### **ΥCΠΕΧΗ ΦΗ3ΗΨΕCΚΗΧ ΗΑΥΚ**

### ПРИБОРЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

# Фототермическая и оптоакустическая спектроскопия: современное состояние и перспективы

### М.А. Проскурнин, В.Р. Хабибуллин, Л.О. Усольцева, Е.А. Вырко, И.В. Михеев, Д.С. Волков

Рассмотрены основные задачи и области применения фототермической и оптоакустической спектроскопии. Обсуждаются направления развития новых методов в наиболее широко развивающихся областях: микроспектроскопии, мультиспектральных методиках, измерениях отдельных частиц и объектов с разрешением выше дифракционного предела (наноскопии), включающих как оптические, так и зондовые методы. Рассмотрены возможности методов фототермической и оптоакустической спектроскопии для установления свойств материалов, в исследованиях фотохимии и флуоресценции, химических реакций, в аналитической и прикладной химии, а также при решении биомедицинских задач. Представлены перспективы развития рассматриваемых методов.

Ключевые слова: фототермическая спектроскопия, оптоакустическая спектроскопия, фотоакустическая спектроскопия, фотоника, нанофотоника, биофотоника, микроспектроскопия, оптоакустическая томография, наноскопия, тепловая спектроскопия, методы дистанционного анализа и мониторинга, неразрушающий контроль, науки о материалах, функциональные материалы, тераностика, фотохимия, флуоресценция, аналитическая химия, термодинамика

PACS numbers: 07.60. - j, 42.30.Wb, 43.35.Sx, 43.35.Ud, 78.20.nb, 78.20.N - , 78.20.Pa, 81.70.Cv, 82.80.Kq, 87.19.Pp DOI: https://doi.org/10.3367/UFNr.2021.05.038976

### Содержание

- 1. Введение (295).
- 2. Краткая характеристика фототермической и оптоакустической спектроскопии (295).
- Фототермическая и оптоакустическая микроскопия и микроспектроскопия (298).

3.1. Фототермическая микроспектроскопия. 3.2. Оптоакустическая микроскопия и томография. 3.3. Мультиспектральные методы. 3.4. Оптическая фототермическая наноскопия. 3.5. Зондовая фототермическая микроспектроскопия (наноскопия).

4. Установление свойств материалов (309).

4.1. Теплофизические параметры. 4.2. Диффузионный массоперенос. 4.3. Спектры поглощения, слабопоглощающие среды, нелинейные явления.

 Фототермическая и оптоакустическая спектроскопия в исследованиях фотохимии и флуоресценции (313).

5.1. Контроль за протеканием фотохимических и фотоиндуцированных реакций. Определение квантовых выходов. 5.2. Ре-

# М.А. Проскурнин<sup>(\*)</sup>, В.Р. Хабибуллин, Л.О. Усольцева, Е.А. Вырко, И.В. Михеев, Д.С. Волков

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет,

Ленинские горы 1, стр. 3, 119991 Москва, Российская Федерация E-mail: (\*) proskurnin@gmail.com

Статья поступила 26 августа 2020 г., после доработки 18 февраля 2021 г.

акции с участием возбуждённого триплетного состояния молекул. 5.3. Сочетание фототермической спектроскопии с флуориметрией. 5.4. Тушение флуоресценции. 5.5. Фототермическая термометрия.

#### 6. Исследование химических реакций (317).

6.1. Контроль за протеканием химических реакций по изменению оптических свойств. 6.2. Контроль за протеканием химических реакций по изменению температуропроводности. 6.3. Реакции с возникновением или переносом заряда. Электрострикция. 6.4. Неразветвлённые цепные реакции.

 Фототермическая и оптоакустическая спектрометрия в аналитической и прикладной химии (322).

7.1. Одновременное определение концентрационных и теплофизических параметров. 7.2. Криминалистическая и искусствоведческая экспертиза. 7.3. Определение единичных молекул или частиц. 7.4. Инфракрасная спектроскопия.

- Биомедицинское применение фототермической и оптоакустической спектроскопии (326).
  - 8.1. Теплофизические параметры биологических систем.
  - 8.2. Оптические параметры и количественные измерения.

8.3. Фототермическая и оптоакустическая проточная цитометрия. 8.4. Фототермическая терапия, тераностика и доставка лекарственных средств.

9. Проблемы и перспективы (329).

9.1. Теория и методология. 9.2. Приборное обеспечение. 9.3. Биомедицинские задачи. 9.4. Материаловедение и химические науки.

- 10. Глоссарий (334).
- Список литературы (335).

### 295

### 1. Введение

Методы, называемые фототермической и оптоакустической (фотоакустической) или обобщённо фототермоакустической спектроскопией, являются одним из важных направлений развития спектроскопии и теплофизики, а также химического анализа, контроля и диагностики природных и технологических материалов и живых систем. Фототермические и оптоакустические методы основаны на измерении и анализе тепловой релаксации поглощённого электромагнитного излучения и его следствиях — оптических и акустических явлениях соответственно. Указанные методы относятся к абсорбционной спектроскопии и обладают широким набором возможностей.

1. Прежде всего, это высокая чувствительность, позволяющая детектировать отдельные частицы и молекулы. Фототермические и оптоакустические методы позволяют определять светопоглощение в жидких и твёрдых образцах на уровне до  $10^{-9} - 10^{-6}$  единиц оптической плотности, концентрации веществ до  $10^{-11}$  M, анализировать объёмы до 1 фл.

2. Фототермические и оптоакустические методы обладают возможностью одновременного определения различных параметров, прежде всего оптических и теплофизических, исследуемого объекта, при этом они позволяют исследовать объекты недеструктивно.

Благодаря постоянно совершенствующейся технической базе фототермическая и оптоакустическая спектроскопия обладает широким спектральным диапазоном, от дальней ультрафиолетовой (УФ) до дальней инфракрасной (ИК) области.

4. Фототермические и оптоакустические методы характеризуются пространственным разрешением, которое может быть выше дифракционного предела, что привело к созданию методов микроскопии, микроспектроскопии и наноскопии.

5. Методы фототермической и оптоакустической спектроскопии могут быть использованы для широкого круга соединений, практически для всех сложных объектов. В последние годы тенденцией стало применение этих методов к таким объектам, как сложные гетерогенные конденсированные системы, для которых затруднительно или невозможно использовать другие методы определения оптических и тепловых параметров *in situ* и *in vivo*.

Фототермическая и оптоакустическая спектроскопия всё более востребована в материаловедении, при решении биомедицинских задач и сложных задач фотоники, химическом и микроскопическом анализе сложных объектов, причём уровень работ постоянно повыается. Это сопровождается ростом числа прикладных и комбинированных решений. Последние разработки включают в себя создание приборов и методик прикладного материаловедения, клинической диагностики и тераностики (одновременной диагностики и терапии в одних и тех же условиях воздействия), а также химического микроанализа.

В последние годы опубликовано достаточно много монографий или отдельных глав в монографиях, посвящённых рассматриваемым методам [1-8], и большое число обзоров [9-35]. Настоящий обзор отличается от них по нескольким причинам. В указанных работах основное внимание уделяется фундаментальным основам явлений и процессов или параметрам приборов и их типам, описываются также основные сложившиеся обла-

сти использования и объекты. Более частные обзоры [9– 11, 14, 15, 17, 36–38] посвящены специфическим задачам отдельных методов: детектированию, мониторингу, дефектоскопии, предклинической и клинической диагностике и др. — или определённым целевым объектам.

В настоящем обзоре мы поставили цель в какой-то мере обобщить описанные выше возможности фототермической и оптоакустической спектроскопии. Однако мы не рассматриваем здесь подробно основы методов и их базовые известные приложения — всё это можно найти в обзорах и монографиях [1-3, 5, 9-16, 18-20, 36]. Напротив, на основе прорывных работ последних лет в области оптоакустической томографии, мультиспектрального картирования, наноскопии, фототермической зондовой спектроскопии и других тенденций и подходов мы рассматриваем перспективы развития фототермической и оптоакустической спектроскопии, в том числе в материаловедении, химии и биомедицине.

Наконец, многие из опубликованных на сегодня обзоров относятся либо к физике, лежащей в основе фототермических и оптоакустических явлений, либо часто к конкретным решениям биомедицинских и клинических задач. Однако химические науки, по само́й своей сути, лежат в основе мультидисциплинарных исследований в указанной области. При этом физическая и аналитическая химия как науки, ориентированные на достижение ключевых целей развития естественных наук, владеющие технологией исследований (методологией) и опирающиеся на современные инструментальные возможности исследования, являются ещё одним фокусом внимания настоящего обзора.

# 2. Краткая характеристика фототермической и оптоакустической спектроскопии

Как фототермическая, так и оптоакустическая спектроскопия основаны на детектировании и анализе термически индуцированных изменений в образце при его взаимодействии с электромагнитным излучением. В основе этих методов лежат безызлучательные переходы возбуждённых молекул, вызванные поглощённой частью излучения, проходящего через образец (фототермические эффекты), и их следствия — термооптические и оптоакустические явления (рис. 1). Фототермическая и оптоакустическая спектроскопия дополняют другие, прежде всего высокочувствительные, методы молекулярного абсорбционного спектроскопического анализа, основанные на пропускании или отражении электромагнитного излучения. Кроме того, фототермические и оптоакустические методы менее подвержены влиянию светорассеяния, поскольку только поглощённое излучение вызывает фототермические эффекты.

Помимо того, фототермическая и оптоакустическая спектроскопия относятся и к теплофизическим методам исследования, поскольку рассматриваемые эффекты связаны с распределением тепла, а значит, зависят от теплофизических параметров испытуемого образца. Таким образом, фототермические и оптоакустические методы используют для получения информации о теплопроводности, температуропроводности, теплоёмкости, удельной теплоёмкости, коэффициенте теплового расширения, вязкости и т.д. Эти методы позволяют также получить спектры возбуждения фототермических свойств, так называемые *тепловые спектры*, исследуемых объектов [39, 40].



Рис. 1. (В цвете онлайн.) Общая схема формирования фототермических и оптоакустических эффектов и конкурирующие процессы.

Такая двойственная природа фототермической и оптоакустической спектроскопии обеспечивает одновременное измерение нескольких сигналов, которые поразному зависят от оптических и тепловых свойств испытуемого объекта. Причём фототермические методы превосходят по чувствительности как чисто оптические, так и чисто тепловые методы, поскольку они основаны на взаимозависимости изменений оптических и тепловых свойств, совместно способствующих повышению чувствительности [41].

Наконец, методы фототермической и оптоакустической спектроскопии применимы как для объёмно-поглощающих, так и для поверхностно-поглощающих образцов, а также для слоистых и дискретно поглощающих материалов. Важной характеристикой многих из этих методов является возможность профилирования по глубине образца (depth profiling) посредством изменения частоты прерывания (или частоты повторения импульсов) индуцирующего излучения, что приводит к разной глубине распространения тепловых волн в исследуемом объекте.

Поскольку источником возбуждения фототермических и оптоакустических эффектов часто является лазер, луч которого можно сфокусировать до ограниченного по длине волны пространства (дифракционный предел), большинство соответствующих методов реализуется как микроскопические, визуализирующие или микроспектроскопические (см. раздел 3).

Фототермические методы классифицируют в соответствии с результатом фототермического возбуждения при нагревании, вызванном поглощением энергии и последующей тепловой релаксацией (см. рис. 1). Это приводит к следующим процессам во всём образце или в его поверхностных (подповерхностных) слоях: 1) фототермической генерации тепловых волн; 2) формированию неоднородного пространственного поля (профиля) температуры, проявляющегося как поля показателя преломления или плотности (термооптические эффекты и *термооптические методы* фототермической спектроскопии); 3) испусканию вторичного излучения нагретой поверхностью образца (методы *фототермической радиометрии*).

Оптоакустический эффект был открыт Дж. Беллом более 100 лет назад для газов. Современный этап развития оптоакустической спектроскопии (ОАС) начался с появления источников лазерного возбуждения. С 1980-х годов ОАС применяют для конденсированных сред, поскольку для таких сред разработаны физические основы оптоакустического эффекта [42, 43]. Многие из методов ОАС являются достаточно простыми и характеризуются широким линейным диапазоном сигналов, малыми временами измерения, небольшими объёмами тестовых образцов [6]. Как и в спектроскопии пропускания, существуют два основных типа реализации ОАС. Первый — одноволновая или сканирующая спектрометрия на основе лазеров или ламп, работающих в ближнем УФ-диапазоне, видимом и ближнем ИК-диапазонах. Второй вариант — применение ОАС в ИК-интерферометрах. Очень часто при описании возможностей ОАС указывают только лазерно-индуцированные варианты, но возможности ОАС-ИК-фурье-спектроскопии не менее значимы [6, 37]. ОАС применима для объектов в любом агрегатном состоянии.

Фототермическая спектроскопия (ФТС) основана на других следствиях тепловой релаксации поглощённой энергии (см. рис. 1). Термин "фототермическая спектроскопия" является общим для достаточно большого числа методов. Термооптические методы ФТС обычно классифицируют по действию (или форме) пространственного профиля, напоминающего определённый оптический элемент [1], т.е. термооптического элемента (тепловая линза или термолинза, тепловое зеркало, тепловая дифракционная решётка и т.д.)<sup>1</sup>.

Применение термооптических методов основано на том факте, что характеристический параметр термооптического элемента (например, сила тепловой линзы) прямо пропорционален параметрам светопоглощения образца, а следовательно, концентрации и коэффициенту поглощения исследуемого соединения. Как и в ОАС, хотя и в меньшей степени, термооптический сигнал менее зависит от светорассеяния по сравнению с сигналом в случае спектроскопии пропускания. Фототермические методы считаются более чувствительными, чем большинство методов ОАС. Линейность сигнала в ФТС (как правило, около трёх порядков) сравнима с таковой в обычных измерениях пропускания и уже, чем при оптоакустических измерениях, из-за нелинейного характера параметров оптических элементов, используемых в качестве аппроксимационных моделей для линейных сигна-

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Термин *термооптический* чаще относят к методам измерения и анализа, а *фототермический* — к явлениям. Таким образом, общим термином для рассматриваемой группы методов является "термооптическая спектроскопия", а названия частных методов должны включать в себя слово "фототермический", поскольку содержат наименование явления, например, "спектроскопия фототермического отклонения". В силу исторических причин исключение представляет собой термин "термолинза", хотя в данном случае более корректным названием является "фототермическая линза".

лов, зависящих от оптической плотности или концентрации [1].

Термолинзовая спектрометрия (ТЛС) является самым распространённым фототермическим методом исследования жидких сред и чаще других методов ФТС используется в прикладной и аналитической химии [1, 4]. Тепловая релаксация приводит к неоднородному пространственному профилю показателя преломления в образце, действующему как линза (термолинзовый эффект, или эффект тепловой линзы). Её оптическая сила пропорциональна поглощению образца и, следовательно, концентрации и поглощающей способности поглотителя.

Для твёрдых образцов в оптическом и инфракрасном диапазонах среди термооптических методов наиболее распространена спектроскопия фототермического отклонения (ФТО) (фототермическая дефлекционная, или термодефлекционная, спектроскопия) [1, 44-47]. Модулированный или импульсный фототермический нагрев образца с плоской поверхностью приводит к тепловой релаксации, что вызывает температурное поле и тепловые волны не только в самом образце, но и в так называемой контактной среде (воздух, продувочный газ или контактная жидкость) над ним, вследствие чего возникает градиент показателя преломления в этой среде, который в свою очередь приводит к отклонению зондирующего луча, распространяющегося в контактной среде параллельно поверхности образца (эффект миража) или под определённым углом к образцу (фототермическое зеркало) [48]. Величина эффекта связана с поглощающей способностью и тепловыми свойствами (теплоёмкость, теплопроводность) поверхности, а также окружающей среды. Помимо высокой чувствительности, преимущество ФТО-спектроскопии состоит в том, что в большинстве случаев можно избежать подготовки поверхности сложных образцов. Минимальная подготовка, состоящая в незначительном измельчении образца, повышает чувствительность и позволяет избежать эффектов спектрального отражения [1, 44, 49, 50].

Фототермическая радиометрия (ФТР) используется для исследования поглощения поверхностей и слоистых объектов [1, 2]. Частичное поглощение модулированного или импульсного лазерного излучения приводит к тепловым волнам. Фототермически возбуждённый образец испускает вследствие тепловой релаксации вторичное ИК-излучение, которое обнаруживается ИК-детектором. Количество излучаемой энергии пропорционально коэффициенту поглощения образца. В ФТР скорость развития сигнала значительно выше, чем в других фототермических методах. Последнее объясняется тем, что развитие поверхностной деформации и градиента температуры в окружающей среде требует значительного времени по сравнению с временем тепловой релаксации.

Преимуществами ФТР являются дистанционное зондирование, простота экспериментальной установки и высокое пространственное и временное разрешение  $(10^{-6}-10^{-5} \text{ с}, \text{ до } 10^{-8}-10^{-7} \text{ с} для импульсных методов)}$ [2, 14, 51–54]. Латеральное пространственное разрешение ФТР определяется фокусировкой индуцирующего излучения и не отличается от такового в других оптоакустических и фототермических методах. Так же как и в ОАС, и в ФТО-спектроскопии, длина термодиффузии материала характеризует предельную глубину проникновения тепловой волны, до которой ФТР эффективна. Временное разрешение метода определяется откликом вторичного излучения, регистрируемого тепловым, или инфракрасным, детектором и ограничивается его временем отклика. В целом, параметры ФТР позволяют использовать этот метод для получения спектров поглощения промежуточных продуктов и контроля над быстрыми процессами [55–58].

Фототермические и оптоакустические методы также подразделяют на две основные категории: *бесконтактные*, с использованием удалённой системы детектирования, и *контактные*, когда образец находится в непосредственном контакте с системой детектирования [48].

Помимо стационарных сигналов, соответствующих достижению теплового равновесия, для рассматриваемых явлений важны переходные параметры формирования и диссипации индуцированных тепловых полей и волн, что делает принципиально важными *время-разрешённые измерения*. В первом приближении амплитуда сигнала в фототермической спектроскопии пропорциональна светопоглощению, а скорость изменения сигнала определяется теплофизическими свойствами исследуемого объекта, его динамическими характеристиками, прежде всего температуропроводностью и тепловой инерцией.

Как и в других областях спектроскопии, существует классификация фототермических и оптоакустических методов по способу изучения теплового отклика как функции во временной области (time-domain) или в частотной области (frequency domain) [59]. Во многих вариантах измерений используют также эванесцентные (стоячие) тепловые волны, по которым рассчитывают светопоглощение и (или) теплофизические параметры объекта. Этот вариант измерений в частотной области называют пространственной областью ФТС (spatial-domain photothermics) [60, 61]. В целом, различие характеристических времён приводит к тому, что основная информация зависит от времён исследования процессов. В результате фототермические методы могут быть классифицированы в соответствии с характеристическими временами основного процесса зондирования.

Первая группа включает в себя методы, основанные на быстрых (микросекундных или меньших временны́х масштабов) фототермических явлениях, такие как ФТР, метод время-разрешённой фототермически индуцированной тепловой дифракционной решётки [62–64], метод импульсного вынужденного теплового рассеяния (Impulsive Stimulated Thermal Scattering, ISTS) [65–67] и другие *гетеродиные* методы (см. раздел 3.4.2). Обычно детекторы в указанных методах являются когерентными и работают во временно́й области. Область применения таких методов: изучение динамики переноса заряда [68, 69], термоупругих свойств, [65] сверхбыстрого переноса тепла внутри наночастиц (HЧ) [70–72].

Ко второй группе методов относятся ТЛС и спектроскопия ФТО, которые соответствуют достижению стационарного состояния или переходным измерениям на масштабах от нескольких миллисекунд до нескольких секунд. Временное разрешение этих методов ограничено снизу характеристическим временем прохождения звуковой волны за пределы облучаемой области [58]. Детектирование в таких методах чаще всего соответствует частотной области. Эти относительно медленные фототермические методы используют для исследования установившихся равновесий, оценки тепловых макропараметров жидкостей, получения спектров и исследования

297

теплообмена между фазами дисперсной среды и, таким образом, теплофизических параметров объекта в целом [73, 74].

Вследствие того что во всех методах, основанных на поглощении электромагнитного излучения сложными объектами, есть спектральные интерференции, в фототермической и оптоакустической спектроскопии важную роль играют разностные (дифференциальные) методы, позволяющие снизить влияние мешающих сигналов. Реализация этих методов зависит от того, работают ли они в частотной или временной области. В амплитудных и медленных методах, таких как ТЛС, дифференциальный вариант измерений основан на компенсации фонового сигнала. В этом варианте перед перетяжкой индуцирующего лазера ставится кювета с образцом сравнения. В кювете образуется термолинза, сигнал которой пропорционален сумме светопоглощения всех компонентов, ответственных за фоновый сигнал. Сигнал во второй (основной) кювете на таком же расстоянии, но после перетяжки индуцирующего луча определяется светопоглощением как целевого компонента, так и фона. В результате собирающее действие термолинзы в первой кювете компенсирует уширение зондирующего луча, возникающее за счёт поглощения компонентов, ответственных за фоновый сигнал, во второй кювете [75-81], и тогда результирующий сигнал зависит только от поглощения анализируемого компонента во второй кювете. Непосредственно в ТЛС рассматриваемый дифференциальный вариант используется достаточно редко, но он приобрёл важнейшее значение в корреляционной фототермической спектроскопии (см. раздел 3.4.3), где локальный сигнал в исследуемом образце, вызванный фототермически индуцированными НЧ, измеряется относительно сигнала реперного объёма, не содержащего частиц.

# 3. Фототермическая и оптоакустическая микроскопия и микроспектроскопия

С развитием технологий приборный и методологический потенциал фототермической и оптоакустической спектроскопии постоянно растёт, и применение этих методов становится всё более связанным с исследованиями объектов, для которых использование других методов для установления как оптических, так и теплофизических параметров затруднено. В настоящее время разработка методов фототермической и оптоакустической спектроскопии направлена на исследование и анализ сложных по составу гетерогенных конденсированных сред [1, 5]. Значимость ФТС и ОАС как методов исследования и анализа в материаловедении, химии и биомедицине возрастает, что отражается как в увеличении суммарного числа публикаций (число статей в год за последние пятьсемь лет практически утроилось), так и во всё более широком применении этих методов в биофотонике, микроспектроскопии, картировании, спектральном анализе поверхности, микро- и нанофлюидике [1, 4, 29, 31, 82-89].

В этом разделе мы кратко суммируем достижения и направления развития либо относительно новых методов фототермической и оптоакустической спектроскопии, либо в наиболее бурно развивающихся областях. К сожалению, в рамках самого обширного обзора или даже монографии невозможно с достаточно высокой степенью детализации описать все направления. Поэтому в разделах 3.1–3.5 мы остановились на направлениях, в основном связанных с микроскопией: фототермической и оптоакустической микроспектроскопии, мультиспектральных методах и измерениях отдельных частиц и объектов с пространственным разрешением выше дифракционного предела (наноскопии), включая как оптические, так и зондовые методы.

### 3.1. Фототермическая микроспектроскопия

Фототермическая микроскопия, или микроспектроскопия, используется для получения изображений образцов нефлуоресцирующих веществ размером до уровня отдельных кластеров, НЧ или молекул без применения меток и демонстрирует самую высокую чувствительность среди всех методов, основанных на оптическом поглощении [90-93]. Микроспектроскопические фототермические методы позволяют получать изображения с высоким разрешением живых тканей [90, 92], клеток [94, 95], отдельных НЧ и их агрегатов [45, 93]. Конфокальные варианты ФТМ [91, 96-98] (см. раздел 3.1.1) обладают сверхвысоким разрешением благодаря совместному использованию оптических и тепловых изображений, разрешение которых определяется характеристическими скоростями безызлучательной теплопередачи, а также временным разрешением измерений [91, 96, 99]. Таким образом, ФТС обеспечивает картирование как тепловых, так и оптических свойств образца с субмикрометровым разрешением [1, 100-103].

3.1.1. Термолинзовая микроскопия и конфокальная термолинзовая микроскопия. В термолинзовой микроскопии (ТЛМ), как и в её макроварианте, термолинзовой спектрометрии, сигналом служит пространственное распределение амплитуды и фазы зондирующего луча [12, 104]. Способ формирования сигнала и теоретическая база в ТЛС и ТЛМ во многом схожи [25, 94, 96, 105-109]. В последнее время целевыми объектами для ТЛМ являются биологические жидкости, белки, клетки и НЧ, применяемые в терапии и тераностике. Так, с помощью ТЛМ исследованы компоненты крови [83], определены различные компоненты в отдельной клетке ex vivo при низких концентрациях [110]. Показан количественный анализ гибридизации ДНК in situ за счёт разницы светопоглощения одно- и двухцепочечных ДНК на НЧ Аи в объёмах порядка нескольких фемтолитров в микрофлюидном чипе (см. ниже этот раздел, а также раздел 8). Для концентраций 50-500 нМ достигнуты пределы обнаружения 30 нМ. Наименьшее детектируемое количество ДНК составило 3 змоль ( $3 \times 10^{-21}$  моль) при времени измерения 5 мин, относительное стандартное отклонение измерений 2-3 % [111]. ТЛМ позволяет исследовать особенности протекания реакций на уровне нанограммовых количеств реагирующих веществ, а также осуществлять сочетание с микропроточными методами анализа (микропроточно-инжекционным анализом, микрофлюидным электрофорезом и микрохроматографией) и, в целом, с интегрированными системами микроанализа (микрофлюидными системами) [12, 104, 112, 113]. Основным преимуществом ТЛМ перед флуоресцентными методами является отсутствие необходимости дериватизации большинства исследуемых веществ в флуорофоры.

Как и в конфокальных вариантах большинства других оптических методов, максимальный сигнал в конфокальной фототермической микроскопии соответствует объекту в перетяжке зондирующего луча [97, 98]. Однако



Рис. 2. (В цвете онлайн.) Фототермический микроскопический (ФТМ) сигнал при визуализации со сверхвысоким разрешением золотых наноструктур. (а) Изображение, полученное с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) (слева), фрагменты линейного (в центре) и нелинейного (справа) ФТМ-изображений золотой нанопроволоки диаметром 75 нм при различных условиях. (б) Амплитуды фототермического сигнала от нанопроволоки при разных лазерных флюенсах. Латеральное (в) и аксиальное (г) разрешение ФТМ в линейном и нелинейном режимах. Штриховая линия — функция Гаусса, рассчитанная по линейной части сигнала. (д) Линейное (спева) и нелинейное (справа) ФТМ-изображения золотых наночастиц размером 90 нм. (е) ПЭМ-изображение типичного кластера наночастиц золота. (Рисунок из работы [99] воспроизводится с разрешения © 2013 John Wiley and Sons.)

в фототермической микроскопии зондирующий луч взаимодействует не с самим объектом, как во флуоресцентной микроскопии или микроскопии комбинационного рассеяния (КР) [114], а с фототермически возбуждённым полем показателя преломления вокруг поглощающего объекта, т.е. с нанотермолинзой (нанолинзой) [93, 115]. Наиболее важной особенностью конфокальной фототермической микроскопии является нелинейный эффект — значительное (в 10-50 раз) усиление сигнала для больших плотностей энергии излучения из-за нанопузырьков, образующихся вокруг фототермически возбуждённых нанообъектов [99, 116, 117]. Нелинейный оптический отклик объясняется значительной разницей между показателями преломления пузырька и окружающей среды [118, 119]. Продолжительность жизни фототермического нанопузырька зависит от нагрева и плотности потока мощности и для импульсного возбуждения длительностью порядка 10 нс составляет от 100-200 нс до 300-1000 нс для более крупных пузырьков (диаметром 1-3 мкм) [117]. Важной особенностью этого нелинейного фототермического эффекта является то, что калибровка по светопоглощению или концентрации остаётся линейной для определённого диапазона энергий после появления нелинейности (вплоть до значений плотности энергии, в 3-5 раз превышающих порог возникновения нелинейности) [99] (рис. 2).

Согр. (США) объявила о выпуске ИК-микроскопа mIRrage<sup>®</sup>, основанного на принципе оптической фототермической ИК-микроспектроскопии (Optical Photo-Thermal InfraRed microspectroscopy, O-PTIR) и заполняющего нишу приборов для термооптической ИК-микроскопии. Принципиально метод очень близок к методам фототермического отклонения и фототермического зеркала и реализует их микромасштабный вариант. Перестраиваемый лазерный луч с длиной волны в среднем ИК-диапазоне фокусируется и направляется на исследуемую поверхность. Компоненты образца в зоне нагрева поглощают ИК-излучение, что приводит к образованию фототермического элемента. Этот элемент зондируется более жёстко сфокусированным лазерным лучом с длиной волны в видимой области, коллинеарным индуцирующему лучу. Возможность перестройки индуцирующего источника обеспечивает селективность измерений и возможность записи спектра. В случае неоднородного распределения поглотителей ИК-излучения этот метод позволяет получать изображения поверхностей с разрешением, которое зависит как от микроструктуры образца, так и от размера зондирующего луча. Производитель заявляет, что метод имеет субмикрометровое пространственное разрешение.

3.1.2. ИК-микроспектроскопия на основе фототермиче-

ского зеркала. Компания Photothermal Spectroscopy

Метод использован для анализа субмикрометровых частиц атмосферных аэрозолей [120] и визуализации агрегации амилоидных белков при исследованиях, связанных с болезнью Альцгеймера [121]. Изучены злокачественные и незлокачественные клетки лёгких с целью выявления ИК-спектральных различий между этими клетками, помещёнными на стандартные предметные стекла, и показано, что O-PTIR можно использовать для получения высококачественных ИК-спектров клеток как d-липидной области  $(3000 - 2700 \text{ см}^{-1})$ , так и в части области отпечатков пальцев (между 950 и 1770 см<sup>-1</sup>) [122]. Показаны возможности неразрушающего O-PTIR-анализа произведений искусства [123], а также регистрации ИКспектров живых клеток с субмикрометровым пространственным разрешением в сочетании с КР-спектрами, что предоставляет полный набор характеристических колебаний компонентов клетки [124].

3.1.3. Тепловое картирование. Поскольку ОАС и ФТС обычно имеют пространственное разрешение в микрометровом или нанометровом масштабе, они обеспечивают тепловое картирование или получение тепловых изображений сложных образцов с высокой воспроизводимостью. ОАС и ФТС используются для обнаружения микро- и наноразмерных дефектов в различных материалах, включая оптические покрытия [125], в частности в глубине гетерогенных материалов [126]. Число частиц и их размер оказывают критическое влияние на формирование термооптического отклика твёрдых нанокомпозитных полимерных материалов [127, 128]. При использовании фототермической радиометрии такие измерения часто обеспечивают установление температурных профилей объектов по глубине, например, для повреждённой кожи [129, 130]. В [131] рассмотрены возможности бесконтактного измерения тепловых параметров для диагностики заболеваний. На рисунке 3 представлена схема сравнения разрешающей способности динамического теплового картирования в зависимости от сложности и стоимости оборудования для диагностики in vivo и ex vivo.



#### Стоимость, сложность

Рис. 3. (В цвете онлайн.) Разрешающая способность динамического теплового картирования (Dynamic Thermal Imaging, DTI) в зависимости от сложности и стоимости эксперимента для *in vivo* и *ex vivo* [131]. РРТК (Pulsed PhotoThermal Radiometry) — импульсная фототермическая радиометрия, FDTI (Focal DTI) — фокальное динамическое тепловое картирование.

### 3.2. Оптоакустическая микроскопия и томография

В настоящее время наблюдается значительный рост ОАС-исследований в области биомедицинской микроскопии, визуализации и томографии *in vivo* [29–33, 84, 132–140]. Обсуждение всего материала и биологической клинической части этих исследований выходит далеко за рамки настоящего обзора, и мы ограничимся рассмотрением только ключевых достижений в указанной области, формирующих общие направления её развития.

Оптическая микроскопия имеет ограничения по глубине проникновения в несколько сотен микрометров для исследований *in vivo* в видимой области. Поскольку ультразвуковое рассеяние в ткани слабее, чем оптическое рассеяние, оптоакустическая микроскопия способна получать изображения с высоким разрешением на бо́льших глубинах, чем другие методы микроскопии [28, 29, 101, 114]. Это принципиально расширяет возможности визуализации за диапазон глубин, доступный для оптической микроскопии, и, таким образом, распространяет область применения оптоакустической микроскопии на биологические объекты и задачи предклинической и клинической диагностики [141, 142].

3.2.1. Оптоакустическая микроскопия и мезоскопия. Ключевой задачей в оптоакустической мезоскопии является развитие мультиспектральной визуализации и картирования (см. раздел 3.3.2) с высокой скоростью видеосигнала в двух и трёх измерениях, что обеспечивает быструю спектральную дифференциацию отдельных светопоглощающих фрагментов [143]. Описаны подходы к реализации оптоакустической мезоскопии: оптоакустической визуализации с акустическим разрешением и широкополосным ультразвуковым детектированием [141, 144].

Оптоакустическая микроскопия в средней ИК-области предоставляет химическую и структурную информацию о биологических образцах без их окрашивания. Обычно большие длины волн сильно ограничивают латеральное разрешение из-за оптической дифракции; кроме того, сильное поглощение воды в биологических образцах приводит к высокому значению фона, низкому контрасту и малому отношению сигнала к шуму. Чтобы преодолеть эти ограничения, используется конфокальное оптоакустическое детектирование эффектов, возбуждённых импульсным УФ-лазером с перестраиваемой длиной волны (210-280 нм, длительность импульса 10 нс), на основе температурной зависимости параметра Грюнайзена — так называемая релаксационная оптоакустическая спектроскопия [145]. Для клеток метод обеспечивает ИК-изображения с подавленным фоновым излучением липидов и белков, с пространственным разрешением по крайней мере на порядок выше, чем дифракционный предел в этом спектральном диапазоне (рис. 4). Представлены результаты гистологического исследования толстых срезов мозга без окраски [146]. Исследованы донорно-акцепторные конъюгированные гетероциклические структуры, работающие за счёт внутримолекулярной передачи заряда [147], и порфириноподобные полимерные структуры в ближнем инфракрасном (БИК) диапазоне, обладающие приемлемой проникающей способностью в ткани и минимальной способностью к фотообесцвечиванию [148]. Обобщены результаты применения функционализированных НЧ Au, Pd, Bi, Ti, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, C и проведён обзор доклинического применения оптоакустической микроскопии для идентификации раковых



MIR-PAM ULM-PAM РА-гистология LFB-гистология

Рис. 4. (В цвете онлайн.) Визуализация срезов мозга мыши. Распределение миелина (оптоакустическая микроскопия в средней ИК-области — Mid-InfraRed PhotoAcoustic Microscopy, MIR-PAM) в срезах толщиной 300 мкм (а) головного мозга и (б) мозжечка (RC (Retrosplenial Cortex) — ретроспленальная кора головного мозга). Распределение миелина в головном мозге, увеличенное изображение области I, показанной на рис. а: (в) MIR-PAM, (г) ультрафиолетовая локализованная оптоакустическая микроскопия (Ultraviolet-Localized MIR-PAM — ULM-PAM), (д) оптоакустическое (PA) гистологическое изображение, (е) гистологическое изображение после окрашивания Luxol Fast Blue (LFB). Распределение миелина в мозжечке, увеличенное изображение области II, показанной на рис. б: (ж) MIR-РАМ, (з) ULM-РАМ (АВ — "древо жизни", G — зернистый слой коры мозжечка). (и) оптоакустическое гистологическое изображение. (к) гистологическое изображение после окрашивания LFB. На оптоакустических гистологических изображениях зелёный цвет соответствует миелину, фиолетовый — нуклеиновым кислотам. На гистологических изображениях, окрашенных LFB, синий цвет миелин, тёмно-синий — нуклеиновые кислоты [146].

клеток с использованием бимодального картирования (имиджинга) при терапии рака [149].

Использование оптоакустической микроскопии не ограничивается только биомедициной. Для задач криминалистики изучены подходы к обнаружению изменений, внесённых в документы, с помощью установки с наносекундным импульсным лазером, микрофоном и держателем образца. Амплитуда сигнала зависит от типа инструмента для письма [150].

3.2.2. Оптоакустическая томография. Оптоакустическая томография (ОАТ) позволяет создавать многомасштабные мультиконтрастные изображения живых биологических структур — от органелл до отдельных органов [28, 151-156] (рис. 4-6). Метод основан на оптическом возбуждении биологической ткани световым пучком импульсного лазера для создания теплового и акустического импульса наносекундной длительности [151, 157]. Поглощение импульса вызывает повышение температуры  $\Delta T$ и, следовательно, начальное повышение давления  $p_0 = \beta \Delta T / \kappa$  из-за термоупругого расширения, где  $\beta$  коэффициент теплового расширения, к — изотермическая сжимаемость. Повышение температуры на 1 мК приводит к увеличению давления примерно на 0,8 кПа, что выше уровня шума типичного ультразвукового преобразователя. Ультразвуковые волны принимаются пространственной матрицей акустических детекторов для формирования трёхмерных изображений. При описании распространения оптоакустической волны образец ткани рассматривается как биомеханическая система, которая поддерживает распространение механических нарушений от одной точки к другой, а при описании визуализации — как гидростатическая термодинамическая система [158]. Метод обеспечивает высокое отношение сигнала к шуму без термического повреждения тканей. Различные варианты реализации позволяют масштабировать пространственное разрешение метода с требуемой глубиной визуализации в тканях, при этом поддерживается высокое отношение глубины к разрешению. Как правило, пространственное разрешение порядка 1/200 глубины изображения, которая может достигать до 7 см. Метод обеспечивает анатомические, функциональные, метаболические, молекулярные и генетические контрасты сосудистой сети, гемодинамики, кислородного обмена, биомаркеров и экспрессии генов [28, 31, 101, 132, 134, 136, 138, 151, 154, 155, 159-161].

Оптоакустическая эндоскопия — минимально инвазивный инструмент для визуализации внутренних органов и тканей. Существующие решения включают визуализацию сосудистой системы вдоль пищевода и кишечника с использованием *in vivo* 3,8-миллиметрового эндоскопа с импульсным лазером (длина волны 584 нм), продемонстрирована трёхмерная визуализация [162]. Сообщается об одновременном использовании оптоакустической и ультразвуковой визуализации в интегрированной эндоскопической схеме (импульсный лазер Nd:YLF, длина волны 562 нм) [163]. С помощью этого метода получены изображения бляшек в крупных артериях [164], слизистой оболочки матки [165] и мозга при мониторинге его деятельности [166].

Оптоакустическая доплерометрия пригодна для измерений в живых тканях с высоким пространственным разрешением до глубины в несколько миллиметров [8, 167], в том числе для функциональной диагностики мозга человека [168]. С помощью этого метода можно определять аномалии микрососудистого кровотока, характерные для определённых заболеваний.

В целом, ОАТ охватывает весь спектр подходов, от оптогенетики до функциональных методов, фотостимуляции, оптической диссекции, многомасштабной визуализации, микроскопии и структурной визуализации (гемодинамической, многофотонной, временно́го мультиплексирования, многоплоскостной микроскопии, оптоакустической визуализации, спектроскопии ближнего ИК-спектра и создания миниатюрных нейровизуальных устройств для отслеживания активности головного мозга) [28, 138, 154, 157, 158, 160, 169].

#### 3.3. Мультиспектральные методы

Несмотря на значительный путь развития, в ФТС и ОАС часто подразумевается использование неперестраиваемых лазеров для генерации фототермических и оптоакустических эффектов. Так, одноволновые измерения обеспечивают высокую скорость измерений, и они целесообразны, когда известны основной хромофор (например, гемоглобин или метки для биомедицинских изображений) и характеристики его поглощения, или при установлении теплофизических параметров сред [30–32, 84]. Одноволновые варианты ОАС и ФТС также используют при определении тепловых параметров однородных твёрдых материалов или исследовании процессов в растворах, когда требуется стабильное и достаточно



**Рис. 5.** (В цвете онлайн.) Продольная оптоакустическая визуализация подкожной опухоли, экспрессированной AGP1 (Alpha-1-Acidic Glycoprotein). (а) Трёхмерное изображение опухоли (зелёный цвет), окружённой сосудистой сетью в коже и подлежащей мышечной ткани (красный цвет), полученное на 21-й день после инокуляции. Область опухоли сегментирована вручную для наглядности. Пунктирными линиями выделен объём ткани, по которому получены наборы данных изображений поперечного сечения. (б) Интенсивности различного оптоакустического изображения для фона и областей опухоли, рассчитанные на основе продольных изображений, полученных у пяти подопытных животных. В рамках показаны медианы, 25-й и 75-й процентиль, отрезки ошибок представляют 10-й и 90-й процентили, штрихпунктирной прямой показано среднее значение. Парный *t*-критерий для определения статистической значимости различий парных измерений даёт p = 0,008, т.е. сигнал для всех измеренных наборов данных изображения значимо выше, чем сигнал фона. (в–д) Проекции максимальной интенсивности x-z-разностных изображений распределения AGP1-экспрессирующих опухолевых клеток. Масштабные отрезки на рис. в–з 1 мм, цветовая шкала показывает нормированную яркость разностного изображения. Время получения изображения 1,5 ч [175].

мощное возбуждение без перестройки длины волны, для чего чаще всего используют лазеры. Однако для всё большего числа задач одноволновые измерения имеют весьма существенный недостаток именно из-за отсутствия спектральной информации об образце. Варианты мультиспектральных измерений, в которых используется одновременное или последовательное индуцирование фототермических и оптоакустических явлений на разных длинах волн (см. рис. 6), становятся обычной практикой [28, 135, 136, 160, 170-173]. Число длин волн в рассматриваемых методах, прежде всего в микровариантах, постоянно увеличивается, что уже привело к появлению мультиспектральной ОАС [88, 174], в особенности мультиспектральной оптоакустической томографии [135, 138, 141, 175]. Эта тенденция очень схожа с тенденцией развития мультиспектральных методов в флуоресцентной микроспектроскопии и КР-микроспектроскопии, в итоге приведшего к качественному скачку в возможностях измерений и разработке гиперспектральных методов [155, 176, 177].

302

Кроме того, современное развитие технологий привело к активному внедрению в практику менее сложных фототермических и оптоакустических измерений оптических параметрических осцилляторов (ОПО), квантовокаскадных лазеров и источников суперконтинуума. Стабильность нелазерных источников обеспечила разработку приборов на их основе. В ИК-спектроскопии уже реализованы как оптоакустические, так и фототермические измерения на основе непрерывных тепловых источников. Все отмеченные выше достоинства ФТС и ОАС превращают их в методы, столь же универсальные, как и оптическая и ИК-абсорбционная спектроскопия пропускания, при этом сохраняются высокая чувствительность и прецизионность ФТС и ОАС, поскольку для зондирования используются стабильные лазерные источники высокого качества и высокочувствительные детекторы.

3.3.1. Нелазерная термолинзовая спектроскопия сплошного спектра (белого света). Для генерации фототермических эффектов в видимой области можно использовать источники сплошного спектра. При этом либо в исходном пучке генерируется гауссово распределение интенсивности излучения с помощью пространственного фильтра, либо используется кювета, в которой за счёт существенной разницы в теплопроводности её материала и исследуемой жидкости наводится профиль температуры [178-181]. Так, замена в термолинзовом спектрометре индуцирующего лазера галогеновой лампой с интерференционными фильтрами обеспечивает настраиваемый, близкий к монохроматическому источник в диапазоне длин волн 430-710 нм. Кювета для образца с длиной оптического пути 1 мм вместе с интерференционным фильтром образуют оптический резонатор, что приводит к дополнительному усилению сигнала [180], увеличивая тем самым чувствительность измерений до уровня оптической плотности  $5 \times 10^{-6}$ .

Органелла

а

б

Ткань

в

Клетка



Рис. 6. (В цвете онлайн.) Многомодальная оптоакустическая (ОА) томография органелл, клеток, тканей и органов *in vivo*. (a) Субдлинноволновая ОА-микроскопия меланосом в ухе чёрной мыши. (б) Отдельные красные кровяные клетки (Red Blood Cells, RBC) в потоке в капилляре уха мыши. (в) Невус на предплечье человека. (г) Компьютерная ОА-томография человеческой груди. (д) Глубина регистрации сигнала в зависимости от пространственного разрешения в ОА-томографии. SW-PAM (Sub-Wavelength PhotoAcoustic Microscopy (PAM)) фотоакустическая (ФА) микроскопия с разрешением ниже длины волны, SM-PAM (Sub-Micron PAM) — субмикронная ФА-микроскопия, OR-PAM (Optical-Resolution PAM) — ФА-микроскопия с оптическим разрешением, AR-PAM (Acoustic-Resolution PAM) — ФА-микроскопия с акустическим разрешением, AR-PAMac (Acoustic-Resolution PhotoAcoustic Macroscopy) — ФА-макроскопия с фотоакустическим разрешением, LA-PACT (Linear-Array PhotoAcoustic Computed Tomography) — компьютерная ФА-томография с линейным массивом. (Рисунок из работы [151] воспроизводится с разрешения © 2012 American Association for the Advancement of Science.)

Обработка данных ведётся компактным блоком на платформе Arduino.

Таким образом, разработан простой, компактный портативный прибор, пригодный в том числе и для полевых условий. Предел определения Fe(II) с помощью 1,10-фенантролина при длине волны  $\lambda = 510$  нм составляет 10 мкг л<sup>-1</sup>, средняя прецизионность измерения 4 %. Универсальность прибора продемонстрирована при регистрации фототермических спектров HЧ Au и 1,10-фенантролината железа(II). В работе [182] представлен термооптический микроскоп с индуцированием термооптического элемента лампой белого света, что позволяет получать спектр светопоглощения, в том числе и от единичных частиц, без использования сложной лазерной аппаратуры.

Другим вариантом реализации перестраиваемых по длине волны термолинзовых измерений с нелазерными источниками является использование *кювет с цилиндрическими каналами*. В этом случае индуцирующее излучение проходит вдоль канала фотометрической кюветы, изготовленной из материала с существенно бо́льшим коэффициентом теплопроводности, чем у измеряемого раствора. Из-за большой разницы в теплопроводности в канале образуется параболический профиль показателя преломления вследствие равномерного оттока тепла из облучённого образца через стенки канала [183-186]. Пространственное распределение показателя преломления зависит от размера канала и является постоянным параметром кюветы. Такой вариант генерации сигнала имеет ряд преимуществ. Прежде всего, сигнал не зависит от параметров луча источника, и генерация сигнала вызвана только температуропроводностью. Кроме того, снижается уровень шумов из-за отсутствия конвекционного теплопереноса. Другим несомненным достоинством является объём ячейки до нескольких нанолитров, что делает этот метод привлекательным для исследования малых образцов. На сегодняшний день ТЛС белого света используется не в полной мере, так как методология эксперимента не вполне разработана.

**3.3.2.** Мультиспектральная оптоакустическая томография. Для одноволнового варианта ОАС, несмотря на его распространение в биомедицинской микроскопии и визуализации [28, 29, 187–189], а также в тепловой мик-

роспектроскопии материалов [137], отсутствие спектральной информации может быть принципиальной проблемой, в связи с чем на основе этих методов в течение последних лет развивается мультиспектральная оптоакустическая томография MCOT (MultiSpectral Optoacoustic Tomography, MSOT) [133, 135, 190-192]. Последняя сочетает все описанные в разделе 3.2 возможности оптоакустической микроспектроскопии и томографии (получение изображений с пространственным разрешением 10-200 мкм и высокая чувствительность) с возможностями спектральных методов (использование разнообразных хромофоров, меток, регистрация спектров). Это позволяет неинвазивно получать структурную, функциональную, метаболическую и молекулярную информацию о физиологических процессах в органах и тканях in vivo как на молекулярном, так и на клеточном (субклеточном) уровнях.

На текущем этапе созданы технологические МСОТплатформы, использующие сферические матричные детекторы, параллельно-потоковый сбор данных и быстро перестраиваемые лазерные источники, что обеспечивает сбор и визуализацию спектральной информации со всего объёма объекта в реальном времени [192]. Уже фактически готов фундамент для создания так называемой *пятимерной* (пространственно трёхмерной плюс мультиспектральной плюс в реальном времени) оптоакустической визуализации, что предполагает беспрецедентно широкие возможности по сравнению с таковыми существующих методов биомедицинской визуализации [193].

Биомедицинские приложения MCOT включают в себя функциональную нейровизуализацию, быстрое отслеживание кинетики и биораспределения агентов, исследования сердечно-сосудистой системы, мониторинг, терапию и оценку эффективности лекарств и их целевую доставку, а также молекулярную визуализацию [190, 194]. Портативные оптоакустические приборы обеспечивают высокий уровень точности клинической диагностики по ряду показаний, таких как онкологические заболевания молочной железы и кожи, метастазы в лимфатических узлах, состояние щитовидной железы и воспалительные заболевания кишечника [159]. Проблемам практического приложения MCOT посвящено несколько обзоров [28, 136, 145, 152, 153, 160].

Созданы фирмы, например TomoWave Laboratories, Inc. (США) и iThera Medical GmbH (Германия), предоставляющие серийное оборудование для оптоакустической томографии и MCOT как самостоятельных методов доклинической и клинической диагностики, а также в комбинации с другими методами, прежде всего с ультразвуковой диагностикой. Наблюдается резкий рост интереса к технологиям MCOT среди крупных производителей спектрального и биомедицинского оборудования.

#### 3.4. Оптическая фототермическая наноскопия

Методы, основанные на измерении люминесценции и светорассеяния, плохо применимы к частицам нанометрового размера, поскольку квантовый выход люминесценции часто мал, а степень рассеяния света частицей убывает с уменьшением её размера. Так, для большинства частиц размером менее 100 нм люминесценция и светорассеяние значительно слабее светопоглощения [195]. Традиционные методы электронной и сканирующей атомно-силовой микроскопии позволяют обнаружить НЧ, в том числе достичь разрешения вплоть до атомарного уровня, но требуют сложной подготовки образца и имеют ограничения, например, при исследовании биологических объектов [196].

Методы фототермической микроскопии обеспечивают визуализацию и получение спектров высокого разрешения с высокой чувствительностью. Тем не менее в этих оптических и инфракрасных методах также существует ограничение дифракционного предела. Соответствующие методы микроспектроскопии, таким образом, не могут быть использованы для исследования отдельных объектов субмикрометрового размера, поэтому в последние 15 лет усилия сосредоточены на разработке фототермических методов, способных измерять отдельные частицы субмикрометрового размера [38].

**3.4.1.** Фототермический фазовый контраст. Одним из первых был разработан *метод фототермического интерференционного контраста.* Интерферометрическая схема детектирования в микроскопическом варианте предусматривает разделение зондирующего луча на основной и реперный лучи [197, 198]. Такой разностный контраст используется для детектирования фототермического эффекта, вызванного отдельными наноразмерными частицами [197, 198]. Метод применён для исследования 5-нанометровых Au HЧ в толще полимерных плёнок [197].

Термолинзовая микроскопия (см. раздел 3.1.1) не может применяться для детектирования в каналах шириной и глубиной 100 нм, т.е. меньшими длины волны видимого света [111]. Предложен метод термолинзовой микроскопии с разностным интерференционным контрастом [112]. Проблема ширины канала в этом методе преодолевается благодаря использованию усиления оптической дифракции от наноканала после поглощения света, тепловыделения, диффузии тепла и изменения показателя преломления [199]. Диффузия тепла в подложку микрофлюидного чипа также вносит вклад в сигнал, что позволяет обнаруживать нефлуоресцентные молекулы. Используя этот метод, наблюдали немеченые молекулы белка в канале 21 мкм × 900 нм, предел обнаружения 600 молекул [200]. Однако для объектов размером менее 900 нм чувствительность анализа снижается вследствие термодиффузии. Фототермический иммуноферментный анализ в канале шириной 700 нм позволил обнаружить счётное число молекул белка [201]. Показано обнаружение нефлуоресцентного красителя закатного жёлтого в каналах шириной порядка 400 нм. Предел обнаружения 5 мкМ соответствует 500 молекулам (0,84 змоль) в объёме 230 ал. Уменьшение размера канала до 200 нм не ухудшает характеристик определения [202].

3.4.2. Фототермическая гетеродинная спектроскопия и визуализация. Несколько позднее был разработан родственный метод — фототермическая гетеродинная спектроскопия (точнее, микроспектроскопия) — более простой с технической точки зрения. В этом случае фототермический эффект, возникающий при поглощении индуцирующего луча наноразмерным объектом, вызывает рассеяние зондирующего луча, которое вследствие интерференции исходного и рассеянного излучения детектируется как флуктуация мощности [72, 203, 204]. Этот метод обеспечивает более высокую чувствительность, чем фототермический интерференционный контраст, он способен обнаруживать изменения теплофизи-



Рис. 7. (В цвете онлайн.) (а, б) ИК-фототермические (ИК-ФТ) изображения отдельных гранул полистирола (ПС) размером  $\approx 50$  нм при 3030 и 1450 см<sup>-1</sup> с использованием гетеродинных измерений. (в) Соответствующие ФТ-спектры в сравнении с результатами ИК-спектроскопии. (г, д) ИК-ФТ-изображения отдельных гранул полиметилметакрилата (ПММА) размером  $\approx 150$  нм, полученные при 3000 и 1450 см<sup>-1</sup>. (е) Соответствующие ИК-ФТ-спектры в сравнении с результатами ИК-спектроскопии. Масштабные отрезки на рис. а, б, г, д соответствуют 1 мкм. Звёздочками на рис. в и е отмечены длины волн возбуждения, используемые для ИК-ФТ-визуализации. PS FTIR — ПС, ИК-спектроскопия с преобразованием Фурье; PS IR-PHI — ПС, ИК-ФТ-картирование; PMMA FTIR — ПММА, ИК-ФТ-картирование. (Рисунок из работы [210] воспроизводится с разрешения © 2020 AIP Publishing.)

ческих характеристик среды вблизи нагретых частиц и даже отдельных больших молекул [205]. Метод применён для исследования агрегатов и отдельных НЧ Аи размером 1,4 нм (около 70 атомов Au) [203], углеродных нанотрубок [206], полупроводниковых НЧ CdSe/ZnS [207], молекул ДНК [205]. Во всех случаях определены и изучены индивидуальные частицы нанометрового размера. Этот метод можно использовать и в варианте мультиспектральных измерений [208], включая регистрацию спектров поглощения отдельных наноразмерных частиц [206], а также для картирования [71, 72, 209].

ИК-фототермическая гетеродинная визуализация представляет собой визуализацию и спектроскопию со сверхвысоким разрешением в среднем ИК-диапазоне (2,5-10 мкм) [72]. Достигнутое пространственное разрешение 300 нм в 30 раз выше, чем дифракционный предел в ИКобласти. Пионерская работа [197] посвящена оптическому фототермическому обнаружению меченых молекул в условиях окружающей среды для флуоресцентных красителей за счёт их фотообесцвечивания. Показано оптическое обнаружение НЧ Аи размером до 2,5 нм. Установлен механизм контрастности сигнала и оценены его возможности с использованием характеристических полос полистирола и полиметилметакрилата [210] (рис. 7). Определены количественные отношения между наблюдаемыми сигналами и фототермическими параметрами образцов. В частности, проведён анализ размерных рядов полистирольных гранул, чтобы количественно связать фототермический сигнал от контрастного агента с теплоёмкостью образца, термооптическим коэффициентом и сечениями светопоглощения и светорассеяния [211].

**3.4.3.** Фототермическая корреляционная спектроскопия. Ещё одним вариантом измерений, основанным на принципах фототермической гетеродинной спектроскопии, является фототермическая корреляционная спектроско $nus^2$  [24, 212, 213], основанная на построении автокорреляционной функции *G* для разрешённого во времени фототермического (в первом приближении термолинзового) сигнала *S*(*t*):

$$G( au) = rac{\left\langle S(t)S(t+ au) 
ight
angle}{\left\langle S(t) 
ight
angle^2} \,.$$

Функция  $G(\tau)$  при условии, что характеристические времена прибора (например, постоянная времени синхронного усилителя) известны, может быть использована для получения характеристических времён  $\tau$  процессов выделения тепла при фототермическом возбуждении. Поскольку фототермические процессы для дисперсий НЧ зависят от тепловых и оптических свойств НЧ и скорости их движения, фототермическая корреляционная спектроскопия используется для обнаружения, мониторинга и характеристики таких объектов [93, 115, 214].

Фактически отдельная частица-поглотитель действует как аналог "макротермолинзы" — нанолинзы, которую можно обнаружить с помощью картины рассеяния зондирующего излучения от гало (термически индуцированного поля от нагретой отдельной частицы) (рис. 8). Комбинация концепции нанолинзы и корреляционной спектроскопии представляет собой микроскопический аналог дифференциальных фототермических измерений (см. раздел 2) — двухфокусную фототермическую корреляционную спектроскопию [215]. Последняя основана на обнаружении двух пространственно разделённых объёмов образца, соответствующих конфигурации пучка (как для фототермического Z-сканирования), и построении двух автокорреляционных функций для каждого из объёмов по отдельности. Подобно дифференциальным методам ТЛС с большим динамическим резервом, этот

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Поскольку этот метод основан на использовании микроскопической техники, более правильное его название — "фототермическая корреляционная микроспектроскопия".



**Рис. 8.** (В цвете онлайн.) Принцип формирования нанолинзы. Нагретая наночастица создаёт профиль показателя преломления n(r), образующий тепловую линзу. Обработка лучевой оптикой обеспечивает фокусное расстояние при зондировании ограниченным гауссовым пучком (см. детали в [214]). Для типичных параметров материала фокусные расстояния f много больше размера R частицы,  $f \gg R$  [214].

метод используется для чувствительных и точных измерений. Он обеспечивает измерения медленного движения частиц вдоль оси распространения луча или детектирование любых малых пространственных неоднородностей с пространственным разрешением выше дифракционного предела благодаря усилению различий в фототермических откликах в двух равных микрообъёмах, один из которых служит реперным образцом [24, 115, 213–215].

# 3.5. Зондовая фототермическая микроспектроскопия (наноскопия)

Методы, описанные в разделе 3.4, относятся в основном к исследованию растворов или отдельных НЧ на поверхности. Однако исследование твёрдых тел представляет собой не менее важную задачу. Анализ химического состава и физико-механических свойств in situ необходим в материаловедении, для многих объектов окружающей среды, в частности почв и минералов. Эти проблемы решаются с помощью фототермической зондовой микроскопии (иначе — спектроскопии фототермического резонанса), которая, несмотря на своё название, весьма отличается как от абсорбционной спектроскопии (микроспектроскопии), так и от методов фототермической спектроскопии, описанных выше, и фактически относится к зондовой микроскопии. Для получения сигнала используют зонды, применяемые в методах тепловой микроскопии (сканирующая атомно-силовая микроскопия (АСМ), сканирующая тепловая микроскопия (СТеМ) или сканирующая ближнепольная оптическая микроскопия (СБОМ)).

**3.5.1.** Фототермическая ИК-микроспектроскопия. Фототермическая зондовая микроспектроскопия основана на обнаружении кратковременной и локальной дилатации образца при резонансном нагреве лампой, ИК-источником или предпочтительно лазером (перестраиваемым). Основными источниками возбуждения служат лазерные источники, такие как CO<sub>2</sub>-лазеры [216, 217] или в последнее время квантово-каскадные лазеры. Для улучшения качества спектров используют синхротронные источники ИК-излучения [218]. Поглощение импульса образцом приводит к локальному нагреву и уширению образца (фототермический сигнал) и отклонению или движению высокочастотного кантилевера [35, 219]. Отклонение кантилевера используется для измерения сил между наконечником зонда и образцом и, таким образом, для топографии с наноразмерным латеральным разрешением [35, 219, 220].

Поскольку разрешение зависит от размера зонда и тепловых свойств образца, а не от длины волны ИК-излучения, эти методы позволяют получать спектры с пространственным разрешением до 20–30 нм или лучшим, что значительно превышает возможности методов ИК-спектроскопии для конденсированных сред. На разрешение влияют также конечная теплопроводность зонда, конечные размеры области контакта зонда и образца, сложное температурное распределение в гетерогенных средах и изменение поглощаемого потока теплоты в зависимости от времени и длины волны.

Фототермически индуцированный ИК-резонанс (или ACM-ИК-спектроскопия) (Atomic Force Microscope-InfraRed spectroscopy, AFM-IR) является одним из распространённых методов фототермической зондовой спектроскопии [221, 222]. С помощью ACM-зонда в контактном режиме измеряют динамику теплового расширения, вызванного поглощением импульса ИК-излучения образцом. Объекты исследования, помещённые на прозрачную призму, облучают в режиме полного внутреннего отражения, чтобы минимизировать прямое взаимодействие индуцирующего луча с ACM-зондом (рис. 9).

Фототермические спектры зависят от коэффициента светопоглощения и являются аналогичными традиционным ИК-спектрам [223]. Следовательно, они могут использоваться с библиотеками ИК-спектров. Как и для ОАС, изменения в спектрах фототермической зондовой спектроскопии, в отличие от таковых в других вариантах ИК-спектроскопии, связаны с тепловыми факторами, образованием и распространением тепловых волн. Спектры могут испытывать фототермическое насыщение (подавление пиков в спектре), обусловленное нарушением линейной зависимости между величиной сигнала и коэффициентом поглощения при высоких значениях последнего [223]. Кроме того, различия в форме интенсивности полос вызваны особенностями пробоподготовки твёрдых образцов. Наконец, причиной невысокого качества спектров является недостаточно высокая интенсивность ИК-излучения в источниках серийных приборов. Решение этой проблемы — использование более мощных источников, в качестве которых выступают лазерные источники, например СО<sub>2</sub>-лазер [216] или перестраиваемый ОПО в импульсном режиме [217]. Кроме того, замена глобара более мощным источником значительно сокращает время измерений.

В случае зондов для микротермического анализа регистрируют фототермические спектры зонда с иммобилизованным на нём образцом материала [216]. Такие спектры отличаются высоким уровнем шума, но при этом хорошо видны основные характеристические полосы, например полосы валентных колебаний С–Н. Несомненным преимуществом является лёгкость очистки зонда посредством перевода вещества образца в раствор. Более высокое разрешение, чем СТеМ-зонд, обеспечи-



Рис. 9. (В цвете онлайн.) Измерения с помощью фототермической зондовой ИК-спектроскопии. (а) Образец под воздействием импульсов ИК-лазера (изображённого в нижней левой части рисунка) быстро расширяется, отклоняя АСМ-кантилевер, что оптически детектируется четырёхсекционным детектором. (б) Максимальное отклонение кантилевера от пика к пику, пропорциональное поглощённой оптической энергии, используется для генерации сигнала. Образец и кантилевер успевают вернуться в состояние равновесия, прежде чем начнётся возбуждение следующим импульсом. (в) Фурье-преобразованием сигнала обратного вызова можно получить амплитуду различных мод контактного резонанса, возбуждаемых расширением образца [221].

вает зонд, в котором роль сенсора играет крошечная усечённая пирамидка, на плоской вершине которой находится палладиевый элемент размером 150 × 50 нм [218]. К недостаткам зонда такого типа следует отнести низкую интенсивность сигнала по сравнению с таковой СТеМ-зонда.

Ещё один метод, объединяющий возможности ИКспектроскопии и атомно-силового микроскопа, получил название фототермическая ИК-микроспектроскопия. В этом случае СТеМ-зонд находится не на обычной подвижной подставке, а в составе атомного силового микроскопа. Разработан специальный дизайн встраиваемого АСМ-устройства, которое можно размещать непосредственно в камере большинства ИК-спектрометров [224]. Метод позволяет получить АСМ-изображение поверхности образца наряду с его фототермическим спектром. Чувствительность метода выше, чем у фототермомеханического метода, использующего в качестве датчиков обычные АСМ-зонды. Круг объектов достаточно разнообразен, но наиболее распространены исследования спектров полимерных материалов [216]. Кроме того, решены более сложные задачи: идентификация скрытых полимерных слоёв и установление зависимости величины сигнала слоя от толщины покрытия [223]. В работе [223] сообщается об исследовании реальных объектов: фунгицидов в виде тонкодисперсного порошка и водных растворов поверхностно-активных веществ (ПАВ). Спектры последних регистрировали введением зонда в микрокапли, образовавшиеся на стекле после частичного испарения воды. На примере парацетамола продемонстрирована возможность определения пико- и фемтограммовых количеств химического соединения [224]. Также приведены результаты исследования объектов со сложной геометрией, таких как человеческие волосы [224] и медный провод, покрытый слоем полимера. Анализ спектров полимерного покрытия позволил идентифицировать материал толщиной 3 мкм и содержащиеся в нём примеси.

Существенное направление использования фототермической ИК-микроспектроскопии — разработка на её основе метода диагностики рака [225–227]. В основу подобной диагностики положен анализ колебательных спектров клеток. Наличие клеток с патологиями определяется по искажению спектра [225] (можно отдельно регистрировать спектры ДНК). Метод фототермической ИК-микроспектроскопии позволяет наблюдать за жизненным циклом клетки и распределением клеток образца по фазам цикла [225].

Совершенствование этой техники — времяразрешённая ИК-микроспектроскопия PFIR (PeakForce IR) [228, 229]. В данном методе импульсы квантово-каскадного ИК-лазера с перестраиваемой частотой направляются на АСМ-зонд и область образца, работающего в режиме формирования изображения Bruker PeakForce Tapping<sup>TM</sup> при низкой частоте, 1 или 2 кГц (рис. 10). Это обеспечивает контролируемый контакт наконечника зонда с образцом; индуцирующие импульсы синхронизируются с каждым циклом пиковой силы контактного резонанса кантилевера [229]. Поглощение ИК-излучения образцом приводит к объёмному тепловому расширению, что возбуждает контактный резонанс кантилевера. Расширение объёма сохраняется в течение определённого времени. Датчик положения регистрирует отклонения кантилевера с разрешением по времени как после лазерного им-



**Рис. 10.** (В цвете онлайн.) Схема работы микроскопа PFIR. На вставке в правом верхнем углу рисунка показаны усреднённые по затвору следы вертикальных отклонений кантилевера с лазерным взаимодействием (красная кривая) и без лазерного взаимодействия (синяя кривая). Длительность импульса ИК-лазера (чёрная кривая) выбирается так, чтобы она находилась в пределах режима контакта цикла постукивания пиковой силы (peak force tapping) [229].

пульса, так и без него. Их различие и является PFIR-сигналом вследствие фототермического возбуждения образца. Согласно [229–231] время-разрешённая кривая PFIR содержит три участка: 1) возбуждение контактного резонанса, 2) смещение базовой линии вследствие расширения объёма при фототермическом эффекте, 3) изменение наклона кривой после индуцирующего импульса, связанное со скоростью теплового рассеяния за счёт локальной теплопроводности или с возможными изменениями образца после поглощения. Амплитуда контактного резонансного колебания пропорциональна локальному ИК-поглощению. Как и в других методах фототермической зондовой спектроскопии, для получения сигнала используют преобразование Фурье. PFIR обеспечивает пространственное разрешение < 10 нм [229].

308

С точки зрения методологии измерений основные характеристики фототермической зондовой спектроскопии аналогичны таковым методов ИК-микроспектроскопии: пробоподготовка минимальна или отсутствует, методы — неразрушающие и пригодные для спектроскопических измерений сложных гетерогенных образцов. Методы фототермической зондовой спектроскопии предоставляют возможность исследования малых количеств вещества. Указанные методы применимы для неоднородных твёрдых тел размером менее 1 мкм с одновременным картированием как неорганических, так и органических компонентов с пространственным разрешением около нескольких десятков нанометров [232, 233]. При анализе минералов и почв это даёт важное преимущество по сравнению, например, с пиролитическими методиками установления химического состава, которые требуют нагрева образца до нескольких сотен градусов Цельсия. Как и методы микроспектроскопии, методы фототермической зондовой спектроскопии обеспечивают получение изображений, причём разрешение выше, чем для традиционных методов ИК-фурье-спектроскопии (хотя не для всех образцов), и можно ожидать дальнейшего увеличения пространственного разрешения благодаря дальнейшим разработкам этой технологии [234].

Возможности фототермической зондовой спектроскопии привели к появлению серийных настольных приборов Bruker, которые применяют в прикладных исследованиях [235, 236]; опубликован подробный обзор использования фототермической зондовой спектроскопии в области исследований поверхностей раздела и материаловедения [237].

### 3.5.2. Кантилеверная термодефлекционная спектроскопия. В 1990-х годах был разработан ещё один близкий к зондовой фототермической спектроскопии вариант, основанный на фототермическом отклонении, --- кантилеверная термодефлекционная спектроскопия (Photothermal Cantilever Deflection Spectroscopy, PCDS). Метод создан для обеспечения высокой чувствительности и селективности с использованием переносных датчиков для высокочувствительного определения следов веществ в газовой фазе [238]. Миниатюрные датчики, такие как микрокантилеверы, обладают высокой чувствительностью, но характеризуются плохой селективностью. С другой стороны, многие спектроскопические методы обеспечивают высокую селективность, но не обладают высокой чувствительностью. Эту проблему можно разрешить, объединив спектроскопию ФТО и микрокантилевер, изготовленный из двух материалов. Метод основан на использовании такого микрокантилевера как носителя образца. Молекулы целевых веществ адсорбируются на кантилевере за счёт физической сорбции. Луч монохроматического ИК-излучения лазера или нелазерного ИК-источника поглощается, вызывая резонансное возбуждение молекул и безызлучательные процессы его релаксации. Это повышает температуру кантилевера и вызывает изменение его изгиба, что может быть измерено с помощью оптической схемы, схожей с ФТО [239]. Отклонение кантилевера в зависимости от длины волны индуцирующего излучения соответствует ИК-спектру поглощения адсорбированных молекул. Последнее обеспечивает высокую селективность с абсолютными пределами обнаружения на уровне субнано-

граммов, в частности для взрывчатых веществ: тетранитрата пентаэритрита, циклотриметилентринитрамина и тринитротолуола [240, 241]. Детали аппаратного оснащения лазерной ФТС и ОАС для дистанционных измерений обсуждены в обзоре [242] и книге [2].

РСDS использовали для селективного и чувствительного обнаружения сложных углеводородов, таких как лигроин, адсорбированных на кантилевере. Спектры полихлородибензофуранов согласуются со спектрами, полученными традиционными методами ИК-спектроскопии [243]. Метод позволяет одновременно извлекать информацию о механических и химических свойствах плёнок. Например, наномеханические ИК-спектры микрокантилевера, покрытого полиметилметакрилатом (ПММА), хорошо согласуются с ИК-спектрами ПММА на покрытой золотом кремниевой пластине. Фототермические измерения можно использовать для исследования процессов фотодеградации материалов, вызванных УФ-облучением, что нельзя реализовать с помощью традиционных вариантов ИК-спектроскопии [244].

Одна из последних разработок в этой области направлена на визуализацию с субмикрометровым пространственным разрешением на основе серийного инвертированного микроскопа [245]. Авторы назвали метод эпифототермической ИК-микроскопией в средней ИК-области (Mid-Infrared Photothermal Microscopy, MIPS). Это интересная реализация мультиспектральной фототермической зондовой микроспектроскопии. Продемонстрированы возможности метода для получения изображений сложных органических материалов (лекарственных средств) и визуализации живых клеток [246, 247].

### 4. Установление свойств материалов

Установление свойств материалов является одной из основных задач в течение всего периода развития фототермических и оптоакустических методов. В последнее время число задач в этой области постоянно увеличивается, включая исследования свойств и оценки физикохимических параметров многих типов новых материалов [248]. В этом разделе приведены наиболее характерные примеры, такие как определение теплофизических, а также оптических и спектральных характеристик для решения задач материаловедения.

#### 4.1. Теплофизические параметры

Коэффициенты температуропроводности и теплопроводности являются основными теплофизическими параметрами. Теплопроводность важна при решении многих технологических проблем: передача тепла в электронных устройствах, ядерных реакторах, летательных и космических аппаратах и т.д. [73, 249]. Стационарные или равновесные методы определения коэффициента теплопроводности в основном реализованы в установках и оборудовании для твёрдых образцов с определёнными геометрическими параметрами. Широкую распространённость получили нестационарные методы определения температуропроводности ввиду быстроты измерений (коэффициент теплопроводности вычисляется косвенно). Однако для получения достоверных результатов нестационарными методами необходимо строгое соблюдение условий измерений, а при расчёте коэффициента теплопроводности из температуропроводности надо учитывать систематические ошибки определения плотности и теплоёмкости сторонними методами. Отдельно среди нестационарных методов выделяют фототермические методы, относящиеся как к оптической молекулярной, так и к тепловой спектроскопии и обеспечивающие высокую точность, прецизионность и многосигнальность измерений.

4.1.1. Теплофизические параметры жидкостей. Традиционные методы измерения коэффициента теплопроводности жидкостей (метод нагреваемых пластин, метод коаксиальных цилиндров, метод нагреваемой нити, 3ω-метод, метод плоского источника, метод тепловых колебаний, метод лазерной вспышки) известны давно, в настоящий момент на процесс выбора серьёзно влияет наличие коммерческого решения, которое значительно упрощает процесс получения результатов. Кроме того, достоинством является относительно недорогое оборудование, позволяющее проводить экспрессные измерения, например основанный на методе нагреваемой нити прибор KD2 Pro (Decagon Devices, Inc., CША), обеспечивающий точность измерения теплопроводности  $\pm 5$  % в диапазоне от 0,2 до 2 Вт (м К)<sup>-1</sup>. Тем не менее, когда предметом исследования являются сложные объекты, такие как коллоидные системы, простота и универсальность могут оказаться причинами получения некорректных данных.

Оценка фототермических методов определения коэффициента теплопроводности жидкостей показывает, что они перспективны для комплексного анализа как гомогенных, так и гетерогенных сред. В основном их задача определение температуропроводности или тепловой инерции. Преимущество для коллоидных растворов состоит в том, что сигнал в фототермической спектроскопии зависит от теплофизических свойств объекта и его тепловой гетерогенности.

Фотопироэлектрический метод, который относится к контактным методам, основан на использовании пироэлектрического детектора. Модулированное лазерное излучение вызывает нагрев образца вследствие поглощения света. Когда флуктуации температуры достигают границы раздела датчик-образец, в датчике возникает электрический ток, несущий информацию о структуре, а также о тепловых и оптических свойствах образца. Существует две конфигурации детектирования: фронтальная для измерения тепловой инерции и задняя — для коэффициента температуропроводности. Метод применяют для жидких образцов, поскольку в этом случае термоконтакт датчик-образец можно считать идеальным. В результате точность определения температуропроводности и тепловой инерции составляет 2 и 1 % соответственно, прецизионность — около 2 % [26]. Метод недорог в исполнении, для измерений необходим небольшой (0,2-0,3 мл) объём образца и непродолжительное (несколько минут) время, что важно для дисперсных систем [250]. Метод используют для измерения тепловой инерции коллоидных растворов (НЧ Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> и CuO, стабилизированные в различных растворителях) иногда в комбинации с термолинзовой спектрометрией [251, 252].

*Тепловая интерферометрия* (thermal-wave interferometry или thermal-wave resonator cavity) представляет собой разновидность фотопироэлектрического метода (задняя конфигурация). В методе используется пироэлектрическое обнаружение тепловых волн, распространяющихся через зазор между пироэлектрическим датчи-

ком и другим материалом, выступающим в качестве источника тепловых волн (модулированное лазерное излучение, направленное на металлическую фольгу). Существует два режима работы: при постоянной длине зазора или постоянной частоте. В обоих случаях наблюдаются резонансоподобные экстремумы тепловых волн, по местоположению которых можно определить коэффициент температуропроводности [253]. Обычно регистрируют зависимость амплитуды сигнала от длины зазора и строят линейную аппроксимацию в полулогарифмических координатах для нахождения температуропроводности из наклона кривой. Для анализа необходимо до 15 мл жидкости, прецизионность 1%, точность 1-2% [254]. Метод применяется для коллоидных растворов: НЧ Аи в воде, этаноле и этиленгликоле [255]; НЧ Ад в воде [256]; дисперсий TiO<sub>2</sub> в поливиниловом спирте [257].

Оптоакустическое детектирование позволяет определять коэффициент температуропроводности и тепловую инерцию. Изначально этот метод применяли для твёрдых образцов и газов [48], а затем и для жидкостей. Обычно используется "открытая оптоакустическая ячейка", передняя конфигурация для определения тепловой инерции [258] и задняя — для температуропроводности [259]. При поглощении модулированного лазерного излучения происходят нагрев образца и распространение звуковых волн, регистрируемых микрофоном. Методология при измерении температуропроводности твёрдых образцов заключается в регистрации сигнала от частоты лазерной модуляции, а при работе с жидкими образцами сигнал при определённой частоте рассматривается как функция толщины слоя жидкости. Обычно регистрируются как амплитуда (её логарифм), так и сдвиг фазы оптоакустического сигнала относительно лазерного импульса. Эти зависимости от толщины слоя жидкости представляют собой две прямые, наклоны которых обратно пропорциональны квадратному корню из температуропроводности жидкости. При работе с жидкостями используется специальный стеклянный уплотнитель, поэтому отсутствует контакт жидкости и датчика, а значит, нет ограничения на тип жидкости [259].

Метод нашёл применение для гетерогенных жидкостей [260]. Коэффициенты температуропроводности определены для водных коллоидных растворов, содержащих НЧ Au [261] и Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, точность и прецизионность определения температуропроводности 1-2 % и 2 % соответственно [262]. "Закрытая" оптоакустическая ячейка применена для определения температуропроводности и тепловой инерции водных коллоидных растворов TiO<sub>2</sub> и Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> [263]. Оптоакустический метод с пьезоэлектрическим детектированием использован для изучения дисперсий, содержащих мезочастицы карбонилфторида [264]. Метод тепловой интерферометрии применён для измерения температуропроводности образцов, а метод открытой оптоакустической ячейки — для определения тепловой инерции водных коллоидных растворов, содержащих серебряные наностержни [265].

Метод фототермического отклонения для определения коэффициента температуропроводности жидкостей применяют достаточно редко. Коллинеарная конфигурация использовалась для водных растворов магнитных НЧ [266], коэффициент температуропроводности получали относительно воды. Перпендикулярная конфигурация использовалась для определения температуропроводности парафинового масла, однако, поскольку в жидкостях при увеличении частоты индуцирующего лазера глубина диффузии тепла становится небольшой, вызывая отклонение только части луча зондирующего лазера, теоретическую модель необходимо модифицировать [267]. Это является одним из основных недостатков метода [59], и пока число работ по его использованию для определения температуропроводности жидкостей ограничено.

Отдельно стоит выделить методы термодифракционной спектроскопии (динамических тепловых решёток, transient thermal grating) [268, 269], основанные на импульсном нагреве образца за счёт формирования пространственно-периодической структуры термоиндуцированной решётки, сформированной пересечением двух пучков импульсного лазера, и близкие к ним методы бегущей волны [270] и термоотражения (thermoreflectance) [59, 271]. Импульсное тепловое расширение в термодифракционной спектроскопии сопровождается акустическими волнами (обычно акустический отклик в первые 300 нс) и динамически изменяющейся картиной показателя преломления с определённым пространственным периодом (дифракционной решёткой). Это приводит к дифракции непрерывного зондирующего луча. Метод сложен с аппаратурной и аналитической точек зрения, однако он использовался для определения коэффициента температуропроводности жидкостей [272, 273], НЧ Ад в воде [66], НЧ Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> в н-декане и полиальфаолефине [274] и скорости звука в них, а также характеризации анизотропии материалов [275]. Временной масштаб метода несколько микросекунд, более медленный (несколько миллисекунд) вариант — метод вынужденного рэлеевского рассеяния. Этим методом определены коэффициенты температуропроводности воды (точность оценки около 2 %) и коллоидных растворов: НЧ Аи в воде и НЧ Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> в масле для двигателей при различных температурах [276]. Для близких концентраций сравнение результатов с данными, полученными методом нагреваемой нити, выявило существенные разногласия [276]. Термооптический метод показывает гораздо меньшее увеличение коэффициента теплопроводности наножидкости <sup>3</sup> по сравнению с таковым базовой жидкости.

Фототермическая радиометрия редко используется для изучения жидкостей, среди примеров практически значимые вода и подсолнечное масло. Как преимущества выделяют возможность работы с малыми (~ 0,5 мл) объёмами и отсутствие конвекции, поскольку изменение температуры во время измерения может оставаться небольшим (2 К), чего нельзя сказать о близком по аппаратурному оформлению методе лазерной вспышки. При аппроксимации экспериментальных данных моделью (зависимость фазового сдвига от частоты) должны быть известны плотность и объёмная теплоёмкость объекта для определения коэффициента теплопроводности с прецизионностью 3-5% [277].

Самым распространённым и универсальным методом для жидких сред является *термолинзовая спектрометрия*. В последние годы акцент её использования для характеризации материалов сдвигается в сторону более сложных, многокомпонентных систем, гетерогенных сред [74, 251, 278–282]. Как для гомогенных, так и

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Наножидкость (НЖ) — это коллоидный раствор, который состоит из базовой жидкости (растворителя) и диспергированных в ней наночастиц, улучшающих теплопроводность всей системы.

для гетерогенных сред коэффициент температуропроводности получают из характеристического времени (несколько миллисекунд) развития термолинзы, которое определяется как переменная при аппроксимации экспериментальных данных теоретическим уравнением время-разрешённого термолинзового сигнала для гомогенной среды. Для расчёта должен быть известен только

экспериментальных данных теоретическим уравнением время-разрешённого термолинзового сигнала для гомогенной среды. Для расчёта должен быть известен только радиус луча зондирующего лазера в образце, измерение которого может вносить неточность, в связи с чем иногда используют измерения относительно образца сравнения с известной температуропроводностью, воды [281] или толуола [282]. Изредка коэффициент теплопроводности получают из стационарного сигнала, однако тогда должна быть известна производная показателя преломления по температуре для каждого образца [283].

В основном существующие данные относятся к определению температуропроводности двухфазных систем, содержащих НЧ металлов и их оксидов. Обычно наблюдается увеличение температуропроводности при возрастании концентрации [279, 281, 284] и размера [74, 280] НЧ, однако имеются результаты с противоположными закономерностями [278, 285]. Исследования НЧ Ад различной формы, стабилизированных мицеллами бромида цетилтриметиламмония, показали, что НЧ в форме стержней улучшают температуропроводность наиболее эффективно [286]. Отметим, что для близких по составу коллоидных растворов приращения коэффициента теплопроводности сильно различаются, не согласуются закономерности зависимостей тепловых свойств от концентрации и размера. Такая ситуация типична именно для дисперсных систем, вне зависимости от того, используются тепловые или оптические методы, и она может быть связана с различными физико-химическими свойствами двухфазных жидкостей. Тем не менее указанные противоречия могут быть следствием получения некорректных данных ввиду использования стандартных гомогенных моделей термолинзового сигнала, которые, вероятно, необходимо корректировать, как сделано в работе [287].

В заключение этого раздела можно выделить следующие ограничения и недостатки фототермических методов для определения теплофизических параметров жидкостей: как и все нестационарные методы, они позволяют определить температуропроводность (для расчёта коэффициента теплопроводности необходимы сторонние методы для определения плотности и удельной теплоёмкости исследуемого объекта). Любой фототермический спектрометр характеризуется определённым динамическим диапазоном по коэффициенту поглощения, поэтому для работы с высококонцентрированными (сильно рассеивающими) растворами необходимо уменьшать либо длину оптического пути, либо мощность индуцирующего лазера. Оба этих фактора приводят к потере прецизионности измерений. Так как большинство методов являются время-разрешёнными, обработка большого массива данных требует значительного времени и учёта дополнительных факторов в случае дисперсных систем. Кроме того, многие фототермические методы изначально создавались с целью испытания твёрдых тел, и для жидких сред конфигурацию установки необходимо изменять или применять специальные ячейки. Наконец, ограничение, которое представляется одним из самых важных: теоретическая база многих фототермических методов основана на моделях для гомогенных сред, таким образом, для гетерогенных жидкостей требуются достаточно серьёзные разработки более сложных моделей фототермических эффектов.

**4.1.2. Теплофизические параметры твёрдых тел.** Фототермические методы — одни из немногих бесконтактных методов исследования тепловых и оптических свойств твёрдых материалов (полимерных нанокомпозитов, стёкол, кристаллов) [20, 288–291]. ФТС используется для непрозрачных образцов с гладкой и шероховатой поверхностью, прозрачных веществ, в том числе плёнок, и для исследования границ раздела [292]. Современные лабораторные установки и опытные схемы обеспечивают двумерные изображения поверхности и трёхмерные изображения приповерхностных слоёв (см. раздел 3), что делает фототермический анализ высокоинформативным.

ТЛС как простой в аппаратурном оформлении метод используют для измерения термооптических параметров материалов для оптических устройств. Так, в работах [293-295] определяли температуропроводность, а также температурный коэффициент длины оптического пути (ds/dT, описывающий тепловое искажение лазерного луча при его прохождении через образец [36]) Er<sub>2</sub>O<sub>3</sub>- и Nd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-легированных стёкол. Метод позволяет проводить измерения при различных температурах [295], ограничения связаны с толщиной образца и пропусканием света (использование тонких пластин до 0,3 см с оптической плотностью до 0,2) [296]. В работе [297] изучали кристаллы фторидов (CeF<sub>3</sub>, KTb<sub>3</sub>F<sub>10</sub> и др.) как потенциальных оптических изоляторов вместо классических кристаллов с помощью ТЛС в параллельно-лучевом режиме с непрерывным облучением. В работе [298] проводили измерение термооптического коэффициента кристаллов по сравнению тангенсов наклона зависимости фазовый сдвиг зондирующего луча-мощность индуцирующего излучения. Показано, что результаты расчёта смещения фокуса с применением ТЛС хорошо согласуются с теорией, различия наблюдаются только в области высоких мощностей из-за изменения формы луча. Отметим, что возникающий в кристаллах твердотельных лазеров при достижении высоких мощностей эффект тепловой линзы требует детального понимания физики этих процессов, и в настоящее время фототермическая спектроскопия, в частности ТЛС, является основным инструментом таких исследований [299, 300].

В оптических схемах, где компоненты (линзы, кристаллы, зеркала и т.д.) подвергаются сильному тепловому воздействию лазерного излучения, необходимо подбирать кристаллы с низким по модулю температурным коэффициентом показателя преломления (dn/dT). Возможность изучения термооптических и оптических параметров (оптической плотности), а также температурного коэффициента длины оптического пути стёкол, кристаллов, плёнок делает ТЛС информативным методом для этой цели [301, 302].

Преимущество OAC, в том числе и перед многими методами фототермической спектроскопии, заключается в том, что её можно использовать в исследовании образцов с высоким коэффициентом поглощения, слоистых или включающих в себя сильно рассеивающие частицы (композитные материалы, плёнки и др.) [303], которые трудно или невозможно анализировать обычными методами пропускания и отражения (например, спектрофотометрией) [304]. Среди ограничений ОАС можно выделить два условия, которые необходимо выполнить для получения значимого оптоакустического сигнала: 1) толщина образца несколько десятых миллиметра; 2) мощность поглощённого света ~ 1 Вт. Нарушение этих требований может вызывать периодические деформации образца, которые влияют на сигнал [305]. Рассчитаны теплофизические параметры нанокристаллического композита CdTe<sub>x</sub>S<sub>1-x</sub>. Показано, что температуропроводность *D* и коэффициент теплопроводности *k* для нанокомпозита на порядок больше, чем для макрокомпозита того же состава [306]. В работе [307] показана возможность применения ОАС для определения температуропроводности и пористости природных пород.

ОАС не требует предварительной обработки образцов [308], в отличие, например, от УФ-видимой спектроскопии, для которой образцы должны быть достаточно тонкими, прозрачными, однородными и иметь гладкую поверхность. ОАС применима для исследования оптических, электронных и тепловых свойств непрозрачных, шероховатых и высокоотражающих материалов. С помощью ОАС исследованы оптические свойства трёхкомпонентных допированных квантовых точек  $CdTe_xS_{1-x}$ . Полученные оптоакустические спектры поглощения согласуются с данными УФ-видимой спектроскопии, а оценка размеров частиц из оптоакустических спектров согласуется с данными просвечивающей электронной микроскопии [306].

Термооптические свойства твёрдых тел изучают с помощью ФТО. Для использования теоретических моделей необходимо сравнивать глубину проникновения света с глубиной диффузии тепла (оптически непрозрачные в случае большой глубины диффузии тепла и прозрачные образцы) и толщину образца с глубиной диффузии тепла (толстые, если толщина превышает глубину диффузии, и тонкие образцы). Для каждого случая существует возможность определения температуропроводности из линейных соотношений между измеряемой величиной и геометрическими параметрами оптической схемы [309]. Например, метод использовался для определения коэффициента теплопроводности тройного сплава BGaAs [310], а также температурной зависимости температуропроводности электродов литий-ионных элементов [311]. Интерес вызывает использование ФТО для изучения нагрева и охлаждения образца лазерным облучением при создании и использовании оптических элементов [312], если зондирующий луч отклоняется в сторону индуцирующего луча, то происходит охлаждение, если наоборот — нагрев.

Группа методов *термоотражения* основана на использовании мощного импульсного лазера в качестве источника периодического нагрева и зондирующего лазера для контроля температуры поверхности по изменившемуся отражению. Эти методы, различные по экспериментальным конфигурациям и аналитическим моделям, разработаны для определения коэффициента теплопроводности как объёмных образцов, так и тонких плёнок, а также контактного теплового сопротивления (interfacial thermal resistance) на границе фаз [59].

Методами фототермической радиометрии также изучают тонкие плёнки на подложке, которые используют в электронике, аэрокосмической сфере и различных областях промышленности. Здесь важны не только теплофизические свойства само́й плёнки, но и процессы на



Рис. 11. (В цвете онлайн.) Схема оптической установки [315]. Индуцирующий и зондирующий лучи выходят из оптического волокна и фокусируются на расстоянии  $\delta$  от поверхности образца. Индуцирующий луч нагревает поверхность, которая, расширяясь, создаёт изогнутый профиль радиусом  $R_c$ . Зондирующий луч отражается обратно и частично собирается тем же волокном;  $w_1$  — перетяжка зондирующего луча на выходе из оптоволокна,  $w_0$  — перетяжка зондирующего луча перед образцом,  $w_2$  — размер возвратного зондирующего луча перед оптоволокном, где он имеет фазовое смещение с радиусом  $R_2$ .

границе плёнка – подложка. Например, ФТР применяется для оценки коэффициента теплопроводности тонких плёнок на основе GeTe [313] с большей точностью, чем другими методами. Два варианта ФТР, с модуляцией непрерывного луча и импульсный, использованы для определения теплопроводности плёнок CrN на кремниевых подложках, теплового сопротивления на границе раздела плёнка – подложка и удельной теплоёмкости плёнок. Последняя согласуется с теплоёмкостью объёмного материала, поскольку, в отличие от коэффициента теплопроводности, удельная теплоёмкость зависит главным образом от химического состава и природы материала и в меньшей степени от микроструктуры [314].

Для изучения распределения теплофизических параметров сложных полимерных композитных материалов используют фототермическую отражательную микроскопию [34, 315]. Сигналом служит интенсивность луча зондирующего лазера, отражённого от фототермически нагретой поверхности образца (рис. 11). Метод позволяет получить карты коэффициента температуропроводности с микрометровым пространственным разрешением. Такое картирование показывает распределение пор и микронеровностей на поверхности.

#### 4.2. Диффузионный массоперенос

Термолинзовый сигнал для жидких образцов может плохо описываться теоретической моделью ввиду термически индуцированного градиента концентрации (диффузионного массопереноса). Данный эффект ярко выражен у многокомпонентных объектов. ТЛС позволяет определять коэффициент массовой диффузии  $D_m$ , который связан с динамической вязкостью [316]. Величина  $D_m$ может быть использована для контроля за качеством материалов, например топлив и пищевых продуктов. Эффект Соре приводит к дополнительному сигналу, особенно при минимальной добавке второго растворителя, и может составлять 25% от сигнала, при этом характеристическое время термофореза в 200–400 раз выше характеристического времени развития термолинзы [1], что даёт возможность разделить сигнал на составляющие.

Фототермические методы используют также для изучения динамики неравновесных тепловых процессов. Так, наблюдали наносекундную динамику нанопузырьков пара, образующихся в жидкости вокруг НЧ при плазмонном нагреве [317]. Нанопузырьки пара являются нелинейными объектами с динамикой в наносекундном масштабе и очень чувствительны к внешним возмущениям. Например, нанопузырёк может быть чувствительным к изменению давления и действовать как быстрый акустооптический преобразователь. В [318] продемонстрирована динамика усадки плазмонных пузырьков, сформированных вокруг погружённых в жидкость НЧ Аи, облучаемых резонансным источником света. Облучение лазером позволяет сместить пузырёк в растворах НЧ на сантиметровые расстояния [319]. Измерения силы на основе кантилевера показывают, что движение происходит из-за всплесков силы в миллисекундном масштабе, которые синхронизированы с испусканием звука. Механизм учёта движущей силы, основанный на термофоретической нестабильности НЧ, аналогичен неустойчивости Джинса, возникающей в гравитационных системах.

# 4.3. Спектры поглощения, слабопоглощающие среды, нелинейные явления

Поскольку большинство методов ФТС и ОАС являются лазерными (силовыми), неразрушающими и бесконтактными, это определяет важную особенность их применения. Для многих задач требуется, чтобы параметры полосы поглощения были измерены одновременно с высокой чувствительностью и точностью. Особенно важно определение поглощающей способности при низких концентрациях и в малых объёмах реальных образцов, поскольку это необходимо для выяснения механизмов химической реакции или биопроцесса. Однако в данном случае возможности традиционных измерений пропускания ограничены [20, 320, 321], а косвенные методы могут приводить к некорректным результатам.

Фототермическая и оптоакустическая спектроскопия ввиду её особенностей востребована при регистрации спектров светопоглощения на очень низком уровне, например для чистой воды в видимой области [322] и ближней ИК-области [323], стабильных частиц [324, 325], кристаллов [326] и дисперсных растворов [327-329]. Доля работ по изучению слабопоглощающих сред (например, сверхчистой воды) с помощью фототермической спектроскопии весьма велика [322, 330]. Рассчитан минимальный линейный коэффициент поглощения  $2 \times 10^{-5}$  см<sup>-1</sup> для диапазона длин волн 360-400 нм [322]. Спектры обертонов валентных С-Н-колебаний формальдегида, ацетальдегида и н-бутиральдегида в жидкой фазе изучены с использованием традиционных методов поглощения и термолинзовой спектрометрии. На основе этих данных определены частоты колебаний и константы ангармоничности валентных колебаний метильной и альдегидных групп [331].

Микроскопические фототермические методы, такие как ТЛМ [19, 332, 333], используют при решении биомедицинских задач [19, 99, 105, 113, 334], которые требуют высокой точности данных о поглощении хромофоров и всего объекта в целом (см. также раздел 8).

Очевидно, что фототермические методы применимы для установления оптических свойств оптических мате-

риалов [5, 335, 336]. Часто требуется проверка точности измеренных значений посредством сравнения с данными, полученными традиционными методами. ФТО-спектроскопия позволяет определять малые поглощения в тонких плёнках [50, 337-340] и надёжно обнаруживать светопоглощение на уровне  $10^{-4} - 10^{-6}$  единиц оптической плотности, тогда как в методах пропускания обычно достижима величина только 10<sup>-2</sup> единиц оптической плотности и при этом в них сложно различить эффекты светопоглощения и светорассеяния. Термооптические методы применяют при исследовании оптических материалов, содержащих наноразмерные частицы. Так, метод, родственный термолинзовой спектрометрии, — Z-сканирование [341] — экспериментально показал уникальные нелинейные оптические характеристики нанокомпозитов на основе Cr [342] и сплава Zn и Cu [341]. Термооптические методы позволяют определять наноразмерные дефекты оптических покрытий [125] и материалов [126]. В частности, методом термооптической микроскопии [126] исследовано развитие дефектов в глубине оптического элемента, содержащего единичную НЧ Аи. Развитие дефекта связано с первоначальным расплавлением частицы. Однако, особенно для сложных объектов, требуется повышение как правильности, так и точности фототермических измерений, и эта задача пока решена не полностью.

В последнее время в практику входят варианты фототермических измерений, основанные на многофотонном поглощении [343, 344]. Фототермические методы основаны на высокочувствительном измерении изменений температуры, вызванных процессами многофотонного поглощения [345]. Указанные работы посвящены изучению нефлуоресцентных молекул дифенилацетилена (ДФА) и дифенилбутадиина (ДФБ) и оценке доли многофотонного поглощения для длин волн 516, 472, 440 и 424 нм. Сечения двухфотонного поглощения сильно зависят от длины π-сопряжения; так, сечение двухфотонного поглощения при длине волны 472 нм для ДФБ примерно в 2,2 раза больше, чем у ДФА [346]. Для измерения нелинейного поглощения в растворителях применяли классический [347, 348] и модифицированный методы Z-сканирования с использованием импульсов фемтосекундного лазера с частотой повторения в несколько МГц [349]. Показано использование двулучевой схемы для визуализации клеток с высокой чувствительностью [350] (рис. 12).

### 5. Фототермическая и оптоакустическая спектроскопия в исследованиях фотохимии и флуоресценции

Этот раздел посвящён задачам и объектам, в которых наряду с тепловым квантовым выходом (т.е. с собственно фототермическим эффектом) имеются альтернативные пути расходования поглощённой энергии (см. рис. 1). Если параметры полосы поглощения известны с высокой точностью, то условия фототермических измерений, особенно в случае лазерно-индуцированных вариантов, могут быть использованы в более сложных экспериментах для процессов, конкурирующих с фототермическими. Чаще всего в качестве таких процессов выступают фотохимические превращения. Также в разделах 5.1 – 5.5 ввиду определённой близости методологии рассмотрено сочетание фототермической и флуоресцентной спектроскопии как методов, дополняющих друг друга.



**Рис. 12.** (В цвете онлайн.) Двухфотонная термолинзовая спектроскопия (ТЛС). Характеристика и оптимизация параметров изображения. (а) Зависимость фототермического (ФТ) сигнала от мощности  $I_{pump}$  индуцирующего лазера в растворе гемоглобина (100 мкМ). (б) Зависимость ФТ-сигнала от мощности  $I_{probe}$  зондирующего лазера. (в) Зависимость ФТ-сигнала и детектируемой интенсивности зонда от отношения *r* радиуса диафрагмы  $R_{pin}$  к радиусу зондирующего луча  $R_{beam}$ . (г) ФТ-изображение отдельных эритроцитов с r = 1 и r = 0.5. (д) Зависимость ФТ-сигнала и отношения сигнал/шум (S/N) от частоты модуляции в диапазоне от 50 кГц до 1 МГц. (е) ФТ-изображение отдельных эритроцитов для частот модуляции 100 и 600 кГц. (Рисунок из работы [350] воспроизводится с разрешения © 2020 AIP Publishing.)

### 5.1. Контроль за протеканием фотохимических и фотоиндуцированных реакций. Определение квантовых выходов

314

Если существуют процессы, конкурирующие с тепловой релаксацией образцов, возбуждённых индуцирующим излучением, то сила фототермического эффекта уменьшается за счёт снижения теплового квантового выхода, что можно использовать для изучения таких процессов и оценки их выходов. Выходы фотохимических реакций для быстрых процессов измеряли с помощью термолинзовой спектрометрии с временным разрешением [351-354]. Получена модель, описывающая фотообесцвечивание при различных температурах эозина Y, используемого в качестве цитоплазматического красителя и фотосенсибилизирующего агента для генерации синглетного молекулярного кислорода. Используя эту модель, получили количественную оценку скоростей молекулярной диффузии, фотообесцвечивания и квантового выхода флуоресценции эозина У [355]. В [356] исследовали фотохимическое хлорирование хлороформа, растворённого в тетрахлорметане, с помощью термодифракционной спектроскопии.

При фотоиндуцированных процессах в генерируемую тепловую волну вносят вклад два процесса: выделение тепла при тепловой релаксации фотовозбуждённой молекулы и структурные изменения, которые происходят в исследуемой системе после фотовозбуждения [23, 357]. Указанные процессы могут быть исследованы с помощью оптоакустической калориметрии. Оптоакустический сигнал можно описать как  $S_{\text{sam}} = KE_a \Phi(\Delta V_{\text{th}} + \Delta V_{\text{con}})$ , где K— постоянная отклика прибора,  $E_a$ — поглощённая энергия,  $\Phi$ — квантовый выход,  $\Delta V_{\text{th}}$  и  $\Delta V_{\text{con}}$ — тепловой и конформационный вклады в изменение объёма раствора соответственно. Изменение объёма может быть выражено как  $\Delta V_{\text{th}} = Q\beta/(C_p\rho)$ , где Q — тепло, отдаваемое растворителю,  $C_p$  — удельная изобарная теплоёмкость,  $\rho$  — плотность. Причём вклад постоянной отклика прибора можно устранить, используя эталонное соединение, которое быстро преобразует энергию поглощённого фотона  $E_{hv}$  в тепло с квантовым выходом  $\Phi$  и не претерпевает конформационных изменений. Амплитуда оптоакустического сигнала для эталонного соединения затем описывается как  $S_{\text{ref}} = KE_a E_{hv} Q\beta/(C_p\rho)$ , а сигнал — как отношение сигналов образца к стандарту  $\phi$ :

$$\phi E_{hv} = \frac{S}{R} E_{hv} = \Phi \left[ Q + \frac{\Delta V_{\rm con}}{\beta / (C_p \rho)} \right]$$

Оптоакустическая калориметрия с временным разрешением использовалась при изучении фотоиндуцированных безызлучательных процессов в растворах. Можно отметить работы по фотоциклизации трифениламина [358] и метилированных тиенокарбазолов, которые могут инициировать фотодеструкцию ДНК [359]. При изучении фолдинга белков и пептидов исследованы белковые перегруппировки [360] в β-листах, рН-индуцированное развёртывание (unfolding) апомиоглобина, белковой части миоглобина [361]. Изучали реакции переноса протона для поли-L-глутаминовой кислоты [362]; полное кислотное развёртывание миоглобина с помощью фотолабильного 1-(2-нитрофенил)этилсульфата при  $\lambda = 633$  нм [363]; наносекундную кинетику рефолдинга β-листов при температуре окружающей среды и рН без каких-либо денатурирующих агентов [364]. В [365] изучена роль специфических взаимодействий, таких как солевые мостики и катион-л-взаимодействия, в стабильности и кинетике свёртывания α-цепей модельного пептида RN80. С помощью оптоакустической калориметрии изучена термодинамика связывания лигандов с белками: фотодиссоциация и конформационная динамика комплекса СО и Fe<sup>2+</sup> из дегалопероксидазы, выделенной из червя *Amphitrite ornata* [366]; фотодиссоциация комплекса СО и цитохрома P450.

Для изучения поведения промежуточных веществ в необратимых реакциях или реакциях с исследованием короткоживущих частиц используют методы динамических тепловых решёток [367] и время-разрешённой термолинзовой спектрометрии [368]. Эти методы позволяют количественно оценить изменения энтальпии и молярного объёма во время фотохимических реакций [369, 370]. Одним из практически важных примеров использования время-разрешённых измерений в методе тепловых динамических решёток является изучение диссоциации карбоксимиоглобина [371, 372]. Измерения в диапазоне времён от 10<sup>-7</sup> до 10<sup>-2</sup> с позволили установить основные этапы процесса: высвобождение СО (10<sup>-7</sup>-10<sup>-6</sup> с), термодиффузию ( $10^{-6} - 10^{-5}$  с), диффузию СО ( $10^{-5} 10^{-3}$  с), бимолекулярную рекомбинацию ( $10^{-3} - 10^{-2}$  с). Увеличение числа флуктуаций белка во время реакции показано на примере фотосенсорного белка, выделенного из фиолетовой сульфобактерии Ectothiorhodospira *halophile* (14 кДа), в диапазоне времён  $10^{-6} - 10^{-2}$  с установлены следующие изменения: фотоизомеризация с образованием интермедиата (красное смещение)  $(10^{-6} \text{ c})$ , термодиффузия  $(10^{-6} - 10^{-5} \text{ c})$ , трансформация интермедиата в новый продукт (синее смещение) (10<sup>-4</sup>-10<sup>-3</sup> с) и диффузия продуктов фотореакции  $(10^{-3} - 10^{-2} \text{ c})$ .

# 5.2. Реакции с участием возбуждённого триплетного состояния молекул

Общепринятая схема поведения крупной органической молекулы под действием излучения включает в себя поглощение с переходом из основного синглетного состояния  $S_0$  в возбуждённое  $S_1$ . Снятие возбуждения может быть реализовано как возвращением в исходное состояние  $S_0$ , так и переходом в метастабильное триплетное состояние  $T_0$ , которое с течением времени также перейдёт в  $S_0$  [373]. Если в системе есть посторонние молекулы, то триплет может вступать с ними в химическую реакцию, что можно считать ещё одним путём релаксации. Изучение подобных реакций, протекающих через метастабильное триплетное состояние, служит ещё одним направлением применения фототермической спектроскопии.

Вероятно, первая работа в этой области посвящена взаимодействию дифенилкетона с анилином [374]. Теплофизические параметры этой реакции авторы определили с помощью оптоакустической калориметрии. При этом разработана численная теория оптоакустического эксперимента. Для обоснования методики определения энтальпии реакции с участием частиц с временем жизни  $\tau_0$  авторы получили выражение в явном виде для сигнала на детекторе в приближении точечных источника тепла и детектора, поведение последнего описывается приближением затухающего гармонического осциллятора с частотой колебаний  $v_t$  и временем релаксации  $\tau_t$ :

$$U(t) = \frac{Q_{\text{th}}K_t}{4\pi r_0} \frac{v_t \tau_0}{1 + v_t^2 \tau_0^2} \left\{ \exp\left(-\frac{t}{\tau_0}\right) - \exp\left(-\frac{t}{\tau_t}\right) \times \left[\cos\left(v_t t\right) - \frac{1}{v_t} \left(\frac{1}{\tau_0} - \frac{1}{\tau_t}\right) \sin\left(v_t t\right)\right] \right\},$$
(1)

где  $Q_{\rm th}$  — поглощённая энергия, выделившаяся в виде теплоты,  $K_t$  — постоянная отклика прибора,  $r_0$  расстояние от источника до детектора. Строго говоря, приближение точечного источника тепла в описанных условиях не выполнялось. Тем не менее при измерении во времени  $t < 1/v_t$  выражения для сигнала в предельных случаях короткоживущих,  $\tau_0 \ll 1/v_t$ , и долгоживущих,  $\tau_0 \gg 1/v_t$ , частиц должны сохраняться. Поэтому соотношения

$$U_{\rm m} = \frac{Q_{\rm th}K_t}{4\pi r_0} = K'Q_{\rm th} , \ U_{\rm m} = K'\phi_{\rm th}E_{\rm a} , \qquad (2)$$

используемые для определения теплового выхода  $\phi_{\rm th} = Q_{\rm th}/E_{\rm a}$ , должны сохраняться. Для калибровки использовали серии растворов 9-флюоренона, антрацена, тетрафенилэтилена и родамина 6G в этаноле. Поскольку все эти вещества при поглощении индуцирующего излучения испускают флуоресцирующее излучение с квантовым выходом  $\Phi_{\rm fl,i}$  и частотой  $v_{\rm fl,i}$ , величину  $\phi_{\rm th,i}$  для них можно рассчитать как

$$\phi_{\mathrm{th},i} = 1 - \frac{\Phi_{\mathrm{fl},i} v_{\mathrm{fl},i}}{v} \,. \tag{3}$$

В случае бензофенона предполагалось, что образующиеся в результате радикалы относительно стабильны и в течение эксперимента не претерпевают никаких химических изменений, а триплетный бензофенон образуется в растворе из бензофенона с единичным квантовым выходом и полностью вступает в реакцию с анилином. Энтальпию реакции  $\Delta H_r$  определяют из (2) и  $\Delta H_r = hv(1 - \phi_{th})$ .

Рассматривая случай одновременного протекания нескольких реакций и наличия в растворе *n* соответствующих им метастабильных частиц, каждая из которых имеет собственное время жизни т<sub>i</sub>, в [375] получили выражение, аналогичное (1). Параметры  $\tau_i$  и  $\phi_{\text{th},i}$  подбирали с помощью численных методов, минимизируя сумму квадратов отклонений для точек на экспериментальной кривой от значений, рассчитанных теоретически. Рассматривали реакцию фотодиссоциации валерофенона. Триплетное состояние из схемы рассмотрения исключено, поскольку его образование происходит очень быстро, так же как и изомеризация в бирадикал. Калибровку проводили по раствору ферроцена в этаноле. Полученные подбором значения  $\tau_i$  позволяют судить о кинетических, а  $\phi_{\text{th},i}$  — о термодинамических параметрах соответствующих стадий реакции:

$$k_{1} = \frac{1}{\tau_{1}}, \quad \Delta H_{1} = hv(1 - \phi_{\text{th},1}),$$

$$\Delta H_{2} = hv(1 - \phi_{\text{th},1} - \phi_{\text{th},2}).$$
(4)

Другой подход к изучению подобных реакций с использованием спектроскопии ФТО в коаксиальном импульсном варианте применён в [376] для определения энтальпии и скорости реакции бензофенона с этанолом. Эта работа интересна тем, что в ней предварительно рассматриваются все протекающие релаксационные процессы и приводится аналитическое выражение для теплоты  $Q_i$ , производимой или поглощаемой при протекании *i*-го процесса. Одной из основных идей, на которых базируется подход, является разделение этих процессов на быстрые и медленные (табл. 1) по отношению к времени (порядка 100 нс) развития градиента плотности.

Таблица 1. Процессы, происходящие при реакции бензофенона с этанолом, и их параметры [376]

Ста-	Процесс	Скорость
дил		
1	Внутренняя и интеркомбинационная конвер-	Быстрый
	сия возбуждённого синглетного состояния S <sub>n</sub>	
2	Переход из возбуждённого состояния Т <sub>n</sub> в	Быстрый
	основное триплетное $T_1$	
3	Релаксация основного триплетного состояния	Медленный
	$T_1$ в основное синглетное $S_0$	
4a	Переход электрона с Т1 на энергетический	Медленный
	уровень молекулы-акцептора с энергией <i>E</i> <sub>acc</sub>	
4б	Дальнейшие превращения первичного	Очень
	продукта реакции бензофенона с акцептором	медленный

Так, времена жизни молекул в возбуждённых синглетном и триплетном состояниях достаточно малы по сравнению с длительностью индуцирующего лазерного импульса  $t_0$ . Таким образом, можно считать, что для времён эксперимента  $t \ge T_0 Q_1 = \text{const}, Q_2 = \text{const}, \text{ т.е. ста$ дии 1 и 2 (см. табл. 1) уже завершились и выделили тепло к моменту времени <math>t.

Главные допущения, использованные для описания импульсного эксперимента, состоят в том, что образец подвергается облучению светом с основной поперечной электромагнитной модой ТЕМ<sub>00</sub> в течение очень малого времени, которое существенно меньше характеристического времени теплопереноса, а значит, и характерного времени диффузии. Тогда распределение в образце возбуждённых молекул, возникших в результате поглощения индуцирующего излучения, должно сохранять гауссов профиль этого излучения [377]. Дальнейшее решение задачи о распределении температуры основано на предположении о том, что выделение тепла в каждом процессе происходит быстрее, чем его распространение за пределы облучённой области [376, 378]. На основании основных уравнений ФТО можно получить окончательное выражение для угла отклонения

$$\varphi(x,t) = -\frac{1}{n_0} \frac{\partial n}{\partial T} \frac{8E_0 \mu l}{h \nu \pi \rho C_p (8D_t + \omega_e^2)^2} \sum_i Q_i(t) , \qquad (5)$$

где  $\mu$  — линейный коэффициент поглощения, l — длина оптического пути, D — коэффициент температуропроводности,  $\omega_{\rm e}$  — радиус перетяжки индуцирующего луча. При этом суммарная теплота  $\sum_{i} Q_i(t)$ , выделившаяся к моменту времени t, приведена к виду

$$\sum_{i} Q_{i}(t) = A_{\infty} + A_{d} \exp\left(-k_{d}t\right) + A_{a} \exp\left(-k_{a}t\right), \qquad (6)$$

где  $A_{\infty} = Q_1 + Q_2 + Q_3 + Q_{4a} + Q_{4b}, A_d = Q_{4b}k_a/(k_d - k_a) - Q_{4a}(\infty) - Q_3(\infty), A_a = -Q_{4b}k_d/(k_d - k_a), k_d = k_3 + k_{4a}[Q]$  — суммарная константа процесса расходования триплетного бензофенона,  $k_a = k_{4b}$  — суммарная константа процесса расходования радикальных продуктов взаимодействия триплетного бензофенона и этанола (Q). Значения  $A_{\infty}, A_d, A_a, k_d, k_a$  могут быть получены аппроксимацией экспериментального сигнала зависимостью (6). При аппроксимации оказалось, что получившееся выражение содержит лишь одну экспоненту, поэтому принято  $Q_{4b}(t) \equiv 0, k_a \equiv 0$ . Эта модель используется для описания многих фотохимических реакций. В большинстве других работ, применяющих фототермические методы, также предполагается существование долгожи-

вущего триплетного состояния, но оно не всегда учитывается в явном виде.

# 5.3. Сочетание фототермической спектроскопии с флуориметрией

Двулучевая ТЛС может рассматриваться как альтернатива флуоресцентной спектроскопии. Поскольку ТЛС может использоваться как в толстых образцах, так и в тонких плёнках, метод имеет преимущество перед флуориметрией [379]. При этом требуются лазерные лучи с поперечной модой, близкой к ТЕМ<sub>00</sub>-моде, и образцы с высокой однородностью по показателю преломления (исключаются непрозрачные и высокодисперсные системы) [36]. Начальные работы в этом направлении проводились с целью оценки квантовых выходов флуоресценции Ф и их сравнения с результатами флуориметрического определения [380, 381]. ТЛС использовали для реакций, включающих флуоресцентные исходные вещества или продукты [382-385]. Уравнение для расчёта квантового выхода флуоресценции исходя из термолинзового сигнала [386] имеет вид

$$\Phi = \left(1 - \frac{A_{\rm r}\theta}{A\theta_{\rm r}}\right)\frac{\lambda_{\rm f}}{\lambda_{\rm a}}\,,\tag{7}$$

где  $\lambda_{\rm f}$  — длина волны флуоресценции,  $\lambda_{\rm a}$  — длина волны поглощения,  $\theta$  и A — сигнал термолинзы и оптическая плотность образца соответственно,  $\theta_{\rm r}$  и  $A_{\rm r}$  — сигнал термолинзы и оптическая плотность для эталонного светопоглощающего вещества соответственно. Из уравнения фазового сдвига зондирующего луча

$$\theta = -\frac{P_{\rm e}A_{\rm e}l_0}{k\lambda_{\rm p}}\phi\left(\frac{{\rm d}S}{{\rm d}T}\right),\tag{8}$$

где  $P_e$  — мощность индуцирующего лазера,  $A_e$  — линейный коэффициент поглощения на длине волны индуцирующего излучения,  $l_0$  — длина оптического пути,  $\lambda_p$  длина волны излучения зондирующего лазера, часть энергии, преобразованной в тепло,  $\phi$  для флуоресцентных образцов находится как  $\phi = 1 - \eta (\lambda_a / \lambda_f)$ . Нахождение  $\phi$  возможно при использовании эталонного образца с известным квантовым выходом. ФТС применяли для оценки квантового выхода флуоресценции в реакциях различных типов, включающих синглетный кислород и квантовые точки [385, 387–391].

Квантовый выход является одним из наиболее важных оптических свойств люминесцентных стёкол, особенно тех, которые используют как активные лазерные среды. Внимание уделяется стёклам, легированным редкоземельными металлами (Nd, Yb, Eu и др.) [294, 295, 392-394]. Во многих случаях сравнивают данные легированного стекла (Е) с данными эталонного образца  $(E_{
m ref})$ :  $E/E_{
m ref} = \phi/\phi_{
m ref} = \phi_{
m ref}^{-1}(1-\Phi\lambda_{
m ex}/\lambda_{
m em}),$  где  $\lambda_{
m ex}$  — длина волны возбуждения,  $\lambda_{em}$  — длина волны испускания. В качестве эталона выступает образец с тем же элементом в составе. Методом двулучевой ТЛС установлено, что квантовая эффективность флуоресценции уменьшается с возрастанием концентрации редкоземельного элемента [294] и температуры [295, 393]. Сопоставление результатов показало хорошее согласие с расчётами по теории Джадда-Офельта для Nd-легированных стёкол [395] и керамики, допированной Eu<sup>3+</sup> и Tm<sup>3+</sup> [396]. С помощью однолучевой ТЛС оценили  $\Phi$  для квантовых точек CdTe при варьировании рН [397].

### 5.4. Тушение флуоресценции

Фототермическая и оптоакустическая спектроскопия используются для исследования процессов тушения флуоресценции и передачи энергии от флуоресцирующих соединений другим молекулам. В [384] упрощают уравнение для квантового выхода (7) до  $\Phi = (1 - \theta/\theta_r) \times$  $\times \lambda_{\rm f}/\lambda_{\rm a}$ . Сигналы термолинзы  $\theta_0$  и  $\theta$ , измеренные соответственно в отсутствие и при наличии тушителя, связаны следующим образом:  $\theta_0/\theta = (1 - \Phi_0 x)/(1 - \Phi x)$ , где  $\Phi_0$  и  $\Phi$  — квантовые выходы флуоресценции в отсутствие и при наличии тушителя, х — параметр, учитывающий тепло, генерируемое за счёт стоксова сдвига. По известному  $\Phi_0$  можно рассчитать  $\Phi$  как функцию концентрации тушителя с [386]. Далее, в уравнении Штерна – Фольмера отношение квантового выхода также можно заменить термолинзовым сигналом. Тогда выражение примет вид:  $\theta_0/\theta = 1 - k_{\rm L} \tau [c_0]$ . Это уравнение можно выразить через концентрации донора, флуорофора и тушителя, акцептора ( $c_0$  и c соответственно):  $\theta_0/\theta = 1 - c_0/c$ , где  $\theta_0$  и  $\theta$  термолинзовые сигналы для донора и акцептора соответственно [398]. На основе этих соотношений оценены скорости передачи энергии от флуорофора к тушителю и расстояние донор-акцептор R через концентрацию акцептора:  $R = 7,35/(c_0)^{1/3}$  [398, 399].

Снижение эффективности флуоресценции при добавлении тушителя должно приводить к сопутствующему увеличению тепловой мощности, выделяемой образцом. Таким образом, можно ожидать, что фототермический сигнал будет изменяться значительнее, чем интенсивность флуоресценции, поскольку он пропорционален количеству выделяемого тепла [383, 400]. Однако полное тушение может привести к ошибочным значениям квантового выхода. Целью нескольких работ являлось исследование этого эффекта [383, 386, 392]. Эксперименты проводили в различных средах, включая этанол, воду и мицеллярные водные растворы. Результаты фототермических измерений согласуются с данными флуоресцентной спектроскопии только в ограниченном диапазоне концентраций тушителя. В [383] оценили квантовый выход в водных и мицеллярных растворах родамина 6G с оптической плотностью A < 0.01. В этих условиях связь между термолинзовым сигналом и долей поглощённой энергии в координатах доля поглощённого света  $(1-10^{-A})$ -фототермический сигнал  $\theta$  линейна [380]. В противном случае тепловая энергия, производимая реакцией тушения, больше, чем связанная с этим потеря энергии излучения. Такие отклонения являются серьёзным недостатком, когда фототермические методы используют для исследования реакций, приводящих к тушению флуоресценции.

#### 5.5. Фототермическая термометрия

Нейронные сети использованы для распознавания особенностей спектра флуоресценции термочувствительного зонда, чтобы добиться флуоресцентной термометрии с точностью до 200 мК с шириной полосы частот 100 МГц и высокой устойчивостью к флуктуациям интенсивности зондирующего лазера (532 нм) [401]. Концепция реализована для окрашенных родамином В смесей CuCl<sub>2</sub> и глицерина. Температурная зависимость флуоресценции регистрируется в интервале температур от 234 до 311 К. Пространственная зависимость калиброванной амплитуды и фазы фототермически индуцированных колебаний температуры вдоль оси лазера возбуждения определяется при разных частотах модуляции. Пространственная и частотная зависимость температурных сигналов хорошо согласуется с одномерной многослойной моделью термодиффузии [402]. В реализации подхода во временной области постепенное повышение температуры из-за накопления постоянного компонента теплового потока, создаваемого лазерными импульсами (1064 нм), а также немедленное переходное изменение температуры, после того как каждый отдельный импульс извлекается из полученных временных последовательностей спектров флуоресценции, индуцируется непрерывным лазерным излучением. Стробоскопическая реализация флуоресцентной термометрии с применением импульсного зондового лазера с флуоресцентным излучением обеспечивает дистанционное обнаружение изменений температуры с временным разрешением 10 нс [401].

Рассмотрение фототермической термометрии в более широком смысле, как раздела оптической и, в общем, радиационной термометрии, выходит за рамки настоящего обзора. Подробно результаты применения методов фототермической термометрии представлены в работах последних лет [403–405].

### 6. Исследование химических реакций

В разделе 5 мы описали ряд примеров использования фототермической и оптоакустической спектроскопии для фотохимических реакций. Однако область применения рассматриваемых методов шире. Прежде всего, поскольку при реакциях могут изменяться полосы поглощения или теплофизические параметры образца, фототермическая и оптоакустическая спектроскопия могут быть использованы для прямого контроля над этими реакциями, как и другие методы оптической или тепловой спектроскопии. Но, кроме того, эти методы могут применяться для определения теплоты формирования переходных соединений и свободных радикалов, поскольку все химические реакции сопровождаются выделением или потреблением тепла. В результате выделяемое в таких процессах тепло вызывает термическое расширение исследуемого раствора и соответственно изменение коэффициента преломления, которое измеряют фототермическими методами.

В значительной части литературы, посвящённой фототермической спектроскопии, возможности применения последней для изучения химических реакций уделяется относительно мало внимания. В работах, посвящённых этой проблеме, детально рассматриваются лишь особенности применения отдельных методов [58, 373, 406-408]. Таким образом, остаётся актуальным вопрос систематизации имеющихся проблем и подходов к их решению в данной области. Ниже рассмотрены некоторые особенности, обусловленные механизмом или условиями протекания конкретных химических реакций, изученные методами фототермической и оптоакустической спектроскопии. Этот раздел не является исчерпывающим описанием всех областей применения рассматриваемых в обзоре методов, связанных с исследованием химических реакций. Рассмотрены только некоторые типы химических реакций, описываемые отдельной термооптической или теплофизической моделью, несколько отличающейся от общей модели. За рамками рассмотрения остаётся применение ФТС для изучения биологических процессов. Как правило, каждая биологическая система индивидуальна и требует отдельного длительного и подробного обсуждения, что выходит за рамки настоящего обзора [409–413]. Тем не менее существуют работы, описывающие особенности, которые надо учитывать при применении термооптических методов к исследованию конкретных биологических объектов [414, 415].

# 6.1. Контроль за протеканием химических реакций по изменению оптических свойств

Чаще всего фототермические и оптоакустические методы используют для контроля за химическими реакциями как методы абсорбционной спектроскопии. Изучалась димеризация умеренно флуоресцентного соединения с более высокой, чем у родамина 6G, константой димеризации тетракарбоксифталоцианиндиамида цинка (ZnTCPc) в водном растворе. Подтверждено, что фототермические измерения чувствительнее по сравнению с таковыми, производимыми с использованием спектрофотометрии и флуоресценции (при условии правильно подобранной длины волны) [400]. При поглощении мономера и димера на одной длине волны спектрофотометрия, так же как и измерения флуоресценции в случае малой константы димеризации (родамин 6G), приводит к отклонению от линейности зависимости сигнала от концентрации. Результаты, полученные с помощью ТЛС с применением импульсного лазерного возбуждения, не выявляют таких отклонений. Это может быть связано с временем формирования тепловой линзы. В экспериментах с непрерывным лазерным возбуждением формирование происходит в течение значительного времени, обычно за несколько миллисекунд или секунд. В экспериментах с импульсным лазером облучение образца происходит в течение малого времени (5-10 нс) и линза формируется за период от нескольких микросекунд до нескольких сотен микросекунд. При этом характеристическое время, описывающее скорость теплопередачи, находится в широком интервале — от нескольких сотен микросекунд (хлороформ, вода, нитробензол) [416] до 1 пс-10 нс (для нанообъектов размером до 100 нм) [417]. Следовательно, ТЛС с импульсным индуцирующим лазером менее чувствительна к присутствию медленных химических и/или физических процессов, препятствующих формированию тепловой линзы [386].

Изучение межмолекулярных взаимодействий позволяет предсказывать механизмы химических реакций и описывать стабильность коллоидных систем. Создана модель описания жидких бинарных смесей (CH<sub>3</sub>OH, CCl<sub>4</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ДМСО) с учётом изменения физических параметров, а также молекулярных свойств этих растворителей, таких как межмолекулярные взаимодействия, водородные связи и т.д. [418].

Для изучения процессов фотоизомеризации с помощью ОАС используют изооптоакустические точки [419, 420], т.е. длины волн, волновые числа или частоты излучения, при которых общая энергия, излучаемая образцом в виде тепла при оптоакустическом нагреве, не изменяется при протекании химической реакции или физическом изменении образца. Положение изооптоакустической точки зависит от условий эксперимента, при этом разница между изобестическими точками в спектрофотометрии и изооптоакустическими точками является результатом нелинейной зависимости между молярным коэффициентом поглощения и оптоакустиче ским сигналом, что может служить источником информации.

# 6.2. Контроль за протеканием химических реакций по изменению температуропроводности

Если теплофизические параметры исследуемых объектов известны, то становится возможным изучение механизма реакций, в которых мало изменяются спектры поглощения. Для этой цели фототермические и оптоакустические методы используются несколько реже, чем для оптического мониторинга, но ситуация начинает меняться.

Двулучевая ТЛС в ближней ИК-области использовалась для контроля над реакцией переэтерификации во время производства биодизеля с целью повышения качества выпускаемого топлива [421, 422]. Использование метода способствует оптимизации процесса производства биодизеля, указывая наилучшее время для остановки реакции (рис. 13). Значения температуропроводности D как функции времени реакции сильно зависят от вязкости [423], что позволяет использовать D и термооптические параметры для определения содержания биодизеля в смесях. Имеется возможность изучения фотохимических реакций по изменению D и оптической плотности А. ТЛС в параллельно-лучевом режиме с непрерывным облучением применялась для оценки окислительной стабильности различных масел при синтезе биодизеля [422] и в мониторинге качества растительных масел [424].

В [425] на основе результатов измерений D и коэффициента теплопроводности k бариевых стёкол с различным содержанием TiO<sub>2</sub> пришли к выводу, что TiO<sub>2</sub> играет ключевую роль в стеклообразовании, не выявленную классическими методами. Проведено исследование границы раздела фаз твёрдый TiO<sub>2</sub> – органический краситель для изучения процессов в элементах солнечных батарей [426].

Использование ФТР как группы неразрушающих методов хорошо подходит для исследования реакций в поверхностных и приповерхностных областях благодаря возможности изучения структуры поверхности, выявления различных дефектов, повреждений, неодно-



**Рис. 13.** (В цвете онлайн.) Произведение коэффициента поглощения *А* на производную показателя преломления от теплоты образца (A dn/dQ) при  $\lambda_e = 970$  нм и концентрация сложного эфира, определяемая хроматографически как функция времени реакции. (Рисунок из работы [421] воспроизводится с разрешения © 2020 AIP Publishing.)



Рис. 14. (В цвете онлайн.) Зависимость амплитуды (а) и фазы (б) сигнала ФТ-радиометрии при временной эволюции температуропроводности в процессе фотополимеризации стоматологических смол. (Рисунок из работы [427] воспроизводится с разрешения © 2007 IOP Publishing.)

родных областей в материалах и т.д. ФТР использована при изучении реакций, обусловленных изменениями оптических и тепловых параметров образцов, для получения изображений и оценки различных веществ. Так, при изучении кинетики затвердевания композитных материалов [427] использовали два композита, широко применяемых в стоматологии (рис. 14). Если известны начальная и конечная температуропроводности, а также времена, полученные из моделирования экспериментальных данных, то результаты расчётов можно интерпретировать как кинетические уравнения фотоотверждения полимеров, в которых временная зависимость концентрации мономера [M](x, t) от времени и глубины равна скорости полимеризации  $R_p$ :

$$R_{\rm p}(x,t) = k_{\rm p}[\mathbf{M}](x,t) \sqrt{\frac{\gamma \varepsilon [\mathbf{PI}] I_0 \exp\left(-\eta x\right)}{k_{\rm t}}},\tag{9}$$

где  $\gamma$  — квантовый выход реакции полимеризации,  $\varepsilon$  — молярный коэффициент экстинкции фотоинициатора, [PI] — концентрация фотоинициатора,  $I_0$  — интенсивность индуцирующего излучения,  $\eta$  — коэффициент ослабления индуцирующего излучения образцом,  $k_p$  — константа скорости роста цепи,  $k_t$  — константа скорости обрыва цепи. Если в (9) в первом приближении считать, что величины под корнем неизменны, то можно получить кинетическое уравнение первого порядка для концентрации мономера:

$$[\mathbf{M}](t) = [\mathbf{M}]_0 \exp\left(-\frac{t}{b}\right),\tag{10}$$

где  $b = k_p^{-1} \left( \sqrt{\gamma \varepsilon [\mathbf{PI}] I_0 \exp{(-\eta x)/k_t}} \right)^{-1}$ . Таким образом, кинетика первого порядка изменения температуропроводности в процессе полимеризации является прямым следствием того, что изменения концентрации мономера также соответствуют кинетике первого порядка. Соотношение между средней степенью полимеризации P(x, t) и глубиной диффузии:

$$P(x,t) = \frac{[\mathbf{M}]_0}{[\mathbf{M}](x,t)} = \exp\left[\left(\frac{\sqrt{D_\infty} - \sqrt{D_s(x)}}{\sqrt{D_\infty} - \sqrt{D_0}}\right)^{\eta/(2q)} \frac{t}{\tau}\right],\tag{11}$$

где  $D_{\infty}$ ,  $D_0$  — коэффициенты температуропроводности смолы по окончании и до начала отверждения соответ-

ственно, q — константа скорости возрастания температуропроводности. Уравнение (11) обеспечивает простую взаимосвязь между коэффициентом температуропроводности  $D_s$ , зависящим от глубины, и степенью отверждения через [M](x, t). Таким образом, при отверждении температуропроводность увеличивается и её возрастание может быть описано кинетическим уравнением первого порядка. Используя температуропроводность для каждой глубины, можно получить степень полимеризации в зависимости от глубины и, таким образом, судить о полноте процесса отверждения [427–429].

Возможности время-разрешённой ОАС позволяют исследовать фотоиндуцированные химические процессы, а также "оптически бесшумные", т.е. не проявляющие изменений в поглощении или испускании, промежуточные продукты [406, 409]. Можно выделить направления исследований, связанные с изучением тепловых и фототермических свойств НЧ [430] или квантовых выходов флуоресцирующих органических молекул по спектрам отражения [431]. Исследование квантовых выходов основано на регистрации кажущегося спектра отражения с использованием интегрирующей сферы [432] и модели корректировки данных [433]. Так, ОАС применяли для изучения только реакций псевдопервого порядка, параллельных либо последовательных, включая тепловые равновесия [434]. Измерение выделенного тепла используется для определения уровней энергии промежуточных соединений при условии, что квантовые выходы для реакций известны. И наоборот, если уровень энергии промежуточных соединений известен из других спектроскопических методов, то определение квантовых выходов возможно для фотоизомеризации [435], переноса зарядов [436], фосфоресценции [406], флуоресценции и процессов переноса энергии [437].

### 6.3. Реакции с возникновением или переносом заряда. Электрострикция

Все фототермические методы исследования термодинамических характеристик реакций основаны на разделении энтальпийного и неэнтальпийного вкладов в сигнал. После поглощения лазерного излучения теплота выделяется в результате распада короткоживущих возбуждённых частиц. С другой стороны, на сигнал также влияют и другие процессы, например изменение молярного объёма  $\Delta V_{\rm rx}$ , наблюдаемое в ходе химической реакции. Особенно важен учёт последнего для реакций, протекающих с изменением числа молей или распределения электрического заряда [438].

Основные подходы, используемые для отделения вклада в сигнал, обусловленного изменением объёма, от энтальпийного вклада описаны на примере оптоакустической спектроскопии [439]. Все они основаны на предположении о том, что суммарное (молярное) изменение объёма в химической реакции  $\Delta V_{rx}$  не зависит от температуры и остаётся постоянным при замене исходного растворителя близким к нему по свойствам. Однако если в результате реакции образуются новые заряженные частицы либо меняется распределение заряда у исходных заряженных частиц, то вследствие эффекта электрострикции принятое допущение может не выполняться. С использованием соотношения Клаузиуса – Моссотти для выражения  $\partial \varepsilon/\partial p$  сжатие сольватной оболочки заряженных частиц в растворе может быть описано как [440 – 442]

$$\Delta V_{\rm el} = -\frac{\mu^2}{R^3} \frac{(\varepsilon+2)(\varepsilon-1)}{(2\varepsilon+1)^2} \kappa \tag{12}$$

для диполя с дипольным моментом  $\mu$  и как

$$\Delta V_{\rm el} = -\frac{Z^2 e^2}{6R} \frac{(\varepsilon + 2)(\varepsilon - 1)}{\varepsilon^2} \kappa \tag{13}$$

для иона с зарядом Z, где  $\varepsilon$  — относительная диэлектрическая проницаемость растворителя, R — радиус полости в структуре растворителя, в которой расположена частица, e — элементарный электрический заряд.

Наблюдаемое на практике изменение объёма для одной молекулы в ходе химической реакции  $\Delta V_r$  обусловлено как внутримолекулярными изменениями в растворённом веществе ( $\Delta V_{str}$ ), так и реструктуризацией растворителя вблизи частиц этого вещества ( $\Delta V_{sol}$ ) [443]. Уменьшение объёма вследствие электрострикции является одним из основных составляющих вклада  $\Delta V_{sol}$ . В общем случае вопрос о том, насколько сильно электрострикция определяет суммарное изменение объёма  $\Delta V_r$  для конкретного объекта, является дискуссионным [440]. Тем не менее можно ожидать достаточно большой доли  $\Delta V_{el}$ , вплоть до  $\Delta V_{el} \approx \Delta V_r$  [438, 441].

Как можно увидеть из (12) и (13), если эффект электрострикции значителен, то  $\Delta V_r$  начинает зависеть от параметров  $\varepsilon$  и  $\kappa$ , которые в общем случае изменяются с температурой и сменой растворителя. Диэлектрическая проницаемость  $\varepsilon$  при переходе от одного алкана к другому внутри гомологического ряда, а также при изменении температуры изменяется незначительно и этим можно пренебречь. Однако изменение  $\kappa$  в ряду н-алканов при повышении температуры существенно и его приходится учитывать. В этих условиях полученные величины не могут быть однозначно интерпретированы как энтальпия и молярное изменение объёма [438, 441].

В [438] предложили использовать изотопозамещённые растворители. Так, при переходе от обычного растворителя к дейтерированному величина  $\chi_s$  может возрасти достаточно (на 20–100 %) для того, чтобы провести разделение термического и объёмного вкладов. В рамках этого подхода необходимо использовать реакции, не протекающие через стадию переноса водорода от растворителя. Более простой подход применён в [441], где изучали процесс образования цвиттер-иона из крупных органических молекул со структурой типа донор – мостик – акцептор под действием лазерного излучения. Применили подход, основанный на измерениях в серии алканов нормального строения. Чтобы исключить изменение  $\Delta V_{\rm rx}$  при смене растворителя, для каждого алкана подбирали температуру проведения эксперимента таким образом, чтобы величина  $\kappa(\epsilon + 2)(\epsilon - 1)/(2\epsilon + 1)^2$  оставалась постоянной для всей серии растворителей  $(2,2 \times 10^{-10} \ {\rm ma}^{-1})$ . Таким образом, линейная зависимость

$$S_i = \phi_{\rm th} + \frac{\Delta V_{\rm rx}}{Q_{\rm th}\chi_{\rm s,i}}, \qquad (14)$$

где  $\chi_{s,i} = \beta/(C_p \rho)$  — термическая расширяемость, характеризующая растворитель при заданной температуре (thermal expansivity), должна сохраняться. Экспериментальное значение  $\Delta V_r$  (погрешность порядка 20%) близко к величинам  $\Delta V_{el}$ , оценённым из (12) и (13), при условии, что цвиттер-ион рассматривается как два различных противоположно заряженных иона с |Z| = 1. На основании полученного значения  $\Delta V_r = \Delta V_{sol}$  энтропия сольватации иона была рассчитана как  $\Delta S_{sol} =$  $= \Delta V_{sol}\beta/\kappa$ .

Использование основанной на измерении градиента показателя преломления термооптической спектроскопии в некоторых случаях может помочь частично решить проблему разделения сигнала, поскольку развитие акустического градиента показателя преломления сопровождается прохождением звука. В результате на начальном этапе эксперимента можно следить за образованием и гибелью достаточно короткоживущих частиц, не внося поправки для учёта сигнала, вызванного какими-либо объёмными изменениями. Такой подход применим только для исследования процессов с участием очень короткоживущих частиц, а тот факт, что в органических растворителях полностью развитый акустический градиент преломления вносит гораздо больший вклад по сравнению с термическим вкладом, создаёт дополнительные трудности [438].

Реакции, приводящие к перераспределению заряда, достаточно распространены в биологических системах [375, 410, 444], однако, как сказано выше, не всегда наблюдаемую в них величину  $\Delta V_r$  удаётся объяснить только с помощью электрострикции.

### 6.4. Неразветвлённые цепные реакции

Особенностью неразветвлённых цепных реакций является наличие в схеме процесса нескольких периодически повторяющихся последовательных стадий, в ходе которых все промежуточные реакционные частицы, поглощённые на одной из таких стадий, будут регенерированы в последующих. В отличие от рассмотренных выше реакций, цепные реакции часто характеризуются значительным экзотермическим эффектом, поэтому суммарная теплота, выделившаяся в объекте, может превышать энергию, полученную за счёт поглощения излучения. Высокие селективность и временное разрешение ФТС и ОАС делают их одним из немногих подходов, обеспечивающих непосредственное наблюдение за протеканием цепной реакции *in situ* [356, 445, 446].

Первая работа [447], которую можно назвать фототермическим исследованием цепной реакции, проведена с использованием ртутной лампы и 50 термопар. Подобный метод можно отнести к фототермической калориметрии. Предметом многих исследований [446, 448, 449] является протекающая в газовой фазе реакция водорода с хлором

$$H_2 + Cl_2 \xrightarrow{nv} 2HCl_1$$

изучаемая с помощью ОАС. Эта реакция является удобным объектом исследования, поскольку суммарное число молей в ней не изменяется, что важно для газофазных реакций [446]. Механизм реакции обычно представляют в следующем виде:

— инициирование: 
$$\operatorname{Cl}_2 \xrightarrow{h\nu, k_1} 2\operatorname{Cl}_2$$
;  
— развитие цепи:  $\operatorname{Cl}_2 + \operatorname{H}_2 \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\longrightarrow}} \operatorname{H}_2 + \operatorname{HCl}_2$ ,  
 $\operatorname{H}_2 + \operatorname{Cl}_2 \xrightarrow{k_3} \operatorname{Cl}_2 + \operatorname{HCl}_2$ ;  
— обрыв цепи:  $2\operatorname{Cl}_2 + \operatorname{M} \underset{k_{-4}}{\overset{k_4}{\longleftarrow}} \operatorname{Cl}_2 + \operatorname{M}_2$ ,

где М — произвольная инертная частица [446, 448, 449].

В [448] с помощью квазистационарного приближения получено выражение для основной частотной компоненты  $p^{\text{chain}}$  оптоакустического сигнала в явном виде, использованное для расчёта наблюдаемой длины цепи  $\Phi_{\text{ph}}$  из соотношения

$$\frac{p^{\text{chain}}}{p^{\text{diss}}} = \frac{1}{2} \Phi_{\text{ph}} \frac{|\Delta H_{\text{prop}}|}{E_{\text{Cl}_2}} , \qquad (15)$$

где  $p^{\text{diss}}$  — основная частотная компонента сигнала, получаемого в условиях, когда в системе находятся только Cl<sub>2</sub> и M, в результате чего цепная реакция не идёт и единственным процессом, в ходе которого выделяется изначально поглощённая энергия, остаётся рекомбинация радикала Cl·. Использование подобного расчёта предполагает, что известны количество теплоты  $|\Delta H_{\text{prop}}|$ , выделяющейся при протекании стадий развития цепи, и энергия диссоциации молекулярного хлора  $E_{\text{Cl}_2}$ . Аналогичные выражения применены [446] для определения изотопного эффекта протия и дейтерия для константы скорости  $k_2$  через амплитуды на детекторе  $\Delta U$ :

$$\frac{p_{\rm (H)}^{\rm chain}}{p_{\rm (D)}^{\rm chain}} = \frac{k_{2,\rm H}\,\Delta U_{\rm H}}{k_{2,\rm D}\,\Delta U_{\rm D}} \,.$$

Как указывают авторы [446], подобный метод интересен скорее не как путь к определению кинетических характеристик цепной реакции, а как способ изучения влияния лазерной интенсивности, чистоты реагентов и прочих параметров проведения реакции. Особенно сильно на протекание реакции и детектируемый сигнал влияет наличие примесей [446]. Отсюда возникла идея достаточно необычного варианта применения этой реакции для детектирования соединений на выходе из хроматографической колонки [450].

Тем не менее в описанных экспериментах кинетические параметры отдельных стадий не определены. С этой точки зрения больший интерес представляют работы [356, 445], в которых методом ТЛС изучали реакции галогенирования органических соединений RH в жидкой фазе, протекающие по радикальному механизму:

— инициирование: 
$$\operatorname{Hal}_2 \xrightarrow{hv, \kappa_1} 2\operatorname{Hal}_3$$
;

— развитие цепи: 
$$\mathbf{R}\mathbf{H} + \mathbf{H}\mathbf{al} \cdot \stackrel{\kappa_2}{\rightarrow} \mathbf{R} \cdot + \mathbf{H}\mathbf{H}\mathbf{al}$$

 $\mathbf{R} \cdot + \mathbf{Hal}_2 \xrightarrow{k_3} \mathbf{R} - \mathbf{Hal} + \mathbf{Hal} \cdot ;$ 

мономолекулярный Hal
$$\cdot$$
 + X  $\rightarrow$  X – Hal,  
R $\cdot$  + X  $\rightarrow$  X – R,  
бимолекулярный 2Hal $\cdot$   $\rightarrow$  Hal<sub>2</sub>,  
2R $\cdot$   $\rightarrow$  R – R,  
Hal $\cdot$  + R $\cdot$   $\rightarrow$  R – Hal,

где X — некоторая посторонняя частица.

В [445] исследовали реакцию монобромирования толуола на свету. Использовались выражения для зависимости концентрации радикальных частиц в образце от времени:

$$N_{d0}(t) = \begin{cases} \frac{P_{e}}{hv} \frac{2\kappa \Phi_{1}}{k_{m}} \left[ 1 - \exp(-k_{m}t) \right], & t \leq t_{0}, \\ \frac{P_{e}}{hv} \frac{2\kappa \Phi_{1}}{k_{m}} \left[ 1 - \exp(-k_{m}t_{0}) \right] \exp\left[ -k_{m}(t - t_{0}) \right], & t > t_{0}, \end{cases}$$
(16)

для мономолекулярного обрыва с константой k<sub>m</sub> и

$$N_{\rm d0}(t) = \left(\frac{P_{\rm e}}{hv} \frac{2\kappa \Phi_1}{k_{\rm b}}\right)^{1/2} \tanh\left[2(\kappa \Phi_1 k_{\rm b} t)^{1/2}\right],$$
$$N_{\rm d}(t) = \begin{cases} N_{\rm d0}(t) , & \leqslant t_0 ,\\ \frac{N_{\rm d0}(t_0)}{1 + 2k_{\rm b}(t - t_0) N_{\rm d0}(t_0)} , & t > t_0 , \end{cases}$$
(17)

для бимолекулярного обрыва с константой  $k_b$ ,  $t_0$  — длительность прямоугольного лазерного импульса,  $\Phi_1$  — квантовый выход реакции инициирования. Тогда объёмная мощность источников энергии определяется как

$$H(t) = |\Delta H_{\rm prop}| \frac{h\nu}{\tau_{\rm prop}} , \qquad (18)$$

где  $\tau_{\text{prop}}$  — величина, имеющая смысл длительности одного цикла стадий продолжения цепи. На основании (16)–(18) проведён анализ процесса образования термооптического элемента и получены выражения, соответствующие значениям фокусного расстояния термолинзы для бимолекулярного и мономолекулярного обрыва цепи. Измеренные значения фокусного расстояния

$$f = \frac{l\omega_{0c}^{\rm pr}}{\omega_{0s}^{\rm pr}} \left[ \left( \frac{I_0^{\rm pr}}{I_t^{\rm pr}} \right)^{1/2} - 1 \right], \tag{19}$$

где l — расстояние между кюветой с исследуемым образцом и плоскостью детектора,  $I_0^{\rm pr}$  и  $I_t^{\rm pr}$  — интенсивности зондирующего луча, прошедшего через раствор при наличии и в отсутствие термолинзы,  $\omega_{0s}^{\rm pr}$  и  $\omega_{0c}^{\rm pr}$  — радиусы зондирующего луча, проходящего через кювету в отсутствие термолинзы в месте расположения кюветы и в плоскости детектора соответственно, аппроксимировали полученными выражениями. Удовлетворительные результаты даёт только аппроксимация, основанная на предположении мономолекулярного обрыва. На основании рассчитанного из литературных данных значения  $\Delta H_{\rm prop}$  найдены значения  $k_{\rm m}$  и  $\tau_{\rm prop}$ . Мономолекулярный обрыв реакции в этом случае, вероятно, соответствует нейтрализации радикалов на кислороде.

### 7. Фототермическая и оптоакустическая спектрометрия в аналитической и прикладной химии

В этом разделе приведены основные примеры применения рассматриваемых методов как высокочувствительных силовых методов молекулярной абсорбционной спектроскопии в спектроскопическом химическом анализе и задачах, использующих микрофлюидные чипы, а также в некоторых мультидисциплинарных исследованиях.

ОАС остаётся важным методом в исследовании газовых смесей и мониторинге атмосферы на производственных объектах и для других задач [451-457]. Фототермическую спектроскопию используют для измерения сверхмалых поглощений для широкого круга объектов: газообразных и жидких проб, в твёрдых телах и на поверхности, при этом большое число работ пока ещё связано с проведениями измерений в видимой области и ближней УФ-области [1, 18]. Фототермическая спектроскопия также находит применение как неразрушающий метод анализа и контроля различных материалов и как детектор в современных методах разделения [5, 15, 19, 458, 459]. Поскольку в большинстве фототермических и оптоакустических методов на сигнал довольно мало влияют светорассеяние и неравномерность распределения хромофоров в образце [460], это используют в химическом анализе коллоидных растворов и при решении биомедицинских задач, хотя в последнем случае в настоящее время предпочтение отдаётся микроспектроскопическим методам (см. раздел 3).

Исторически ФТС и ОАС рассматривались в аналитической химии как своеобразная надстройка над спектрофотометрией и её методологическими подходами [461–465]. Иными словами, наиболее важным считалось обеспечение повышения чувствительности определения без особого выделения цели анализа, наличия конкурентных методов, целевых групп определяемых соединений (ионы металлов, анионы, органические вещества и т.д.) [466, 467]. В основном упор делался на определение неорганических катионов и анионов в водных и водно-органических смесях [1]. Это направление до сих пор наиболее развито. Однако доля разработок методик фототермического и оптоакустического определения неорганических соединений неуклонно снижается по сравнению с таковой в 1980-2000 гг. ввиду появления более современных технологических решений для неорганического анализа — прежде всего, атомно-эмиссионной спектроскопии и элементной масс-спектрометрии [468, 469], а также масс-спектрометрии отдельных наночастиц [470], рентгенофлуоресцентного, атомно-абсорбционного анализа и др.

В итоге использование ФТС и ОАС сместилось в области, связанные именно с молекулярным анализом: 1) органическим анализом; 2) установлением форм существования элементов; 3) анализом без пробоподготовки, в частности *in situ* и *in vivo*; 4) вещественным анализом в нанохимии и супрамолекулярной химии. Реже востребованы основанные на новых подходах к пробоподготовке методы, которые обеспечивают высокую чувствительность и селективность определения для конкретных целевых веществ. В качестве примеров вещественного анализа в объектах окружающей среды можно упомянуть: определение Cr(VI) в воде с помощью термо-

линзовой микроскопии [471]; определение Fe(II)/Fe(III)[472]; экстракцию Co(II) "в точке помутнения" [473], определение следовых количеств свинца с предварительным концентрированием (микроэкстракцией) и пределом обнаружения 0,01 мкг л<sup>-1</sup>, при этом чувствительность определения не уступает чувствительности масс-спектрометрии и атомно-абсорбционной спектроскопии с предварительным сорбционным концентрированием [474].

Схема фототермического детектирования хроматографически разделённых красителей (индигокармин, закатный жёлтый, красный очаровательный АС (Allura Red AC), хромотроп 2R и др.) в потоке основана на разнице температур до и после точки освещения. Для измерения изменения температуры использовалась термопара диаметром 25 мкм с двумя переходами. Для метиленового синего предел обнаружения составил 30 нМ, что соответствует 120 амоль в облучённом объёме, на основе экспериментальных данных оценили константу димеризации красителя [475].

Как отмечалось в разделах 3-6, акцент в прикладных работах по применению ФТС/ОАС смещается в сторону более сложных гетерогенных объектов: мицеллярных растворов, дисперсий НЧ, природных и искусственных макромолекул [458, 476]. Интерес вызывают микрофлюидные и микропланшетные технологии, где в малом объёме (в микропотоке или на полимерной матрице) происходит ряд последовательных процессов (смешивание, химическая реакция, разделение и т.п.) [82, 477-481]. Для обнаружения и зондирования компонентов смеси в микроканале требуются высокочувствительные системы детектирования. Использующиеся детекторы пропускания из-за малой оптической длины пути в микроканале имеют недостаточно высокую чувствительность, а применение флуоресцентной спектроскопии ограничено флуорофорами [482]. В результате ФТС имеет более широкую практику применения в микрофлюидных химических системах [483-487] (рис. 15). Основная сложность таких исследований является технологической и заключается помимо изготовления схем микрометрового размера (100-200 мкм) в фокусировке лучей по трём направлениям.

ОАС востребована в клинической лабораторной диагностике [28, 32, 452, 488]. Импульсная ИК-оптоакустическая спектроскопия использована для неинвазивного мониторинга *in vivo* глюкозы в эпидермисе человека (рис. 16) [489]. Плотность мощности ниже 1 мВт мм<sup>-2</sup> не приводит к деструкции кожи. Метод является достаточно чувствительным и позволяет непрерывно регистрировать изменения уровня глюкозы у пациента с диабетом, а также высокоселективным, чтобы отличить глюкозу от других компонентов интерстициальной жидкости. Проблемой остаётся корреляция между пациентами из-за различных свойств кожи. Например, изменение толщины рогового слоя может влиять на амплитуду сигнала, в связи с чем может потребоваться индивидуальная калибровка для каждого пациента.

На основе термолинзовой спектрометрии разработан подход к неинвазивному определению pH среды [490]. Идея состоит в поглощении видимого света хромофором, который вводят в образец, если он там отсутствует (хромофор изначально присутствует, например, в природных объектах, растительных клетках). Тепловые изменения, возникающие в результате светопоглощения хромофором, измеряют с помощью волоконно-оптиче-

[491].

### Стимуляция клеточной Ферментативная реакция культуры Клетки Клеточная среда Срела или образец для анализа Фермент Реагенты Химическая реакция Ультрачувствительное

детектирование

Рис. 15. (В цвете онлайн.) Схема биоанализа на основе микрофлюидного чипа с использованием ТЛС. Культура клеток, химические реакции и обнаружение интегрированы в стеклянный микрофлюидный чип [486].



Рис. 16. (В цвете онлайн.) Слои кожи человека со схемой лазерного луча, визуализирующей глубину проникновения лазерного луча через эпидермис [489].

ского датчика на брэгговских решётках. По мере изменения рН изменяются поглощение света и тепловыделение хромофоров. Диапазон измерений рН определяется выбором хромофора — именно в этом заключается основная сложность и отсутствие универсальности данного метода [490].

Для получения более полной информации об объекте  $\Phi TC/OAC$  применяют совместно с другими спектроскопическими методами. Например, совместное использование лазерно-индуцированной флуоресцентной спектрометрии и ТЛС даёт расширенную информацию об анализируемой пробе. Это позволяет исследовать объект с двух позиций: 1) количественное обнаружение флуорофоров, 2) выявление фототермического сигнала, генерируемого безызлучательной деактивацией других компонентов образца. Такой подход использован при исследо-

### 7.1. Одновременное определение

### концентрационных и теплофизических параметров

Вследствие того что фототермические методы зависят не только от оптических, но и от тепловых свойств исследуемых объектов, в ряде работ именно тепловые параметры веществ использованы как источники сигнала. Часть таких примеров приведена в разделах 5 и 6. Здесь мы дополним картину примерами исследований прикладного характера.

Существует ряд работ по изучению пищевых компонентов с помощью ТЛС. В работе [424] по изучению фотостабильности образцов соевого масла определили коэффициенты температуропроводности и теплопроводности. Помимо того, с помощью время-разрешённых измерений показана разница между фотостабильностью чистого масла и масел с добавками натуральных и синтетических антиоксидантов. Определили коэффициент температуропроводности сыров, связывая его значение с качеством сыра [492]. В [493] определяли коэффициент температуропроводности для различных концентраций сырой нефти, при этом удалось наблюдать образование агрегатов.

### 7.2. Криминалистическая и искусствоведческая экспертиза

Для выявления внесённых в документы изменений широко применяют время-разрешённое люминесцентное картирование [494], а когда изменённая часть документа не имеет значимых люминесцентных свойств, можно применить оптоакустическое картирование. В случае слабопоглощающих образцов оптоакустическая волна генерируется термоупругим эффектом после фотовозбуждения [495]. Неинвазивная методология оптоакустической визуализации используется для экспертизы художественных произведений, особенно с целью выявления скрытых особенностей, таких как исходные рисунки или линии эскиза [496]. Оптоакустическая визуализация применена для определения сложной внутренней структуры масляных миниатюр на холсте [86]. Оптоакустические микроскопические изображения, полученные с помощью импульсного Nd:АИГ-лазера (1064 нм, длительность импульса порядка 1 нс), ясно показывают наличие линий карандашного наброска на обратной стороне холста, покрытых несколькими слоями краски толщиной более 0,5 мм. Посредством регулирования ширины полосы оптически индуцированных ультразвуковых волн оптоакустическая визуализация может использоваться для изучения имеющих различные оптические свойства и геометрические профили артефактов, таких как рукописи, стеклянные предметы или даже каменная скульптура.

В [496] проведена оценка качества восстановленных RGB-изображений простых тестовых объектов, исследованных с помощью одноволновой ОАС, с целью подтверждения возможностей метода. Исходные изображения разложены на красный, синий и зелёный (RGB — Red, Green, Blue) компоненты, каждый из которых преобразован в интенсивность в оттенках серого, напечатан на прозрачной плёнке и затем подвергнут оптоакустическим измерениям. Для получения восстановленного RGB-изображения объединены три оптоакустических

изображения. Создана экспериментальная схема для тестовых объектов. Ожидается, что более информационноёмкие результаты будут получены с помощью мультиспектральной ОАС при использовании трёх источников с длинами волн, соответствующими RGB-каналам.

### 7.3. Определение единичных молекул или частиц

В целом, число работ по термооптическому определению НЧ в растворах пока меньше числа приложений по определению фундаментальных параметров и исследованию нанокомпозитных материалов. Однако чувствительность и селективность, присущие фототермическим методам, привлекательны для этой цели. ФТС, в особенности её микроварианты, обеспечивает достаточно высокие чувствительность и контрастность для обнаружения отдельных нанообъектов и крупных органических молекул, например азокрасителей с малыми квантовыми выходами флуоресценции [497].

Изучены температуропроводность и тепловая инерция для одноцепочечной и двухцепочечной ДНК, сорбированных на НЧ Аи различной формы, стабилизированных цитратом. Одноцепочечные ДНК способствуют возрастанию температуропроводности, что позволяет разрабатывать биосовместимые теплоносители или теплообменники [498]. Исследованы тепловые свойства смол для лазерной литографии при изготовлении трёхмерных (3D) печатных образцов с помощью ТЛС и открытой оптоакустической ячейки [499], биодизельного топлива [500].

Околокритический Хе или СО2 — удобные среды для усиления фототермического сигнала более чем на два порядка [501]. В [502] реализован подход фототермического усиления сигнала для кругового дихроизма. Метод объединяет энантиоселективный сигнал от кругового дихроизма с высокой чувствительностью фототермической микроскопии, достигая высокого отношения сигнал/шум для обнаружения хиральных нанообъектов (2Dхиральные НЧ с симметрией С<sub>4</sub>). Преимущество метода заключается в том, что схема детектирования основана на измерении увеличения локальной температуры исследуемой наноструктуры за счёт поглощения фотонов с известной поляризацией. Кроме того, поскольку изображение формируется с помощью силового фототермического метода, сигнал можно усиливать в определённых пределах [503]. С помощью перестраиваемых лазерных источников для индуцирующего пучка фототермический круговой дихроизм также можно превратить в фототермическую спектроскопию кругового дихроизма.

Показано обнаружение отдельных молекул в режиме реального времени без необходимости введения меток за счёт усиления фототермического сигнала на НЧ [504]. Датчик состоит из единичного золотого наностержня, покрытого рецепторами биотина, и связывание отдельных белков вызывает изменение плазмонного резонанса наностержня и тем самым изменение фототермического эффекта вокруг НЧ при её взаимодействии с молекулами определяемых веществ. Чувствительность устройства, которая в 700 раз выше, чем у современных плазмонных датчиков, ограничена спектральной диффузией при поверхностном плазмонном резонансе.

Термооптическое определение НЧ Аи в потоке с помощью микроскопического варианта термолинзовой спектрометрии впервые было представлено японскими исследователями под руководством Т. Китамори [505] в

1998 г. В дальнейшем тем же коллективом были опубликованы данные по успешному определению субмолекулярных количеств веществ в объёме индуцирующего луча [506], во многом основанные на данных исследования единичных НЧ с помощью микрофлюидных чипов (микрочипов). Показано детектирование отдельных НЧ Аи в канале микрочипа, продемонстрирован эффект иммобилизации частиц на поверхности канала под действием лазерного излучения [507]. В [508, 509] указаны пути повышения эффективности определения НЧ в растворе за счёт увеличения как экспрессности анализа [508] (частота индуцирования термооптического элемента 0,5-60 кГц), так и объёма, в котором может происходить определение без потери чувствительности [509] (200-кратное увеличение детектируемого объёма). В [510] представлены аналитические характеристики растворов НЧ Аи, полученные с помощью термолинзовой спектрометрии. Предел обнаружения для конфигурации спектрометра, оптимальной с точки зрения измерения молекулярных растворов, составляет 100 НЧ Аи (размер порядка 250 нм) [510]. Другим примером применения ФТС к наноразмерным биологическим объектам является обнаружение отдельных НЧ, клеток и органелл непосредственно в кровеносных [511] и лимфатических [512] сосудах.

### 7.4. Инфракрасная спектроскопия

В последнее время, согласно общим тенденциям в аналитической спектроскопии, направленность новых разработок в фототермической спектроскопии смещается в ИК-область. Наиболее распространено оптоакустическое детектирование в ИК-спектрометрах, при этом существует достаточно много разработок серийных ИК-фурье-спектрометров. Измерения основаны на одномерных моделях теплообмена [6, 513]. ИК-излучение направляется из интерферометра в блок или приставку ОАС и фокусируется на образце в закрытой ячейке, заполненной рабочим газом с ограниченным известным объёмом (рис. 17) [514]. ИК-излучение, модулированное интерферометром, поглощается испытуемым образцом и преобразуется в тепло. Периодические изменения температуры в образце (тепловые волны) зависят от частоты модуляции интерферометра, коэффициентов поглощения компонентов образца и его теплофизических параметров. Тепловые волны, генерируемые образцом, с глубины, ограниченной длиной термодиффузии (длиной затухания тепловой волны), попадают в рабочий газ [6, 513] и в результате генерируют там акустические волны, которые обнаруживаются детектором, расположенным рядом с главной осью блока ОАС.



Рис. 17. Схема установки для ИК-оптоакустических измерений [514].

В интерферометрических методах ОАС решающее значение имеет спектральная информация, почти всегда являющаяся основной целью измерений. Поскольку бо́льшая часть информации о молекулярных структурах, фрагментах и функциональных группах содержится в средней ИК-области, большинство исследований проводят в этом спектральном диапазоне. Благодаря линейной зависимости отклика от коэффициента поглощения света ОАС используют для оценки концентраций веществ в газообразных, жидких и твёрдых средах в широком динамическом диапазоне  $(10^{-4} - 10^2$  единиц оптической плотности) и с высокой точностью (до 0,1%) [27, 515]. Таким образом, ОАС обеспечивает более широкий диапазон измерений по сравнению с таковым в измерениях пропускания и более высокую чувствительность.

В ОАС-ИК-спектроскопии используют два режима работы интерферометра: обычное, нормальное (непрерывное) сканирование, реализуемое большинством имеющихся на рынке ИК-фурье спектрометров (режимы быстрого или медленного сканирования, поскольку для тонких слоёв обычно требуются низкие частоты интерферометра), и пошаговое сканирование (step scan). В режиме нормального сканирования, включающего перемещение зеркала, скорость зеркала калибруется с использованием одной длины волны и поддерживается постоянной во время сбора данных, тогда как в режиме пошагового сканирования контролируется позиция подвижного зеркала (с точностью до нескольких нанометров). Операция нормального сканирования удобна, но из-за разных частот, соответствующих разным длинам волн, она даёт разные глубины генерации сигнала в конечном спектре, что особенно сильно проявляется в ИК-диапазоне. В режиме пошагового сканирования обеспечивается постоянная частота модуляции и, следовательно, постоянная глубина сбора ОАС-сигнала во всём выбранном спектральном диапазоне. Этот вариант измерений обычно включает в себя встроенный усилитель или методы цифровой обработки сигналов для обнаружения и усиления оптоакустического сигнала [516].

Для твёрдых образцов ключевым преимуществом ОАС является возможность получения спектров без пробоподготовки и разбавления [517]. Другим важным преимуществом является возможность профилирования твёрдых образцов по глубине в пределах нескольких сотен микрометров изменением частоты или скорости источника излучения [518, 519]. Результаты ИК-ОАС меньше подвержены влиянию размера частиц образца, чем результаты спектроскопии диффузного отражения [520]. ИК-ОАС показывает по сравнению с методами НПВО более высокую чувствительность, в то время как рассеяние излучения влияет на сигнал меньше [521]. С практической точки зрения ОАС используется для определения коэффициентов поглощения материалов и их компонентов до  $1000 \text{ см}^{-1}$ . В сложных образцах наиболее распространённым применением ОАС помимо биомедицинских применений является характеризация НЧ и наноматериалов [66, 522-529]. Для твёрдых образцов различные варианты ОАС используют для полимерных материалов [530].

ИК-ОАС используется в количественном анализе химического состава твёрдых образцов: бумаги [531], древесины [532], биоплёнок [533], пищевых продуктов [534], пестицидов [304] — и в микробиологических исследованиях [535]. Применение ИК-ОАС для анализа, классификации и контроля качества смесей кофе [536] оказалось простой, быстрой альтернативой существующим методам (ИК-спектроскопия [537, 538], ядерный магнитный резонанс [539, 540], КР-спектроскопия [541]). Достаточно важна роль ОАС-ИК-спектроскопии в анализе почв и минералов [37, 514, 542 – 545]. Сигнал в оптоакустической спектроскопии может использоваться для сильно поглощающих образцов с минимальной предварительной обработкой. Результирующий спектр отличается от спектров пропускания и отражения, поскольку на ИК-спектре ОАС проявляются нерадиационные переходы в образце и может сильно измениться интенсивность комбинированных полос и обертонов [546].

Число работ, посвящённых ИК-термолинзовой спектрометрии, относительно невелико [331, 547, 548]. По сравнению с большинством работ в видимой области в БИК-измерениях широко распространено использование перестраиваемых в ИК-области лазеров или ОПО, что даёт возможность записи спектров термолинзового сигнала. Создан термолинзовый спектрометр для измерений поглощения в БИК-области (860-1060 нм, перестраиваемый титан-сапфировый лазер). Зондирование термолинзового эффекта проводили в видимой области с помощью Не-Ne-лазера. Полученные данные с помощью многовариантных методов калибровки использованы для неразрушающего бесконтактного определения химических и изотопных примесей в растворителях. Вода в D<sub>2</sub>O и тетрагидрофуране может быть обнаружена на уровне 0,006 и 0,3 объёмных % соответственно. Метод также использован для одновременного определения воды и 1диметилсульфоксида Н6 (ДМСО-Н6) в ДМСО-D6 и CH<sub>3</sub>OH в CD<sub>3</sub>OH, CD<sub>2</sub>HOH и CDH<sub>2</sub>OH на уровне до 10<sup>-3</sup> масс. % [549].

ИК-ТЛС использована в анализе топлив [421, 550]. Обертон 4v С–Н при  $\lambda = 916$  нм характеристичен для биодизельного, дизельного топлива и их смесей. Это позволило использовать ТЛС в БИК-области для контроля за качеством биодизеля [423]. С помощью БИК-термолинзовой спектрометрии проведено определение модельных соединений изооктана и толуола, получены хорошо разрешённые спектры обоих соединений, положения пиков поглощения хорошо согласуются с данными других методов [96].

К недостаткам ИК-ТЛС можно отнести следующее: при измерении термолинзовых спектров возможен только сканирующий вариант, как в спектрофотометрии (минимальное время 30 мин для всей области 700-2300 нм с разрешением 2 нм и накоплением 200 кривых для одной длины волны), но не интерферометрический вариант, как в ИК-ОАС. Это делает невозможным экспрессное измерение спектров в широкой области или с высоким разрешением, при использовании максимально возможного разрешения лазера 0,1 нм время возрастает до 10 ч, а при необходимости регистрации слабых и зашумлённых сигналов — до 2 сут. В то время как в видимой области возможно использование достаточно больших мощностей лазерного излучения, в ИК-области, особенно в микроспектроскопическом варианте, использование высоких мощностей (> 1 Вт) и энергий (100 мДж на импульс) для повышения чувствительности измерений вряд ли возможно. Это вызвано большим числом тепловых процессов, связанных с сильным светопоглощением самих растворителей, возможными термохимическими процессами и т.п. Таким образом, возможности существенного

повышения чувствительности определения за счёт силовой составляющей ИК-ТЛС ограничены.

ФТО-спектроскопия является одним из наиболее удобных и широко используемых фототермических методов получения изображений поверхности. Метод уже достаточно давно хорошо зарекомендовал себя в микроскопических и дефектоскопических исследованиях полупроводников [551], металлов [552-555] и оптических материалов [556]. ФТО-спектроскопия, в частности, применяется для иммунологических исследований с выделением окрашенного комплекса антиген-антитело на поверхности твёрдой подложки и последующим фототермическим детектированием адсорбции на поверхности [557-559]. С использованием ФТО-спектроскопии изучены спектры оптического поглощения тонких плёнок SnO с упором на запрещённые зоны, которые демонстрируют устойчивое увеличение интенсивности в видимой области и ИК-области и уменьшение в УФ-области с



Рис. 18. (В цвете онлайн.) (а) Принцип работы НПВО-ФТО-спектрометра, IRE (Internal Reflection Element) — область внутреннего отражения. (б) Настраиваемый импульсный луч квантово-каскадного лазера с внешним усилителем (External-Cavity Quantum Cascade Laser — EC-QCL), модулируемый прерывателем, служит индуцирующим облучением образца и создаёт тепловое поле вследствие поглощения ИК-излучения. Тепловое поле проникает в IRE, где зондирующий луч лазерного диода полностью отражается. Из-за наличия теплового поля изменяется показатель преломления, что приводит к отклонению зондирующего луча от первоначального направления. Отклонение измеряется по изменению интенсивности с помощью позиционно-чувствительного (Position-Sensitive, PS) фотодиодного детектора (PS-детектор). Диафрагма используется для блокировки постороннего света. Сигнал на фотодиоде усиливается синхронным усилителем (Lock-in). ПК — персональный компьютер [561].

возрастанием температуры подложки. Предполагается, что эти тенденции связаны с появлением вторичных фаз, вызванных диспропорционированием [50]. Частотнозависимая модель турбулентности использована для определения уровня шума в зависимости от частоты модуляции 5–5000 Гц для зондирующего луча на нескольких расстояниях от образца [560].

Предложен метод НПВО-ИК-ФТО-спектроскопии, основанный на использовании индуцирующего лазера в средней ИК-области и зондирующего лазера в видимой области [85, 561, 562]. Принцип метода представлен на рис. 18. Метод объединяет достоинства НПВО-ИК-спектроскопии (возможность анализа приповерхностного поглощения, анализа водных растворов и биологических тканей без пробоподготовки) и ФТО-спектроскопии (дешёвые зондирующие лазеры, возможность по отдельности рассматривать концентрационные и тепловые характеристики образца). По сравнению с НПВО-ИКспектроскопией НПВО-ИК-ФТО-спектроскопия позволяет достичь больших глубин проникновения (определяющихся температуропроводностью образца), что увеличивает чувствительность измерений. Продемонстрированы возможности метода при анализе человеческой кожи на глюкозу без пробоподготовки. Показана корреляция между содержанием глюкозы в эпидермисе и крови пациентов с диабетом первого типа [561]. Как и для большинства современных задач ИК-спектроскопии, авторами [561] рекомендовано использовать хемометрические модели, в частности анализ главных компонент и частичную регрессию наименьших квадратов (Partial Least-Squares (PLS) regression).

# 8. Биомедицинское применение фототермической и оптоакустической спектроскопии

Традиционная абсорбционная спектроскопию в биомедицине включает в себя спектроскопию пропускания (спектрофотометрию), спектроскопию отражения и лазерную спектроскопию, которые чаще всего используют для измерения светопоглощения крови или насыщенных гемоглобином тканей [563, 564]. В течение длительного времени эти методы являлись основными при исследовании компонентов биологических систем (белков, особенно гемовых) и связанных с ними заболеваний и патологий. Однако с появлением альтернативных методов (прежде всего флуоресцентной спектроскопии), способных осуществлять анализ *in vivo*, особенно в потоке, роль и значимость абсорбционной спектроскопии уменьшились [565].

С внедрением фототермических и оптоакустических методов круг биомедицинских задач спектроскопии, прежде всего абсорбционной, значительно расширяется с точки зрения как чувствительности измерений, так и спектрального разрешения [5, 107, 171, 566]. Преимущества ФТС/ОАС заключаются в том, что, в отличие от флуоресцентной микроскопии и спектроскопии, ФТС/ОАС могут использоваться без флуорофоров или контрастных сред, агентов или веществ, которые могут разрушаться, метаболизировать или влиять на свойства образца [96, 113, 567]. Преимущества использования фототермической и оптоакустической спектроскопии для биомедицинских задач можно суммировать следующим образом:

Целевое соединение	Параметры индуцирующего излучения		Литература
	λ, нм	Мощность, мВт	
Формы гемоглобина в растворе Билирубин в растворе Билирубин в присутствии биливердина в клетках эндотелия Билирубин в плазме Билирубин в присутствии биливердина	488,0; 514,5 476 457,9 457,9 407	1-120 120 130 130 115	[575] [576] [577] [578] [458]

Таблица 2. Некоторые примеры и условия использования термолинзовой спектрометрии для количественного определения биологически активных соединений

мониторинг в режиме реального времени с использованием многосигнальных и мультиспектральных данных [568];

2) возможность отличить светопоглощение молекул и наноразмерных объектов от естественного (биологического или физиологического) фона [96, 171, 172, 569, 570];

3) возможность определять светопоглощение, а также теплофизические свойства веществ и проводить профилирование по глубине также относительно фона, включая фоновое светопоглощение естественного происхождения [569, 571];

 высокая чувствительность измерений, которая предоставляет возможность работать с малыми количествами токсичных веществ и решает проблему стоимости в случае дорогих реагентов.

Микроспектроскопические приложения ФТС и ОАС рассмотрены в разделе 3, а механизмы реакций биологически активных веществ — в разделах 5 и 6. В разделах 8.1-8.4 обсуждаются задачи, связанные с определением теплофизических и оптических параметров, а также реализация фототермической и оптоакустической диагностики и тераностики.

### 8.1. Теплофизические параметры биологических систем

Интерес к теплофизическим свойствам биологических систем, живых организмов и тканей постоянно растёт. Так, теплофизические свойства могут служить эффективным инструментом анализа конформационной динамики белков [572]. Разграничение энергетических и тепловых потоков в белках служит ключом к пониманию того, каким образом в биологических системах поддерживается оптимальная температура. Определение механизмов, контролирующих эффективные и быстрые процессы диссипации и переноса энергии, позволяет понять сложные биологические процессы, регулирующие жизнедеятельность организмов [573]. Моделирование человеческих и животных тканей для медицинских целей: проведение радиочастотной абляции сердца, внутритканевых операций с помощью микроволновых устройств и пр. — требует решения уравнений теплопереноса, в которые входят коэффициент температуропроводности и удельная теплоёмкость среды. Во многих случаях значения этих коэффициентов также являются расчётными, в то время как экспериментальные данные могут служить гораздо более точным инструментом для построения моделей.

Ещё одной развивающейся областью медицины, требующей определения теплофизических параметров, является терапия с использованием наноматериалов, на основе которой развиваются комплексные подходы, прежде всего тераностика. В качестве характерного примера можно указать использование однослойных углеродных нанотрубок как материала для селективного разрушения раковых клеток. Терапия и тераностика часто требуют моделей переноса и диссипации тепла в клетки с введёнными наноматериалами [574].

Исследования материалов различных типов, в том числе обсуждённые в разделе 4, показывают, что ФТС и ОАС позволяют определять необходимые экспериментальные теплофизические параметры целевых биомедицинских материалов в широком диапазоне веществ, концентраций и объёмов образцов. Некоторые примеры использования фототермической спектроскопии для определения теплофизических параметров и обнаружения различных биомолекул приведены в табл. 2. ФТС и ОАС решают сразу несколько задач: определение компонента, описание его теплофизических характеристик, а также наблюдение за конформационной динамикой при различных процессах. Основным определяемым параметром является коэффициент температуропроводности, а главной задачей — количественное описание образца [458, 575-578]. Так, в [579] изучали процесс денатурации гемоглобина, альбумина и плазмы крови человека. Зависимость коэффициента температуропроводности от температуры на разных участках ведёт себя по-разному, однозначно свидетельствуя о начале денатурации. Данные коррелируют с полученными другими методами (например, дифференциальной сканирующей калориметрии), описывающими конформационные изменения образцов. Оптоакустическую спектроскопию применяли как метод диагностики клеток [580]. Результаты работ по определению теплофизических параметров биомолекул, а также отсутствие при этом исчерпывающих данных подтверждают необходимость создания платформы по одновременному количественному и теплофизическому описанию таких систем.

## 8.2. Оптические параметры и количественные измерения

Более многочисленными являются примеры использования ФТС и ОАС для определения оптических и спектральных параметров биологических систем, а также для высокочувствительного биомедицинского анализа (клетки, биологические жидкости, ткани). Эти объекты, как правило, исследуют с помощью фототермической микроскопии и оптоакустической микроспектроскопии, в то время как компоненты и микрокомпоненты (вплоть до отдельных молекул) — с помощью как быстрых методов фототермической спектроскопии во временной области, так и термолинзовой спектроскопии во временной макробиологических объектов (клетки, ткани). Так, в [105] разработана модель для определения компонентов клеток и различных НЧ в биологических жидкостях.

Фототермическую спектроскопию, особенно ТЛС, используют для получения спектров поглощения белков

как чувствительный метод количественной оценки концентрационных параметров белков в растворе и, как обсуждалось выше, для мониторинга фотохимических реакций [96, 170, 581]. ТЛС применяли для определения различных форм гемоглобина, при этом для всех исследованных форм термооптический отклик линейно зависит от мощности лазерного излучения в диапазоне 1-50 мВт [575]. Точность измерений термолинзовых спектров поглощения некоторых гемовых белков адекватна как в растворах, так и в составе компонентов клеток [170]. Описано влияние модифицирующих сред на термолинзовый сигнал, что наглядно свидетельствует о целесообразности использования определённых веществ в качестве модификатора (например, полиэтиленгликоля) [582]. Пределы обнаружения форм гемоглобина находятся на уровне наномолярных концентраций [94].

ТЛС использовали в совокупности с другими методами для разделения и определения компонентов биообъектов. Так, совместное применение ТЛС и высокоэффективной жидкостной хроматографии позволяет определять несколько наномолей билирубина, образующегося при расщеплении гемовых белков [577, 578], билирубина и биливердина при совместном присутствии [458]. ФТС и ОАС применялись для обнаружения эндогенных и экзогенных антиоксидантов в биологических жидкостях и эндотелиальных клетках сосудов, определения биомаркеров сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний, а также антител, вирусов и для характеризации многослойных биомедицинских аэрогелей, состоящих из лекарственного средства и природного полимера, с помощью фототермической микроскопии и её сочетания с жидкостной хроматографией [16, 458, 577, 583].

Один из методов фототермической радиометрии оптико-термическая время-разрешённая эмиссионная радиометрия (в англоязычной литературе — Opto-Thermal Transient Emission Radiometry, OTTER) — создан специально для неинвазивной и бесконтактной регистрации спектров поглощения любых сложных поверхностей, включая кожу человека и сложные технологические образцы [14, 584]. Наиболее распространёнными задачами ОТТЕК являются количественное определение воды и её распределения в коже или получение информации о концентрации растворителя или лекарственного средства непосредственно в коже. Разработаны математические модели для надёжного установления распределения воды в роговом слое, профилей глубины воды или другого растворителя (например, этиленгликоля) в роговом слое [14, 585-587]. ОТТЕК удовлетворяет основным требованиям, необходимым для диагностики in vivo: 1) быстродействие (регистрация спектра около 15 мин), 2) недеструктивность, 3) неинвазивный характер, 4) незначительное повышение температуры исследуемого участка кожи ( $< 1^{\circ}$ C), 5) бесконтактный характер, 6) нечувствительность к смещениям и неровностям образца.

Импульсную ФТР совместно со спектроскопией диффузного отражения используют в качестве комплементарных методов для исследования поверхности, в том числе биологических объектов: ФТР измеряет динамику процессов на поверхности образца после взаимодействия со световым импульсом в среднем ИК-диапазоне, в связи с чем ФТР также используют для изучения оптических свойств кожи человека, в том числе в комбинации с другими методами [588 – 591]. ФТР чувствительна к распределению хромофоров по глубине, а спектроскопия диффузного отражения предоставляет информацию в широком диапазоне длин волн в видимой области и, таким образом, различает несколько хромофоров. Приборы для обоих методов независимы друг от друга, однако полученные сигналы используются совместно [588].

Таким образом, фототермическая и оптоакустическая спектроскопия обеспечивают анализ и характеризацию биологических объектов как на микроуровне, так и на макроуровне, открывая возможности как для изучения фундаментальных биологических процессов, так и для решения практических задач клинической диагностики и терапии.

# 8.3. Фототермическая и оптоакустическая проточная цитометрия

Проточная цитометрия — метод, работающий на субклеточном и молекулярном уровнях, — основана на измерениях реакции живых клеток на кратковременный лазерный импульс. Наиболее распространёнными методами детектирования в проточной цитометрии являются светорассеяние и лазерно-индуцированная флуоресценция антител, связанных с флуоресцентными красителями [592]. Однако проточная цитометрия имеет некоторые ограничения; наиболее важно то, что это метод in vitro и его адаптация к мониторингу клеток in vivo в отдельных кровеносных сосудах вызывает существенные проблемы. К последним относятся рассеяние света кожей, стенками сосудов и артефактами, автофлуоресценция кожи и стенок сосудов, а также светопоглощение крови и окружающих тканей. Флуоресцентные методы на моделях животных показали обнаружение меченых гемопоэтических стволовых клеток или циркулирующих опухолевых клеток. Тем не менее цитотоксичность флуоресцентных меток и трудность оценки только поверхностных микрососудов диаметром 50-100 мкм с низкими скоростями потока и глубиной менее 200 мкм являются существенными проблемами.

Для преодоления указанных ограничений привлечена проточная цитометрия in vivo с использованием оптоакустических и фототермических методов [593, 594]. ФТС неинвазивно обнаруживает немеченые биомолекулы на уровне, сравнимом с уровнем обнаружения при использовании флуоресцентных меток [506, 595]. Повышение фототермической температуры на 0,1-0,5°С при низкой плотности энергии лазерного излучения (5-20 мДж см<sup>-2</sup>) ниже норм лазерной безопасности  $(30-100 \text{ мДж см}^{-2})$  в оптическом диапазоне [7]. Метод использован для неразрушающего контроля живых клеток, контроля селективного фототермолиза, в исследованиях ДНК. Представлены методы на основе интеграции in vivo оптоакустической проточной цитометрии и фототермической тераностики для ранней диагностики и терапии злокачественных новообразований, инфекционных и сердечно-сосудистых заболеваний. Эти методы позволяют обнаруживать и уничтожать циркулирующие в крови раковые клетки, бактерии и тромбы на ранних стадиях заболеваний [96, 99, 171, 511, 512, 594, 596-604].

### 8.4. Фототермическая терапия,

#### тераностика и доставка лекарственных средств

Проблемы современной фототермической спектроскопии и фототермической визуализации *in vivo* тесно связаны с лазерной терапией, тераностикой, схемами доставки лекарств. Идея фототермической терапии и тера-

\_\_\_\_\_

329

ностики фактически впервые была высказана как вариант реализации фототермического эффекта без контрастных веществ [605] и с НЧ в качестве фототермических контрастных агентов [606–611]. Позднее фототермическая визуализация трансформировалась в лазерную диагностику и терапию, которые используют агенты, сильно поглощающие электромагнитное излучение, для диагностики и обнаружения целевых объектов или клеток *in vivo*, а затем для уничтожения злокачественных клеток посредством безызлучательного нагрева с помощью фототермических явлений.

Фототермическая терапия с использованием наночастиц представляет собой высокоселективный и экономически эффективный метод лечения онкологических заболеваний отдельно или в сочетании с другими видами терапии, такими как лучевая терапия или химиотерапия [612–619]. Будущее применение этого метода в основном зависит от разработки и синтеза новых многофункциональных НЧ, которые могли бы преодолеть существующие недостатки, такие как ограниченная глубина проникновения и отсутствие контроля терапии.

Обычно фототермическая тераностика проводится с использованием контрастных веществ, НЧ благородных металлов, полупроводниковых и углеродных наноматериалов и органических (супрамолекулярных) комплексов и везикул [22, 620-622]. При проведении фототермической терапии обычно достигается температура поражений на уровне 42-45°С или даже выше. Эта температура разрушает раковые клетки, но также увеличивает вследствие теплопроводности повреждение нормальных тканей вблизи области поражения и, таким образом, вызывает большее число побочных эффектов и снижает терапевтическую точность. В [623] использовали НЧ NdVO<sub>4</sub> размером 2,4 нм *in vivo*, которые способны локально нагревать ткани при возбуждении с  $\lambda = 808\,$  нм, одновременно обеспечивая возможность глубокого проникновения для ИК-флуоресцентной визуализации [623]. В [624] использовали углеродные композиты НЧ редкоземельных элементов на основе NaLuF<sub>4</sub>:Yb, Er@NaLuF<sub>4</sub> с преобразованием с обратной связью по температуре в сочетании с фототермическим материалом для мониторинга в реальном времени изменения температуры микрообъектов. Локальная температура фототермического материала при освещении достаточно высока для того, чтобы убить раковые клетки, но низка для того, чтобы повредить здоровую ткань. На основе этого явления дополнительно реализуется фототермическая абляция меченой опухоли с высоким пространственным разрешением с минимальным повреждением нормальных тканей in vivo.

В обзоре [612] представлены подходы к разработке нанотехнологических платформ для адресной доставки фоточувствительных агентов, обеспечивающих локальное возрастание температуры *in vivo* при облучении, приводящее к тепловой абляции. Преимуществом таких нанопрепаратов является их многофункциональность, поскольку они способны к адресной доставке, фоточувствительны и представляют собой комбинации химиотерапевтических и противораковых веществ. Представлены сведения о доклинических исследованиях, посвящённых проведению мультимодальной фототермической терапии при колоректальном раке, с акцентом на потенциальные клинические применения в широкой области электромагнитного излучения с длиной волны от 700 до 2000 нм. Разрабатываются методы тераностики, основанные на использовании наноструктурированных частиц совместно с современными методами доклинических и клинических исследований (магнитно-резонансная томография, флуоресцентная томография, оптоакустическая проточная цитометрия и томография, оптическая когерентная томография) для создания схем доставки лекарств, которые сочетают навигацию, визуализацию, мониторинг *in vivo* биохимических процессов и активированное дистанционно высвобождение биоактивных веществ *in vivo* в зависимости от состояния пациента. Продемонстрирована возможность использования лазерной перфорации кожи для обеспечения трансдермальной доставки наноструктурированных объектов тераностики [530, 625].

В одной из последних работ, для того чтобы вызвать временные механические деформации клеточной мембраны и облегчить доставку плазмидной ДНК в клетки, использовали оптоакустическую генерацию волн в термоупругом материале после воздействия короткого импульса лазера. Это позволило провести оптоакустическую трансфекцию плазмидной ДНК, меченной зелёным флуоресцентным белком (gWizGFP, 3,74 MДа), в клетки фибробластов COS-7 обезьяны с эффективностью 5 % (20°C) за 10 мин. Отмечается, что оптоакустическая трансфекция является масштабируемой и достаточно простой, позволяет локализацию в ядрах, а дозировка легко контролируется параметрами индуцирующего излучения [626].

### 9. Проблемы и перспективы

На основе изложенного выше можно заключить, что методы фототермической и оптоакустической спектроскопии в настоящее время развиваются во многих направлениях (рис. 19). Все эти направления опираются на пять основных возможностей метода, которые мы изложили во введении, а именно: 1) высокую чувствительность измерений; 2) возможность одновременного недеструктивного определения оптических и теплофизических параметров исследуемого объекта; 3) широкий спектральный диапазон; 4) высокое пространственное разрешение, 5) широкий круг объектов, включая сложные по геометрии, составу и динамически изменяющиеся.

Классификация и структурирование всего обширного массива работ в рассматриваемой в настоящем обзоре области достаточно сложны. В итоге мы разбили все публикации на пять групп (см. рис. 19), связанных с задачами или объектами: фундаментальные исследования фототермических, оптоакустических и родственных им явлений и работа в области практической методологии ФТС и ОАС, а также их применение в биомедицинских науках, материаловедении, химии и науках о Земле. Не все задачи одинаково разработаны, но значимые работы имеются во всех двадцати направлениях (см. рис. 19).

Безусловно, в последнее время доминирующей стала биомедицинская тематика. Её основные направления методы диагностики и цитометрии, визуализация, микроспектроскопия и томография, а также фототермическая терапия и тераностика — обсуждаются сразу в нескольких разделах обзора с точки зрения как фундаментальных, так и прикладных задач, в частности актуальных проблем медицины. Не менее важны и задачи



Рис. 19. Основные направления развития фототермической и оптоакустической спектроскопии.

материаловедения, решаемые с помощью фототермической и оптоакустической спектроскопии, — прежде всего, это развитие методов неразрушающего испытания и контроля (включая ИК-термографию) и исследования целевых материалов, таких как полупроводники и электронные, фотонные и оптические материалы, а также тонкие плёнки.

В области фундаментальных исследований фототермических и оптоакустических явлений, помимо развития общей теории фототермических и оптоакустических эффектов, чему посвящена значительная доля работ, всё большее внимание уделяется описанию поверхностных явлений, динамики и равновесного состояния тепловых явлений для наномасштабных процессов и наноструктур, а также сверхбыстрых процессов. Теоретические и фундаментальные исследования практически всегда сопровождаются прикладными и инструментальными разработками методологии измерений и обработки данных. В этом аспекте важным является развитие как микроскопии, визуализации, картирования и микроспектроскопии, томографии и профилирования по глубине, так и мультиспектральных, полноспектральных, в перспективе — гиперспектральных, методов.

Наконец, в области химических наук и наук о Земле, помимо уже сложившихся областей развития: монито-

ринга атмосферы, аналитической и физической химии происходит внедрение микрофлюидных технологий, наблюдается ренессанс исследований в области фотохимии. Важными направлениями являются разработка методов совместного исследования теплофизических и флуоресцентных свойств и применение ФТС и ОАС в промышленности, исследовании объектов окружающей среды и решении задач сельского хозяйства и землепользования.

В разделах 9.1–9.4 в соответствии с этой классификацией обсуждаются проблемы развития рассматриваемых в обзоре методов. Часть из них, очевидно, решается сейчас по мере развития, часть вызвана сложностью внедрения новых методов (например, для химических наук и наук о Земле) при наличии сложившейся практики, а часть связана с нерешёнными проблемами теории и эксперимента.

### 9.1. Теория и методология

Несмотря на большое число работ в области исследования сложных объектов с помощью фототермической спектроскопии, до сих пор отсутствует обобщённая теория, которая описывала бы фототермические явления, в том числе экспериментально обнаруженные закономерности, в сложных гетерогенных средах. Кроме того, развитие отдельных фототермических методов происходит в какой-то степени раздельно, что не всегда позволяет совместно использовать данные разных методов, что часто представляет собой одновременно и теоретическую. и методологическую проблему. Дальнейшее усовершенствование методологии фототермического исследования сложных объектов потребует решения следующих задач.

1. Во многих фототермических методах теория относится либо к гомогенным средам, либо к одному наноразмерному объекту [1]. Таким образом, необходимо либо разработать теорию генерации фототермического сигнала в сложных объектах [24, 115, 213–215, 409–413], либо уточнить и обобщить существующие теории. Это особенно важно для медленных методов на основе ансамбля частиц, таких как ТЛС и ФТО, которые имеют большой круг задач именно при комплексном описании равновесий в сложных объектах.

2. Вопросы, связанные с планированием эксперимента, также требуют учёта факторов, связанных как с особенностями объектов, так и с возможными режимами работы приборов, которые должны обеспечивать и время-разрешённые, и равновесные измерения. Для ТЛС потребуются минимальные изменения, но для адаптации других фототермических методов необходимы существенные усилия.

### 9.2. Приборное обеспечение

Как мы упоминали выше, в последнее время явно наметилась тенденция создания серийных приборов, при этом серийные приборы начинают использоваться при реализации как оптоакустических методов, прежде всего в качестве приборов для томографии и мультиспектральной томографии, так и для фототермических методов, а также микроскопических, оптических и зондовых. Помимо того, в последние 3-5 лет опубликован ряд работ, в которых рассмотрены фототермические и оптоакустические приборы именно как прототипы серийных [627-632], т.е. изложены не только принципы, но и варианты программно-аппаратной реализации. Тем не менее пока, прежде всего для фототермических методов, существует проблема — отсутствие стандартизированных приборов, что характерно для всех типов задач, решаемых с помощью фототермической спектроскопии. На наш взгляд, в этом направлении необходимо решение следующих задач.

1. Один из ключевых вопросов — унификация фототермических приборов. Несмотря на то что на рынке присутствуют несколько компаний, промышленные применения и прототипы, многие фототермические приборы изготовляются самостоятельно авторами одноразово для определённых исследовательских целей. В результате получаются трудно совместимые устройства, даже основанные на одном и том же принципе, что в свою очередь приводит к отсутствию стандартных образцов для измерений и подробных данных о кривых погрешности приборов и методик в фототермике.

2. Вероятно, необходимо создание специализированных установок для определённых задач, поскольку измерения и анализ сложных объектов требуют выбора времени измерений, концентрации и мощности возбуждения. В частности, многие методы, которые используются именно для твёрдых образцов (ФТО, ФТР), требуют специальных ячеек для жидких сред.

3. Серьёзный прогресс в развитии фототермических методов во многих отраслях промышленности и исследований уже требует специальных инициативных проектов-консорциумов, которые достаточно активно реализуются в Евросоюзе и США для важнейших технологий, не имеющих пока поддержки крупных компаний, с целью создания рынка фототермических приборов и формирования спроса.

В рассматриваемой области уже есть важный прецедент — бум в области оптоакустической томографии и MCOT [29–33, 84, 132–139, 151, 154]. Фактически после более чем десяти лет развития усилия исследователей и разработчиков, правильно вложившихся в развитие инновационных проектов и относительно небольших коммерческих компаний, привели к устойчивому прогрессу в области как создания серийного оборудования, так и решения практических задач предклинической и клинической диагностики, внедряемых в реальный сектор медицины. Несмотря на сложность таких методологических и аппаратных задач и задач обработки данных [633], они разрешимы, и создание серийных приборов, безусловно, необходимо и для фототермической спектроскопии.

Говоря о разработке приборов и методологии, стоит упомянуть ещё одну важную особенность фототермических измерений — их многосигнальный характер. На наш взгляд, интересная задача — создать программно-аппаратную основу и методологию одновременного измерения не только основного (фототермического), но и люминесцентного и фотометрического сигналов, а также светорассеяния и, в пределе, размера частиц (по крайней мере, получения его оценки) (рис. 20) для извлечения максимального объёма информации из исследуемого образца. Прежде всего, речь идёт о комбинированных фототермических и (или) оптоакустических и люминесцентных измерениях [634]. Примеры одновременного детектирования уже существуют [482, 635, 636], однако для фототермической спектроскопии до сих пор не установлены оптимальные характеристики такого прибора (геометрические и энергетические), обеспечивающие высокую чувствительность и фототермического, и флуоресцентного детектирования. Не рассмотрены метрологические характеристики определения и параметры (как веществ, например квантовый выход,



Рис. 20. Основные каналы и сигналы, которые в принципе могут быть использованы для получения информации в фототермических исследованиях (на примере термолинзового спектрометра).

так и объекта в целом, например оптические и термические характеристики среды), влияющие на правильность и прецизионность измерений.

Пространственное разрешение. В области биомедицинских исследований, в особенности оптоакустической микроспектроскопии, фактически уже продемонстрирована вся шкала пространственных разрешений: от мезоскопии до наноскопии, от молекулярного до наноструктурного уровня. В случае фототермической спектроскопии развивается методология наноскопии и детектирования отдельных молекул, причём сразу в нескольких направлениях: оптической конфокальной, корреляционной и зондовой спектроскопии. Последняя наиболее востребована, поскольку работает в ИК-области с очевидно более высоким дифракционным пределом по сравнению с таковым в видимой области. Как метод микроспектроскопии фототермическая зондовая спектроскопия обеспечивает получение изображений и картирования высокого разрешения [245, 246, 637]. Пока не для всех объектов получены надёжные результаты, но это, на наш взгляд, методологическая, а не инструментальная или техническая проблема, и можно ожидать дальнейшего увеличения пространственного разрешения фототермической микроскопии.

Мультиспектральный анализ. Как мы обсуждали выше, одноволновые измерения востребованы и будут востребованы в ближайшие годы и в фототермической, и в оптоакустической спектроскопии ввиду их соответствия многим задачам (теплофизических измерений материалов, детектирования, определения и картирования конкретных целевых веществ в биомедицине и т.п.). Однако универсализация и общий рост возможностей рассматриваемых методов делают актуальным увеличение числа рабочих длин волн в большинстве фототермических и оптоакустических приборов. Помимо наиболее характерного примера МСОТ [134, 135, 141, 159, 160, 638-640] мультиспектральные измерения появляются при решении почти всех задач [94, 172, 180, 512, 641], причём такая тенденция, как отмечалось, очень схожа с ситуацией с развитием мультиспектральных методов в флуоресцентной микроспектроскопии и КР-микроспектроскопии, где одноволновые измерения уже не являются преобладающими и приборы обладают возможностью проведения двухволновых (RGB) или многоволновых измерений. В итоге это привело к качественному скачку в возможностях флуоресцентной спектроскопии и КРспектроскопии, что логично завершилось разработкой гиперспектральных методов [155, 176, 177]. Вряд ли можно сомневаться, что такой же путь пройдут оптоакустические и фототермические методы.

Другой вариант развития мультиспектральных измерений — использование источников непрерывного спектра, перестраиваемых лазеров, ИК-источников или белого света, так же как в спектрофотометрии и ИКспектроскопии. Ключевые проблемы здесь пока достаточно очевидны и связаны со сканирующими вариантами фототермических измерений, что затрудняет экспрессное измерение спектров в широкой области или с высоким разрешением, особенно для задач детектирования в потоке или детектирования промежуточных продуктов реакций. Кроме того, существует ряд методологических и прикладных особенностей, ввиду которых фототермическая спектроскопия с непрерывными спектрами используется мало, хотя технически сложности в основном преодолены.

Компактные приборы. Применение нелазерных источников имеет, помимо мультиспектральных измерений, ещё одну важную особенность. Несмотря на использование компактных лазеров, оптические схемы фототермических приборов с лазерными источниками пока далеки от концепции компактных, переносных или мобильных приборов. Однако возможности фототермических методов в компактном варианте привлекательны [180, 627, 628, 642]. С этой точки зрения, по нашему мнению, наибольшим потенциалом обладают "медленные" фототермические методы, такие как ТЛС, ФТОспектроскопия или ФТР. Их реализация в виде компактных схем позволит использовать все возможности молекулярной спектроскопии в химическом анализе (полевой анализ) и экспресс-тестов при неразрушающем контроле вместе с высокочувствительным фототермическим детектированием. Следовательно, возможна разработка простых и удобных протоколов измерений как для твёрдых фаз, так и для растворов. Подобная стратегия показала свою успешность для термолинзовой спектроскопии [643].

#### 9.3. Биомедицинские задачи

В разделах 3–8 мы достаточно подробно остановились на возможностях, достижениях и перспективах развития фототермической и оптоакустической спектроскопии для решения биомедицинских задач. Фактически сейчас это одно из самых развитых и одновременно быстроразвивающихся направлений. Тем не менее анализ литературы и сопоставление работ, относящихся к разным типам объектов, требуют отметить несколько проблем и в данной области.

Направленность оптоакустической спектроскопии и томографии на сложные реальные живые системы очевидна, но в ряде случаев эти методы востребованы и для решения задач биоматериаловедения. В частности, пока достаточно редки исследования, направленные на решение задач биотехнологии и биоинженерии, в которых необходимо определение оптических и тепловых характеристик объектов, а также в развивающейся области исследования "органов на чипе". Кроме того, на молекулярно-структурном уровне пока ещё недостаточно данных по теплофизическим параметрам биомолекул (прежде всего белков и липидов), где значимость фототермической и оптоакустической спектроскопии не подвергается сомнению.

И существующие, и пока не реализованные задачи исследования биологических систем подтверждают необходимость создания платформ ex vivo/ex situ для одновременного установления количественного состава и теплофизических параметров. Действительно, при оценке токсичности, биосовместимости, биотоксичности лекарственных препаратов и наночастиц очень часто существует рассогласование исследований in vivo и доклинических испытаний *in vitro*. Это связано с тем, что в стадиях исследования in vitro часто имеют дело, например, с высокими дозами и малыми временами облучения/воздействия внешних факторов вследствие трудностей сохранения живых систем. Данная проблема актуальна как для оптической и радиологической диагностики, лазерной терапии и тераностики, так и в рамках концепции направленной доставки лекарственных средств.

С другой стороны, при испытании и исследовании собственно наноматериалов в прикладных задачах (катализ, концентрирование) необходимо получать НЧ с определёнными свойствами и исследовать эти свойства *in situ*. Такой анализ или испытания должны включать в себя решение разных по смыслу задач: определение химического состава получаемых частиц (в представлении о них как о веществе или соединении) и исследования материалов на их основе. При этом необходимы выяснение характеристического размера, исследование физико-химических свойств и оценка воздействия различных химических и физических факторов. Точно такая же идеология и методология востребованы в случае анализа или испытания наноматериалов, когда исследуемое вещество отделяется, концентрируется и иммобилизуется (или фиксируется в случае НЧ, клеток и т.п.) для исследования свойств в наиболее выгодных для исследователя условиях.

В последнее время происходит сближение задач обоих типов. В частности, показано, что комплексы белков с липидами проявляют свойства НЧ и нанотрубок, рассматриваются возможности медицинского применения углеродных НЧ в виде комплексов с белками, многие вопросы фотодинамической терапии и проблемы апоптоза связывают именно с дисперсными свойствами природных систем, а полимерно-модифицированные среды являются ключевой особенностью кристаллизации белков, в вирусологии и т.п.

Таким образом, и для биологических объектов, и для технологических наноматериалов необходимо разрабатывать комплексные методы анализа и диагностики, а также использовать достаточно универсальные (структурированные) среды, пригодные для проведения анализа и испытания сложных объектов [644]. Такая методология (платформа) анализа, испытания и тестирования биологических и наноматериалов должна обеспечивать удобство, надёжность и воспроизводимость работы с различными материалами на уровне следовых количеств и концентраций определяемых соединений in vitro/ in situ, а с другой стороны, включать в себя достаточно широкий набор методов анализа и исследования. Такая платформа должна также позволять проведение исследований, с одной стороны, в достаточно тонких слоях для получения первичной информации, с другой стороны — в материалах с трёхмерной структурой, моделирующей реальную систему. Кроме того, необходимы как иммобилизация НЧ, так и их достаточно мягкая фиксация, для того чтобы максимально приблизиться к условиям существования исследуемых объектов в реальных системах. Подобные системы можно создавать с помощью водорастворимых полимеров, тонких полимерных слоёв и гидрогелей, моделирующих различные компоненты реальных биологических и технологических систем [645-647]. Об актуальности этого направления говорит большое число поисковых работ, а также предварительных обзоров (survey) в рассматриваемой области [648, 649]. Очевидно, что указанные платформы достаточно независимы от метода измерения, но и по концепции, и по возможностям измерений они, безусловно, комплементарны большинству фототермических и оптоакустических методов.

### 9.4. Материаловедение и химические науки

Как и в случае биомедицинских задач, достаточно очевидно, что установление свойств материалов является одним из основных направлений разработки методов фототермической и оптоакустической спектроскопии. В ближайшее время можно ожидать только увеличения числа работ, связанных как с разработкой методов, так и с их применением для различных объектов. Интересно, что в последние пять-семь лет исследования, связанные с установлением теплофизических характеристик материалов в области неразрушающего контроля, используют методы фототермической, оптоакустической и комплексной диагностики уже как достаточно стандартные и рутинные измерения.

Тем не менее до сих пор не все задачи в этой области решены. Как мы упоминали в разделе 9.2, необходимы стандартизация и унификация измерений, а также разработка методологических подходов и универсальных платформ для тестирования сложных объектов. Кроме того, правильность и точность фототермических измерений пока не достигнута для всех задач, что часто препятствует более широкому распространению рассматриваемых методов.

Таким образом, можно ожидать роста числа работ в области использования фототермической и оптоакустической спектроскопии для новых материалов [650, 651]. Сейчас в качестве характерного примера можно привести углеродные наноматериалы [287, 526, 652–654], но область применения фототермической и оптоакустической спектроскопии может быть расширена и распространена на другие задачи, связанные с использованием аддитивных технологий, однослойных материалов, фотонных кристаллов, фононных материалов.

Аналитическая химия. Число объектов и задач химического анализа постоянно растёт, при этом растёт и число методов пробоподготовки и анализа. В результате выбор способа пробоподготовки и анализа зависит от очень большого числа факторов. Необходимо учитывать как требования к правильности и прецизионности анализа, стоимости приборов и самого анализа, квалификации персонала, масштабу анализов и их экспрессности и т.п., так и наличие нормативных документов и текущие возможности серийных приборов фирм-производителей с определёнными рабочими характеристиками.

Ввиду указанных выше требований роль фототермической и оптоакустической спектроскопии в аналитической химии является неоднозначной: отсутствие аналитических приборов и, как следствие, отсутствие полностью доработанных и сертифицированных методик и стандартных образцов делает эти методы менее конкурентоспособными по сравнению со спектрофлуориметрией, жидкостной хроматографией и электрохимическими методами. Кроме того, эксплуатирование в своё время фактически единственного параметра — чувствительности, как важнейшей аналитической характеристики ФТС/ОАС для всех анализируемых веществ, включая ионы металлов, где сложно конкурировать с методами атомной спектроскопии, было достаточно ошибочным. Такой перекос при развитии других методов химического анализа не создал ниши для фототермической и оптоакустической спектроскопии, несмотря даже на интересные методические разработки в области анализа сложных смесей и детектирования в хроматографии [458, 655-657]. Фактически только при создании концепций микрофлюидных чипов и микроспектроскопического анализа малых количеств биологически активных соединений стали появляться практически значимые аналитические фототермические и оптоакустические методики.

Сейчас, на наш взгляд, проявляется ещё одна не вполне позитивная тенденция: прорыв в области биомедицинской тематики, казалось бы, диктует прямое сочетание физических принципов и теорий с биомедицинскими задачами. Однако практика показывает, что такая постановка задачи, фактически исключающая методологию химических измерений как связующее звено, не вполне оправдана. Помимо пропуска такого звена, как мы обсуждали выше (*in vitro, ex vivo/ex situ, in vivo/in situ*), неучёт химии взаимодействия чреват потерей как правильности, так и точности измерений, поскольку именно этапы пробоподготовки или дериватизации вносят основной вклад в систематические и случайные погрешности всего цикла измерений. Наконец, некорректно сбрасывать со счетов разработанную методологию химико-аналитических методик молекулярной абсорбционной спектроскопии. Селективная дериватизация, маскирование фона, химическое усиление сигнала, ортогональные реакции — всё это может принести существенный выигрыш в областях, формально не относящихся к аналитической химии, но связанных с установлением оптических, концентрационных и размерных параметров с помощью фототермических и оптоакустических измерений.

Выше мы говорили о возможных путях решения проблем, связанных с приборами и методологией. Хотелось бы подчеркнуть, что необходима работа и в области метрологического обеспечения фототермических и оптоакустических измерений, основанная на современных требованиях: концепции прослеживаемости и неопределённости измерений (ГОСТ ISO/IEC 17025-2019 и серии ГОСТ Р ИСО 5725) и планировании эксперимента. Для наиболее часто используемых связок метод-задача, вероятно, необходим расчёт бюджета неопределённости, поскольку для зрелого метода и тем более при его внедрении в практику испытаний растёт число факторов в бюджете неопределённости, увеличивается доля факторов типа А и повышается общий класс точности. Оценка неопределённости измерений позволит показать, в каких областях прикладных наук фототермическая спектроскопия реально востребована с учётом того, что уже существуют серийно выпускаемые приборы.

С точки зрения практических, "чисто" химических задач фототермической и оптоакустической спектроскопии можно прогнозировать, что востребованными будут методики, обладающие двумя или несколькими каналами одновременного сбора информации об образце без пробоподготовки, например спектральной информации или одновременной регистрации светопоглощения и люминесценции или светорассеяния. В настоящее время это относится в основном к биологическим образцам, но в ближайшее время стоит ожидать разработки методов, предназначенных для анализа сложных природных образцов или микроспектроскопии. Сейчас методология прикладных измерений недостаточно разработана.

В завершение можно сказать, что сложный и многосигнальный характер методов фототермической и оптоакустической спектроскопии делает их очень ценным и гибким инструментом. Даже мешающие факторы (посторонние химические компоненты, влияние теплофизических параметров и размера частиц дисперсной фазы, конкурентный характер флуоресценции, тепловые эффекты реакций и т.п.) можно превратить в преимущества новых методов химического анализа и прикладной химии. Выше мы привели достаточно много примеров такой многосигнальности и её успешной реализации. При этом большинство таких работ направлено не только на исследования в области химии, но и на другие области применения фототермической и оптоакустической спектроскопии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российским фондом фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 19-13-50278 ("Экспансия" 2019).

### 10. Глоссарий

Зондирующий лазер — в фототермической спектроскопии лазер, излучение которого проходит через область теплового возмущения (термооптический элемент), по изменению этого излучения судят о светопоглощении или тепловых характеристиках образца.

Индуцирующий источник — в фототермической спектроскопии источник электромагнитного излучения (как правило, лазер), которое поглощается образцом и вызывает фототермические эффекты.

*Молекулярно-тепловая спектроскопия* — методы спектроскопии, сочетающие в себе возможности оптической спектроскопии или ИК-спектроскопии (дающие информацию о спектрах электромагнитного излучения и количественном химическом составе испытуемого образца) и *тепловой спектроскопии*.

Оптоакустическая (фотоакустическая) спектроскопия (орtoacoustic spectroscopy, photoacoustic spectroscopy) подгруппа методов фототермоакустической спектроскопии, в которой измеряют волны плотности (звуковые волны), вызванные импульсом электромагнитного излучения и тепловым расширением образца при поглощении электромагнитного излучения его компонентами (атомами, узлами кристаллических решёток, молекулами, супрамолекулярными структурами, НЧ и др.), что приводит к локальному нагреву образца и последующей безызлучательной релаксации. Изменение давления регистрируется с помощью микрофона или пьезопреобразователя.

**Тепловая спектроскопия** — спектроскопические методы, которые обеспечивают диагностику и анализ материалов по изменению оптических спектров зондирующего излучения вследствие изменения теплофизических параметров испытуемого образца при изменении температуры. Если источником нагрева является фототермический эффект, то соответствующий раздел тепловой спектроскопии называется фототермической спектроскопией.

Термодефлекция (фототермическое отклонение, эффект миража) — фототермический эффект, проявляющийся в отклонении направления распространения луча зондирующего лазера от направления, параллельного поверхности твёрдого тела, облучённого светом индуцирующего источника, под действием фототермического элемента, подобного призме (термопризме). Термодефлекцию, как правило, измеряют позиционным (четырёхквадрантным) оптическим детектором.

Термодефлекционная спектроскопия (ТДС, спектроскопия фототермического отклонения, фотодефлекционная спектроскопия, или мираж-спектроскопия) — термооптический метод фототермической спектроскопии. Принцип метода, основанный на явлении термодефлекции, заключается в облучении твёрдого образца с плоской поверхностью светом индуцирующего источника с определённой частотой, направленным по нормали к исследуемой поверхности. Под действием облучения образец нагревается, величина нагрева зависит от локальных теплофизических свойств материала в области облучения. В жидкой или газообразной среде (чаще всего воздухе), непосредственно контактирующей с испытуемым образцом, за счёт её нагрева уже самим образцом формируется фототермический элемент, действующий подобно призме (термопризма) на излучение зондирующего лазера, которое распространяется вдоль поверхности образца.

**Термолинзовая спектрометрия** — термооптический метод фототермической спектроскопии, в котором тепловое возмущение вызывает образование профиля показателя преломления в изотропной среде, приводящего к образованию термооптического элемента, подобного по поведению рассеивающей линзе (фототермической линзе). В результате нагрева устанавливается пространственный градиент показателя преломления. Уширение лазерного луча на образовавшемся термооптическом элементе пропорционально поглощению образца. Применение ТЛС при измерениях светопоглощения основано на том, что оптическая сила фототермической линзы прямо пропорциональна оптической плотности объекта и, согласно закону Бугера-Ламберта-Бера, концентрации и коэффициенту поглощения исследуемого соединения. Для количественной регистрации применяют двухлучевые схемы, используя изменение расходимости (маломощного) излучения зондирующего лазера, прошедшего через фототермическую линзу. ТЛС наиболее часто применяют для определения количественного состава растворов и коэффициентов светопоглошения.

**Термооптический элемент** — вызванное фототермическим эффектом пространственное возмущение температуры, приводящее к изменению зависящих от температуры теплофизических свойств образца и, как следствие, к образованию профиля показателя преломления, который в первом приближении может рассматриваться как аналог оптического элемента (линзы, призмы, зеркала, дифракционной решётки и т.п.).

**Фототермическая спектроскопия** — группа методов молекулярной абсорбционной спектроскопии, основанных на измерении светопоглощения по вызванному им регулярному тепловому возмущению — фототермическому эффекту. Методы фототермической спектроскопии относятся к *тепловой спектроскопии*, являются силовыми (зависят от интенсивности излучения индуцирующего источника) и основываются на фототермических эффектах. В результате нагрева и фототермического эффекта устанавливается пространственный градиент показателя преломления. Уширение или отклонение луча зондирующего лазера на образовавшемся элементе зависит от теплофизических параметров испытуемого образца и концентраций его светопоглощающих компонентов.

Фототермическая радиометрия — подгруппа методов фототермической спектроскопии, основанная на прямой регистрации теплового излучения, вызванного фототермическими эффектами.

*Термооптическая спектроскопия* — подгруппа методов *фототермической спектроскопии*, основанная на регистрации изменения оптических свойств образца при индуцировании теплового возмущения.

Фототермическая микроспектроскопия — вариант фототермической спектроскопии, в которой оптическая схема прибора представляет собой схему оптического микроскопа, при этом основной задачей является получение спектральной и количественной информации об образце.

Фототермическая микроскопия — вариант фототермической спектроскопии, в которой оптическая схема прибора представляет собой схему оптического микроскопа, при этом основными задачами являются получение пространственной информации о поглощении образца и визуализация пространственного профиля поглощения. **Фототермический элемент** — вызванное фототермическим эффектом пространственное возмущение температуры, которое приводит к изменению зависящих от температуры теплофизических свойств образца (прежде всего, коэффициента теплопроводности и плотности) и, как следствие, к образованию профиля показателя преломления — этот профиль в первом приближении может рассматриваться как аналог оптического элемента (линзы, призмы, зеркала, дифракционной решётки и т.п.). В термодефлекционной спектроскопии фототермический элемент называется тепловой призмой (термической призмой, термопризмой).

**Фототермический эффект** (photothermal effect, photothermal phenomena) — любые изменения температуры (*тепловое возмущение*) и зависящих от неё физических параметров объекта (плотности, показателя преломления, скорости звука, объёма, формы и т.п.) при поглощении им электромагнитного излучения. Как правило, электромагнитное излучение лежит в *оптической или ИК-областии*. Под фототермическими эффектами понимают как окончательное (равновесное или стационарное) распределение температуры и сопутствующих явлений (например, *термодефлекционная спектроскопия*), так и динамику распространения температуры (тепловые волны).

### Список литературы

- 1. Bialkowski S E, Astrath N G C, Proskurnin M A *Photothermal* Spectroscopy Methods (Weinheim: Wiley, 2019)
- Скворцов Л А Основы фототермической радиометрии и лазерной термографии (М.: ТЕХНОСФЕРА, 2017)
- 3. Sell J A (Ed.) *Photothermal Investigations of Solids and Fluid* (Boston: Academic Press, 2012)
- Franko M, Tran C D Thermal Lens Spectroscopy (Encyclopedia of Analytical Chemistry, Eds R A Meyers, R A Meyers) (Weinheim: John Wiley and Sons, 2010) https://doi.org/10.1002/ 9780470027318.a9079
- Proskurnin M A "Photothermal spectroscopy", in Laser Spectroscopy for Sensing: Fundamentals, Techniques and Applications (Electronic and Optical Materials, Vol. 43, Ed. M Baudelet) (Cambridge: Woodhead, 2014) Ch. 11
- Michaelian K H Photoacoustic IR Spectroscopy: Instrumentation, Applications and Data Analysis (Weinheim: Wiley-VCH, 2010)
- 7. Wang L V (Ed.) *Photoacoustic Imaging and Spectroscopy* (Boca Raton, FL: CRC Press, 2009)
- 8. Wang L V, Wu H Biomedical Optics: Principles and Imaging (Weinheim: Wiley, 2012)
- 9. Georges J Talanta 48 501 (1999)
- 10. Franko M Talanta 54 1 (2001)
- 11. Navas M J, Jiménez A M Crit. Rev. Anal. Chem. 33 (2) 77 (2003)
- 12. Kitamori T Fresenius J. Anal. Chem. 371 89 (2001)
- 13. Blanchard G J Appl. Spectrosc. 55 110A (2001)
- 14. Xiao P Cosmetics 3 (1) 10 (2016)
- Проскурнин M A, Бендрышева C H, Смирнова A П Жури. аналитической химии 71 451 (2016); Proskurnin M A, Bendrysheva S N, Smirnova A P J. Anal. Chem. 71 431 (2016)
- 16. Liu M, Franko M Int. J. Thermophys. 37 67 (2016)
- 17. Franko M et al. Anal. Sci. 32 (1) 23 (2016)
- Проскурнин М А и др. Журн. аналитической химии 70 227 (2015); Proskurnin M A et al. J. Anal. Chem. 70 249 (2015)
- 19. Cassano C L et al. Electrophoresis 35 2279 (2014)
- 20. Скворцов Л А *Квантовая электроника* **43** 1 (2013); Skvortsov L A *Quantum Electron.* **43** 1 (2013)
- 21. Проскурнин M A, Кононец M Ю *Успехи химии* **73** 1235 (2004); Proskurnin M A, Kononets M Yu *Russ. Chem. Rev.* **73** 1143 (2004)
- 22. Jain P K et al. Acc. Chem. Res. 41 1578 (2008)
- 23. Peters K S, Watson T, Marr K Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem. 20 343 (1991)
- 24. Selmke M, Cichos F, arXiv:1510.08669
- 25. Tuchin V V, Tárnok A, Zharov V P Cytometry A 79 737 (2011)
- <sup>MC</sup> 26. Dadarlat D *Laser Phys.* **19** 1330 (2009)
  - 27. Haisch C Meas. Sci. Technol. 23 012001 (2011)
  - 28. Attia A B E et al. Photoacoustics 16 100144 (2019)

128.

129.

130.

131.

132.

133.

134.

135

136.

137.

138.

139.

140.

141.

142.

143.

144.

145.

146

147

148.

149.

150.

151.

152.

154.

156.

157.

158.

159

160.

161.

162

163.

164.

165.

166.

(2016)

- Jeon S et al. Photoacoustics 15 100141 (2019) 29
- 30. Liu W, Zhang H F Photoacoustics 4 (3) 112 (2016)
- Schellenberg M W, Hunt H K Photoacoustics 11 14 (2018) 31.
- 32 Steinberg I et al. Photoacoustics 14 77 (2019)
- 33. Zhang H F, Razansky D Photoacoustics 4 (3) 81 (2016)
- 34 Escola F Z et al. Proced. Mater. Sci. 8 665 (2015)
- 35. Dazzi A, in Thermal Nanosystems and Nanomaterials (Topics in Applied Physics, Vol. 118, Ed. S Volz) (Berlin: Springer, 2009) p. 469
- Lima S M et al. J. Non-Cryst. Solids 273 215 (2000) 36
- 37. Volkov D S et al. Photoacoustics 17 100151 (2020)
- Adhikari S et al. ACS Nano 14 16414 (2020) 38.
- Malinski M et al. Int. J. Thermophys. 26 255 (2005) 39
- 40 Waloszek A et al. Photosynthetica 40 279 (2002)
- 41. Mandelis A, Guo X Phys. Rev. E 84 041917 (2011)
- 42. Teng Y C, Royce B S H Appl. Opt. 21 77 (1982)
- 43. Rosencwaig A, Gersho A J. Appl. Phys. 47 64 (1976)
- 44 Proskurnin M A et al. Int. J. Thermophys. 39 81 (2018)
- 45. Heber A, Selmke M, Cichos F ACS Photon. 4 681 (2017) 46. Korte D, Franko M Int. J. Thermophys. 35 2352 (2014)
- Korte D et al. Int. J. Thermophys. 35 2107 (2014) 47.
- 48. Vargas H, Miranda L C M Rev. Sci. Instrum. 74 794 (2003)
- Zhang X, Li B Rev. Sci. Instrum. 89 024901 (2018) 49.
- 50. Toyama T et al. Thin Solid Films 555 148 (2014)
- 51. Macías J D et al. AIP Conf. Proc. 2126 020002 (2019)
- 52. Ramírez-Rincón J A et al. Appl. Phys. A 124 252 (2018)
- 53. Fleurence N et al. Phys. Status Solidi A 212 535 (2015)
- 54 Guo X et al. Biomed. Opt. Express 5 2333 (2014)
- 55 Liu Y J, Mandelis A, Guo X Rev. Sci. Instrum. 86 115003 (2015)
- 56. Chrobak L, Maliński M, Pawlak M Infrared Phys. Technol. 67 604 (2014)
- 57. Rojas-Rodríguez I et al. Int. J. Thermophys. 33 2382 (2012)
- 58. Gensch T, Viappiani C Photochem. Photobiol. Sci. 2 699 (2003)
- Abad B, Borca-Tasciuc D-A, Martin-Gonzalez M S Renew. Sust. 59. Energ. Rev. 76 1348 (2017)
- 60 Loeb S, Li C, Kim J-H Environ. Sci. Technol. 52 205 (2018)
- 61. Mandelis A J. Phys. A 24 2485 (1991)
- 62. Inoue K et al. Biophys. J. 92 2028 (2007)
- Terazima M Chem. Phys. Lett. 304 343 (1999) 63.
- Nakajima N, Hirota N, Terazima M J. Photochem. Photobiol. A 120 64. (1) 1 (1999)
- 65. Verstraeten B et al. Photoacoustics 3 (2) 64 (2015)
- 66. Kouyaté M et al. Int. J. Thermophys. 36 3211 (2015)
- 67. Leys J et al. Mater. Renew. Sustain. Energy 5 4 (2016)
- Katayama K, Shibamoto K, Sawada T Chem. Phys. Lett. 345 265 68. (2001)
- 69 Harata A et al. Anal. Chim. Acta 299 349 (1995)
- Leduc C et al. ACS Nano 5 2587 (2011) 70.
- 71. Absil E et al. Opt. Express 18 780 (2010)
- Berciaud S et al. Phys. Rev. B 73 045424 (2006) 72.
- Usoltseva L O, Korobov M V, Proskurnin M A J. Appl. Phys. 128 73. 190901 (2020)
- 74 Lenart V M et al. J. Appl. Phys. 123 085107 (2018)
- 75. Kozich V P et al. Appl. Spectrosc. 48 1419 (1994)
- Proskurnin M A, Volkov M E Appl. Spectrosc. 62 439 (2008) 76.
- 77. Marcano A O et al. Appl. Spectrosc. 57 1278 (2003)
- 78. Rohling J H et al. J. Phys. D 34 407 (2001)
- 79 Barbero C, Kótz R, Haas O Synth. Met. 101 170 (1999)
- 80 Franko M, Bicanic D Isr. J. Chem. 38 175 (1998)
- 81. Bialkowski S E et al. Appl. Spectrosc. 46 1335 (1992)
- Bayareh M Chem. Eng. Process. Process Intensif. 153 107984 (2020) 82.
- Barrett K E et al. Ganong's Review of Medical Physiology 26th ed. 83. (New York: McGraw-Hill Education, 2019)
- 84 Lawrence D J et al. Sci. Rep. 9 558 (2019)
- Bauer A et al. J. Biophoton. 11 e201600261 (2018) 85.
- 86. Tserevelakis G J et al. Sci. Rep. 7 747 (2017)
- Li Voti R et al. Nanoscale Adv. 3 4692 (2021) 87.
- 88. Jeng G-S et al. Nat. Commun. 12 716 (2021)
- 89. Nedosekin D A, Proskurnin M A, Kononets M Yu Appl. Opt. 44 6296 (2005)
- 90. Miyazaki J, Kobayahsi T Photonics 4 (2) 32 (2017)
- 91. Nedosekin D A et al. Drug Metabolism Rev. 47 346 (2015)
- 92 Vermeulen P, Cognet L, Lounis B J. Microsc. 254 115 (2014)
- 93 Selmke M, Braun M, Cichos F ACS Nano 6 2741 (2012)
- Proskurnin M A et al. Cytometry A 79 834 (2011) 94.
- 95. Bai Y et al. J. Phys. Chem. B 121 10249 (2017)
- 96. Nedosekin D A et al. Biophys. J. 102 672 (2012)
- Moreau J, Loriette V Jpn. J. Appl. Phys. 45 7141 (2006) 97.
- Moreau J, Loriette V Opt. Lett. 29 1488 (2004) 98
- 99. Nedosekin D A et al. Small 10 135 (2014)

- 100. Sreekumar K, Mandelis A Int. J. Thermophys. 34 1481 (2013)
- Mandelis A Int. J. Thermophys. 33 1776 (2012) 101.
- Guo X et al. Biomed. Opt. Express 3 3012 (2012) 102.
- 103 Malacarne L C et al. Appl. Spectrosc. 65 (1) 99 (2011)
- Tokeshi M et al. Anal. Chem. 74 1565 (2002) 104.
- Nedosekin D A et al. J. Biophoton. 6 523 (2013) 105
- 106. Nedosekin D A et al. J. Biophoton. 6 425 (2013)
- 107. Galanzha E I, Zharov V P Methods 57 280 (2012)
- Nedosekin D A et al. Cytometry A 79 825 (2011) 108.
- Khodakovskaya M V et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108 1028 109. (2011)
- 110. Harada M et al. Anal. Sci. 15 647 (1999)
- Shokoufi N et al. Anal. Bioanal. Chem. 411 6119 (2019) 111.
- Shimizu H, Mawatari K, Kitamori T Anal. Chem. 82 7479 (2010) 112.
- Brusnichkin A V et al. J. Biophoton. 3 791 (2010) 113.
- Wang L V Nat. Photon. 3 503 (2009) 114.
- Selmke M, Braun M, Cichos F Opt. Express 20 8055 (2012) 115
- 116. Kotaidis V, Plech A Appl. Phys. Lett. 87 213102 (2005)
- Zharov V P, Galitovsky V, Viegas M Appl. Phys. Lett. 83 4897 117. (2003)
- 118. Lin C P, Kelly M W Appl. Phys. Lett. 72 2800 (1998)
- Roegener J, Brinkmann R, Lin C P J. Biomed. Opt. 9 367 (2004) 119.
- 120. Olson N E et al. Anal. Chem. 92 9932 (2020)
- Klementieva O et al. Adv. Sci. 7 1903004 (2020) 121.
- 122. Kansiz M et al. Anal. Chem. 93 11081 (2021)
- 123. Beltran V et al. Angew. Chem. Int. Ed. 60 22753 (2021)
- Spadea A et al. Anal. Chem. 93 3938 (2021) 124.
- 125 Bertussi B, Natoli J-Y, Commandré M Appl. Opt. 45 1410 (2006)

Галкин М В и др. Becmн. МГУ. Сер. 2 Химия 51 (2) 115 (2010); Galkin M V et al. Moscow Univ. Chem. Bull. 65 (2) 91 (2010)

Vidovič L, Milanić M, Majaron B Int. J. Thermophys. 36 849 (2015)

Razansky D, Buehler A, Ntziachristos V Nat. Protoc. 6 1121 (2011)

Omar M, Aguirre J, Ntziachristos V Nat. Biomed. Eng. 3 354 (2019)

Gargiulo S, Albanese S, Mancini M Contrast Media Mol. Imaging

Турчин И В УФН 186 550 (2016); Turchin I V Phys. Usp. 59 487

Suheshkumar Singh M, Paul S, Thomas A, in LED-Based Photo-

acoustic Imaging: A Theoretical Tutorial (Progress in Optical Science

and Photonics, Vol. 7, Ed. M Kuniyil Ajith Singh) (Singapore:

Svanberg S, in Laser Spectroscopy for Medical Applications.

Diagnostics, Therapy and Surgery (Ed. H Jelínková) (Cambridge:

Miranda C, Barkley J, Smith B S J. Biomed. Opt. 23 046008 (2018)

Pavone F S, Shoham S (Eds) Handbook of Neurophotonics (Boca

153. Xia J, Yao J, Wang L H V Prog. Electromagn. Res. 147 1 (2014)

Choi W, Oh D, Kim C J. Appl. Phys. 127 230903 (2020)

Schoustra S M et al. Photoacoustics 21 100238 (2021)

Li L, Wang L V BME Frontiers 2021 9823268 (2021)

Knieling F et al. New Engl. J. Med. 376 1292 (2017) Neuschmelting V et al. Photoacoustics 4 (1) 1 (2016)

Yang J M et al. PLoS ONE 10 (4) e0120269 (2015)

Yang J-M et al. Nat. Med. 18 1297 (2012)

167. Brunker J, Beard P Sci. Rep. 6 20902 (2016)

Shu C et al. Proc. SPIE 11190 111901V (2019)

Xue X, Lindstrom A, Li Y Bioconjugate Chem. 30 1585 (2019)

126. Natoli J-Y et al. Opt. Express 11 824 (2003)

Milanic M, Majaron B Proc. SPIE 8207 82070G (2012)

Schoustra S M et al. Proc. SPIE 10878 1087813 (2019)

Ntziachristos V, Razansky D Chem. Rev. 110 2783 (2010)

Deán-Ben X L, Razansky D Photoacoustics 4 (4) 133 (2016)

Rashidi-Huyeh M, Palpant B J. Appl. Phys. 96 4475 (2004) 127.

O'Brien C M et al. Sci. Rep. 10 12549 (2020)

Razansky D et al. Nat. Photon. 3 412 (2009)

Attia A B E et al. Photoacoustics 7 20 (2017)

Gusev V E Photoacoustics 20 100205 (2020)

Rebling J et al. Adv. Sci. 8 2170078 (2021)

Bulsink R et al. Sensors 21 283 (2021)

Shi J et al. Nat. Photon. 13 609 (2019)

2019 5080267 (2019)

Springer, 2020) p. 3

Woodhead Publ., 2013)

Raton, FL: CRC Press, 2020)

Bychkov A S et al. Photoacoustics 5 10 (2017)

Oraevsky A A et al. Photoacoustics 12 30 (2018)

Wang L et al. Phys. Rev. Lett. 113 174301 (2014)

Liu S et al. J. Am. Chem. Soc. 141 5359 (2019)

Suzuki M et al. Opt. Eng. 59 034106 (2020)

155. Krafft C et al. J. Biophoton. 11 e201700236 (2018)

Wang L V, Hu S Science 335 1458 (2012)

Taruttis A, Ntziachristos V Nat. Photon. 9 219 (2015)

- 168. Na S, Wang L V Biomed. Opt. Express 12 4056 (2021)
- Hofmann U A T et al. Opt. Lett. 45 2522 (2020) 169.
- Tishchenko K et al. Arab. J. Chem. 10 781 (2017) 170.
- 171 Zharov V P Nat. Photon. 5 110 (2011)
- 172. Nedosekin D A et al. Cytometry A 77 1049 (2010)
- 173. Attia A B E et al. Biomed. Opt. Express 6 591 (2015)
- 174. Kim M et al. Photoacoustics 19 100192 (2020)
- 175. Märk J et al. Commun. Phys. 1 3 (2018)
- Lu G, Fei B J. Biomed. Opt. 19 010901 (2014) 176.
- 177. Dong X et al. Appl. Spectrosc. Rev. 54 285 (2019)
- 178. Marcano A et al. Appl. Spectrosc. 68 680 (2014)
- 179 Marcano A, Ojeda J, Melikechi N Appl. Spectrosc. 60 560 (2006)
- 180. Cabrera H et al. Talanta 183 158 (2018)
- Tamaki E et al. Lab Chip 5 129 (2005) 181.
- 182. Lindfors K et al. Phys. Rev. Lett. 93 037401 (2004)
- 183. Białkowski S E Photochem. Photobiol. Sci. 2 779 (2003)
- 184. Bialkowski S E, Chartier A B Anal. Sci. 17 (Suppl.) i99 (2001)
- 185. Bialkowski S E Isr. J. Chem. 38 (3) 159 (1998)
- Chartier A, Bialkowski S E Opt. Eng. 36 303 (1997) 186.
- 187. Liang S et al. Photoacoustics 11 56 (2018)
- 188. Хохлова Т Д, Пеливанов И М, Карабутов А А Акустический журн. 55 672 (2009); Khokhlova T D, Pelivanov I M, Karabutov A A Acoust. Phys. 55 674 (2009)
- Karabutov A A, Savateeva E V, Oraevsky A A Laser Phys. 13 711 189. (2003)
- 190. Deán-Ben X L et al. Chem. Soc. Rev. 46 2158 (2017)
- 191. Razansky D, Klohs J, Ni R Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 48 4152 (2021)
- 192 Karlas A et al. Photoacoustics 23 100283 (2021)
- 193. Deán-Ben X L, Razansky D Light Sci. Appl. 3 e137 (2014)
- 194. Gottschalk S et al. Nat. Biomed. Eng. 3 392 (2019)
- 195. Link S, El-Sayed M A Int. Rev. Phys. Chem. 19 409 (2000)
- Cognet L et al. Anal. Chem. 80 2288 (2008) 196.
- 197 Boyer D et al. Science 297 1160 (2002)
- Cognet L et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100 11350 (2003) 198.
- 199. Tamaki E et al. J. Chromatogr. A 987 197 (2003)
- 200. Shimizu H et al. Anal. Chem. 89 6043 (2017)
- 201. Shirai K et al. Analyst 143 943 (2018)
- Tsuyama Y, Mawatari K Anal. Chem. 91 9741 (2019) 202
- 203. Berciaud S et al. Phys. Rev. Lett. 93 257402 (2004)
- 204. Papernov S et al. J. Appl. Phys. 109 113106 (2011)
- Blab G A et al. Biophys. J. 90 L13 (2006) 205.
- Berciaud S et al. Nano Lett. 7 1203 (2007) 206.
- 207. Berciaud S, Cognet L, Lounis B Nano Lett. 5 2160 (2005)
- 208. Mërtiri A et al. Appl. Phys. Lett. 101 044101 (2012)
- 209. Li Z et al. J. Phys. Chem. B 121 8838 (2017)
- 210. Pavlovetc I M et al. J. Appl. Phys. 127 165101 (2020)
- 211. Pavlovetc I M et al. Proc. SPIE 11246 1124613 (2020)
- 212. Radünz R et al. J. Phys. Chem. A 113 1674 (2009)
- 213. Selmke M et al. Appl. Phys. Lett. 105 013511 (2014)
- 214. Selmke M, Braun M, Cichos F J. Opt. Soc. Am. A 29 2237 (2012)
- 215. Selmke M et al. RSC Adv. 3 394 (2013)
- 216. Hammiche A et al. Appl. Spectrosc. 53 810 (1999)
- 217. Pollock H M, Hammiche A J. Phys. D 34 R23 (2001)
- Bozec L et al. Meas. Sci. Technol. 13 1217 (2002) 218.
- Dazzi A, Glotin F, Carminati R J. Appl. Phys. 107 124519 (2010) 219.
- 220. Ramer G, Aksyuk V A, Centrone A Anal. Chem. 89 13524 (2017)
- 221. Katzenmeyer A M, Aksyuk V A, Centrone A Anal. Chem. 85 1972 (2013)
- 222. Kjoller K et al. Nanotechnology 21 185705 (2010)
- Bozec L et al. J. Appl. Phys. 90 5159 (2001) 223
- 224. Hammiche A et al. Spectroscopy 19 (2) 20 (2004)
- 225. Hammiche A et al. Biophys. J. 88 3699 (2005)
- 226. Hammiche A et al. J. Biochem. Biophys. Meth. 70 675 (2007)
- 227. German M J et al. Biophys. J. 90 3783 (2006)
- 228. Jakob D S et al. Anal. Chem. 91 8883 (2019)
- Wang L et al. Sci. Adv. 3 e1700255 (2017) 229.
- 230. Dazzi A et al. Appl. Spectrosc. 66 1365 (2012)
- 231. Yamanaka K, Nakano S Appl. Phys. A 66 S313 (1998)
- 232. Gasser G (Ed.) Inorganic Chemical Biology: Principles, Techniques and Applications (Chichester: John Wiley and Sons, 2014)
- 233 Strelcov E et al. Sci. Adv. 3 e1602165 (2017)
- 234 Deniset-Besseau A et al. Appl. Spectrosc. 75 1538 (2021)
- 235. Ghosh S et al. Nat. Mater. 14 505 (2015)
- Chae J et al. Nano Lett. 15 8114 (2015) 236.
- Morsch S, Bastidas P D, Rowland S M J. Mater. Chem. A 5 24508 237. (2017)
- Barnes J R et al. Nature 372 79 (1994) 238
- 239. Kim S et al. ECS Trans. 50 459 (2013)

- 240. Krause A R et al. J. Appl. Phys. 103 094906 (2008)
- Van Neste C W et al. Appl. Phys. Lett. 92 134102 (2008) 241.
- Скворцов Л А, Максимов Е М Квантовая электроника 40 565 242. (2010); Skvortsov L A, Maksimov E M Quantum Electron. 40 565 (2010)
- Bagheri M et al. Sensors Actuators B 191 765 (2014) 243
- 244. Yun M et al. Appl. Phys. Lett. 100 204103 (2012)
- 245. Li C et al. Anal. Chem. 89 4863 (2017)
- 246. Zhang D et al. Sci. Adv. 2 e1600521 (2016)
- Zong H et al. ACS Photon. 8 3323 (2021) 247.
- 248. Mityurich G S et al. J. Appl. Spectrosc. 87 724 (2020)
- 249 Leong K Y et al. Renew. Sust. Energ. Rev. 53 1092 (2016)
- 250. Noroozi M, Zakaria A, in Nanofluid Heat and Mass Transfer in Engineering Problems (Ed. M S Kandelousi) (London: IntechOpen, 2017) https://doi.org/10.5772/65789
- 251 Jiménez Pérez J L et al. J. Nano Res. 9 55 (2010)
- 252 Alvarado E M et al. Int. J. Thermophys. 34 948 (2013)
- 253. Shen J, Mandelis A, Aloysius B D Int. J. Thermophys. 17 1241 (1996)
- 254. Balderas-López J A, Mandelis A, Garcia J A Rev. Sci. Instrum. 71 2933 (2000)
- 255. López-Muñoz G A et al. Nanoscale Res. Lett. 7 667 (2012)
- Noroozi M et al. Sci. World J. 2018 9458952 (2018) 256.
- 257. Nisha M R, Philip J Phys. Scr. 88 015602 (2013)
- 258. Balderas-López J A Rev. Sci. Instrum. 78 064901 (2007)
- 259. Balderas-López J A, Mandelis A Int. J. Thermophys. 23 605 (2002)
- 260. Соколовская Ю Г, Подымова Н Б, Карабутов А А Акустический журн. 66 284 (2020); Sokolovskaya Yu G, Podymova N B, Karabutov A A Acoust. Phys. 66 268 (2020)
- 261. López-Muñoz G A et al. Nanoscale Res. Lett. 7 423 (2012)
- Agresti F et al. Thermochim. Acta 619 48 (2015) 262.

Dantas A L L et al. Braz. J. Phys. 28 428 (1998)

Lu B et al. J. Opt. Soc. Am. B 37 433 (2020)

Kim J H et al. Measurement 15 159 (1995)

Prakash A et al. Physica E 107 203 (2019)

John J et al. J. Phys. D 48 335301 (2015)

Joseph S A et al. Opt. Commun. 283 313 (2010)

Mikheev I V et al. J. Phys. Chem. C 120 28270 (2016)

Astrath N G C et al. Phys. Rev. B 71 214202 (2005)

Remes Z et al. Phys. Status Solidi A 207 1722 (2010)

Andrade A A et al. J. Non-Cryst. Solids 352 3624 (2006)

Astrath N G C et al. J. Non-Cryst. Solids 354 574 (2008)

Nunes A R et al. Appl. Phys. Lett. 84 5183 (2004)

Figueiredo M S et al. Opt. Mater. 35 2400 (2013)

Starobor A V et al. Opt. Mater. 99 109542 (2020)

Wang Z et al. Opt. Laser Technol. 42 873 (2010)

Dias D T et al. Diam. Relat. Mater. 48 1 (2014)

Armenta S et al. Anal. Chim. Acta 567 255 (2006)

Lima S M et al. J. Non-Cryst. Solids 352 3603 (2006)

Niu R et al. Optik 122 1931 (2011)

Martins V M et al. Opt. Mater. 37 211 (2014)

Hari M et al. Int. J. Therm. Sci. 64 188 (2013)

Stoklasová P et al. Exp. Mech. 61 663 (2021)

Käding O W et al. Appl. Phys. A 61 253 (1995)

Saadallah F et al. Sensors Actuators A 138 335 (2007)

Zhao D et al. J. Electron. Packag. 138 040802 (2016)

Wang J, Fiebig M Int. J. Thermophys. 16 1353 (1995)

Schmidt A J et al. J. Appl. Phys. 103 083529 (2008)

Venerus D C et al. J. Appl. Phys. 100 094310 (2006)

Kusiak A, Pradere Ch, Battaglia J L Meas. Sci. Technol. 21 015403

Rajesh Kumar B et al. J. Therm. Anal. Calorim. 119 453 (2015) Shahriari E, Mat Yunus W M, Zamiri R J. Eur. Opt. Soc. Rapid

Zamiri R et al. J. Eur. Opt. Soc. Rapid Publ. 7 12022 (2012)

Luna-Sánchez J L et al. Thermochim. Acta 678 178314 (2019)

Rusconi R, Rodari E, Piazza R Appl. Phys. Lett. 89 261916 (2006)

Chirtoc M et al., in Spectroscopy of Polymer Nanocomposites (Eds

S Thomas, D Rouxel, D Ponnamma) (Norwich, NY: William

Starobor A V, Mironov E A, Palashov O V Opt. Mater. 98 109469

Anjos V, Andrade A A, Bell M J V Appl. Surf. Sci. 255 698 (2008)

Charpentier P, Lepoutre F, Bertrand L J. Appl. Phys. 53 608 (1982)

El-Qahtani Z et al. Mater. Sci. Semicond. Process. 20 68 (2014)

Manjusha M V, Philip J AIP Conf. Proc. 1349 469 (2011)

- 263. El-Brolossy T A, Saber O Exp. Therm. Fluid Sci. 44 498 (2013) Carbajal-Valdéz R et al. Thermochim. Acta 671 83 (2019)
- 264. Dubyk K et al. SN Appl. Sci. 1 1440 (2019)

265.

266.

267.

268.

269.

270.

271

272.

273.

274.

275.

276.

277.

278

279.

280.

281.

282.

283.

284.

285.

286.

287.

288

289

290

291.

292.

293.

294.

295

296.

297.

298

299

300

301.

302.

303.

304.

305.

306.

(2019)

(2010)

Publ. 8 13026 (2013)

Andrew Publ., 2016) p. 312 Miyako E et al. Lab Chip 9 788 (2009)

- 307. Schmitt M et al. Eng. Geol. 220 183 (2017)
- Badawi A J. Mater. Sci. Mater. Electron. 27 7899 (2016) 308.
- Salazar A, Sánchez-Lavega A Rev. Sci. Instrum. 65 2896 (1994) 309
- 310. Ilahi S et al. Curr. Appl. Phys. 13 610 (2013)
- 311. Loges A et al. J. Power Sources 325 104 (2016)
- 312. Fontenot R S, Mathur V K, Barkyoumb J H J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf. 204 1 (2018)
- 313. Battaglia J-L et al. Measurement 158 107691 (2020)
- 314. Kusiak A et al. Thermochim. Acta 556 1 (2013)
- 315. Mingolo N, Martínez O E J. Appl. Phys. 111 123526 (2012)
- 316. Georges J Spectrochim. Acta A 59 519 (2003)
- 317. Hou L et al. New J. Phys. 17 013050 (2015)
- 318. Zaytsev M E et al. J. Phys. Chem. C 124 5861 (2020)
- 319. Kavokine N et al. Nat. Commun. 11 50 (2020)
- 320. Proskurnin M A et al. Anal. Bioanal. Chem. 375 1204 (2003)
- 321. Лукьянов А Ю, Новиков М А ЖТФ 70 (11) 99 (2000); Luk'yanov A Yu, Novikov M A Tech. Phys. 45 1470 (2000)
- 322 Cruz R A et al. Opt. Lett. 34 1882 (2009)
- 323. Marcano O A, Melikechi N Appl. Spectrosc. 61 659 (2007)
- 324. Cruz R A et al. Talanta 85 850 (2011)
- 325. Cruz R A et al. Synth. Met. 163 38 (2013)
- 326. Stubenvoll M et al. Rev. Sci. Instrum. 87 023904 (2016)
- 327. Marcano A O et al. J. Opt. Soc. Am. B 28 281 (2011)
- Ряснянский А И и др. ФТТ 51 52 (2009); Ryasnyanskiy A I et al. 328. Phys. Solid State 51 55 (2009)
- 329. Usoltseva L O et al. Photoacoustics 12 55 (2018)
- 330. Sogandares F M, Fry E S Appl. Opt. 36 8699 (1997)
- 331. Dwivedi Y, Rai S B Vibr. Spectrosc. 49 278 (2009)
- 332. Liu M, Franko M Int. J. Thermophys. 35 2178 (2014)
- 333. Дудко В С и др. Российский химический журн. 55 111 (2011); Dudko V S et al. Russ. J. Gen. Chem. 82 2146 (2012)
- 334. Vidovič L, Milanič M, Majaron B Proc. SPIE 8941 894112 (2014)
- 335. Commandré M, Natoli J-Y, Gallais L Eur. Phys. J. Spec. Top. 153 59 (2008)
- 336. Ono H et al. Opt. Mater. 15 (1) 33 (2000)
- 337. Beaudoin M et al. J. Cryst. Growth 425 245 (2015)
- 338. Lobo N et al. J. Cryst. Growth 310 4747 (2008)
- 339. Beaudoin M et al. J. Cryst. Growth 311 1662 (2009)
- 340. Loubiri D et al. Synth. Met. 206 1 (2015)
- 341. Ryasnyansky A et al. Appl. Opt. 44 2839 (2005)
- 342. Klapshina L G et al. New J. Chem. 30 615 (2006)
- Liaros N, Fourkas J T Laser Photon. Rev. 11 1700106 (2017) 343.
- Rodriguez L, Chiesa M Appl. Opt. 50 3240 (2011) 344.
- Bass M, Van Stryland E W, Stewart A F Appl. Phys. Lett. 34 142 345. (1979)
- 346. Isozaki T et al. J. Phys. Chem. A 120 6137 (2016)
- Olaizola A M J. Opt. Soc. Am. B 36 2907 (2019) 347.
- 348. Marcano A, Loper C, Melikechi N J. Opt. Soc. Am. B 19 119 (2002)
- 349. Falconieri M J. Opt. A 1 662 (1999)
- 350. Lu S et al. Appl. Phys. Lett. 96 113701 (2010)
- 351. Astrath N G C et al. J. Phys. Conf. Ser. 214 012014 (2010)
- 352. Astrath N G C et al. Appl. Phys. Lett. 95 191902 (2009)
- Pedreira P R B et al. J. Appl. Phys. 100 044906 (2006) 353.
- 354. Pedreira P R B et al. Chem. Phys. Lett. 396 221 (2004)
- 355. Herculano L S et al. J. Phys. Chem. B 117 1932 (2013)
- 356.
- Cambron R T, Harris J M Anal. Chem. 67 365 (1995)
- 357. Barker B, Larsen R J. Biochem. Mol. Biol. Biophys. 5 407 (2001)
- Chattopadhyay N et al. Phys. Chem. Chem. Phys. 3 70 (2001) 358.
- 359. Seixas de Melo J et al. Photochem. Photobiol. 77 121 (2003)
- 360. Chen E H-L et al. Sci. Rep. 7 8691 (2017)
- 361. Mikšovská J, Larsen R W J. Protein Chem. 22 387 (2003)
- 362. Abbruzzetti S et al. Biophys. J. 79 2714 (2000)
- Abbruzzetti S et al. Photochem. Photobiol. Sci. 5 621 (2006) 363.
- 364. Chen R P-Y et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101 7305 (2004)
- Jesus C S H et al. J. Phys. Chem. B 122 3790 (2018) 365.
- 366. Mikšovská J et al. Biochemistry 47 11510 (2008)
- 367. Terazima M Bull. Chem. Soc. Jpn. 77 (1) 23 (2004)
- Terazima M Isr. J. Chem. 38 (3) 143 (1998) 368.
- Terazima M Chem. Lett. 48 802 (2019) 369.
- 370. Ikoma M, Nakasone Y, Terazima M J. Photochem. Photobiol. B 221 112252 (2021)
- 371. Sakakura M, Morishima I, Terazima M J. Phys. Chem. B 105 10424 (2001)
- Sakakura M et al. J. Am. Chem. Soc. 123 4286 (2001) 372
- Diebold G J, in Photoacoustic, Photothermal and Photochemical Processes in Gases (Topics in Current Physics, Vol. 46, Ed. P Hess) (Berlin: Springer, 1989) p. 125
- 374. Rothberg L J et al. J. Am. Chem. Soc. 105 3464 (1983)

- 375. Rudzki J E, Goodman J L, Peters K S J. Am. Chem. Soc. 107 7849 (1985)
- Poston P E, Harris J M J. Am. Chem. Soc. 112 644 (1990) 376.
- 377 Sontag H, Tam A C, Hess P J. Chem. Phys. 86 3950 (1987)
- Yeh S-R, Falvey D E J. Photochem. Photobiol. A 87 (1) 13 (1995) 378.
- González M G et al. Sensors Actuators B 150 770 (2010) 379
- 380. Fischer M, Georges J Chem. Phys. Lett. 260 115 (1996)
- 381. Georges J, Ghazarian S Anal. Chim. Acta 276 401 (1993)
- 382. Isak S J et al. J. Photochem. Photobiol. A 134 77 (2000)
- 383. Fischer M, Georges J Spectrochim. Acta A 53 1419 (1997)
- 384. Santhi A et al. Spectrochim. Acta A 60 1077 (2004)
- 385. Santhi A et al. Appl. Phys. B 79 629 (2004)
- 386. Fischer M, Georges J Spectrochim. Acta A 54 101 (1998)
- Estupiñán-López C, Tolentino Dominguez C, de Araujo R E Opt. 387. Express 21 18592 (2013)
- 388. Cruz R A, Pilla V, Catunda T J. Appl. Phys. 107 083504 (2010)
- 389 Tanaka F et al. Phys. Chem. Chem. Phys. 6 1219 (2004)
- 390. Yamaji M et al. Phys. Chem. Chem. Phys. 3 5470 (2001)
- 391. Würth C et al. Anal. Bioanal. Chem. 407 59 (2015)
- Sampaio J A et al. J. Non-Cryst. Solids 351 1594 (2005) 392.
- 393. Peliçon E et al. J. Non-Cryst. Solids 304 244 (2002)
- 394. Lima S M et al. Opt. Mater. 63 19 (2017)
- 395. Martins V M et al. J. Lumin. 162 104 (2015)
- 396. Poma P Y et al. J. Lumin. 161 306 (2015)
- 397. Estupiñán-López C et al. J. Lumin. 174 17 (2016)
- 398. Shemeena Basheer N et al. J. Lumin. 137 225 (2013)
- Kurian A et al. Spectrochim. Acta. A 61 2799 (2005) 399
- 400 Georges J Spectrochim. Acta A 51 985 (1995)
- 401
- Liu L et al. J. Appl. Phys. 118 184906 (2015)

(Oxford: Academic Press, 2017) p. 539

Losi A et al. Biophys. J. 77 3277 (1999) Losi A et al. Photochem. Photobiol. 69 75S (1999)

Losi A et al. Biophys. J. 76 2183 (1999)

Deus W B et al. Fuel 253 1090 (2019)

Ventura M et al. Fuel 212 309 (2018)

J. Phys. D 40 6098 (2007)

Bioenerg. 267 348 (1972)

114906 (2009)

(2009)

1776 (1994)

Constantino R et al. Fuel 202 78 (2017)

424. Savi E L et al. Spectrochim. Acta A 145 125 (2015)

Gensch T et al. Isr. J. Chem. 38 231 (1998)

Schaberle F A et al. Inorg. Chem. 56 2677 (2017)

Rizzi A C et al. J. Phys. Chem. A 112 4215 (2008)

Jacinto C et al. J. Non-Cryst. Solids 352 3577 (2006)

Serpa C et al. J. Am. Chem. Soc. 130 8876 (2008)

Klauss A et al. Photosynth. Res. 102 499 (2009)

Marín E Lat. Am. J. Phys. Educ. 4 (1) 56 (2010)

Braslavsky S E Pure Appl. Chem. 79 293 (2007)

Glorieux C, Fivez J, Thoen J J. Appl. Phys. 73 684 (1993) 402.

Zeng J et al. Int. J. Heat Mass Transf. 170 120989 (2021)

Iwata K, Terazima M, Masuhara H Biochim. Biophys. Acta Gen.

Terazima M, in Advances in Photochemistry Vol. 24 (Eds D C Neckers, D H Volman, G Von Bunau) (New York: Wiley, 1998) p. 255

spectroscopy", in Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry

3rd ed. (Eds-in-Chief J C Lindon, G E Tranter, D W Koppenaal)

Mikšovská J, Gennis R B, Larsen R W FEBS Lett. 579 3014 (2005)

Bhattacharyya I, Kumar P, Goswami D J. Phys. Chem. B 115 262

Bilmes G M, Tocho J O, Braslavsky S E J. Phys. Chem. 93 6696

Zambrano-Arjona M A, Medina-Esquivel R, Alvarado-Gil J J

Martínez-Torres P, Mandelis A, Alvarado-Gil J J J. Appl. Phys. 106

Tomasini E P, San Román E, Braslavsky S E Langmuir 25 5861

Mirenda M, Lagorio M G, San Román E Langmuir 20 3690 (2004)

Churio M S, Angermund K P, Braslavsky S E J. Phys. Chem. 98

Callis J B, Parson W W, Gouterman M Biochim. Biophys. Acta

Lagorio M G et al. J. Chem. Soc. Faraday Trans. 94 419 (1998)

Zimmt M B, Vath P A Photochem. Photobiol. 65 (1) 10 (1997)

Martínez-Torres P et al. Int. J. Thermophys. 33 1892 (2012)

Blaszkiewicz P et al. J. Phys. Chem. C 123 27181 (2019)

Chen H M, Schelly Z A Chem. Phys. Lett. 145 102 (1988)

409. Gensch T, Viappiani C, Braslavsky S E "Laser induced optoacoustic

Losi A, Braslavsky S E Phys. Chem. Chem. Phys. 5 2739 (2003)

Braslavsky S E, Heibel G E Chem. Rev. 92 1381 (1992)

403. Liu Y, Mandelis A Exp. Meth. Phys. Sci. 42 297 (2009) 404. Zhou J et al. Nat. Meth. 17 967 (2020)

Subj. 1862 335 (2018)

405.

406.

407.

408.

410.

411.

412. 413.

414.

415.

416.

417

418.

419.

420.

421.

422.

423.

425.

426

427.

428.

429.

430

431.

432.

433.

434 435.

436.

437.

438.

439.

(2011)

(1989)

- 440. le Noble W J, Kelm H Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 19 841 (1980)
- Wegewijs B, Paddon-Row M N, Braslavsky S E J. Phys. Chem. A 441. 102 8812 (1998)
- 442 Wegewijs B, Verhoeven J W, Braslavsky S E J. Phys. Chem. 100 8890 (1996)
- 443. Wu X-Z, Hobo T Anal. Chim. Acta 316 111 (1995)
- 444. Krivanek R, Dau H, Haumann M Biophys. J. 94 1890 (2008)
- 445. Darée K Opt. Commun. 4 238 (1971)
- 446. Wyers S G, Diebold G J, in Photoacoustic and Photothermal Phenomena (Springer Series in Optical Sciences, Vol. 58, Eds P Hess, J Pelzl) (Berlin: Springer, 1988) p. 66
- 447. Magee J L, Daniels F J. Am. Chem. Soc. 62 2825 (1940)
- 448. Diebold G J, Hayden J S Chem. Phys. 49 429 (1980)
- O'Connor M T, Diebold G J Nature 301 321 (1983) 449
- 450. Choi J G, Diebold G J Anal. Chem. 57 2989 (1985)
- 451. Zhang X, Cheng Z, Li X Infrared Phys. Technol. 78 31 (2016)
- 452. Navas M J, Jiménez A M, Asuero A G Clin. Chim. Acta 413 1171
- (2012)453. Rochowski P, Niedziałkowski P, Pogorzelski S J Int. J. Pharm. 580 119233 (2020)
- 454. Ma Y et al. Appl. Phys. Lett. 110 031107 (2017)
- 455. Spagnolo V, Patimisco P, Tittel F K, in Mid-infrared Optoelectronics. Materials, Devices, and Applications (Woodhead Publishing Series in Electronic and Optical Materials, Eds E Tournié, L Cerutti) (Cambridge: Woodhead Publ., 2020) p. 597
- 456. Pinto D et al. Photoacoustics 22 100244 (2021)
- 457. Ma Y et al. Photoacoustics 20 100206 (2020)
- 458. Martelanc M et al. Talanta 154 92 (2016)
- 459. Proskurnin M A et al. Analyst 121 419 (1996)
- 460. Georges J Spectrochim. Acta A 69 1063 (2008)
- 461. Proskurnin M A et al. Talanta 57 831 (2002)
- 462. Chernysh V V et al. J. Anal. Chem. 55 338 (2000)
- Filimonova T A et al. Photoacoustics 1 (3-4) 54 (2013) 463.
- 464. Алимарин И П и др. Журн. аналитической химии 42 (1) 5 (1987)
- Пахомова С В и др. Журн. аналитической химии 56 1042 (2001); 465. Pakhomova S V et al. J. Anal. Chem. 56 910 (2001)
- 466. Kazemi E et al. Talanta 147 561 (2016)
- Ventura M et al. Spectrochim. Acta. A 188 32 (2018) 467.
- 468 Nawar S et al. Appl. Spectrosc. Rev. 55 525 (2020)
- Bings N H, Orlandini von Niessen J O, Schaper J N Spectrochim. 469.
- Acta B 100 14 (2014) 470. Mozhayeva D, Engelhard C J. Anal. At. Spectrom. 35 1740 (2020)
- 471. Cedeño E et al. Talanta 170 260 (2017)
- 472. Budasheva H et al. "Determination of Fe (III) and Fe (II) in natural waters using passive DGT samplers and non-destructive BDS analysis", Ph.D. Thesis (Novi Gorici: Univ. v Novi Gorici, 2019) 473
- Han Q et al. Anal. Lett. 48 2096 (2015)
- 474. Shokoufi N, Hamdamali A Anal. Chim. Acta 681 (1) 56 (2010) 475. Chouhan B, Dasgupta P K Anal. Chem. 91 2923 (2019)
- 476. Mikheev I V et al. Int. J. Thermophys. 36 956 (2015)
- 477. Whitesides G M Nature 442 368 (2006)
- 478. Castro E R, Manz A J. Chromatogr. A 1382 66 (2015)
- Moreira N S et al. Anal. Chim. Acta 1119 1 (2020) 479.
- 480. Shi H et al. Chem. Eng. J. 361 635 (2019)
- 481. Smirnova A et al. J. Sep. Sci. 31 904 (2008)
- Yamauchi M et al. J. Chromatogr. A 1106 89 (2006) 482.
- Sato K et al. Adv. Drug Del. Rev. 55 379 (2003) 483.
- Tanaka Y et al. J. Chromatogr. A 894 45 (2000) 484.
- 485. Yamaoka S et al. Sensors Actuators B 228 581 (2016)
- Goto M et al. Anal. Chem. 77 2125 (2005) 486.
- Tanaka Y et al. Biosens. Bioelectron. 23 449 (2007) 487
- 488. Rui W, Tao C, Liu X Ultrason. Sonochem. 66 105095 (2020)
- 489. Pleitez M A et al. Anal. Chem. 85 1013 (2013)
- Hartings M R et al. Sensors Actuators B 301 127076 (2019) 490.
- 491. Watanabe Y N, Lima M V, Lopes Tavares da Mata Hermida-Quintella C M A Fuel 160 568 (2015)
- 492 Jiménez Pérez J L et al. Eur. Phys. J. Spec. Top. 153 511 (2008)
- Lima A M V et al. 30a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de 493. Química 1 1 (2007)
- 494. Suzuki M et al. Opt. Eng. 55 014101 (2016)
- 495. Tam A C Rev. Mod. Phys. 58 381 (1986)
- 496. Miris L et al. Sens. Imaging 20 (1) 13 (2019)
- 497. Gaiduk A et al. Science 330 353 (2010)
- 498. John J et al. RSC Adv. 6 62390 (2016)
- 499. Jiménez-Pérez J L et al. Appl. Phys. A 122 556 (2016)
- 500. Savi E L et al. Fuel 217 404 (2018)
- 501. Hou L et al. Nano Lett. 17 1575 (2017)
- 502 Spaeth P et al. Nano Lett. 19 8934 (2019)
- 503. Gaiduk A et al. Chem. Sci. 1 343 (2010)

504 Zijlstra P, Paulo P M R, Orrit M Nat. Nanotechnol. 7 379 (2012)

339

- 505. Mawatari K, Kitamori T, Sawada T Anal. Chem. 70 5037 (1998)
  - Tokeshi M et al. Anal. Chem. 73 2112 (2001) 506.
  - 507 Mawatari K et al. Anal. Sci. 22 781 (2006)
  - 508 Adler D C et al. Opt. Express 16 4376 (2008)
  - 509 Kulzer F et al. ChemPhysChem 9 1761 (2008)
  - 510. Brusnichkin A V et al. Appl. Spectrosc. 61 1191 (2007)
  - 511. Zharov V P et al. J. Biomed. Opt. 12 051503 (2007)
  - Galanzha E I et al. Cytometry A 73 884 (2008) 512.
  - McClelland J F, Jones R W, Bajic S J "Photoacoustic spectroscopy", 513. in Handbook of Vibrational Spectroscopy (Eds J M Chalmers, P R Griffiths) (New York: John Wiley and Sons, 2006)
  - Du C et al. Vib. Spectrosc. 49 (1) 32 (2009) 514.
  - Пеливанов И М и др. Квантовая электроника 36 1089 (2006); 515. Pelivanov I M et al. Quantum Electron. 36 1089 (2006)
  - 516. Kizil R, Irudayaraj J "Fourier Transform Infrared Photoacoustic Spectroscopy (FTIR-PAS)", in Encyclopedia of Biophysics (Ed. G C K Roberts) (Berlin: Springer, 2013) p. 840, https://doi.org/ 10.1007/978-3-642-16712-6 124
  - Bozóki Z, Pogány A, Szabó G Appl. Spectrosc. Rev. 46 (1) 1 (2011) 517.
  - Urban M W, Koenig J L Appl. Spectrosc. 40 994 (1986) 518.
  - Du C et al. J. Soils Sed. 10 855 (2010) 519.
  - 520. Du C, Zhou J Appl. Spectrosc. Rev. 46 405 (2011)
  - Di Bartolo B, Forte O (Eds) Frontiers of Optical Spectroscopy: 521. Investigating Extreme Physical Conditions with Advanced Optical Techniques (NATO Science Series. Ser. II, Vol. 168) (Dordrecht: Kluwer, 2005)
  - 522 Leahu G L et al. AIP Conf. Proc. 1603 62 (2014)
  - 523 Li Voti R et al. J. Phys. IV France 125 483 (2005)
  - Contreras-Gallegos E et al. Food Biophys. 10 19 (2015) 524.
  - 525. Sermeus J et al. J. Appl. Phys. 116 023503 (2014)
  - 526. Kaźmierczak-Balata A et al. Int. J. Thermophys. 35 2328 (2014)
  - 527. Bodzenta J, Kaźmierczak-Balata A, Mazur J Central Eur. J. Phys. 8 207 (2010)
  - 528. Mansano E S B et al. Photochem. Photobiol. 94 (1) 88 (2018)
  - 529 Tunin L M et al. Pharm. Biol. 54 139 (2016)
  - 530. Mokrousov M D et al. Biomed. Opt. Express 10 4775 (2019)
  - Wahls M W C, Kenttä E, Leyte J C Appl. Spectrosc. 54 214 (2000) 531.
- Bjarnestad S, Dahlman O Anal. Chem. 74 5851 (2002) 532
- 533. Schmid T et al. Anal. Bioanal. Chem. 375 1124 (2003)

Defernez M et al. Food Chem. 216 106 (2017)

Volkov D S et al. Agronomy 11 1879 (2021)

Volkov D S et al. Agronomy 11 1822 (2021)

Vieira F S, Pasquini C Fuel 117 1004 (2014)

Bertolotti M et al. J. Appl. Phys. 83 966 (1998)

Bertolotti M et al. Appl. Phys. B 67 641 (1998)

Harada M et al. Anal. Chem. 65 2181 (1993)

Kimura H et al. Anal. Chem. 68 3063 (1996)

Elliott C R, Chen A T Opt. Eng. 51 023603 (2012)

Tu C Y et al. Anal. Chem. 65 3631 (1993)

Pleitez M A et al. Analyst 140 483 (2015)

Hertzberg O et al. Analyst 142 495 (2017)

566. Tokeshi M et al. Anal. Chem. 77 626 (2005)

McMurdy J et al. J. Biophoton, 2 277 (2009)

- 534. Sivakesava S, Irudayaraj J J. Sci. Food Agric. 80 1805 (2000)
- Irudayaraj J, Yang H, Sakhamuri S J. Mol. Struct. 606 181 (2002) 535.

Schievano E et al. J. Agric. Food Chem. 62 12309 (2014)

Ma F et al. Chemometr. Intellig. Lab. Syst. 171 9 (2017)

Krivoshein P K et al. Photoacoustics 18 100162 (2020)

Bertolotti M et al. Int. J. Thermophys. 19 603 (1998)

Janssen S et al. Fresenius J. Anal. Chem. 360 788 (1998)

Amador-Hernández J, Fernández-Romero JM, Luquede Castro MD

Tran C D, Grishko V I, Baptista M S Appl. Spectrosc. 48 833 (1994)

Grishko V I, Tran C D, Duley W W Appl. Opt. 41 5814 (2002)

Ikari T, Roger J P, Fournier D Rev. Sci. Instrum. 74 553 (2003)

Kreiter M J S, Mittler-Neher S Thin Solid Films 342 244 (1999)

564. Upstone S L "Ultraviolet/visible light absorption spectrophotome-

565. Nagel R L (Ed.) Hemoglobin Disorders: Molecular Methods and

try in clinical chemistry", in Encyclopedia of Analytical Chemistry:

Applications, Theory and Instrumentation (Hoboken, NJ: Wiley, 2013) https://doi.org/10.1002/9780470027318.a0547.pub2

Protocols (Methods in Molecular Medicine, Vol. 82) (Totowa, NJ:

Wermelinger T et al. J. Agric. Food Chem. 59 9074 (2011)

- 536. Dias R C E et al. Food Chem. 255 132 (2018)
- 537. Esteban-Díez I et al. Talanta 71 221 (2007) 538. Moreira I, Scarminio I S Talanta 107 416 (2013)

Ma F et al. CATENA 152 190 (2017)

Talanta 49 813 (1999)

Humana Press, 2003)

539.

540

541.

542.

543

544.

545.

546.

547.

548

549

550

551.

552.

553

554.

555.

556.

557.

558.

559

560.

561.

562.

563

- 567. Oraevsky A A Photoacoustics 3 (1) 1 (2015)
- Galanzha E I, Kim J-W, V P J. Biophoton. 2 725 (2009) 568.
- Vidovič L, Milanič M, Majaron B J. Biomed. Opt. 20 017001 (2015) 569.
- 570. Majaron B et al. Lasers Surg. Med. Suppl. 20 3 (2008)
- 571. Milanič M, Serša I, Majaron B Phys. Med. Biol. 54 2829 (2009)
- 572. Kyoo Park B et al. Appl. Phys. Lett. 99 163702 (2011)
- 573. Lervik A et al. Phys. Chem. Chem. Phys. 12 1610 (2010)
- 574. Duong H M et al. Int. J. Heat Mass Transf. 52 5591 (2009)
- Брусничкин А В и др. Вестн. МГУ. Сер. 2. Химия (1) 55 (2009); 575. Brusnichkin A V et al. Moscow Univ. Chem. Bull. 64 45 (2009)
- 576. Passamonti S et al. FEBS J. 272 5522 (2005) 577.
- Ziberna L et al. Sci. Rep. 6 29240 (2016)
- 578. Martelanc M et al. Anal. Chim. Acta 809 174 (2014) Dias D T et al. J. Phys. IV France 125 657 (2005) 579.
- 580. Menyaev Yu A et al. Biomed. Opt. Express 7 3643 (2016)
- 581. Margon A et al. J. Phys. IV France 125 717 (2005)
- 582. Galimova V R et al. Anal. Lett. 51 1743 (2018)
- Liu M, Malovrh S, Franko M Anal. Methods 8 5053 (2016) 583.
- Imhof R E, McKendrick A D, Xiao P Rev. Sci. Instrum. 66 5203 584.
- (1995)
- 585. Xiao P et al. Anal. Sci. 17 S349 (2001)
- 586. Xiao P, Cowen J A, Imhof R E Rev. Sci. Instrum. 74 767 (2003)
- 587. Cui Y, Xiao P, Imhof R E Int. J. Thermophys. 26 213 (2005)
- Verdel N et al. Proc. SPIE 10413 1041300 (2017) 588.
- 589. Verdel N et al. Proc. SPIE 10037 100370H (2017)
- 590. Verdel N et al. Biomed. Opt. Express 11 1679 (2020)
- 591. Verdel N et al. Biomed. Opt. Express 10 944 (2019)
- 592. Shapiro H M Practical Flow Cytometry (New York: Wiley-Liss, 2003)
- 593 Zharov V P, Galanzha E I, Tuchin V V Opt. Lett. 30 628 (2005)
- 594. Zharov V P, Galanzha E I, Tuchin V V J. Cell. Biochem. 97 916 (2006)
- 595. Harada M et al. Anal. Chim. Acta 299 343 (1995)
- 596. Biris A S et al. J. Biomed. Opt. 14 021007 (2009)
- 597. Kim J-W et al. Nat. Nanotechnol. 4 688 (2009)
- 598. Galanzha E I et al. Cancer Res. 69 7926 (2009)
- 599. Nedosekin D A et al. Opt. Express 18 8605 (2010)
- 600. Tanev S et al. J. Biophoton. 2 505 (2009)
- 601. Guo X et al. J. Biophoton. 6 911 (2013)
- 602. Jakobsohn K et al. Int. J. Nanomed. 7 4707 (2012)
- 603. Loginova E V et al. Photonic Sens. 6 42 (2015)
- 604. Cai C et al. Anal. Cell. Pathol. 2016 2642361 (2016)
- 605. Philipp C M, Rohde E, Berlien H-P Seminars Surg. Oncol. 11 290 (1995)
- 606. Huang W, El-Sayed M A Eur. Phys. J. Spec. Top. 153 325 (2008)
- 607.
- Dickerson E B et al. Cancer Lett. 269 57 (2008)
- 608. Jain P K, El-Sayed I H, El-Sayed M A Nano Today 2 (1) 18 (2007)
- 609. Huang X H et al. Photochem. Photobiol. 82 412 (2006)
- 610. Huang X et al. J. Am. Chem. Soc. 128 2115 (2006)
- 611. El-Sayed I H, Huang X, El-Sayed M A Cancer Lett. 239 129 (2006)
- 612. Khot M I et al. Clin. Colorectal Cancer 18 e200 (2019)
- 613. Zhou X et al. RSC Adv. 8 18647 (2018)

- 614. Liu T et al. ACS Nano 12 3917 (2018)
- Li L et al. Theranostics 8 860 (2018) 615.
- Li J et al. Theranostics 8 1042 (2018) 616.
- 617. Leng C B et al. Small 14 1703077 (2018)
- 618. Pan U N et al. ACS Appl. Mater. Interfaces 9 19495 (2017)
- 619. Abbas M et al. Adv. Mater. 29 1605021 (2017)
- 620. Lv R et al. Sci. Rep. 7 13562 (2017)
- 621. Song X et al. Small 10 4362 (2014) 622.
- Chu M et al. Biomaterials 33 7071 (2012)
- 623. del Rosal B et al. Adv. Opt. Mater. 4 782 (2016) 624.
- Zhu X et al. Nat. Commun. 7 10437 (2016) 625.
- German S V et al. Sci. Rep. 8 17763 (2018) 626.
- Silva A D, Serpa C, Arnaut L G Sci. Rep. 9 2553 (2019) Dada O O, Bialkowski S E Appl. Spectrosc. 65 201 (2011) 627.
- 628. Luk'yanov A Yu et al. Rev. Sci. Instrum. 74 656 (2003)
- 629. Guo X et al. Appl. Opt. 48 (7) C11 (2009)
- 630
- Yarai A, Nakanishi T Rev. Sci. Instrum. 78 054903 (2007)
- 631. Mandelis A, Riopel Y J. Vac. Sci. Technol. A 18 705 (2000)
- Proskurnin M A et al. Appl. Spectrosc. 59 1470 (2005) 632. 633.
- Gröhl J et al. Photoacoustics 22 100241 (2021)
- Turchin I et al., in 2020 Intern. Conf. Laser Optics (ICLO) (2020) 634. https://doi.org/10.1109/ICLO48556.2020.9285541
- 635. Xiong B et al. Talanta 88 168 (2012)
- Turchin I V et al. Proc. SPIE 11220 112200V (2020) 636.
- Kurouski D et al. Chem. Soc. Rev. 49 3315 (2020) 637.
- 638. Karlas A et al. Ann. Translat. Med. 9 (1) 36 (2021)
- 639. MacCuaig W M et al. Radiology Imaging Cancer 2 e200066 (2020)
- 640 Chlis N-K et al. Photoacoustics 20 100203 (2020)
- 641. Gandolfi M, Banfief F, Glorieux C Photoacoustics 20 100199 (2020)
- Pelivanov I et al. Sci. Rep. 8 14425 (2018) 642.
- 643. Проскурнин М А, Черныш В В Журн. аналитической химии 55 1049 (2000); Proskurnin M A, Chernysh V V J. Anal. Chem. 55 943 (2000)
- 644. Lengert E et al. ACS Appl. Mater. Interfaces 9 21949 (2017)
- 645. Zhai D et al. ACS Nano 7 3540 (2013)
- 646. Sahiner N Prog. Polym. Sci. 38 1329 (2013)
- 647. Yang Y et al. ACS Appl. Mater. Interfaces 10 7688 (2018)
- 648. Mansfield E et al. Nanotoxicology 8 394 (2014)
- 649. Li L et al. Chem. Eur. J. 23 18180 (2017)
- 650. Воробьев Р И и др. Акустический журн. 66 148 (2020); Vorobyev R I et al. Acoust. Phys. 66 132 (2020)
- 651. Соколовская Ю Г, Подымова Н Б, Карабутов А А Акустический журн. 66 86 (2020); Sokolovskaya Yu G, Podymova N B,
- Karabutov A A Acoust. Phys. 66 81 (2020) Neelgund G M, Oki A Ind. Eng. Chem. Res. 57 7826 (2018) 652.
- 653.
- Leahu G et al. Int. J. Thermophys. 36 1349 (2015) 654.
- Kuriakose M et al. J. Appl. Phys. 113 044502 (2013)
- 655. Shimizu H, Mawatari K, Kitamori T J. Sep. Sci. 34 2920 (2011)
- Kitagawa F, Akimoto Y, Otsuka K J. Chromatogr. A 1216 2943 656. (2009)

Received 26 August 2020, revised 18 February 2021

DOI: https://doi.org/10.3367/UFNe.2021.05.038976

Physics-Uspekhi 65 (3) (2022)

657. Bicanic D et al. Instrum. Sci. Technol. 34 129 (2006)

Bibliography - 657 references

Uspekhi Fizicheskikh Nauk 192 (3) 294-340 (2022)

DOI: https://doi.org/10.3367/UFNr.2021.05.038976

### Photothermal and optoacoustic spectroscopy: state of the art and prospects

#### M.A. Proskurnin<sup>(\*)</sup>, V.R. Khabibullin, L.O. Usoltseva, E.A. Vyrko, I.V. Mikheev, D.S. Volkov

Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department, Leninskie gory 1, str. 3, 119991 Moscow, Russian Federation E-mail: (\*) proskurnin@gmail.com

PACS numbers: 07.60.-j, 42.30.Wb, 43.35.Sx, 43.35.Ud, 78.20.nb, 78.20.N-, 78.20.Pa, 81.70.Cv, 82.80.Kq, 87.19.Pp

The main problems with and areas of application of photothermal and optoacoustic spectroscopy are reviewed. Progress in innovative techniques in the most actively developing areas is presented, including microspectroscopy, multispectral techniques, the measurements of single particles and objects with a resolution better than the diffraction limit (nanoscopy) by both optical and probe-based methods. Possible employment of photothermal and optoacoustic spectroscopy for determining the properties of materials, studying photochemistry and fluorescence, chemical reactions, and analytical and applied chemistry, and solving biomedical problems is discussed. Some prospects for the development of these methods are presented.

Keywords: photothermal spectroscopy, optoacoustic spectroscopy, photoacoustic spectroscopy, photonics, hiophotonics, microspectroscopy, optoacoustic tomography, nanoscopy, thermal spectroscopy, remote analysis and monitoring techniques, nondestructive testing, materials science, functional materials, theranostics, photochemistry, fluorescence, analytical chemistry, thermodynamics