

объясняется, по-видимому, влиянием сферической aberrации фокусирующей линзы. Однако теоретические размеры диаметра микродефекта совпадают с экспериментальными. Для более точного расчета высоты области необходимо учесть поправки на aberrацию системы фокусировки. Используя экспериментальные данные о размерах микродефекта, с помощью разработанного алгоритма можно решить и обратную задачу по определению количества теплоты, поглощаемого стеклянным образцом в результате облучения лазерным импульсом.

ВЫВОДЫ

В данной работе проведены исследования процессов оптического пробоя в стекле марки К8. По результатам экспериментальных данных определена зависимость размера области пробоя от плотности мощности лазерного излучения. В результате математического моделирования процесса пробоя, основанного на приближении мгновенного поглощения лазерного излучения материалом и численном решении стационарного уравнения теплопроводности, рассчитаны линейные размеры модифицированных областей в стекле марки К8.

Литература

1. *Kazuyuki Hirao, Jianrong Qiu, Kiotaka Miura et al.* Femtosecond laser induced phenomena in active ion-doped glasses and their applications // Transactions of the Materials Research Society of Japan. 2004. № 29 [1]. P. 3–7.
2. U.S. Patent № 4, 843, 207. 1997
3. U.S. Patent № 5, 637, 244. 2000
4. *Делоне Н. Б.* Взаимодействие лазерного излучения с веществом / М.: Наука, 1989 г.

РАЗРАБОТКА И РЕАЛИЗАЦИЯ АЛГОРИТМА АНАЛИЗА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ

И. П. Шингарёв

В связи с повышением требований к точности и надёжности определения параметров веществ, находящихся в растворе, все чаще используются методы флуоресцентной флуктуационной спектроскопии. Среди них выделяется метод, основанный на исследовании экспериментального распределения числа фотонов, полученных за время T – РСН-анализ, позволяющий получать информацию об излучательной способности и концентрации молекул вещества, находящегося в растворе. Процедура анализа распределения числа фотонов многоэтапна, поэтому возникает необходимость в разработке алгоритма для проведения такого анализа.

Идея алгоритма весьма проста. Необходимо построить теоретическое распределение числа фотонов, зависящее от физических параметров, ха-

рактизирующих исследуемое вещество. Затем, проведя процедуру согласования экспериментального и теоретического распределений с помощью метода наименьших квадратов, получить оценки неизвестных параметров исследуемого вещества.

Рассмотрим математическую модель, лежащую в основе процедуры анализа. В качестве параметра, характеризующего излучательную способность молекул вещества, примем молекулярную яркость ε , равную числу фотонов, излучаемых молекулой за время T . Для характеристики концентрации будем использовать среднее число частиц $\bar{N}$, находящихся в некоторой области вещества объемом V_0 [1]. В качестве функции, описывающей распределение интенсивности возбуждающего излучения в веществе для случая двухфотонного возбуждения, примем функцию гауссовско-лоренцовского типа, которая в цилиндрических координатах имеет вид [1]:

$$PSF(\rho, \varphi, z) = \frac{4\omega_0^8 \pi^2}{(\pi^2 \omega_0^4 + z^2 \lambda^2)^2} \exp \left[-\frac{4\rho^2 \pi^2 \omega_0^2}{\pi^2 \omega_0^4 + z^2 \lambda^2} \right], \quad (1)$$

где ω_0 и λ – толщина пучка и длина волны возбуждающего излучения.

Рассмотрим процедуру получения теоретического распределения.

В общем случае, вероятность регистрации k фотонов от одной молекулы с молекулярной яркостью ε за время T , находящейся в области объема V_0 , дается выражением [1]:

$$p^{(1)}(k, V_0, \varepsilon) = \frac{1}{V_0} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{(\varepsilon PSF(\vec{r}))^k}{k!} \exp[-\varepsilon PSF(\vec{r})] d\vec{r}, \quad (2)$$

где $\vec{r}$ – радиус-вектор.

При этом

$$p^{(1)}(0, V_0, \varepsilon) = 1 - \sum_{k=1}^{\infty} p^{(1)}(k, V_0, \varepsilon). \quad (3)$$

Аналогично, вероятность регистрации k фотонов от N молекул [1]:

$$p^{(N)}(k; V_0, \varepsilon) = \underbrace{(p^{(1)} \otimes \dots \otimes p^{(1)})}_{(N-1)\text{-раз}}(k; V_0, \varepsilon), \quad (4)$$

где

$$(p^{(1)} \otimes p^{(1)})(k; V_0, \varepsilon) = \sum_{r=0}^k p^{(1)}(k-r; V_0, \varepsilon) p^{(1)}(r; V_0, \varepsilon). \quad (5)$$

Вероятность получения k фотонов от молекул, свободно диффундирующих через границы области объемом V_0 :

$$\Pi(k; \bar{N}, \varepsilon) = \sum_{N=0}^{\infty} \frac{\bar{N}^N}{N!} \exp(-\bar{N}) p^{(N)}(k; V_0, \varepsilon), \quad (6)$$

где $\bar{N}$ – среднее число молекул, находящихся в этой области.

При этом

$$p^{(0)}(k; V_0, \varepsilon) = \begin{cases} 1, & k = 0 \\ 0, & k > 0 \end{cases}. \quad (7)$$

В РСН-анализе принимают $V_0 = \omega_1$ [1], где:

$$\omega_i = \int_{-\infty}^{\infty} PSF^i(\vec{r}) d^3\vec{r}. \quad (8)$$

В ходе разработки математической модели для алгоритма анализа получены следующие выражения для расчета вероятности:

$$p^{(1)}(k, V_0, \varepsilon) = \frac{1}{k!} \frac{\pi}{2} \int_0^{\frac{\pi}{2}} \frac{1}{\cos^4(\theta)} \gamma(k, \frac{4\varepsilon}{\pi^2} \cos^4(\theta)) d\theta \quad (9)$$

или

$$p^{(1)}(k, V_0, \varepsilon) = \frac{1}{k!} \frac{\pi}{2} \int_0^{\infty} (1+t^2) \gamma(k, \frac{4\varepsilon}{\pi^2} \frac{1}{(1+t^2)^2}) dt, \quad (10)$$

где $\gamma(k, x) = \int_0^x t^{k-1} e^{-t} dt$.

Может возникнуть ситуация, когда (1) недостаточно точно описывает реальное распределение интенсивности возбуждающего излучения. Тогда возникает необходимость введения коррекции, характеризующей расхождение между реальным распределением интенсивности в веществе $PSF(\vec{r})$ и его аппроксимацией $PSF_{model}(\vec{r})$. В качестве такой коррекции принимают [2]:

$$F_i = \frac{\tilde{\omega}_i - \omega_i}{\omega_i}, \quad (11)$$

где $\tilde{\omega}_i$, ω_i вычисляются по (8) от $PSF(\vec{r})$ и $PSF_{model}(\vec{r})$ соответственно.

Введем коррекции в математическую модель для алгоритма анализа. В общем случае из (2) можно получить:

$$\tilde{p}^{(1)}(k, \tilde{V}_0, \varepsilon) = \frac{1}{(1 + F_1)} \left(p^{(1)}(k, V_0, \varepsilon) + \frac{1}{V_0 k!} \sum_{i=k}^{\infty} \frac{(-1)^{i-k} \varepsilon^i}{(i-k)!} \gamma_i F_i \right), \quad (12)$$

где $\tilde{V}_0$ – изменившийся после ввода коррекций объем области, в которой возбуждаются молекулы, γ_i – гамма-фактор i -го порядка, $p^{(1)}(k, V_0, \varepsilon)$ вычисляется по формулам (9), (10).

На практике ограничиваются несколькими коррекциями.

Гамма-фактор γ_i представляет собой важную константу, используемую в РСН-анализе, флуоресцентной корреляционной спектроскопии, флуоресцентном кумулянтном анализе. Гамма-фактор определяется как [1]:

$$\gamma_i = \frac{\omega_i}{\omega_1}. \quad (13)$$

Удалось получить выражение в общем виде для его расчета:

$$\gamma_i = \frac{1}{i} \frac{C_{4i-4}^{2i-2}}{(2\pi)^{2i-2}}, \quad (14)$$

где $i=2, 3, 4 \dots$, $\gamma_1 = 1$ и $C_n^k = \frac{n!}{k!(n-k)!}$.

Итак, схема алгоритма выглядит следующим образом: необходимо сформировать эмпирическое распределение числа фотонов; задать число коррекций; по методу наименьших квадратов найти теоретическое распределение наилучшим образом согласующееся с эмпирическим. Параметры теоретического распределения будут оценками соответствующих неизвестных параметров ε и $\bar{N}$ исследуемого вещества.

Для ускорения поиска теоретического распределения наилучшим образом согласующегося с эмпирическим распределением необходимо задать начальные приближения для параметров ε , $\bar{N}$, F_i . Для расчета начальных приближений можно использовать флуоресцентный кумулянтный анализ [3], позволяющий получить оценки молекулярной яркости ε и среднего числа частиц $\bar{N}$.

После введения коррекций основное уравнение кумулянтного анализа примет вид:

$$K_i = \frac{(1 + F_i)}{(1 + F_1)} \gamma_i \varepsilon^i \bar{N}, \quad (15)$$

где K_i – факториальный кумулянт i -го порядка эмпирического распределения числа фотонов.

Факториальные кумулянты K_q вычисляются через факториальные моменты G_q :

$$K_q = G_q - \sum_{m=1}^{q-1} \frac{(q-1)!}{m!(q-m-1)!} K_{q-m} G_m, \quad (16)$$

где

$$G_k = \sum_{i=k}^N \frac{i!}{(i-k)!} p_i^*, \quad (17)$$

где p_i^* – эмпирическая вероятность того, что дискретная случайная величина приняла значение i .

Данный алгоритм был реализован программно. Результаты его применения для анализа с экспериментальных данных дают основания утверждать, что алгоритм может использоваться на практике.

Литература

1. *Chen Y., Müller J. D., So P. T. C., Gratton E.* The Photon Counting Histogram in Fluorescence Fluctuation Spectroscopy// Biophysical Journal. Volume 77. July 1999. 553–567.
2. *Huang B., Perroud T. D., Zare R. N.* Photon Counting Histogram: One-Photon Excitation// ChemPhysChem. May 2004. 1523–1531.
3. *Müller J. D.* Cumulant Analysis in Fluorescence Fluctuation Spectroscopy// Biophysical Journal. Volume 86. June 2004. 3981–3992.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОГЛОЩАЮЩИХ СВОЙСТВ РАСSEИВАЮЩИХ ОБЪЕКТОВ И СРЕД С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БАЗИСНЫХ ИЗМЕРЕНИЙ

Т. Ю. Шинкевич

Цель работы – определение спектральной области поглощения лазерного излучения гемоглобином для разработки спектрального прибора измерения его концентрации.

Объектом исследования является гемоглобин в растворах, поскольку из-за его большой оптической плотности спектры поглощения и пропускания можно измерить только в растворах [1].

Проводились измерения спектральных характеристик гемоглобина в растворе глюкозы и в физиологическом растворе в следующих концентрациях: