

БЫСТРЫЙ АЛГОРИТМ АНАЛИЗА ДАННЫХ ФАЗОВО-МОДУЛЯЦИОННЫХ ИЗМЕРЕНИЙ

В. С. Шишков

Белорусский государственный университет, г. Минск

vasa123.1997@gmail.com,

науч. рук.: А. В. Дигрис, старший преподаватель

В данной работе рассматривается быстрый неитерационный алгоритм, который без задания начальных приближений позволяет находить приемлемые оценки параметров модели, описывающей зависимость сдвига фаз от частоты модуляции. Алгоритм рассматривается для трех различных способов задания весовых факторов, из которых выбирается лучший.

Ключевые слова: флуоресцентная спектроскопия; фазово-модуляционный метод; быстрый неитерационный алгоритм; весовые факторы; многоэкспоненциальная модель

Флуоресцентная спектроскопия является высокочувствительным методом, дающим информацию о функционировании био-структур, образовании и свойствах межмолекулярных комплексов [1].

Во флуоресцентной спектроскопии часто измеряют время затухания флуоресценции – среднее время, пребывания молекулы в возбужденном состоянии. Знание закона затухания флуоресценции дает детальную информацию о взаимодействии флуорофора с его окружением.

Для измерения времён затухания флуоресценции используются импульсный и фазово-модуляционный методы [1]. Для анализа данных во флуоресцентной спектроскопии широко применяется метод наименьших квадратов [2]. Качество получаемых данным методом оценок параметров используемой модели и скорость работы самого метода во многом зависят от задания начальных приближений для оцениваемых параметров, выбор которых во многих случаях не очевиден.

В фазово-модуляционном методе образец возбуждают светом, модулированным по синусоидальному закону. В результате чего формируется вынужденный отклик образца – испускание флуоресценции, модулированное с той же частотой, что и возбуждающий его свет. Поскольку время жизни отдельных молекул в возбужденном состоянии случайно, испускание отстаёт по фазе от возбуждения на угол ϕ и демодулировано относительно падающего света. В качестве экспериментальных данных получают зависимости задержки по фазе и коэффициента демодуляции от частоты модуляции возбуждающего сигнала. Анализ таких данных с использованием некоторой модели дает оценки ее параметров, описывающих свойства исследуемого образца.

В данной работе рассматривается только зависимость задержки по фазе от частоты модуляции $\varphi(\omega)$. В качестве модели для ее аппроксимации часто используют следующее выражение:

$$\varphi(\omega, \vec{A}) = \arctg\left(\frac{N(\omega, \vec{A})}{D(\omega, \vec{A})}\right) \quad (1)$$

где: $\vec{A} = \{\alpha_1, \alpha_2, \tau_1, \tau_2\}$ – вектор искомых параметров модели; $N(\omega, \vec{A})$ – мнимая и $D(\omega, \vec{A})$ – действительная части преобразования Фурье (формула (2)) от функции $I(t, \vec{A})$ (формула (3)), являющейся теоретической функцией двух-экспоненциальной модели, описывающей затухание флуоресценции образца во временной области:

$$N(\omega, \vec{A}) = \frac{\omega\alpha_1\tau_1^2 + \omega\alpha_2\tau_2^2}{1 + \omega^2\tau_1^2 + 1 + \omega^2\tau_2^2}, \quad D(\omega, \vec{A}) = \frac{\alpha_1\tau_1 + \alpha_2\tau_2}{\alpha_1\tau_1 + \alpha_2\tau_2} \quad (2)$$

$$I(t, \vec{A}) = \alpha_1 e^{-\frac{t}{\tau_1}} + \alpha_2 e^{-\frac{t}{\tau_2}}, \quad \alpha_1 + \alpha_2 = 1 \quad (3)$$

где α_1, α_2 – предэкспоненциальные коэффициенты; τ_1, τ_2 – времена затухания флуоресценции.

Если подставить формулу (2) в формулу (1) и перегруппировать слагаемые, то выражение (1) можно свести к линейной форме, представленной формулой (4) [2]:

$$TGC_0 + \omega^2 TGC_1 - \omega C_2 - \omega^3 C_3 = 0, \quad (4)$$

$$\begin{cases} C_0 = \alpha_1\tau_1 + \alpha_2\tau_2 \\ C_1 = \alpha_1\tau_1\tau_2^2 + \alpha_2\tau_2\tau_1^2 \\ C_2 = \alpha_1\tau_1^2 + \alpha_2\tau_2^2 \\ C_3 = \alpha_1\tau_1^2\tau_2^2 + \alpha_2\tau_2^2\tau_1^2 \end{cases}, \quad (5)$$

где $TG = \tg(\varphi(\omega))$.

Поскольку в экспериментально полученных данных содержится статистический шум, и функция TG зависит от этих данных, то в выражении (4) левая часть никогда не будет точно равна нулю. Поэтому, на данном этапе значения коэффициентов C_k рассчитываются, используя метод наименьших квадратов, который минимизирует следующее выражение:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^N \frac{(TG_i C_0 + \omega_i^2 TGC_1 - \omega_i C_2 - \omega_i^3 C_3)^2}{W_i} = \min \quad (6)$$

где: N – количество точек в измеренной кривой; W_i – весовые факторы, которые можно получить по одной из следующих формул [2]:

$$W_i = \left(\frac{1 + C_1 \omega_i^2}{\cos^2(\varphi_i)}\right)^2 W_i^\varphi, \quad (7)$$

$$W_i = \left(\frac{1 + (\tau\omega_i)^2}{\cos^2(\varphi_i)} \right)^2 W_i^\varphi, \quad (8)$$

$$W_i = 1 \quad (9)$$

После нахождения коэффициентов C_k , оцениваются значения времен затухания, которые будут являться положительными действительными корнями кубического уравнения, получаемого из формулы (5), затем значения предэкспоненциальных факторов, путем решением системы уравнений, указанной в формуле (5) [2].

Для тестирования данного алгоритма использовались смоделированные данные. Генерировалось 20 точек для частоты модуляции ω , на интервале от 20 до 160 МГц. В этих точках вычислялись значения сдвига фаз по формуле (1), в которой $\alpha_1 = 0.67$, $\alpha_2 = 0.33$, время затухания τ_1 фиксировалось в значение 2 нс, а τ_2 варьировалось. На полученные зависимости $\varphi(\omega)$ накладывался Гауссовский шум [2], с математическим ожиданием, равным точному значению сдвига фаз, и среднеквадратичным отклонением равным 0.1° или 0.4° .

Вначале проверялась разрешающая способность алгоритма, а именно: находился процент числа смоделированных зависимостей $\varphi(\omega)$, для которых метод смог определить две положительных, действительных оценки времен затухания τ_1 и τ_2 . Исследование проводилось для различного уровня шума и от соотношения времен затухания τ_1 и τ_2 .

На рисунке представлены результаты тестирования разрешающей способности метода для среднеквадратичного отклонения шума равного $0,1^\circ$ (треугольник) и $0,4^\circ$ (круг), с использованием: весовых факторов, вычисляемых по формуле (9) (точечная линия); весовых факторов, рассчитываемых по формуле (8) (пунктирная линия); весовых факторов, рассчитываемых по формуле (7) (сплошная линия).

На данном рисунке видно, что разрешающая способность максимальна, когда времена затухания отличаются более чем в 2 раза, также разрешающая способность отсутствует при сближении времён затухания. Однако, при приближении τ_2 к нулю, разрешающая способность уменьшается, это объясняется нечувствительностью изменения сдвига фаз при малых временах затухания на выбранном диапазоне частот модуляции.

Далее оценивалось качество восстановления параметров в зависимости от соотношения времен затухания и уровня шума в смоделированных данных, что представлено в таблице.

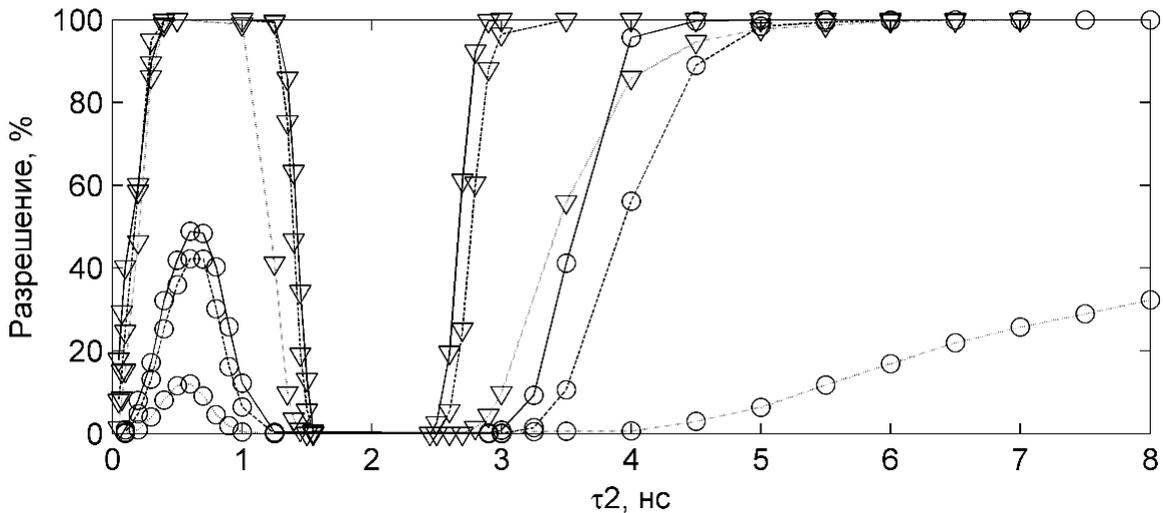


Рисунок Зависимость разрешающей способности метода от значения τ_2 ; $\tau_1 = 2$ нс

Таблица

Качество восстановления параметров

$\frac{\tau_2}{\tau_1}$	$\sigma_{\text{шум}}$	Оценка	Единичные веса			Веса по формуле (8)			Веса по формуле (7)		
			α_1 (0,67)	τ_1 , нс (2,0)	τ_2 , нс	α_1 (0,67)	τ_1 , нс (2,0)	τ_2 , нс	α_1 (0,67)	τ_1 , нс (2,0)	τ_2 , нс
2	0,1	<i>M</i>	0,177	1,079	2,835	0,567	1,88	3,65	0,63	1,951	3,859
		<i>σ</i>	0,084	0,367	0,141	0,053	0,069	0,145	0,034	0,043	0,115
	0,4	<i>M</i>	0,164	0,428	2,726	0,2	0,71	2,888	0,278	1,159	3,096
		<i>σ</i>	0,086	0,239	0,039	0,062	0,319	0,072	0,071	0,311	0,139
4	0,1	<i>M</i>	0,489	1,697	5,316	0,657	1,975	7,693	0,668	1,995	7,958
		<i>σ</i>	0,095	0,211	0,778	0,009	0,022	0,183	0,005	0,013	0,087
	0,4	<i>M</i>	0,243	0,668	3,709	0,497	1,617	5,639	0,627	1,892	7,257
		<i>σ</i>	0,076	0,317	0,21	0,057	0,154	0,475	0,021	0,058	0,92

Обозначения: *M* – среднее значение и *σ* – среднеквадратическое отклонение оценок параметров, полученных после обработки 1000 сгенерированных кривых

По данным тестирования видно, что лучшей разрешающей способностью и качеством восстановления параметров обладает алгоритм, использующий весовые факторы, вычисляемые по формуле (7).

Данный метод достаточно точно оценивает значения параметров модели, что свидетельствует о возможности его эффективного использования для анализа данных фазово-модуляционных измерений.

Библиографические ссылки

1. Lakowicz J.R. Principles of Fluorescence Spectroscopy / J.R. Lakowicz. – 2-nd. Edition. – New York: Plenum Publishers, 1999. – p. 960.
2. Digris A. V., Novikov E. G., Apanasovich V. V. A fast algorithm for multi-exponential analysis of time-resolved frequency-domain data / Optics communications. – 2005. – Т. 252. – №. 1-3. – p. 29-38.