

# Моделирование многофотонно возбужденной флуоресценции сферической капли, облученной ультракоротким лазерным излучением, с помощью метода вычислительной электродинамики

Ю.Э. Гейнц, А.А. Землянов, Е.К. Панина\*

*Институт оптики атмосферы им. В.Е. Зуева СО РАН  
634021, г. Томск, пл. Академика Зуева, 1*

Поступила в редакцию 1.06.2010 г.

На основе FDTD-методики решения уравнений Максвелла проведено численное моделирование двумерного пространственного распределения поля многофотонно возбужденной флуоресценции в окрестности микронной сферической капли этанола при освещении ее лазерным пучком. Считается, что источники флуоресценции расположены в «горячих» зонах внутри сферической частицы и могут иметь различную мощность и объем. Установлено, что поле флуоресценции, излученное из задней и передней полусфер частицы (по отношению к направлению возбужденного излучения), характеризуется различной угловой направленностью. С повышением порядка многофотонности возбуждения флуоресценции этанола и с соответствующим увеличением дисбаланса между мощностью источников направленность излучения «вперед» снижается, а эффективная угловая расходимость флуоресценции в направлении «назад» меняется незначительно.

*Ключевые слова:* многофотонно возбужденная флуоресценция, сферическая капля, угловая расходимость; multi-photon excited fluorescence, spherical particle, angular divergence.

## Введение

Флуоресценция многофотонного поглощения (МВФ) уже более 20 лет широко применяется в устройствах оптической микроскопии биологических динамических систем, таких как, например, липиды, рибофлавины, протеиновые цепочки и т.д. (см. обзоры [1, 2] и ссылки в них). Основными преимуществами микроскопии МВФ по сравнению с традиционным флуоресцентным методом однофотонного поглощения являются высокое пространственное разрешение, достигаемое за счет экстремальной локализации лазерного излучения, возбуждающего флуоресценцию образца, а также спектральное разнесение сигналов флуоресцентной эмиссии и основного излучения, позволяющее достаточно легко осуществлять фильтрацию последнего на приемной аппаратуре.

Нелинейная лазерная флуоресцентная спектроскопия дисперсных сред, когда в качестве объекта исследования выступает микронная или субмикронная частица, содержащая флуоресцирующее вещество, получила в последние годы новый импульс в своем развитии в связи с применением лазерных источников фемтосекундной длительности. Высокий уровень интенсивности, присущий такому излучению,

позволил преодолеть энергетический порог реализации нелинейно-оптических эффектов многофотонного поглощения и оптического пробоя вещества внутри частицы и осуществлять прием излученного из частиц сигнала с больших дистанций в атмосфере [3]. Кроме того, сферическая поверхность микро-частицы фокусирует падающее на нее лазерное излучение в «горячие» зоны внутри нее, что дополнительно повышает вероятность проявления МВФ.

В [4, 5] экспериментально и теоретически исследовались угловые характеристики многофотонно возбужденной флуоресценции в каплях этанола и метанола радиусом 25–40 мкм, содержащих краситель кумарин 510 или триптофан, при облучении их излучением Ti:Sapphire-лазера с длительностью импульсов 100–120 фс и энергией в импульсе порядка нескольких мкДж. Для одно-, двух- и трехфотонного возбуждения флуоресценции в микрокаплях использовались центральные длины волн лазера 400, 850 и 1200 нм соответственно. Основным результатом данных работ явился тот факт, что максимум интенсивности МВФ из капель наблюдался в направлении назад, т.е. навстречу направлению падения возбуждающего излучения, причем величина отношения интенсивностей флуоресценции назад и в поперечном направлении возрастала при увеличении порядка  $p$  многофотонности возбуждения флуоресценции ( $p$  – число фотонов, которые поглощаются молекулой флуорофора в одном акте взаимодействия с основным излучением).

\* Юрий Эльмарович Гейнц (ygeints@iao.ru); Александр Анатольевич Землянов (zaa@iao.ru); Екатерина Константиновна Панина (pek@iao.ru).

Было дано качественное объяснение данного эффекта на основе принципа обратимости хода световых лучей, испускаемых источниками флуоресценции внутри сферической частицы (принцип взаимности). При помощи численного расчета установлена связь между величиной наблюдаемой интенсивности свечения частицы в обратном направлении и степенью пространственной локализации этих источников, которая увеличивается с ростом параметра  $p$ . Позднее подобный эффект был обнаружен и в несферических объектах, как, например, в кластерах, образованных несколькими полистироновыми микрочастицами (несколько микрометров в диаметре каждая), содержащими сухой триптофан [6].

В [7] в рамках теории Ми был проведен расчет пространственного местоположения, эффективного объема и интенсивности возбуждающего поля в «горячих» зонах микронной сферической капли. Методом геометрической оптики показано, что форма угловой диаграммы флуоресценции, возбужденной в сферической микрочастице лазерным излучением, существенно зависит от морфологии частицы, а именно от конкретного местоположения внутри капли и эффективной мощности источников возбуждающего флуоресценцию поля. Если наиболее интенсивный из данных источников находится вблизи теневой поверхности частицы, то диаграмма направленности интенсивности неупругого рассеяния вытянута в направлении назад относительно направления падения возбуждающего излучения. При смещении источника к центру частицы асимметрия вторичного излучения исчезает.

В настоящей статье мы проиллюстрируем сделанные в [4, 5, 7] выводы и рассмотрим формирование поля МВФ сферической частицы в динамике, пользуясь широко распространенным методом численного расчета электродинамических задач, основанным на прямом разностном решении системы дифференциальных уравнений Максвелла. Применение данного метода, известного среди специалистов по вычислительной электродинамике как «Finite-Difference Time-Domain method», или FDTD-метод (см., например, монографии [8, 9]), связано с работами К.С. Yee [10] и А. Taflove [8], в которых был сформулирован и развит подход к наложению разностных вычислительных схем на систему вихревых дифференциальных уравнений в частных производных первого порядка, к которым и относятся уравнения Максвелла.

Базовым элементом этих схем (явных и неявных) является так называемая «ячейка Yee» (Yee-cell), в которой все проекции векторов электромагнитного поля на декартовы оси специальным образом разнесены в пространстве: компоненты электрического поля  $\mathbf{E}$  ( $E_x, E_y, E_z$ ) расположены посередине ребер, а компоненты магнитного поля  $\mathbf{H}$  ( $H_x, H_y, H_z$ ) имеют началом центры граней (рис. 1). Все компоненты векторов поля связаны друг с другом уравнениями Максвелла, и, кроме того, поля  $\mathbf{E}$  и  $\mathbf{H}$  вычисляются со сдвигом во времени на половину временного шага. Реализация такой ступенчатой сетки позволяет при решении уравнений Максвелла достичь второго порядка точности по пространству и по времени.

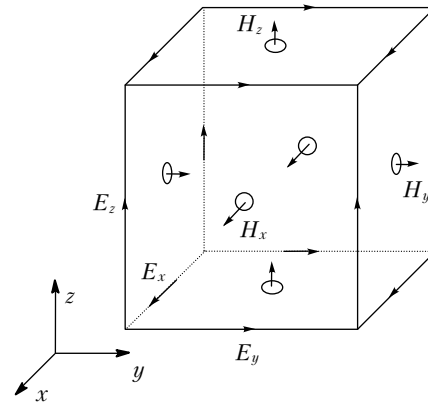


Рис. 1. Схема «ячейки Yee»

Первые два уравнения Максвелла, описывающие электромагнитное поле в любой точке пространства, в отсутствие свободных зарядов имеют следующий вид (в гауссовой системе единиц):

$$\nabla \times \mathbf{H} = \frac{1}{c} \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial t} + \frac{4\pi}{c} \sigma \mathbf{E}, \quad \nabla \times \mathbf{E} = -\frac{1}{c} \frac{\partial \mathbf{H}}{\partial t}, \quad (1)$$

где  $\mathbf{D} = \varepsilon \mathbf{E}$  — вектор электрического смещения;  $\varepsilon$  — диэлектрическая восприимчивость;  $\sigma$  — удельная электрическая проводимость среды. В дальнейшем будем считать, что параметры среды не являются функциями времени и векторов поля (линейная задача), а зависят только от пространственных координат:  $\varepsilon = \varepsilon(\mathbf{r})$  и  $\sigma = \sigma(\mathbf{r})$ .

Поставим модельную задачу следующим образом. Пусть в прямоугольной области пространства с электрофизическими характеристиками  $\varepsilon_1$  и  $\mu_1$  (в дальнейшем будем рассматривать немагнитные материалы, т.е.  $\mu_1 = 1$ ) находится диэлектрическая сфера, которая характеризуется радиусом  $a_0$  и диэлектрической восприимчивостью  $\varepsilon_a = \varepsilon'_a + i\varepsilon''_a$ . Внутри сферы в местах главных максимумов интенсивности поля основной волны — «горячих точках» [7, рис. 3], расположены два (или один) источника электромагнитного поля волны флуоресценции (рис. 2).

Сами источники излучают монохроматические волны с частотой  $\omega_s$  и представляют собой шаровые области. Объемы этих областей  $V_{e1p}$  и  $V_{e2p}$ , а также амплитуды излучаемых волн  $E_{1p} \sim \sqrt{B_1^p}$  и  $E_{2p} \sim \sqrt{B_2^p}$  ( $B_1, B_2$  — значение относительной интенсивности поля возбуждающей волны  $B_L$  в максимумах освещенной и теневой полусфер) задаются в соответствии с результатами расчетов работы [7], которые мы для справки приводим на рис. 3.

Внутри и вне частицы будет происходить интерференция полей от источников с учетом преломления и отражения волн на границе микросферы. Сформировавшееся в результате этого стационарное поле флуоресценции затем анализируется на предмет вычисления эффективной угловой расходимости интенсивности излучения в освещенной  $\theta_{e1}$  и теневой  $\theta_{e2}$  (в смысле направления падения возбуждающего лазерного пучка) полусферах микрочастицы.

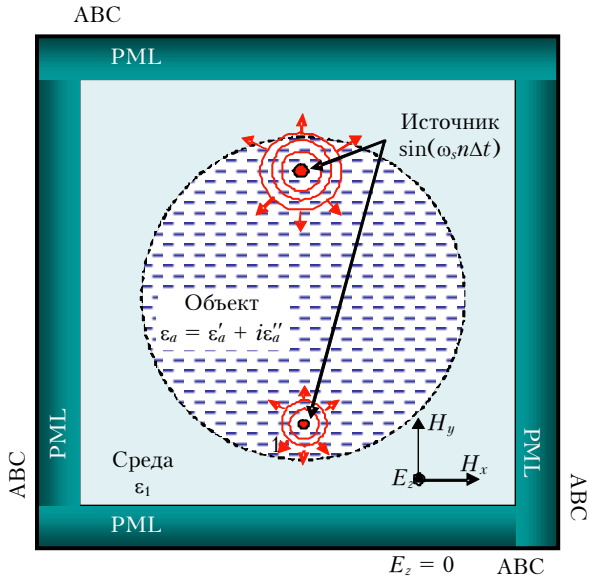


Рис. 2. Конфигурация счетной области в 2D FDTD: PML – идеально согласованные слои; ABC – слой с абсолютным поглощением ( $E_z = 0$ )

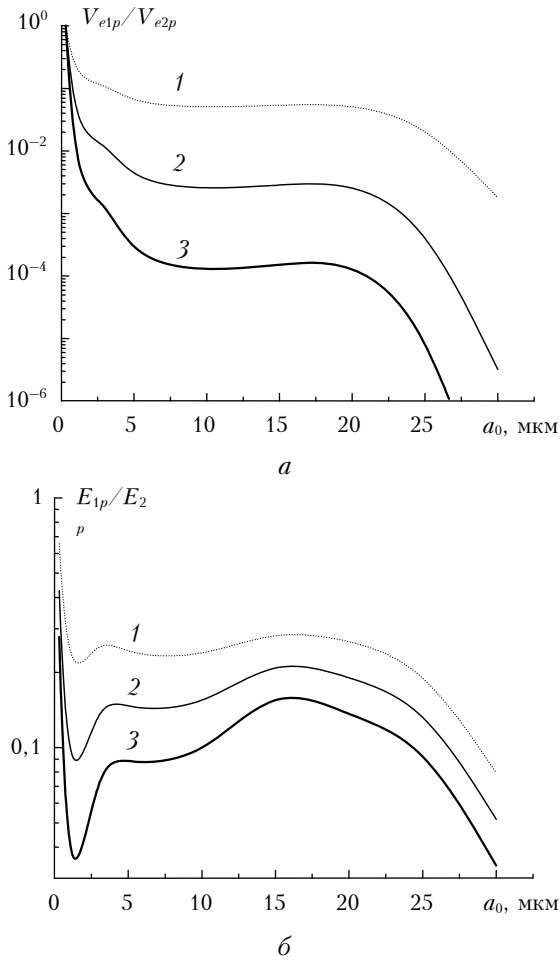


Рис. 3. Отношение эффективных объемов  $V_{e1p}/V_{e2p}$  (а) и амплитуд  $E_{1p}/E_{2p}$  (б) источников поля флуоресценции внутри капель этанола различного радиуса при значении параметра многофотонности возбуждения  $p = 1$  (1); 2 (2) и 3 (3)

Сделаем еще одно упрощение, а именно искусственно сократим размерность исходной задачи до двух пространственных измерений, предположив, что по одной из осей (пусть это будет ось  $OZ$ ) нет изменения диэлектрической проницаемости среды  $\epsilon$ , т.е.  $\partial/\partial z \rightarrow 0$ . Таким образом, мы приходим к задаче излучения источников из кругового цилиндра радиуса  $a_0$  и бесконечной длины. Замена сферы на цилиндр несомненно скажется на количественном выражении конечного результата, однако не изменит качественных выводов, при этом существенно упростив численные расчеты и последующий анализ угловой структуры поля излучения.

При моделировании двумерных задач электродинамики весь набор из шести компонент векторов поля, как известно, может быть разбит на две тройки, описывающие так называемые ТЕ- ( $E_x, E_y, H_z$ ) и ТН-волны ( $H_x, H_y, E_z$ ). Динамика каждой из этих волн может исследоваться независимо друг от друга. Физически это отвечает случаю независимого распространения в такой среде волн двух различных типов. Для определенности выберем ТН-волну, распространяющуюся в направлении оси  $OZ$ . Таким образом, двухмерная 2D-версия уравнений (1) в покомпонентной форме для ТН-волны записывается как

$$\frac{1}{c} \left( \frac{\partial D_z}{\partial t} + 4\pi\sigma E_z \right) = \frac{\partial H_y}{\partial x} - \frac{\partial H_x}{\partial y}, \quad \frac{1}{c} \frac{\partial H_x}{\partial t} = -\frac{\partial E_z}{\partial y},$$

$$\frac{1}{c} \frac{\partial H_y}{\partial t} = \frac{\partial E_z}{\partial x}. \quad (2)$$

При аппроксимации данной системы явной разностной схемой Yee получим

$$D_z^{n+1/2}(i, j) - D_z^{n-1/2}(i, j) + \frac{4\pi\sigma\Delta t}{\epsilon} D_z^{n+1/2}(i, j) + D_z^{n-1/2}(i, j) = \frac{c\Delta t}{\Delta x} \left[ H_y^n(i+1/2, j) - H_y^n(i-1/2, j) - \frac{\Delta x}{\Delta y} (H_x^n(i, j+1/2) - H_x^n(i, j-1/2)) \right]; \quad (3a)$$

$$H_x^{n+1}(i, j+1/2) - H_x^n(i, j+1/2) = -\frac{c\Delta t}{\Delta y} [E_z^{n+1/2}(i, j+1) - E_z^{n+1/2}(i, j)]; \quad (3b)$$

$$H_y^{n+1}(i+1/2, j) - H_y^n(i+1/2, j) = \frac{c\Delta t}{\Delta x} [E_z^{n+1/2}(i+1, j) - E_z^{n+1/2}(i, j)]. \quad (3b)$$

Здесь все функции задаются в области  $S = \{(x, y, t): 0 \leq x \leq L_x, 0 \leq y \leq L_y, 0 \leq t \leq T\}$ , на которую накладывается пространственно-временная сетка:

$$s_{i,j}^n = \{(x_i, y_j, t^n) : x_i = i\Delta x, i = 0 \dots N_x; y_j = j\Delta y, j = 0 \dots N_y; t^n = n\Delta t, n = 0 \dots N\}.$$

Значение сеточной функции  $G(x, y, t)$  в узле  $(x_i, y_j, t^n)$  обозначено как  $G^n(i, j)$ . Поскольку в (3) использована явная разностная схема, то для обеспечения ее устойчивости при циклах вычисления полей необходимо выполнение специального условия на величину временного шага:  $c\Delta t \leq \sqrt{1/(\Delta x)^2 + 1/(\Delta y)^2}$  в двумерной схеме или  $c\Delta t \leq \sqrt{1/(\Delta x)^2 + 1/(\Delta y)^2 + 1/(\Delta z)^2}$  в трехмерной. Обычно при расчетах используют так называемый «магический шаг»:  $\Delta t = \Delta x/(2c)$ , полагая при этом  $\Delta x = \lambda_m/10$  и  $\Delta x = \Delta y = \Delta z$ , где  $\lambda_m$  — длина волны, соответствующая наивысшей частоте в спектре исследуемого поля.

Алгоритм вычисления полей в (3) производится рекурсивно, т.е. значения сеточных функций на те-

кущем временном слое вычисляются с помощью уже рассчитанных величин на предыдущем слое. Порядок счета уравнений в системе (3) соответствует их порядку при записи в тексте.

Все счетное пространство для предотвращения отражения от границ, как правило, заключается в матрицу, содержащую набор идеально согласованных слоев «Perfectly Matched Layer» (PML), которые обладают низким коэффициентом отражения даже при острых углах падения волн, хотя и значительно повышают требования к вычислительным ресурсам (см. рис. 2).

Обратимся к представленным на рис. 4–6 результатам численного моделирования флуоресценции от сферической капли.

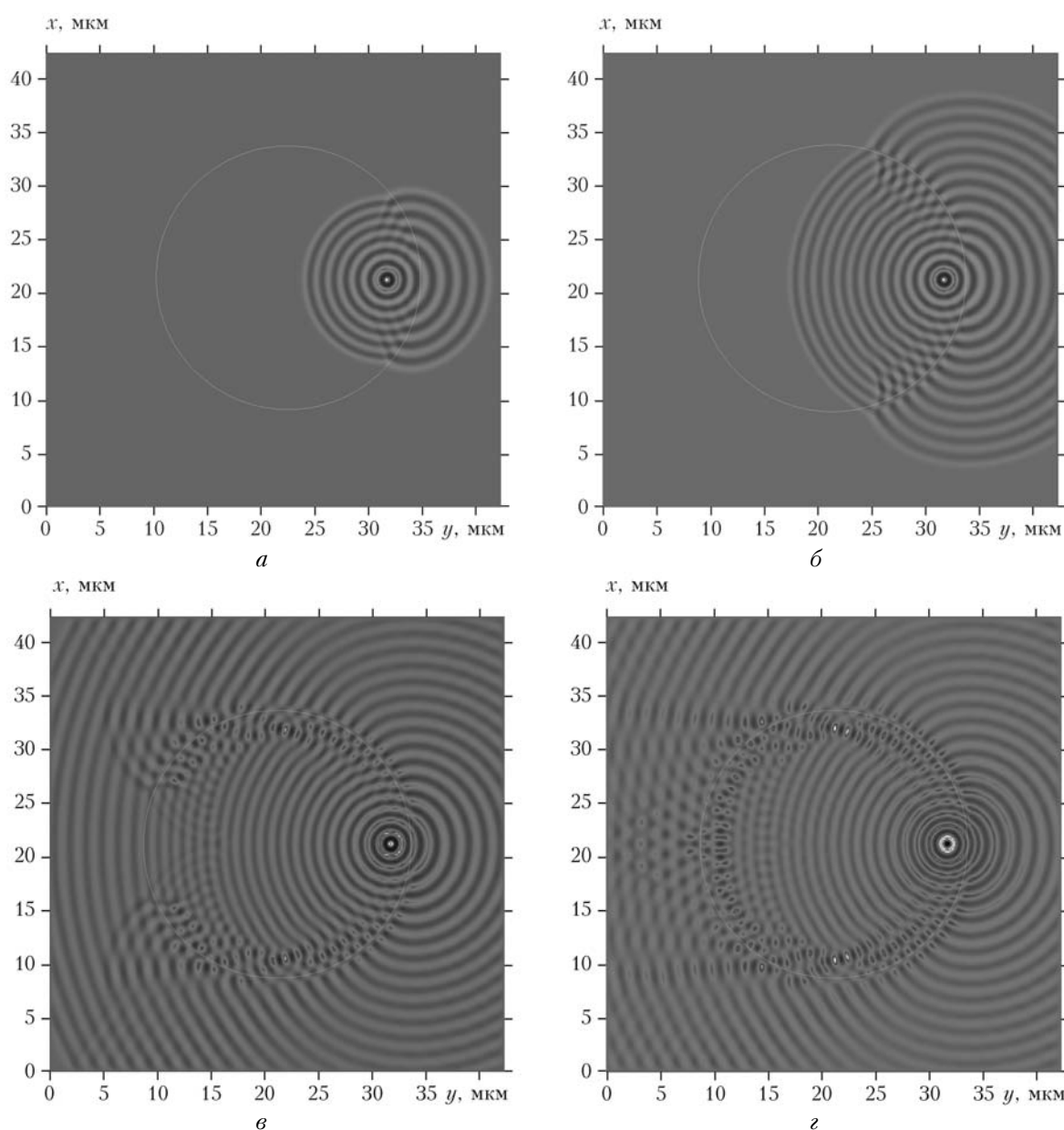


Рис. 4. Пространственное распределение амплитуды электрического поля  $E_2$  в окрестности капли этанола в различные моменты времени  $t = 15$  (а); 30 (б); 100 (в) и 300 фс (г) от начала действия внутри капли одиночного источника флуоресценции (показан светлой точкой)

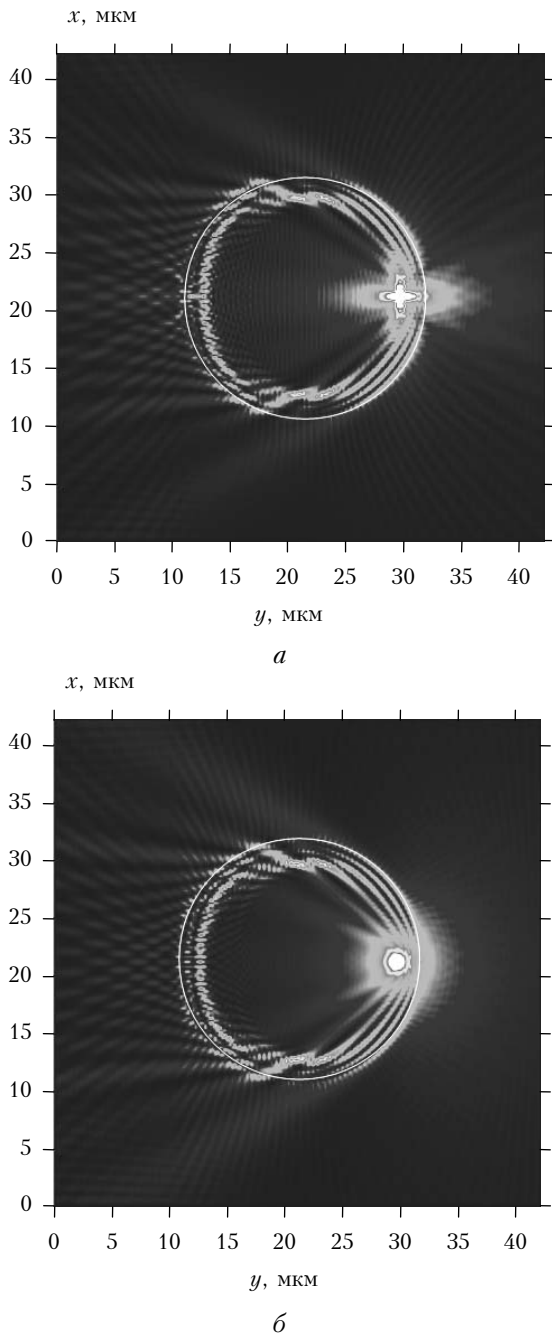


Рис. 5. Квадрат усредненной по времени амплитуды электрического поля в окрестности капли этанола при действии двух (а) и одного (б) источников поля

Расчет проводился при следующих значениях параметров: радиус капли этанола  $a_0 = 10$  мкм с  $\epsilon_a = (1,36 + i \cdot 0)^2$ , круговая частота излучения флуоресцентных источников  $\omega$ , соответствует длине волны  $\lambda_s = 0,4$  мкм, сеточный домен  $s_{i,j}^n = \{1400 \times 1400 \times 5000\}$ , окружающая среда – воздух ( $\epsilon_1 = 1$ ). В качестве источников поля флуоресценции задавались круговые излучающие площадки с центрами, расположенными при одном и том же значении радиальной координаты  $r/a_0 = 0,8$  в обеих полусферах частицы. Разной была их площадь:  $S_{e1p} = (V_{e1p})^{2/3}$  в теневой и  $S_{e2p} = (V_{e2p})^{2/3}$

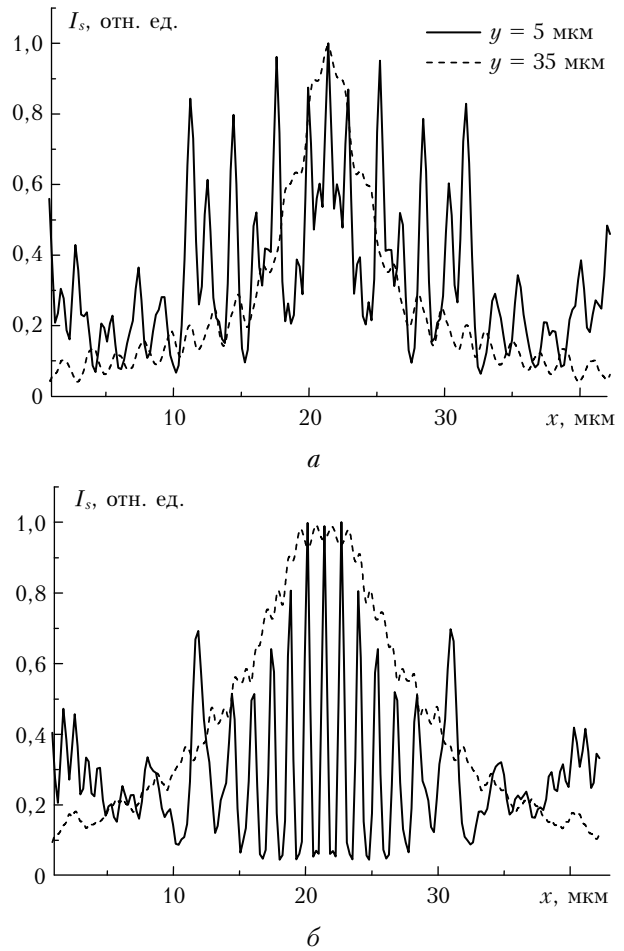


Рис. 6. Поперечные профили интенсивности электрического поля, моделирующие флуоресценцию из капли при одно- (а) и трехфотонном поглощении (б)

в освещенной полусфере (см. рис. 3), а также относительная амплитуда:  $E_1/E_2 \sim (B_1/B_2)^{p/2}$ . Таким образом, в пределах излучающих площадок действовал гармонический «жесткий» источник:

$$D_{z1,2}^n(i, j) = \epsilon_a E_{1,2} \sin(\omega_s n \Delta t); (x_i, y_j) \in S_{e1p, e2p}$$

Пространственно-временную динамику излучения одиночного источника, находящегося внутри сферического объема, представляет серия тоновых распределений на рис. 4. Эту ситуацию можно представить как флуоресценцию при трехфотонном поглощении, когда объем излучающего в теневой полусфере источника существенно больше, чем объем источника в освещенной полусфере (см. рис. 3, а). Отчетливо видно, как по мере движения внутри частицы первоначально сферический волновой фронт постепенно деформируется вследствие интерференции падающей и отраженной от границы капли волн. При этом происходят снижение кривизны волнового фронта и формирование дифракционной ряби. В противоположном направлении, т.е. по ходу возбуждающего излучения, влияние интерференции и соответствующие деформации фронта волны незначительны и связаны, в основном, только с изменением

скорости распространения волны после выхода ее из частицы.

На рис. 5 показано двумерное распределение усредненной по времени интенсивности электрического поля

$$I_s(x, y) = \frac{1}{T} \sum_{n=1}^N E_z^2(x, y, t^n) \quad (\text{в условных}$$

единицах) в окрестности капли при действии внутри нее двух источников с  $S_{e1p}/S_{e2p} = 10$  и  $E_1/E_2 = 0,25$ , что моделирует случай флуоресценции при однофотонном поглощении, а также одиночного источника в теневой области, т.е. флуоресценцию при поглощении трех фотонов. Соответствующие этим случаям профили интенсивности  $I_s(x)$ , полученные вертикальным сечением поверхности  $I_s(x, y)$  при различных координатах  $y$ , приведены на рис. 6.

Характер распределения интенсивности поля в левой и правой полуплоскостях пространства, как видно из рис. 5, существенно разный. Слева от частицы, что отвечает направлению навстречу к источнику, возбуждающему флуоресценцию (фемтосекундный импульс), формируется широкий пучок слабо-расходящегося «прожекторного» излучения второй волны с шириной, близкой к диаметру капли. Эффективная угловая расходимость  $\theta_e = dR_{ex}(y)/dy$  этого пучка, определенная по тренду эффективной полуширины  $R_{ex}(y)$  поперечного сечения интенсивности поля флуоресценции в данной полуплоскости:

$$R_{ex}(y) = \left[ \frac{1}{\int_0^{L_x} I_s(x, y) dx} \int_0^{L_x} (x^2 - x_c^2) I_s(x, y) dx \right],$$

где  $x_c = \frac{1}{\int_0^{L_x} I_s(x, y) dx} \int_0^{L_x} x I_s(x, y) dx$  — центр тяжести

одномерного распределения, составляет порядка  $\theta_{e1} \approx 5$  и  $3^\circ$  для вариантов полей (см. рис. 5, а, б). Поперечный профиль интенсивности поля в зоне «прожектора» сильно изрезан (см. рис. 6) вследствие интерференции многократно отраженных и преломленных поверхностью частицы волн.

Излучение источников флуоресценции в правую полуплоскость, т.е. по ходу возбуждающего излучения, имеет совершенно иное пространственное распределение. Здесь виден широкий конус излучения, исходящий из наиболее интенсивного источника внутри частицы. Используя, как и в предыдущем случае, бытовую аналогию, назовем этот световой пучок излучением «фонаря». Поскольку основной источник в рассматриваемой области пространства расположен вблизи поверхности капли, то световые лучи, исходящие из него, претерпевают всего одно преломление, после чего распространяются в окружающее пространство, практически не изменяя своего первоначального направления. В силу изотропности излучения самого источника интерференция световых потоков здесь слаба, и поэтому профиль интенсивности поля более гладкий, как это показывает соответствующее распределение на рис. 6.

Оценка параметра угловой расходимости для правой полуплоскости дает значения  $\theta_{e2} \sim 20$  и  $35^\circ$

для распределений (см. рис. 5, а, б), что в несколько раз выше, чем расходимость «прожекторного» пучка. Кроме того, если сравнивать между собой случаи однофотонно возбужденной флуоресценции и флуоресценции в результате поглощения активной молекулой сразу нескольких фотонов, то одновременное действие двух источников вторичного поля приводит к снижению расходимости «фонаря» при одновременном усилении интерференционной ряби поперечного распределения интенсивности (ср. штриховые линии на рис. 6).

Таким образом, численное моделирование с использованием FDTD-метода пространственного распределения поля флуоресценции, сформированного источниками, находящимися в местах «горячих» зон внутри сферической частицы, показало, что поле флуоресценции, излученное из задней и передней полусфер (по отношению к направлению возбуждающего излучения), характеризуется различной угловой направленностью соответственно в форме «прожекторного» пучка и «фонаря». С повышением порядка многофотонности возбуждения флуоресценции этанола, что в модельной задаче соответствовало увеличению дисбаланса между мощностью источников, направленность излучения «фонаря» снижается. При этом эффективная угловая расходимость «прожекторного» пучка меняется незначительно. Представленные результаты численных расчетов находятся в полном соответствии с результатами качественного анализа угловой направленности флуоресценции капли, проведенного с помощью метода геометрической оптики [7], а также согласуются с выводами экспериментальной работы [4].

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы № 8.1 ОФН РАН.

1. Xu C., Zipfel W., Shear J.B., Williams R.M., Webb W.W. Multiphoton fluorescence excitation: new spectral windows for biological nonlinear microscopy // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 10763–10768.
2. Gratton E., Barry P.N., Beretta S., Celli A. Multiphoton fluorescence microscopy // Methods. 2001. V. 25, Iss. 1. P. 103–110.
3. Kasparian J., Rodriguez M., Mejean G., Yu J., Salmon E., Wille H., Bourayou R., Frey S., Andre Y.-B., Mysyrowicz A., Sauerbrey R., Wolf J.-P., Woeste L. White-light filaments for atmospheric analysis // Science. 2003. V. 301, N 5629. P. 61–64.
4. Hill S.C., Boutou V., Yu J., Ramstein S., Wolf J.-P., Pan Y.-L., Holler S., Chang R.K. Enhanced-backward directed multi-photon-excited fluorescence from dielectric microcavities // Phys. Rev. Lett. 2000. V. 85, N 1. P. 54–57.
5. Boutou V., Favre C., Hill S.C., Pan Y.-L., Chang R.K., Wolf J.-P. Backward enhanced emission from multiphoton processes in aerosols // Appl. Phys. B. 2002. V. 75, N 2–3. P. 145–152.
6. Pan Y.-L., Hill S.C., Wolf J.-P., Holler S., Chang R.K., Bottiger J.R. Backward-enhanced fluorescence from clusters of microspheres and particles of tryptophan // Appl. Opt. 2002. V. 41, N 15. P. 2994–2999.
7. Гейнц Ю.Э., Землянов А.А., Панина Е.К. Характеристики углового распределения интенсивности мно-

- гофотонно возбужденной флуоресценции в сферических каплях // Изв. вузов. Физ. 2007. Т. 50, № 12. С. 19–25.
8. *Taflove A., Hagness S.* Computational electrodynamics: The finite-difference time-domain method. Boston: Artech House Pub., 2000. 852 p.
9. *Дифракционная компьютерная оптика* / Под ред. В.А. Сойфера. М.: Физматлит, 2007. 736 с.
10. *Yee K.S.* Numerical solution of initial boundary value problems involving Maxwell's equations in isotropic media // IEEE Trans. Antennas and Propag. 1966. N 14, Iss. 3. P. 302–307.

***Yu.E. Geints, A.A. Zemlyanov, E.K. Panina. Modeling of multiphoton-excited fluorescence from spherical droplet irradiated by an ultrashort laser radiation, using the method of computation electrodynamics.***

On the basis of a FDTD-technique to the solution of the Maxwell equations the numerical modeling of two-dimensional spatial field distribution of multi-photon excited fluorescence in the vicinity of a micron spherical ethanol droplet upon illumination by laser beam was carried out. It is considered that fluorescence sources are located in “hot spots” in a spherical particle and can have various capacity and volume. It is established that the field of fluorescence radiated from back and forward hemispheres of a particle (in relation to a direction of exciting radiation), is characterized by a various orientation. With the increase of multi-photon order of the excitation of fluorescence from ethanol droplet and corresponding increase in a disbalance between sources capacity, the fluorescence is emitted primarily in the “forward” direction; the effective angular divergence of fluorescence in the “backward” direction changes insignificantly.