

На правах рукописи

Попик Александр Юрьевич

**ДИНАМИКА СПЕКТРОВ ЛАЗЕРНО-ИНДУЦИРОВАННОЙ
ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА-*a* ФИТОПЛАНКТОНА В
УСЛОВИЯХ МЕНЯЮЩИХСЯ ПАРАМЕТРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ**

Специальность 01.04.21 – Лазерная физика;

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук



Владивосток 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте автоматике и процессов управления Дальневосточного отделения Российской академии наук (ИАПУ ДВО РАН)

Научный руководитель: **Гамаюнов Евгений Леонидович**, кандидат технических наук, доцент

Официальные оппоненты: **Фадеев Виктор Владимирович**, доктор физико-математических наук, профессор, ФГБОУ ВПО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, профессор кафедры квантовой электроники
Салюк Павел Анатольевич, кандидат физико-математических наук, ФГБУН Тихоокеанский океанологический институт имени В.И. Ильичева ДВО РАН, заведующий лабораторией

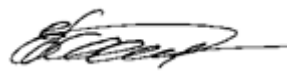
Ведущая организация: ФГБУН Институт оптики атмосферы им. В.Е. Зуева СО РАН, г. Томск

Защита диссертации состоится «03» июля 2015 г. в 14-00 час. на заседании диссертационного совета Д 005.007.02 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт автоматике и процессов управления Дальневосточного отделения Российской академии наук по адресу: 690041, Владивосток, ул. Радио, дом 5, ауд. 510.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИАПУ ДВО РАН и на сайте ИАПУ по электронному адресу <http://www.iacp.dvo.ru/russian/institute/dissertation/notice.html>

Автореферат разослан « » _____ 2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат технических наук,



доцент Гамаюнов Е.Л.

Общая характеристика работы

Актуальность темы.

Быстрые изменения, происходящие в биосфере, требуют разработки новых оперативных методов мониторинга окружающей среды. Среди множества способов наблюдения за экологическим состоянием биоценозов особенно перспективным является биомониторинг, основанный на использовании естественных компонентов экосистемы в качестве биоиндикаторов ее состояния.

Большие возможности для биоиндикации предоставляют флуоресцирующие организмы, оптические спектры флуоресценции которых, зависят от внутреннего состояния таких организмов. Благодаря высокой чувствительности физиологического состояния биоиндикаторов к параметрам окружающей среды: присутствию загрязнителей, изменению светового режима, температуры и т. п. становится возможным осуществлять контроль за изменением этих параметров. Наиболее распространенными из таких организмов являются микроводоросли фитопланктона.

Лазерное излучение высокой плотности дает возможность измерять спектры лазерно-индуцированной флуоресценции (ЛИФ) образцов фитопланктона. Исследование спектров ЛИФ, позволяет оценивать состояние фотосинтезирующих клеток фитопланктона по соотношению интенсивностей линий флуоресценции от различных пигментов, входящих в состав клеток и учитывать влияние на спектральную плотность флуоресценции растворенных органических веществ (РОВ). Измерения ЛИФ можно осуществлять непрерывно в течение долгого времени, не вызывая изменений у объекта исследования, что в совокупности с измерениями гидрофизическими и гидрохимическими параметрами дает возможность исследовать влияние процессов различной природы на развитие планктонных сообществ.

Для возбуждения ЛИФ и измерения ее спектров на разной глубине, необходимо погружать измерительную аппаратуру (лазеры и спектрометры) на ту глубину, на которой проводятся измерения. Это требует усложнения погружаемой части, обеспечения герметичности, необходимости обеспечить электрическое питание лазера и спектрометра. В большой степени решить эти проблемы позволяет применение оптических волокон (ОВ) для передачи лазерного и флуоресцентного излучений между аппаратурой и областью, в которой проводятся измерения. Использование ОВ в качестве оптоволоконного датчика (ОВД) флуоресценции позволяет измерять спектры ЛИФ в широком диапазоне длин волн увеличить точность измерения флуоресцентного отклика хлорофилла-а, и в результате уменьшить ошибку расчета его концентрации.

Было замечено, что изменение температуры и освещенности среды вызывает изменения в спектрах ЛИФ. Определение концентрации хлорофилла-а

методом ЛИФ в естественных условиях обитания фитопланктона требует учета множества факторов: конструкции датчика, его физических параметров, интенсивности лазерного излучения, физических параметров среды и вида фитопланктона. В настоящее время нет методики расчета концентрации хлорофилла-а по спектрам ЛИФ, которая учитывает все эти факторы.

Целью диссертационной работы является разработка новой методики лазерно-индуцированной флуориметрии для определения концентрации хлорофилла-а фитопланктона, учитывающей изменение параметров внешней среды.

В связи с этим в данной работе были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать воздействие освещенности и температуры среды на спектральную плотность лазерно-индуцированной флуоресценции хлорофилла-а, находящегося в составе клеток фитопланктона.
2. Разработать методику вычисления концентрации хлорофилла-а с учетом воздействия факторов внешней среды.
3. Разработать концепцию системы измерения концентрации хлорофилла-а методом лазерно-индуцированной флуоресценции, позволяющей учитывать воздействия факторов внешней среды.
4. Исследовать оптоволоконный датчик лазерно-индуцированной флуоресценции, разработать его математическую модель и определить его оптимальную конфигурацию.
5. Создать экспериментальный макет установки для измерения концентрации хлорофилла-а методом лазерно-индуцированной флуориметрии с учетом освещенности и температуры среды.
6. Выполнить апробацию новой методики при проведении экспедиционных исследований распределения фитопланктона в морских акваториях залива Петра Великого.

Научная новизна заключается в том, что:

1. Разработана концепция измерения концентрации хлорофилла-а по спектрам лазерно-индуцированной флуоресценции в составе клеток фитопланктона с учетом воздействия температуры и освещенности.

2. Впервые экспериментально получены зависимости спектральной плотности лазерно-индуцированной флуоресценции хлорофилла-а в составе гаптофитовой водоросли *Isochrysis galbana* от температуры и освещенности.

3. Внесены изменения в известную методику расчета концентрации хлорофилла-а по спектрам лазерно-индуцированной флуоресценции, позволяющие учитывать воздействие температуры и освещенности.

4. Разработаны физические принципы построения новой измерительной системы с оптоволоконным датчиком лазерно-индуцированной флуоресценции для измерения концентрации хлорофилла-а с учетом воздействия температуры и освещенности.

5. Составлена математическая модель оптоволоконного датчика лазерно-индуцированной флуоресценции для произвольной ориентации оптических волокон и изменяющейся мощности индуцирующего излучения.

6. Определены оптимальные параметры конфигурации оптоволоконного датчика лазерно-индуцированной флуоресценции, для различной мощности индуцирующего лазерного излучения.

7. Выполнены исследования распределения концентрации хлорофилла-а в различных акваториях Японского моря в период с 2010 по 2013 гг.

Научная и практическая значимость

Научная и практическая ценность диссертационной работы обусловлена возможным применением полученных в ней результатов для решения фундаментальных и прикладных задач лазерной флуоресцентной спектроскопии, биофизики и экологии:

- в исследованиях динамики сезонных изменений фитопланктона и при построении вертикальных профилей распределения концентрации фитопланктона;

- при разработке оптоволоконных датчиков лазерно-индуцированной флуоресценции;

- при практической разработке лазерных методов биоиндикации состояния водных экосистем с использованием оптоволоконного датчика лазерно-индуцированной флуоресценции;

- при разработке систем экологического мониторинга водных объектов.

Положения, выносимые на защиту

Измерение концентрации хлорофилла-а, входящего в состав клеток фитопланктона, методами лазерно-индуцированной флуоресценции должно выполняться с учетом освещенности и температуры среды.

Спектральная плотность лазерно-индуцированной флуоресценции хлорофилла-а, в составе клеток фитопланктона линейно зависит от освещенности среды и экспоненциально зависит от температуры среды.

Новая методика расчета концентрации хлорофилла-а по его лазерно-индуцированной флуоресценции, находящегося в составе клеток фитопланктона.

Выбор оптимального угла между ОВ в ОВД лазерно-индуцированной флуоресценции определяется мощностью индуцирующего лазерного излучения.

Достоверность полученных в работе результатов

Обоснованность и достоверность полученных результатов определяется теоретической проработкой предложенных методологических подходов и гипотез, многократным повторением экспериментов, использованием нескольких различных методик, для получения результатов. Полученные данные согласуются с результатами исследований других научных групп, приведенными в цитируемой литературе.

Апробация работы

Полученные в диссертационной работе результаты прошли апробацию на следующих российских и международных конференциях: **региональная научно-практическая конференция «Молодежь и научно-технический прогресс»** (апрель–июль 2010 Владивосток, Россия); **XIX Международный симпозиум "Оптика атмосферы и океана. Физика атмосферы"** (1-6 июля 2013 г. Алтай (г. Барнаул - Телецкое озеро), Россия); **Международная научная конференция «Экология окраинных морей и их бассейнов»** (28-30 сентября 2013 г. Кампус ДВФУ на о. Русский, Владивосток, Россия); **III международная научно-практическая конференция «Академическая наука - проблемы и достижения»** (20-21 февраля 2014 г. Москва, Россия); **IV международная научно-практическая конференция «Актуальные направления фундаментальных и прикладных исследований»** (4-5 августа 2014 г. North Charleston, USA); **14th Asia-pacific conference on fundamental problems of opto- and microelectronics «APCOM 2014»** (август 24-27, 2014 г. Kokushinkan University, Tokyo, Japan), **IV международная научно-практическая конференция Фундаментальная наука и технологии - перспективные разработки** (29-30 сентября 2014 г. North Charleston, USA), **X Международная научно-практическая конференция «Электронные средства и системы управления»** (12-14 ноября 2014 г ТУСУР, Томск, Россия).

Публикации

Автором опубликованы 10 работ по теме диссертации, в том числе 5 научных работ в реферируемых журналах из списка ВАК России. Во время работы был получен патент на изобретение. Список публикаций по теме диссертации приведен в конце автореферата.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав и заключения. В первой главе приведены теоретические основы исследований ЛИФ хлорофилла и описаны проблемы, которые необходимо решить в ходе работы. Во второй главе описаны эксперименты с пробами фитопланктона для подтверждения теоретических выводов первой главы. На основании теории и результатов экспериментальных исследований предложены изменения в методике измерения концентрации хлорофилла-*a* методом ЛИФ. В третьей главе исследуется математическая модель оптоволоконного датчика ЛИФ хлорофилла-*a* и формируется концепция экспериментальной измерительной системы. В этой главе так же приводится конструкция экспериментальной измерительной системы для экологического мониторинга. В четвертой главе представлены результаты нескольких экспедиций, показано успешное применение разработанной методики расчета концентрации хлорофилла-*a* по его ЛИФ. В конце каждой главы сформулированы краткие выводы. Завершается работа заключением, в котором подводятся итоги всей работы в виде полученных результатов. После заключения приведен библиографический список

использованной литературы, содержащий 82 наименования. Диссертационная работа изложена на 145 страницах и содержит 66 рисунков.

Личный вклад автора

Все изложенные в диссертации результаты и их интерпретация оригинальны и получены автором самостоятельно. Постановка задач, математическое моделирование оптоволоконного датчика и формулировка выводов исследования выполнены совместно с научным руководителем. Разработка экспериментальной измерительной системы осуществлялась совместно с научным руководителем и сотрудниками лаборатории № 22 ИАПУ. Большой вклад в разработку аппаратной части и конструкции измерительного комплекса был сделан Коротенко А. А. м. н. с. лаборатории № 22. Экспедиционные измерения осуществлялись совместно с Ивиным В. В. к.б.н., зав. лаб. продукционной биологии ИБМ и Захарковым С. П. к.б.н., в. н. с. лаборатории палеоокеанологии ТОИ. Лабораторные измерения проводились с образцами культур микроводорослей, предоставленными Орловой Т. Ю. к.б.н. с.н.с. лаборатории экологии шельфовых сообществ ИБМ.

Содержание диссертации

Во введении освещаются проблемы современной экологии и мониторинговых методик; приводятся примеры решения этих проблем с использованием фитопланктона как биоиндикатора для оценки экологического состояния. Так же обосновывается выбор темы диссертационной работы; формулируются цель, решаемые задачи и их актуальность в контексте научной новизны и практической значимости; формулируются основные положения, выносимые на защиту.

В 1 главе производится теоретическое обоснование проведённой работы. Глава разделена на 4 параграфа. В первом приведены теоретические основы оценки внутреннего состояния фитопланктона. Для этого подробно рассмотрена физика фотосинтеза с описанием отдельных важных его этапов, таких как поглощение света и перенос энергии по цепи транспорта электронов, а так же нелинейные оптические свойства фитопланктона. Описаны изменения состояния фотосистем фитопланктона, которые могут быть вызваны негативным воздействием различных внешних факторов, и способы обнаружения этих изменений, одним из которых является измерение ЛИФ. Так как все физические этапы фотосинтеза осуществляется в хлоропластах фитопланктона, то в данном параграфе так же описаны структура и строение хлоропласта, основные пигменты, участвующие в фотосинтезе и их оптические свойства. Особое внимание уделено теоретическому изучению оптических свойств хлорофилла-*a*, так как он является основным пигментом клеток фитопланктона. В заключение параграфа сделан вывод о возможности определения концентрации хлорофилла-*a* по интенсивности ЛИФ.

Во втором параграфе описываются оптические методы измерения концентрации хлорофилла-*a* и выделен метод лазерно-индуцированной флуоресценции, как наиболее пригодный для экологического мониторинга, обла-

дающий рядом преимуществ: малое время измерений, высокая чувствительность, неразрушающий контроль, возможность исследования спектров ЛИФ. В конце параграфа обращается внимание на ряд проблем, возникающих при определении концентрации хлорофилла-*a* ЛИФ. Замечено, что коэффициент пропорциональности между концентрацией и интенсивностью ЛИФ хлорофилла-*a* не является константой, поэтому была предложена следующая формула для расчета этого коэффициента, учитывающая воздействие освещенности и температуры среды (1):

$$K = s_0 \cdot s_1(Q) \cdot s_2(T), \quad (1)$$

где s_0 – коэффициент пропорциональности, зависящий от конструкции измерителя и вида фитопланктона;

$s_1(Q)$ – функция, зависящая от освещенности;

$s_2(T)$ – функция, зависящая от температуры.

В третьем параграфе первой главы описаны теоретические принципы построения оптоволоконного датчика ЛИФ в жидкой среде. Приведены все преимущества и недостатки использования такого датчика для исследований спектров ЛИФ фитопланктона, и показана необходимость построения математической модели, с целью его оптимизации.

В параграфе 4 рассмотрена концепция экспериментальной измерительной системы для экологического мониторинга. Разработка такой системы обусловлена необходимостью проверки на практике в полевых условиях предложенной методики измерения ЛИФ фитопланктона и определен хлорофилла-*a*.

В главе 2 описано влияние параметров среды на спектры ЛИФ хлорофилла-*a*. Глава разделена на три параграфа. В первом параграфе сравниваются два принципа расчета концентрации: с использованием минимальной флуоресценции (F_0) и с использованием максимальной флуоресценции (F_m). Показано, что использование F_m при определении концентрации хлорофилла-*a* эффективнее, чем с использованием F_0 потому, что F_m измеряется при отсутствии передачи поглощений энергии света на процессы фотосинтеза, следовательно, внутреннее состояние клетки не оказывает на нее влияния. Во втором параграфе представлены результаты экспериментальных исследований воздействия параметров среды на спектры ЛИФ хлорофилла-*a*. Рассмотрено влияние на спектры ЛИФ таких важных параметров среды, как освещенность и температура. Они подвержены наибольшему изменению с течением суток, при смене годового цикла, широты и глубины измерений. Увеличение этих параметров уменьшает спектральную плотность ЛИФ, а значит необходимо проводить корректировку измеренной концентрации хлорофилла-*a* по величинам температуры воды и интенсивности освещенности. На рисунке 1. представлены спектры ЛИФ *Isochrysis galbana*, измеренные при разной ин-

тенсивности освещенности, а так же график зависимости интенсивности ЛИФ от мощности источника света. В ходе эксперимента была выявлена обратно пропорциональная зависимость ЛИФ от освещенности, а так же обнаружены нелинейные участки насыщения флуоресценции, возникающие при низких (до 0,2 Вт) и высоких (выше 1,9 Вт) интенсивностях освещенности.

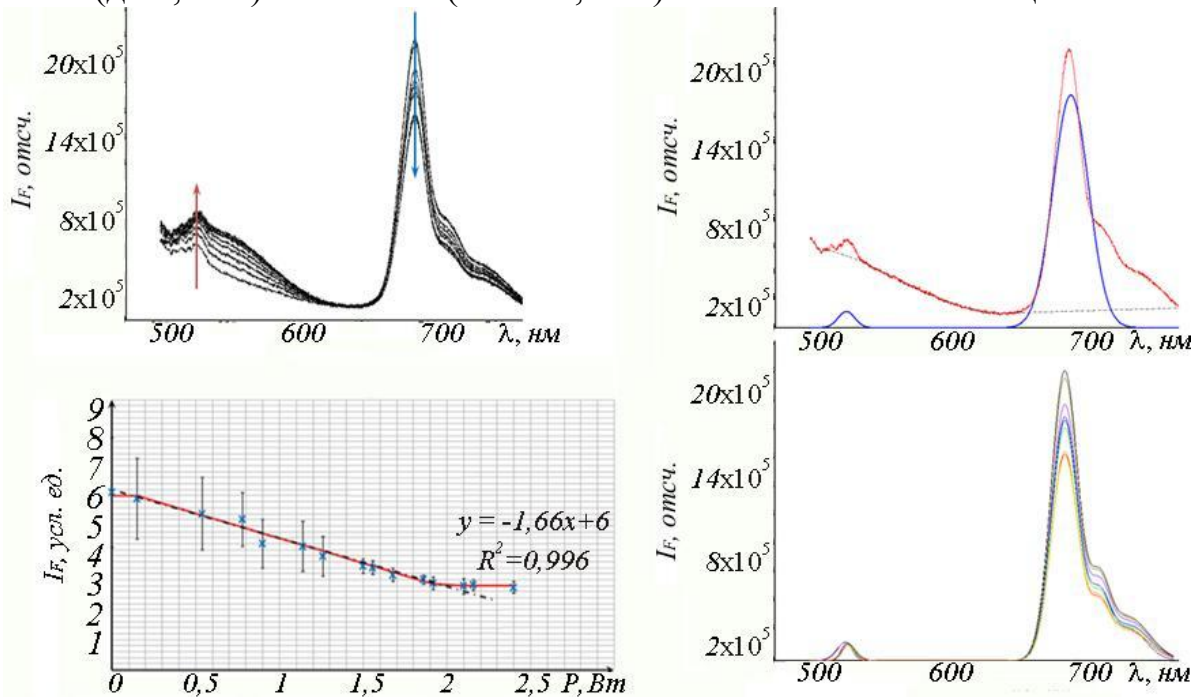


Рисунок 1. Динамика спектров ЛИФ хлорофилла-а и зависимость интенсивности флуоресценции хлорофилла-а от освещенности

Зависимость интенсивности ЛИФ f от освещенности Q предложено представить следующей системой уравнений (2):

$$f(Q) = \begin{cases} f_{max} & \text{при } Q < Q_1 \\ (f_{max} + k(Q - Q_1)), & \text{при } Q_1 < Q < Q_2, \\ f_{min} & \text{при } Q_2 < Q \end{cases} \quad (2)$$

где Q_1 – значение уровня освещенности, ниже которого интенсивность ЛИФ стабилизируется на максимальном уровне f_{max} ;

Q_2 – значение уровня освещенности, выше которого интенсивность ЛИФ стабилизируется на минимальном уровне f_{min} ;

k – коэффициент пропорциональности, который для линейного участка графика может быть рассчитан по формуле:

$$k = \frac{f_{max} - f_{min}}{Q_1 - Q_2}. \quad (3)$$

Для измерения влияния температуры на спектры ЛИФ *Isochrysis galbana* колбу с образцом нагревали в темной камере, измеряя спектры с заданным интервалом температур. Было обнаружено, что при увеличении температуры воды спектральная плотность ЛИФ хлорофилла-а снижается. В эксперименте при низких температурах отчетливо заметен пик ЛИФ хлорофилла на длине волны около 700 нм при уменьшении температуры до 22 °С пик спадает. Результаты эксперимента представлены на рисунке 2 в виде спектров и графиков.

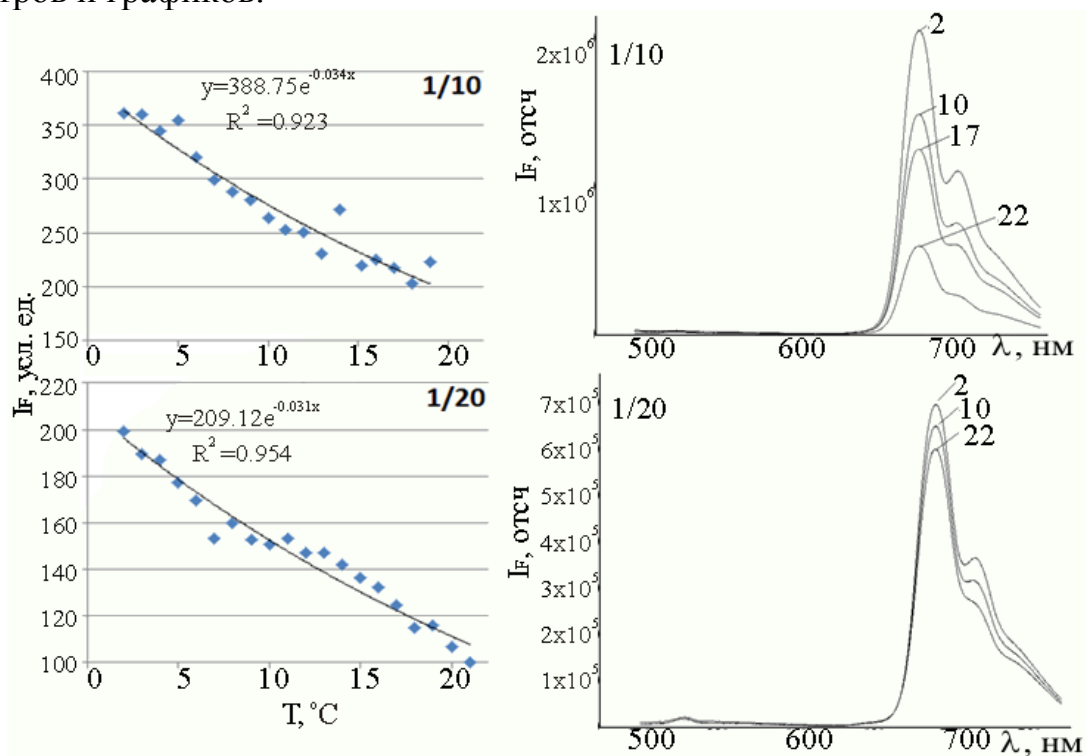


Рисунок 2. Динамика спектров ЛИФ и графики зависимости интенсивности ЛИФ хлорофилла-а от температуры

Полученные данные хорошо аппроксимируются экспоненциальной функцией, что позволяет записать зависимость интенсивности ЛИФ хлорофилла-а от температуры – $\varphi(T)$ в следующем виде (4):

$$\varphi(T) = f_0 \cdot e^{-(a \cdot T)}, \quad (4)$$

где f_0 – максимальная интенсивность ЛИФ в отсутствии температурного тушения;

a – температурный коэффициент флуоресценции;

T – температура среды.

Если функцию $s_1(Q)$ в выражении (1) представить как коэффициент связи между максимально возможным (в темноте) значением ЛИФ и наблюдаемым, т. е.:

$$s_1(Q) = \frac{f_{max}}{f(Q)}, \quad (5)$$

то $s_1(Q)$ можно выразить, подставив уравнение (2) в (5) в виде кусочно-линейной функции (6):

$$s_1(Q) = \begin{cases} 1 & \text{при } Q < Q_1 \\ f_{max} / (f_{max} + k(Q - Q_1)), & \text{при } Q_1 < Q < Q_2 \\ f_{max} / f_{min} & \text{при } Q_2 < Q \end{cases} \quad (6)$$

Если функцию $s_2(T)$ в выражении (1) определить как отношение максимально возможного (в отсутствии температурного тушения) значения ЛИФ к наблюдаемому, т. е.:

$$s_2(T) = \frac{f_0}{\varphi(T)}, \quad (7)$$

то, подставив (4) в (7), получим следующее выражение для $s_2(T)$:

$$s_2(T) = e^{(a \cdot T)}. \quad (8)$$

Подставляя в уравнение (1) полученные выражения для $s_1(Q)$ и $s_2(T)$ можно выразить коэффициент пропорциональности между ЛИФ и концентрацией хлорофилла-*a* с учетом влияния освещенности и температуры. Это позволит снизить ошибку определения концентрации хлорофилла-*a* в составе клеток фитопланктона методом ЛИФ при измерениях в естественной среде обитания.

В третьем параграфе второй главы приведен пример расчета концентрации хлорофилла-*a* с учетом, найденных зависимостей. Показано что при расчете концентрации без учета параметров среды отклонение достигает 0,4-0,49, а при учете параметров среды и использовании коэффициента, рассчитанного по формуле (1), отклонение снижается до 0,04-0,09. В конце главы приведены краткие выводы.

В 3 главе проведено исследование элементов измерительного комплекса. Глава разделена на два параграфа. В первом параграфе описывается математическая модель оптоволоконного датчика ЛИФ, схематическое изображение которого представлено на рисунке 3.

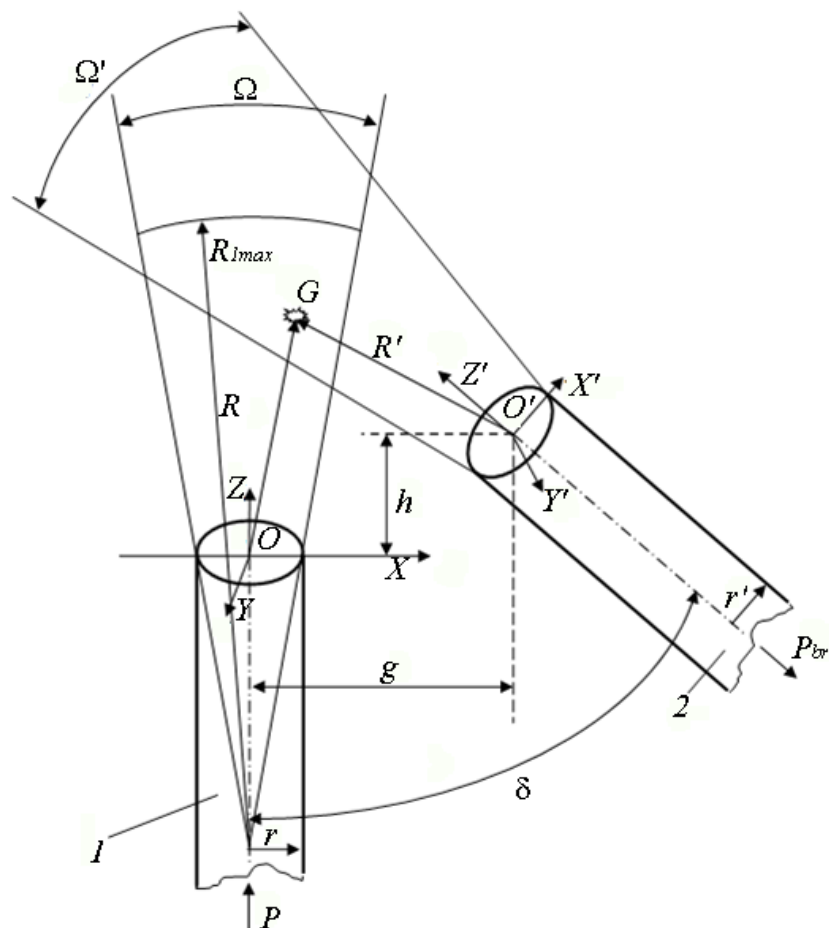


Рисунок 3. Схема двухволоконного датчика ЛИФ

На рисунке 3 цифрами обозначены: 1 – излучающее волокно; 2 – приемное волокно; 3 – область ЛИФ, воспринимаемая приемным оптоволоконном. В общем случае, при малых концентрациях и уровнях облученности, мощность ЛИФ $P_f(R)$ является функцией от величины облученности – B и концентрации флуоресцирующих частиц – c , в точке пространства определяемой вектором R .

$$P_f(R) = F[B(R), c(R)]. \quad (9)$$

В работах сотрудников кафедры квантовой электроники МГУ им. Ломоносова под руководством профессора В. В. Фадеева было показано, что при определенном увеличении индуцирующего излучения флуоресценция достигает насыщения и ее интенсивность зависит только от концентрации флуоресцирующего вещества. Таким образом, в диссертации рассматриваются только случаи насыщения флуоресценции хлорофилла-а.

Считая излучаемый оптическим волокном волновой фронт сферическим, облучённость поверхности фронта $B(R)$, с учетом поглощения света средой можно вычислить по формуле:

$$B(R) = \frac{P \cdot e^{-(k_a |R|)}}{2\pi |R_1|^2 (1 - \cos(\theta))} \quad (10)$$

где P – мощность излучения в волокне;
 $|R_1|$ – расстояние до флуоресцирующей точки;
 θ – апертурный угол излучающего волокна;
 k_a – коэффициент поглощения.

При лазерном возбуждении флуоресценции интенсивность возбуждающего света достигает некоторого значения B_{min} , мощность ЛИФ частиц достигает насыщения P_{fmax} и перестает изменяться. В этом случае активированы все способные к флуоресценции частицы облучаемого лазером объема, и поэтому мощность ЛИФ не зависит от облученности, но линейно зависит от концентрации флуоресцирующего вещества.

$$P_f(R) = \gamma \cdot c(R), \quad (11)$$

где γ – коэффициент пропорциональности;
 c – концентрация хлорофилла-а.

В диссертации показано, что при возбуждении ОВ диффузным источником, мощность направляемых в оптоволокне лучей P_{br} , вычисляется по формуле:

$$P_{br} = P_f |R'| \cdot e^{-(k_f |R'|)} \cdot \frac{(r')^2}{4} \cdot \frac{R'^Z}{|R'|^3}, \text{ при } R'^Z / |R'| > \cos(\theta') \quad (12)$$

где k_f – коэффициент поглощения флуоресценции;
 r' – радиус сердцевины волокна;
 R'^Z – проекция вектора R' на ось Z' ,
 $|R'|$ – модуль вектора R' .

Выражение для расчета мощности ЛИФ, принимаемой оптоволоконным датчиком в среде, может быть представлено как интеграл по объему, включающему в себя области возбуждения и приема ЛИФ:

$$P_{br} = \frac{(r')^2}{4} \iiint \left(P_f |R'| \cdot e^{-(k_f |R'|)} \cdot \frac{R'^Z}{|R'|^3} \right) dR'. \quad (13)$$

Численные эксперименты с моделью (13) показывают, что чувствительность ОВ датчиков ЛИФ в большой степени определяется как его конструктивным исполнением, так и размерами создаваемой зоны флуоресцен-

ции. На рисунке 4 показаны результаты вычисления мощности ЛИФ при различных значениях расстояния g и угла δ , а так же при различной интенсивности лазерного излучения, которая определяется длиной конуса насыщения. Графики, вычисленные для g отличных от нуля, соответствуют конфигурациям двухволоконных датчиков. Особый интерес представляет случай, когда ОВ размещены вплотную друг к другу, при этом g определяется наружным диаметром применяемых волокон. Показано, что принимаемая мощность ЛИФ при малых углах сильно зависит от расстояния между волокнами, а при увеличении угла эта зависимость уменьшается. Так же видно, что для каждого h не равного нулю существует свой, не равный нулю, оптимальный угол.

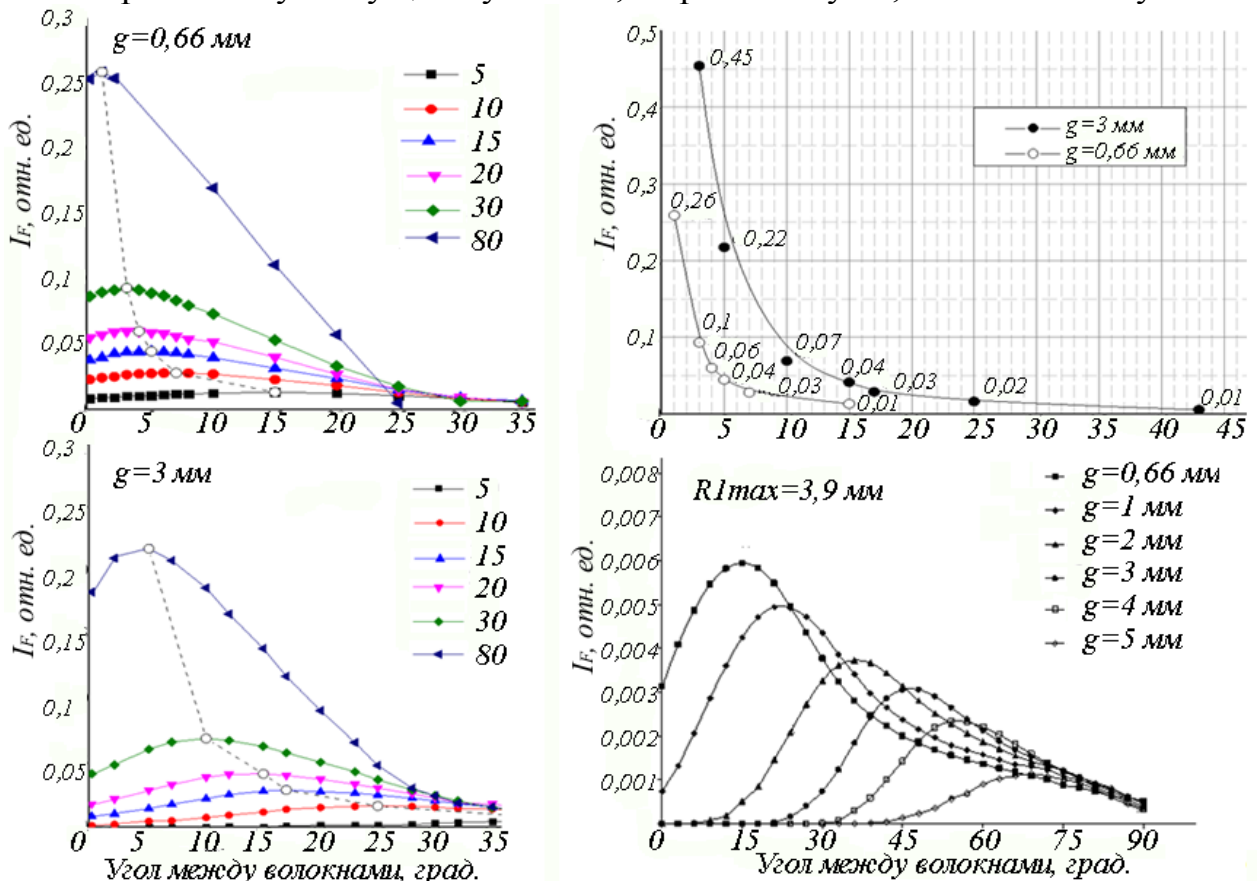


Рисунок 4. Результаты численного моделирования оптоволоконного датчика ЛИФ.

На рисунке 4 отчетливо видно, что при высокой интенсивности лазерного излучения и, как следствие, длинном конусе возбуждения (30-80 мм) максимальная эффективность датчика достигается при расположении волокон под меньшим углом. При малых интенсивностях лазерного излучения, когда конус возбуждения не больше 15 мм, необходимо точно подбирать угол между волокнами для достижения максимальной эффективности датчика. В таком случае, дальнейшее увеличение мощности возбуждающего излучения без изменения угла между волокнами не приведет к увеличению мощности направляемых лучей в приемном ОВ, но увеличит уровень шума в

приемном канале. В данной ситуации значения угла между волокнами могут изменяться в большом диапазоне от 15 до 45 градусов.

Благодаря модели можно определить, что мощность ЛИФ в приемном ОВ с ростом числовой апертуры увеличивается практически линейно, а при незначительном увеличении расстояния между параллельными ОВ быстро уменьшается до нуля. Поворот ОВ относительно друг друга позволяет существенно разнести передающее и приемное ОВ при незначительном уменьшении мощности принимаемого сигнала ЛИФ. Применение модели дает возможность выполнять оптимизацию конструкции ОВ датчика, выбирая геометрические размеры датчика ЛИФ и параметры ОВ (диаметр и числовую апертуру). Показано, что взаимный поворот ОВ на «оптимальный» угол позволяет повысить чувствительность двухволоконного датчика ЛИФ примерно в 2 раза.

Во втором параграфе третьей главы описан измерительный комплекс для определения концентрации хлорофилла-*a* по спектрам ЛИФ. Структурная схема такого комплекса представлена на рисунке 5.

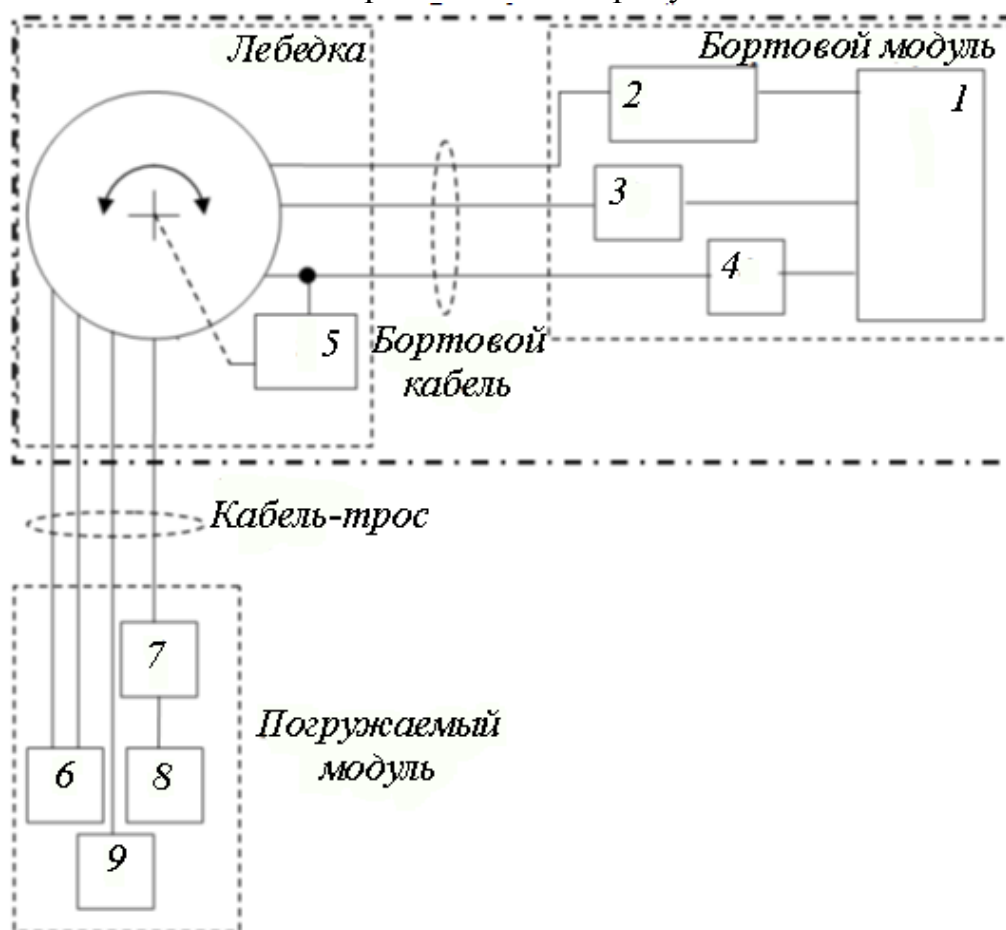


Рисунок 5. Структурная схема измерительного комплекса.

На рисунке 5 номерами обозначены: 1 – ПК, 2 – лазер, 3 – спектрометр, 4 – электронный блок, 5 – блок управления лебедкой, 6 – датчик флуоресценции, 7 и 8 – датчики температуры и давления, 9 – датчик освещенности. Далее кратко изложены технические принципы построения комплекса, характе-

ристики радиоэлектронных и оптических компонентов, а так же описана методика измерения. Важным преимуществом является «изоляция» измерительной техники от среды, в которой проходит измерение. Разделение измерительной системы на бортовую и погружаемую части не только увеличивает надежность и универсальность комплекса, но и делает измерение более «неинвазивным», то есть уменьшает воздействие на объект измерения. Кроме того измерительный комплекс оснащен автоматизированной лебедкой, которая позволяет опускать погружаемый модуль для измерения ЛИФ на заданные глубины по составленной оператором программе. Принцип такой лебедки был запатентован и осуществлен в экспериментальном макете измерительного комплекса (рисунок 6).



Рисунок 6. Лебедка с установленным слипом на борту НИС «Профессор Насонов»

В главе 4 представлены экспедиционные данные измерений распределения ЛИФ хлорофилла-*a* по глубине в акваториях залива Петра Великого в период с 2010 по 2013 год включительно. Измерения были проведены в Амурском и Уссурийском заливах, у островов Рикарда, Рейнеке, Попова и острова Русский, а так же в Хасанском районе в заливе Посьена и в устье реки Лебединая (на границе с Кореей).

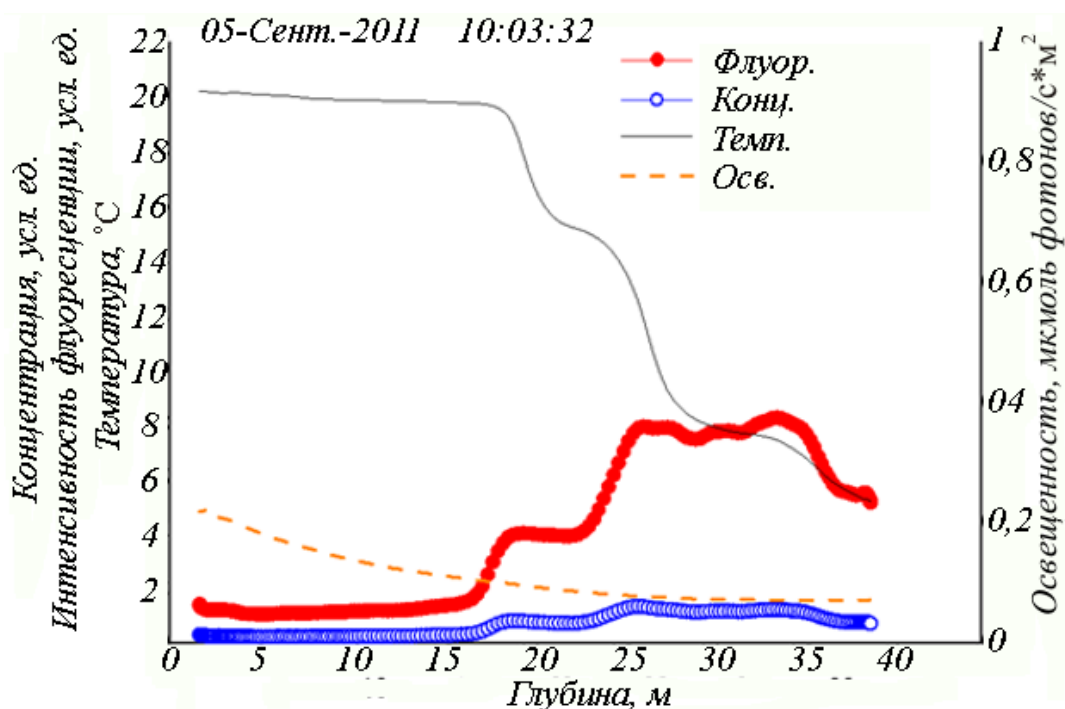


Рисунок 7. Изменение ЛИФ и концентрации хлорофилла-*a*, и параметров среды по глубине

Данные экспедиционных измерений были обработаны по предложенной в работе методике расчета концентрации хлорофилла-*a* методом ЛИФ с учетом влияния параметров среды. Типичная картина вертикального распределения измеренных данных по глубине представлена на рисунке 7.

В результате анализа проведенных экспедиционных исследований было экспериментально подтверждено, что ЛИФ хлорофилла-*a* в составе клеток природного фитопланктона зависит от температуры и освещенности среды обитания. Было установлено, что видовой состав фитопланктона меняется с течением времени, и такое изменение может носить периодический характер. Замечено в 2012 году преобладание вида более стойкого к изменениям параметров среды, чем виды, преобладающие в остальные годы. Экспедиционные измерения позволяют изучать экологическое состояние акваторий при помощи измерений ЛИФ.

В результате проведенной работы выявлена необходимость измерения множества параметров среды: температуры, освещенности, солености, концентрации минеральных веществ, концентрации растворенного кислорода и углекислого газа и т.д. для того, изучить их влияние на ЛИФ хлорофилла-*a*. В конце главы приведены краткие выводы, подчеркивающие большую значимость проведенных полевых исследований.

В **Заключении** формулируются основные результаты и выводы диссертационной работы, которые перечислены ниже.

Основные результаты работы

1. Разработана концепция измерения концентрации хлорофилла-а в составе клеток фитопланктона с учетом воздействия температуры и освещенности.
2. Впервые экспериментально получены зависимости спектральной плотности флуоресценции хлорофилла-а в составе гаптофитовой водоросли *Isochrysis galbana* от температуры и освещенности.
3. Внесены изменения в известную методику расчета концентрации хлорофилла-а, позволяющие учитывать воздействие температуры и освещенности.
4. Разработаны физические принципы построения новой измерительной системы с оптоволоконным датчиком ЛИФ для измерения концентрации хлорофилла-а в составе клеток фитопланктона с учетом воздействия температуры и освещенности.
5. Составлена математическая модель оптоволоконного датчика флуоресценции для произвольной ориентации оптических волокон и изменяющейся мощности индуцирующего излучения.
6. Определены оптимальные параметры конфигурации оптоволоконного датчика ЛИФ, для различной мощности индуцирующего излучения.
7. Выполнены исследования распределения концентрации хлорофилла-а в различных акваториях Японского моря в период с 2010 по 2013 гг.

Список публикаций по теме диссертации

В журналах из перечня ВАК:

1. Гамаюнов Е. Л., Вознесенский С. С., Коротенко А. А., **Попик А. Ю.** Система мониторинга воды с погружаемым модулем. Приборы и техника эксперимента. М.: «Наука». 2012, № 2, с. 135.
2. Кульчин Ю. Н., Букин О. А., Константинов О. Г., Вознесенский С. С., Павлов А. Н., Гамаюнов Е. Л., Майор А. Ю., Столярчук С. Ю., Коротенко А. А., **Попик А. Ю.** Комплексный контроль состояния морских акваторий оптическими методами. Часть 1. Концепция построения многоуровневых измерительных систем для экологического мониторинга прибрежных акваторий. Оптика атмосферы и океана. 2012, Т 25, № 7, с. 633-637
3. Кульчин Ю. Н., Вознесенский С. С., Гамаюнов Е. Л., Коротенко А. А., **Попик А. Ю.**, Майор А. Ю. Комплексный контроль состояния морских акваторий оптическими методами. Часть 4. Оптоволоконная система измерения концентрации фитопланктона. Оптика атмосферы и океана. 2013, Т. 26, № 1, с. 40-45
4. Вознесенский С. С., Гамаюнов Е. Л., **Попик А. Ю.**, Коротенко А. А. Оптоволоконный флуориметр для измерения параметров фотосинтеза фитопланктона. Приборы и техника эксперимента. М.: «Наука». 2014, № 3, с 97-103.

5. Гамаюнов Е. Л., **Попик А. Ю.** Зависимость флуоресценции фитопланктона от внешних воздействий. *Биофизика*. М.: «Наука». 2015, т. 60, №. 1, с. 143-151.

В других журналах и сборниках трудов конференций:

6. Гамаюнов Е. Л., **Попик А. Ю.** Восстановление картины распределения концентрации фитопланктона по глубине, при измерениях флуоресцентными методами. *Материалы III международной научно-практической конференции «Академическая наука - проблемы и достижения»*. Москва, н.-и. центр "Академический", 2014 г, том 1, с. 190-196.

7. Gamayunov E. L. **Popik A. Yu.** Influence of illuminating intensity and temperature on a phytoplankton fluorescence. *Материалы IV международной научно-практической конференции «Актуальные направления фундаментальных и прикладных исследований»*. North Charleston, н.-и. центр "Академический", 2014 г, том 1, с. 168-176.

8. Gamayunov E. L. **Popik A. Yu.** Dependence of the fluorescence of the phytoplankton from external influences. *Материалы 14 азиатско-тихоокеанской конференции по фундаментальным проблемам опто- и микроэлектроники «APCOM 2014»*. Токуо, Kokushikan University, 2014 г, с. 68-71.

9. Гамаюнов Е. Л., **Попик А. Ю.** Насыщенная флуоресценция, как индикатор концентрации хлорофилла-а. *Материалы IV международной научно-практической конференции «Фундаментальная наука и технологии - перспективные разработки»*. North Charleston, н.-и. центр "Академический", 2014 г, том 1, с. 8-11.

10. Гамаюнов Е. Л., **Попик А. Ю.** Исследование зависимости интенсивности флуоресценции фитопланктона от параметров среды. *Материалы десятой международной научно-практической конференции «Электронные средства и системы управления»*. Томск, В-Спектр, 2014, том 2, с. 186-190.

11. Оптоволоконный флуориметр с погружаемым модулем: пат. № 124393, рос. Федерация: мпк7 g01 n21/01. Кульчин Ю. Н., Вознесенский С. С., Гамаюнов Е. Л., Коротенко А. А., **Попик А. Ю.**; заявитель и патентообладатель ИАПУ ДВО РАН. - № 2012121730/28; заявл. 25.05.2012; опубл. 20.01.2013, бюл. № 2.

Попик Александр Юрьевич

Динамика спектров лазерно-индуцированной флуоресценции хлорофилла-*a*
фитопланктона в условиях меняющихся параметров внешней среды

Автореферат

Подписано к печати 3.05.2015

Усл. печ.л.1,0

Уч.-изд.л. 0,8

Формат 60x84/16

Тираж 100экз.

Заказ № 5

Издано ИАПУ ДВО РАН. 690041, г. Владивосток, ул. Радио,5

Отпечатано участком оперативной печати ИАПУ ДВО РАН.

690041, г. Владивосток, ул. Радио,5