля векторной разности  $\Delta K$  длинного  $K_1$  и короткого  $K_2$  векторов, которые нарисованы с реальным соотношением длин волновых векторов на границах интервала между 610 и 750  $\text{см}^{-1}$  (они различаются  $\sim 1.23$  раза), а также к изменению числа возможных комбинаций, определяющих эту разность. Из этого рисунка следует, что при небольшом раскрытии диафрагмы результирующая разность  $\Delta K$  всегда имеет небольшую длину, какими бы комбинациями векторной разности она не определялась. А поскольку длина этого вектора определяет прежде всего частоту возбуждаемого им колебания, то в этом случае становится понятным наличие в спектре только низкочастотных полос, их ограниченное число и малая интенсивность. По мере раскрытия диафрагмы увеличивается диаметр пучка и угол фокусировки действующего света. Соответственно, увеличивается как длина результирующего вектора (что проявляется в наличии высокочастотных полос), так и число комбинаций, задающих эту разность (что проявляется в общем росте интенсивности полос). Из этого рисунка становится также очевидным отсутствие заметных изменений ниже определенной частоты в низкочастотной области спектра.

Таким образом, наблюдаемый эффект генерации ИК-излучения под действием оптического излучения в большей степени обусловлен резонансным взаимодействием комбинационного типа, что подтверждает высказанное ранее предположение о комбинированном действии световых полей [4]. Очевидно, что обнаруженный эффект намного сложнее, однако полное обсуждение его выходит за рамки данной статьи.

*Заключение.* В настоящей работе представлено экспериментальное подтверждение существования резонансного взаимодействия комбинационного типа при освещении образца низкоинтенсивным видимым светом от широкополосного источника и обусловленного им эффекта генерации ИК-излучения тонкой пленки лизиновой аминокислоты в широком диапазоне средней ИК-области спектра.

Обнаруженный нами эффект, как представляется, полезен с точки зрения расширения возможностей получения генерации ИК-излучения. Прежде всего, он позволяет создавать и изучать возбужденные колебательные состояния, а также управлять ими, что актуально в фотохимии, биофизике, квантовой электронике.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] Terpigov E. L., Degtyareva O. V. 11th International Conference on Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Athens, USA, 1997).

- [2] Терпугов Е. Л., Дегтярева О. В. J. Mol. Struct., **565-566**, 289 (2001).
- [3] Терпугов Е. Л., Дегтярева О. В. Proceed. SPIE, **4129**, 97 (2000).
- [4] Терпугов Е. Л., Дегтярева О. В. Письма в ЖЭТФ, **73**, 320 (2001).
- [5] Сущинский М. М. Комбинационное рассеяние света и строение вещества. М., Наука, 1981.
- [6] Tang J., Albrecht A. C. In: Raman Spectroscopy Theory and Practice (N.Y., Plenum Press, 1970), p. 33.
- [7] Шорыгин П. П., Овандер Л. Н. В сб.: Современные проблемы спектроскопии комбинационного рассеяния света. М., Наука, 1978.
- [8] Ахманов С. А., Коротеев Н. И. Методы нелинейной оптики и спектроскопии рассеяния света. М., Наука, 1981.
- [9] Коротеев Н. И., Шумай И. Л. Физика мощного лазерного излучения. М., Наука, 1991.

Институт общей физики  
им. А. М. Прохорова РАН

Поступила в редакцию 14 июля 2004 г.