

УДК 621.373.826

АЛГОРИТМЫ РЕШЕНИЯ МНОГОПАРАМЕТРИЧЕСКИХ ЗАДАЧ ВОССТАНОВЛЕНИЯ СПЕКТРАЛЬНО-ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК МОЛЕКУЛ МЕТОДОМ НАСЫЩЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

Н. Я. Серов, В. В. Фадеев, А. М. Чекалюк

(кафедра квантовой радиофизики)

Рассмотрена возможность определения параметров молекул: квантового выхода в триплет, времени жизни первого возбужденного синглетного состояния S_1 , сечения поглощения перехода из основного состояния в S_1 на длине волны возбуждения по кривым насыщения флуоресценции. Построены алгоритмы одновременного нахождения двух и трех параметров. Математическим моделированием определены требования к точности измерения кривых насыщения. Приведены результаты экспериментальной проверки алгоритма решения трехпараметрической задачи в случае раствора озона в воде.

Введение

В работах, посвященных определению спектроскопических параметров молекул методом пелинейной лазерной флуориметрии, показано, что описание процесса флуоресценции с помощью трехуровневой модели обладает достаточно высокой степенью точности. Это позволяет решать обратные задачи, т. е. по результатам измерения кривой насыщения флуоресценции определять спектроскопические параметры молекул.

В работе [1] показано, что при использовании трехуровневой модели флуоресцентный отклик среды зависит от трех параметров: η_T , α , p , где η_T — квантовый выход в триплетное состояние, α — отношение времени жизни возбужденного синглетного состояния к длительности возбуждающего лазерного импульса: $\alpha = t_3 t_p^{-1}$ и $p = t_p \sigma_{13} F$, где σ_{13} — сечение поглощения на длине волны возбуждающего излучения, F — эффективная плотность потока фотонов возбуждающего импульса. Адекватность этой модели доказана в [1] на основе экспериментальных данных по насыщению флуоресценции молекул органических красителей при импульсном фотовозбуждении. В соответствии с тем, сколько параметров определяется одновременно, будем различать одно-, двух-, и трехпараметрические задачи. Некоторые подходы к решению однопараметрических задач описаны ранее в [2], настоящую работу мы посвятим решению двух- и трехпараметрических задач.

Алгоритмы решения двухпараметрических задач

В рамках рассматриваемой нами трехуровневой модели возможна постановка трех типов двухпараметрических задач:

- 1) одновременный поиск параметров α и p при известном параметре η_T — двухпараметрическая α , p -задача;
- 2) одновременный поиск параметров η_T и p при известном параметре α — двухпараметрическая η_T , p -задача;
- 3) одновременный поиск параметров η_T и α при известном параметре p — двухпараметрическая η_T , α -задача.

Для получения оптимизированных алгоритмов решения обратных задач необходимо учесть особенности методики проведения спектроскопических измерений кривых насыщения флуоресценции. Одной из особенностей процесса измерения кривой насыщения флуоресценции является то, что при этом выполняются относительные измерения, так как калибровка аппаратуры для абсолютных измерений потоков падающего излучения и излучения флуоресценции является сама по себе сложной экспериментальной задачей. Таким образом, количество фотонов флуоресценции N_{fl} определяется в эксперименте не в абсолютных, а в относительных единицах, т. е. с точностью до постоянного для всех точек кривой насыщения множителя. Условие постоянства этого множителя выполняется в случае линейности используемого фотоприемника в диапазоне измеряемых интенсивностей флуоресцентного отклика. Далее мы будем считать, что используется линейный фотоприемник.

Для того чтобы исключить неизвестный множитель перед измеренной в эксперименте величиной интенсивности флуоресценции N_{fi} , будет использовать нормированные величины, т. е. вместо N_{fi} ($i=1, 2, \dots, n$) введем величины

$$W_i = \frac{N_{fi+1}}{N_{fi}}, \quad i=1, 2, \dots, n-1. \quad (1)$$

Здесь и далее мы предполагаем, что N_{fi} упорядочены по возрастанию их величины.

Для решения обратной задачи необходимо знать мощность падающего излучения для каждой точки кривой насыщения. В наших измерениях применяется так называемый метод внутреннего репера [3], когда для получения информации о мощности падающего излучения используется сигнал комбинационного рассеяния растворителя, например воды. Удобство использования метода внутреннего репера состоит в том, что сигнал комбинационного рассеяния (КР) в широком диапазоне мощностей падающего излучения пропорционален этой мощности и, кроме того, линия КР регистрируется одновременно со спектром флуоресценции исследуемого вещества, что уменьшает возможные ошибки измерения. Как и при измерении числа фотонов флуоресценции N_{fl} , измерения числа фотонов комбинационного рассеяния N_{Rs} являются относительными. Так же, как для величины N_{fl} , для N_{Rs} мы вводим нормированную мощность излучения

$$k_i = \frac{N_{Rsi}}{N_{Rsn}}, \quad i=1, 2, \dots, n. \quad (2)$$

Здесь мы также предполагаем, что N_{Rsi} упорядочены по возрастанию, и N_{Rsn} является максимальным значением из множества значений N_{Rsi} .

Параметр p , который определяется при решении обратной задачи, пропорционален мощности падающего излучения. Значение параметра p для данной кривой насыщения мы примем равным его значению для точки с номером n , т. е. это значение является максимальным для данной кривой насыщения. Для точек с номером i значение параметра p равно

$$p_i = k_i p, \quad (k_n = 1). \quad (3)$$

Необходимо отметить, что под N_{fl} и N_{Rs} понимается интегральная по времени величина, причем время интегрирования много больше, чем длительность лазерного импульса, но много меньше времени фосфорес-

ценции, т. е. времени переходов $T_1 \rightarrow S_0$. Последнее ограничение обусловлено тем, что в рассматриваемой трехуровневой модели [1] не учитывается вклад фотонов фосфоресценции в регистрируемый сигнал. В процессе измерений выполнение этого условия достигается стробированием фотоприемника. Длительность строба выбирается равной $\sim 10^{-6}$, что значительно больше длительности лазерного импульса, составляющей $\sim 10^{-8}$ с, и времени жизни уровня S_1 , но много меньше, чем время релаксации $T_1 \rightarrow S_0$, которое составляет более 10^{-4} — 10^{-3} с.

Решение двухпараметрических задач описывается системой двух уравнений. С учетом того, что мы работаем с нормированными величинами, для записи этой системы требуются три точки кривой насыщения:

$$\begin{cases} \frac{I(\eta_T, \alpha, k_2\rho)}{I(\eta_T, \alpha, k_1\rho)} = \frac{N_{f12}}{N_{f11}} = W_1, \\ \frac{I(\eta_T, \alpha, k_3\rho)}{I(\eta_T, \alpha, k_1\rho)} = \frac{N_{f13}}{N_{f11}} = W_2, \end{cases} \quad (4)$$

где k_1, k_2, k_3 — коэффициенты деления мощности излучения, $N_{f11}, N_{f12}, N_{f13}$ — флуоресцентные отклики среды на фотовозбуждение с мощностью $k_1\rho, k_2\rho$ и $k_3\rho$.

В случае прямоугольного по времени и по пространству распределения фотонов в падающем импульсе функция отклика I имеет аналитическое выражение (см. [1]), в общем случае значение I получается при численном интегрировании системы уравнений, описывающих трехуровневую модель [1].

Каждое из двух уравнений (4) при фиксированных значениях двух параметров, например η_T и α , является уравнением с одним неизвестным относительно ρ , следовательно, в пространстве (η_T, α, ρ) каждое из уравнений (4) определяет некоторую поверхность. Линия пересечения этих поверхностей γ представляет собой всевозможные наборы значений (η_T, α, ρ) , являющихся решениями (4). Например, если нам известно значение квантового выхода в триплет η_{T0} (двухпараметрическая α, ρ -задача), то пересечение линии γ и плоскости $\eta_T = \eta_{T0}$ даст решение α, ρ -задачи.

Если система (4) рассматривается нами как двухпараметрическая η_T, ρ -задача, т. е. задано значение параметра α , то для нахождения решения системы (4) необходимо найти пересечение линии γ с плоскостью $\alpha = \alpha_0$, где α_0 — известное значение. Аналогично в случае η_T, α -задачи сечение проводится плоскостью ρ .

Объем данной публикации не позволяет привести подробный анализ единственности решения двухпараметрических задач, поэтому приведем его результаты. Оказалось, что в случае двухпараметрической α, ρ -задачи система (4) имеет не более двух решений. В двух остальных случаях (η_T, ρ - и η_T, α -задачи) если решение существует, то оно единственно.

Сказанное выше иллюстрируется рисунком 1. Здесь для различных пар значений параметров η_T, α представлено расстояние между поверхностями $\rho_1(\eta_T, \alpha)$ и $\rho_2(\eta_T, \alpha)$, порождаемыми уравнениями системы (4) для некоторой кривой насыщения. На рис. 1 отмечена линия нулевой разности β , вдоль которой ρ_1 и ρ_2 совпадают. Для нахождения решения α, ρ -задачи необходимо найти точку пересечения линии β и прямой $\eta_T = \eta_{T0}$, а для решения η_T, ρ -задачи — точку пересечения β и прямой $\alpha = \alpha_0$. Для решения η_T, α -задачи необходимо, двигаясь вдоль

линии β , найти на ней такую точку, в которой $p=p_0$, координаты η_T , α этой точки дадут решение η_T , α -задачи.

Легко заметить, что при некоторых значениях квантового выхода в триплет η_{T0} плоскость $\eta_T=\eta_{T0}$ пересечет линию β дважды и, напротив, плоскость $\alpha=\alpha_0$ пересекает ее всегда один раз, что соответствует сказанному выше о единственности решения двухпараметрических α , p - и η_T , p -задач.

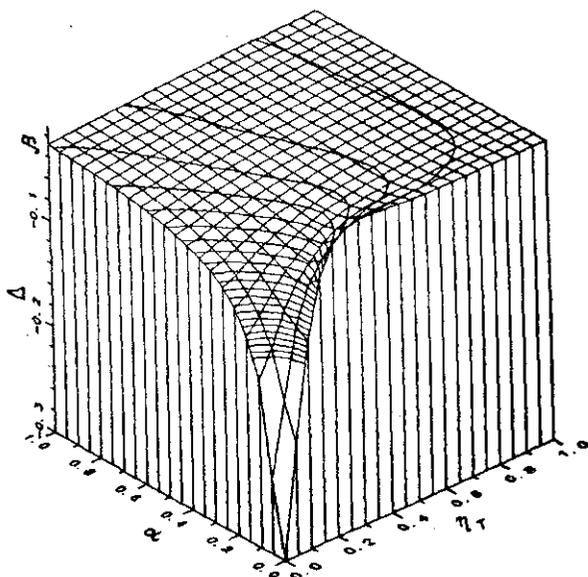


Рис. 1. Расстояние $\Delta=p_1(\eta_T, \alpha)-p_2(\eta_T, \alpha)$ между характеристическими поверхностями p_1 и p_2 в зависимости от значений квантового выхода в триплет η_T и параметра нестационарности α

Мы видим, что при решении α , p -задачи возникает проблема выбора корня. Ее можно решить, сравнивая прохождение кривой насыщения флуоресценции, рассчитанной по трем точкам, через 4-ю точку. Выбирается корень, дающий лучшее совпадение в 4-й точке.

Таким образом, минимально необходимое количество точек для определения параметров в случае α , p -задачи равно 4, для остальных двух двухпараметрических задач — 3.

Практически при получении кривой насыщения измеряется большее число точек (в наших экспериментах 8). Это может быть использовано для повышения точности решения обратных задач. После анализа результатов численного моделирования мы остановились на следующем способе использования избыточной информации, давшем наилучшие результаты.

Если число точек кривой насыщения n превосходит минимально необходимое число m , то решается C_n^m задач. Все полученные решения (они могут существовать не во всех случаях) усредняются, и среднее принимается за результат для данной кривой насыщения.

Результаты двухпараметрического моделирования

Для выяснения возможностей метода нами было проведено математическое моделирование в широком диапазоне изменения параметров.

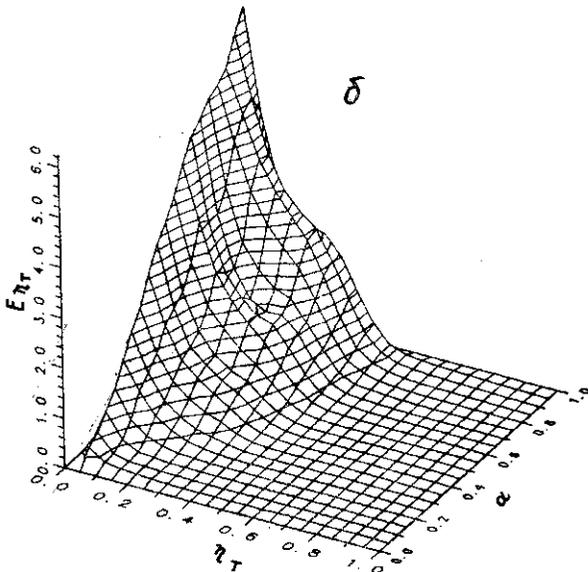
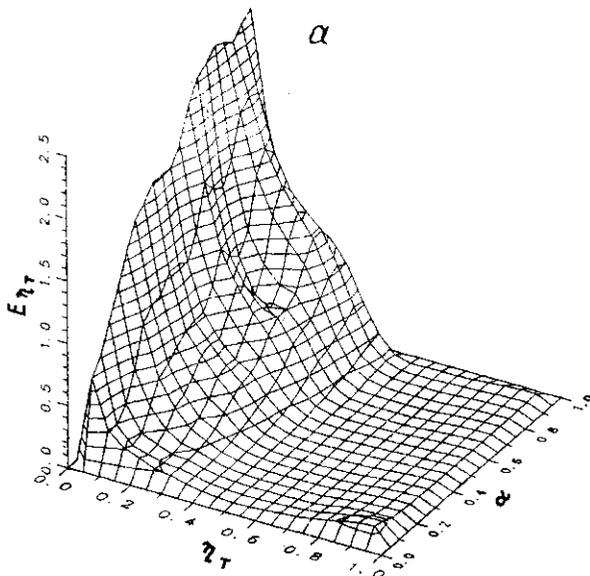


Рис. 2. Зависимость относительной ошибки определения квантового выхода в триплет E_{η_T} от истинных значений параметра нестационарности α и квантового выхода в триплет η_T при решении двухпараметрической η_T , p -задачи (а) и η_T , α -задачи (б)

На рис. 2, а представлена относительная ошибка определения параметра η_T при решении η_T, p -задачи при величине относительной погрешности измерения кривой насыщения, равной 10^{-3} . Видно, что при величине квантового выхода в триплет $\eta_T > 0,5$ в широком интервале значений параметра нестационарности α ошибка определения η_T не превосходит 5%. С другой стороны, с уменьшением значений η_T ошибка восстановления η_T резко возрастает, достигая 240%.

На рис. 2, б представлена относительная ошибка определения параметра η_T при решении η_T, α -задачи также при величине экспериментальной погрешности, равной 10^{-3} . Здесь, как и в предыдущем случае, имеется широкая область хорошего восстановления значения η_T . Так, при величине параметра нестационарности $\alpha \approx 1$ значения квантового выхода в триплет $\eta_T > 60\%$ восстанавливаются с точностью выше, чем 10%. При возбуждении длинными импульсами (т. е. при $\alpha < 0,1$) область восстановления квантового выхода в триплет η_T с точностью выше, чем 10%, сильно расширяется и находится в интервале $\eta_T > 15\%$. При решении η_T, α -задачи неблагоприятной является ситуация малых значений η_T и больших α .

Алгоритм решения трехпараметрических задач

В рамках принятой нами трехуровневой модели трехпараметрическая η_T, α, p -задача дает наибольшую информацию о спектроскопических параметрах флуоресцирующего вещества. В случае трехпараметрической задачи неизвестными являются все три параметра, которые определяются одновременно при решении системы нелинейных уравнений

$$\begin{cases} \frac{I(\eta_T, \alpha, k_2 p)}{I(\eta_T, \alpha, k_1 p)} = \frac{N_{f12}}{N_{f11}} = W_1, \\ \frac{I(\eta_T, \alpha, k_3 p)}{I(\eta_T, \alpha, k_1 p)} = \frac{N_{f13}}{N_{f11}} = W_2, \\ \frac{I(\eta_T, \alpha, k_4 p)}{I(\eta_T, \alpha, k_1 p)} = \frac{N_{f14}}{N_{f11}} = W_3. \end{cases} \quad (5)$$

Обозначения в (5) аналогичны обозначениям в (4).

В данном случае для построения системы (5) нам необходимы 4 точки кривой насыщения флуоресценции. Система уравнений (5) порождает в пространстве η_T, α, p три характеристические поверхности. Если эти три поверхности имеют общие точки, то эти точки являются решением (5).

Анализ показывает, что если решение (5) в области допустимых значений параметров $0 < \eta_T < 1, \alpha > 0, p > 0$ существует, то оно единственно.

Результаты трехпараметрического моделирования

На рис. 3 представлена относительная ошибка определения параметра α при решении трехпараметрической η_T, α, p -задачи. Оказалось, что для получения сопоставимых по точности с решением двухпараметрических задач результатов для трехпараметрической задачи необходимо увеличить точность измерений на порядок. Поэтому расчеты проводились при величине относительной погрешности, равной 10^{-4} .

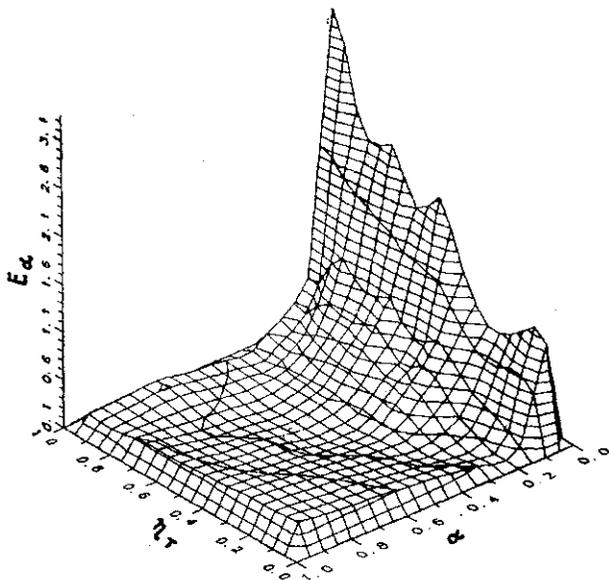


Рис. 3. Зависимость относительной ошибки определения параметра нестационарности E_α от истинных значений квантового выхода в триплет η_T и параметра нестационарности α при решении трехпараметрической η_T, α, p -задачи

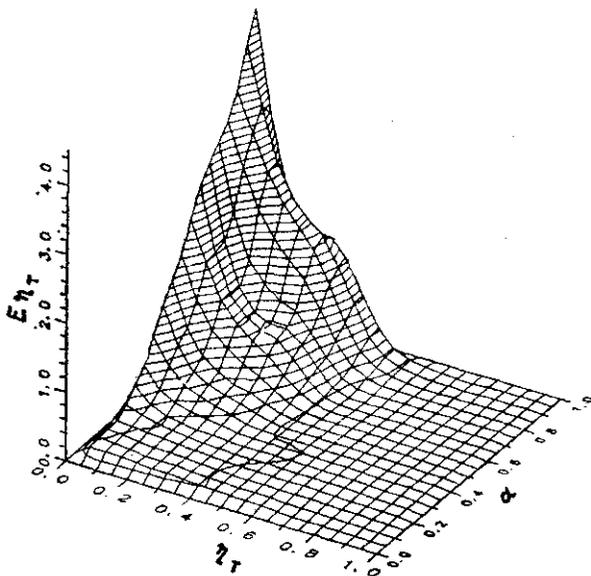


Рис. 4. Зависимость относительной ошибки определения квантового выхода в триплет E_{η_T} от истинных значений параметра нестационарности α и квантового выхода в триплет η_T при решении трехпараметрической η_T, α, p -задачи

На рис. 3 видно, что при нахождении параметра нестационарности α в интервале 0,3—0,7 при любом значении квантового выхода в триплет параметр α восстанавливается с результатом, лучшим 30%.

На рис. 4 для той же задачи представлены результаты восстановления параметра η_T . В этом случае ситуация значительно улучшается. При значениях параметра $\alpha \approx 10^{-1}$ значения квантового выхода в триплет η_T во всей области значений восстанавливаются с точностью лучшей, чем 20%. При величине $\alpha \approx 1$ с такой точностью определяются квантовые выходы в триплет, величина которых более 50%.

Из-за ограниченного объема мы не приводим результаты определения ρ в случае трехпараметрической задачи. Отметим только, что ρ определяется с наилучшей из всех трех параметров точностью. Так, при значении $\alpha > 0,3$ при любом значении квантового выхода в триплет значение ρ определяется с точностью лучшей, чем 30%.

Таким образом, в случае трехпараметрической задачи при $\eta_T \approx 0,5$ и $\alpha \approx 0,5$ погрешность определения любого из трех параметров не превышает 15% при условии, что кривая насыщения флуоресценции измерена с точностью $\sim 10^{-4}$.

Обсуждение полученных результатов

В настоящее время погрешности измерения кривых насыщения составляют несколько процентов [1]. Теоретический анализ показал, что для решения двухпараметрических задач предложенным методом для произвольных веществ этой точности недостаточно. Однако, как показала практика, при оптимальных значениях параметров удается удовлетворительно решать двухпараметрические [4] и даже трехпараметрические задачи на базе реальных экспериментальных данных.

Сравнение результатов восстановления по трехпараметрическому алгоритму спектрально-люминесцентных характеристик водных растворов эозина с литературными данными

Параметры	η_T	α	ρ	t_3 , нс	σ_{13} , см ²
Расчет (литературные данные)	0,68	0,13	1,9	1,4	$1,1 \cdot 10^{-16}$
Восстановление	0,20	0,23	2,6	2,5	$1,5 \cdot 10^{-16}$

При обработке кривой насыщения флуоресценции раствора эозина в воде, построенной по 16 экспериментальным точкам, при решении трехпараметрической задачи были получены значения параметров η_T , α , ρ , приведенные в таблице. Сравнение с величинами этих параметров, рассчитанными на основе независимых измерений значений η_T , t_3 и σ_{13} [5] и приведенными в соответствующей строке таблицы, показывает, что получено удовлетворительное восстановление параметров α и ρ . Несколько бóльшая величина ошибки восстановления квантового выхода в триплет η_T находится в качественном соответствии с приведенными выше результатами математического моделирования.

Для того чтобы решать двухпараметрические и трехпараметрические задачи в широком диапазоне значений параметров, необходимо поднять точность измерений до десятых и сотых долей процента соответственно. В настоящее время мы работаем над совершенствованием экспериментальной техники и методики обработки кривых насыщения

флуоресценции с целью существенного повышения качества входных данных алгоритма восстановления параметров.

Одним из подходов может быть проведение измерений с помощью двух лазеров, длительность импульсов у которых существенно различается. Применение двух импульсов не ограничит общности метода, но дает необходимую дополнительную информацию для усовершенствования методики расчета спектроскопических параметров.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Джасим С. Я., Серов Н. Я., Фадеев В. В., Чекалюк А. М. // Квант. электроника. 1991. 18, № 4. С. 425. [2] Джасим С. Я. // Эффект насыщения флуоресценции при импульсном лазерном возбуждении и некоторые его аналитические приложения: Дис. ... канд. ф.-м. наук. М., 1991. [3] Клышко Д. Н., Фадеев В. В. // ДАН СССР. 1978. 238, № 2. С. 320. [4] Джасим С. Я., Серов Н. Я., Фадеев В. В., Чекалюк А. М. // Журн. прикл. спектр. 1992. 56, № 2. С. 252. [5] Коробов В. Е., Чибисов А. К. // Успехи химии. 1983. 52, № 1. С. 43.

Поступила в редакцию
31.01.92

ВЕСТН. МОСК. УН-ТА. СЕР. 3, ФИЗИКА. АСТРОНОМИЯ. 1992. Т. 33, № 5

АКУСТИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЗИКА

УДК 577.3

ГЕОФИЗИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ АСИММЕТРИИ В ПРЕДШЕСТВЕННИКАХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ

В. А. Твердислов, М. Р. Кузнецова, Л. В. Яковенко

*(кафедра биофизики;
кафедра физики атмосферы и математической геофизики)*

Обоснована гипотеза, согласно которой нарушение симметрии в природе произошло на этапе предбиологической эволюции на неравновесной границе раздела океан—атмосфера, а образование аэрозолей из поверхностной пленки океана с инвертированным составом создало предпосылки для последующей биологической эволюции.

Введение

В многочисленных экспериментах, проведенных в последние десятилетия, в общих чертах выяснен и смоделирован механизм образования и накопления различных органических соединений, в том числе важнейших компонентов биополимеров (аминокислот, сахаров, нуклеотидов и т. д.) на поверхности первобытной Земли [1]. Неясным остается вопрос, какие факторы предопределили возможность образования биологически целесообразных неравновесных структур, предшествующих клеткам.

Возникновение предбиологического состояния представляет собой процесс создания новой информации [2]. Некоторые аспекты общей проблемы создания первичной упорядоченности мы попытались рассмотреть в данной работе.

1. Характерным для наблюдаемого нами мира является нарушение в нем зеркальной симметрии — в противоположность неживой природе в биосфере используются только левые (*L*) молекулы аминокислот и только правые (*P*) молекулы сахаров, но не их зеркальные