

№ 1

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
СССР

МОСКОВСКИЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА, ОРДЕНА ОКТЯБРЬСКОЙ РЕВОЛЮЦИИ
И ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М.В.ЛОМОНОСОВА

Физический факультет

На правах рукописи
УДК 535.3,551.463.5

ИВАНОВ Иван Георгиев

ЛАЗЕРНО-СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ
КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ДИАГНОСТИКИ
ФОТОСИНТЕЗИРУЮЩИХ ПРИМЕСЕЙ В ВОДНЫХ СРЕДАХ

01.04.03 - радиофизика, включая квантовую
радиофизику

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Москва -- 1987

ЛФОН Физ.ф-та МГУ
Зак.170-100-87г

Работа выполнена на кафедре квантовой радиофизики
физического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова

Научный руководитель: доктор физико-математических наук
доцент В.В.Фадеев

Официальные оппоненты: доктор физико-математических наук
А.Ю.Борисов
кандидат физико-математических наук
А.Л.Суровегин

Будущее предприятие - Институт общей физики АН СССР

Защита состоится "21" мая 1987 г. в 15⁰⁰ часов
в конференц-зале корпуса нелинейной оптики на заседании
специализированного Ученого Совета №1 отделения радиофизики
в Московском государственном университете им. М.В.Ломоносова
шифр К 053.05.21.

Адрес: 119891, физический
факультет, корпуса №1
отделения

С диссертацией
факультета

Автореферат

Учен
специализ
отд
кандидат

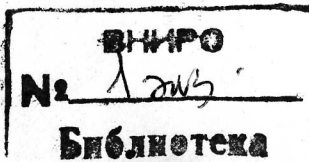
Цель работы и актуальность темы

Диссертационная работа посвящена развитию лазерно-спек-
троскопических методов количественного определения и диагно-
стики функционального состояния и видовой принадлежности
фотосинтезирующих микроводорослей - фитопланктона (ФП), ос-
нованных на его способности флуоресцировать при оптическом
возбуждении.

Актуальность темы обусловлена необходимостью разработки
экспрессных методов анализа ФП, поскольку стандартные препа-
ративные биологические и биофизические методы не могут решать
новых задач, возникающих в связи с современными проблемами
охраны окружающей среды и рационального использования природ-
ных ресурсов. Учитывая, что во многих случаях необходима
диагностика фитопланктонных полей на протяженных акваториях,
к новым методам предъявляется также требование дистанцион-
ности, обеспечения анализов с движущихся носителей (судов,
вертолетов, самолетов). Этим требованиям в принципе может
удовлетворять метод дистанционной лазерной спектроскопии
[1,2], осуществляемый с помощью лидаров. В настоящее время
методы и техника лазерной съемки флуоресцентных полей в ос-
новном разработаны, накоплен значительный объем данных, полу-
ченных для различных районов Мирового океана, и на первый
план выдвигается задача интерпретации получаемых результатов.

Решение этой задачи затрудняется тем, что флуоресцирую-
щий пигмент - хлорофилл "а" (хл"а"), входит в состав сложных
пигмент-белковых комплексов, составляющих фотосинтетический
аппарат. Его флуоресценция сопровождается первичные фотофизи-
ческие процессы фотосинтеза, связанные с поглощением квантов
света в светособирающей антенне и эффективной миграцией энер-
гии к реакционному центру. Поэтому при решении сформулирован-
ных диагностических задач необходимо учитывать ряд особеннос-
тей, отражающих специфику ФП в качестве объекта оптической
спектроскопии.

Во-первых, различия в пигментном составе разных видов
водорослей могут приводить к изменению квантового выхода
флуоресценции хл"а" *in-vivo*, особенно при возбуждении на
длинах волн, для которых поглощение так называемых вспомога-



тельных пигментов (ВН) существенно превосходит собственное поглощение молекулами хл"а". Необходимо исследовать влияние этого фактора - дельта выделения параметров флуоресцентного отклика ФН, слабо чувствительных к изменению пигментного состава и, наоборот, параметров, зависящих от него. Первые можно использовать для диагностики, не требующей идентификации вида водорослей (например, для определения концентрации хл"а"), вторые - как идентификаторы видового состава.

Во-вторых, флуоресцентный отклик ФН может существенно зависеть от его функционального состояния, следовательно этот вопрос требует специального исследования.

В-третьих, в случае ФН значительно сильнее проявляется насыщение флуоресценции, чем для растворов органических соединений (например, для раствора того же хл"а"). Поэтому установление связи между характеристиками ФН (в частности, его концентрации) и параметрами регистрируемого флуоресцентного отклика на лазерное возбуждение требует подробного изучения механизмов насыщения флуоресценции и особенностей его проявления у водорослей.

Целью диссертационной работы является лабораторное исследование влияния перечисленных факторов на параметры флуоресцентного отклика ФН, представляющего собой единственным источником информации при его оптическом детектировании, и выбор на этой основе конкретных параметров и зависимостей для решения задач диагностики.

Научная новизна

В диссертационной работе:

1. Предложен метод определения концентрации хл"а", основанный на экспериментально определяемых параметрах кривой насыщения флуоресценции.

2. Показано, что функциональное состояние ФН не оказывает существенного влияния на результаты измерения концентрации хл"а", проведенного в режиме сильного насыщения флуоресценции.

3. Предложен метод определения функционального состояния фитопланктона по зависимости интенсивности флуоресценции

от частоты повторения зондирующих импульсов.

4. Показано, что деконволюцированный спектр флуоресценции содержит те же компоненты, что и обычный низкотемпературный спектр флуоресценции. Показана возможность определения видовой принадлежности ФН на основе структуры деконволюцированного спектра флуоресценции.

Практическое значение работы

Полученные в работе результаты могут быть использованы для разработки практических методик лазерной диагностики ФН и, возможно, других фотосинтезирующих организмов (при соответствующем обобщении этих результатов). Предлагаемые методы спектроскопии ФН допускают его неконтактное и дистанционное зондирование (в том числе с помощью лидара, установленного на движущемся носителе), что открывает возможности их использования для изучения биологической продуктивности обширных акваторий.

Апробация работы

Основные результаты диссертационной работы докладывались на XI Всесоюзной конференции по когерентной и нелинейной оптике (Ереван, 1982 г.), на Всесоюзном семинаре "Проблемы лазерного аэрозондирования поверхности Земли" (Ташкент, 1984г.), на I Симпозиуме по лазерной спектроскопии (Печь, ВНР, 1986г.), на I конференции МГУ "Взаимодействие человека и биосферы" (Москва, 1986 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 5 научных работ.

Содержание работы

Диссертация состоит из введения, четырех глав и заключения.

Первая глава посвящена исследованию механизмов насыщения флуоресценции фотосинтезирующих организмов и возможности количественного определения концентрации хл"а" в нативном ФН в режиме мощного фотовозбуждения.

§1 содержит обзор основных положений теории люминесценции и лазерной флуоресцентной спектроскопии. Основное внимание уделяется методу внутреннего репера [3], позволяющего поставить лазерную флуориметрию на строго количественную основу. Суть метода состоит в нормировке флуоресцентного сигнала на сигнал комбинационного рассеяния (КР) света молекулами воды, позволяющей перейти к флуоресцентному параметру

$$\Phi_0 = N_{fl}^0 / N_{кр}$$

где $N_{fl}^0, N_{кр}$ - числа квантов флуоресценции и КР соответственно; индекс "0" означает отсутствие эффекта насыщения флуоресценции. Показана возможность определения концентрации флуоресцирующих молекул по флуоресцентному параметру, если известны их спектрально-люминесцентные характеристики.

В §2 приводится обзор теории насыщения флуоресценции растворов сложных органических соединений. Насыщение флуоресценции проявляется уже при плотностях потока фотонов возбуждающего излучения $F \sim 10^{23} \text{ см}^{-2} \text{ с}^{-1}$, легко достижимых импульсными лазерами, используемыми в лидарах. Вводятся понятия фактора насыщения флуоресценции Γ :

$$\Gamma(F) = \Phi_0 / \Phi(F)$$

и кривой насыщения флуоресценции $\Phi^{-1}(F)$, отличающейся от Γ постоянным множителем Φ_0 .

В §3 рассматриваются механизмы насыщения флуоресценции ФП. Вводится понятие фотосинтетической единицы (ФСЕ), состоящей из светособирающей антенны и реакционных центров фотосистем 1 и 2. Кинетика населенностей возбужденных состояний ВП (каротиноидов) и различных форм хл"а", входящих в состав антенны, моделируется с помощью системы кинетических уравнений. В модели предполагается однонаправленная от наиболее коротковолновых к более длинноволновым спектральным формам хл"а" и одноступенчатая (только между ближайшими формами) миграция энергии. Кроме того накладываются еще следующие предположения:

1) учитывается только поглощение света молекулами ВП (каротиноидов). Тем самым рассматривается практически важный случай, когда возбуждение флуоресценции реализуется на длине вол-

ны 532 нм, где собственное поглощение молекулами хл"а" мало.
2) Вероятность переноса энергии с ВП на хл"а" существенно меньше вероятности переноса между формами хл"а" (последняя близка к 100%). Это выполняется в наиболее часто встречающемся случае, когда ВП - каротиноиды и вероятность переноса варьирует в пределах 20...50%.

3) Пренебрегается поглощением из возбужденного синглетного состояния S_1 и заселением триплетных состояний молекул.

4) Предполагается квазистационарный случай возбуждения, когда длительность возбуждающего импульса гораздо больше времен, характерных для переноса энергии, поэтому производными dn_i/dt в системе кинетических уравнений можно пренебречь. Здесь n_i - концентрации молекул i -ой формы хл"а" ($i = 2, 3, \dots$) или ВП ($i = 1$) в возбужденном состоянии.

В модельной системе кинетических уравнений учитываются все механизмы, которые могут приводить к насыщению флуоресценции: обеднение основного состояния поглощающих молекул - ВП (просветление), насыщение цепи миграции энергии, обусловленное обеднением основного состояния спектральных форм хл"а", и синглет-синглетная ($S - S$) аннигиляция возбужденных состояний ВП и хл"а".

В §4 излагается теория насыщения флуоресценции фитоплактона, основанная на приближенном аналитическом решении системы кинетических уравнений при "прямоугольном" распределении плотности потока фотонов F в импульсе и в поперечном сечении пучка. Для кривой насыщения флуоресценции получена формула

$$\Phi^{-1} = \Phi_0^{-1} \frac{2 \kappa_1 \rho}{(W_{12} + 1)(W_{12} + 1 + \rho) (-1 + \sqrt{1 + 4 \delta_1 \rho / (W_{12} + 1 + \rho)^2})}$$

в которой введены следующие обозначения: $\rho = \sigma_n F / \rho_1$ - параметр, пропорциональный плотности потока фотонов F ; σ_n , ρ_1 - сечение поглощения на длине волны возбуждения и скорость внутримолекулярной дезактивации молекул ВП; $\delta_1 = G_1 n_{01} / 2 \rho_1$ - параметр, пропорциональный константе скорости $S - S$ аннигиляции молекул ВП G_1 ; n_{01} - локальная концентрация этих молекул; $W_{12} = \kappa_{12} n_{02} / \rho_1$ - отношение скоростей переноса энергии с ВП на хл"а" ($\kappa_{12} n_{02}$) к скорости внутримолекулярной дезактивации ρ_1 ; n_{02} - локальная концентрация молекул наиболее

длинноволновой формы хл"а".

Нелинейность зависимости $\Phi^{-1}(F)$ обусловлена S-S аннигиляцией, поскольку при $I_1 \rightarrow 0$ Φ^{-1} линейно зависит от F. Показано, что в случае $I_1 \gg I$ существует довольно широкий диапазон изменения плотности потока фотонов F, в котором Φ^{-1} линейно зависит от \sqrt{F} :

$$\Phi^{-1}(F) = A\sqrt{F} + B$$

а коэффициенты A и B определяются параметрами объекта (сечением поглощения ВП, отношением концентрации ВП к концентрации хл"а" и т.д.) и обратно пропорциональны средней (по зондируемому объему) концентрации хл"а". Область значений F, в которой Φ^{-1} линейно зависит от \sqrt{F} , названа в работе областью корневой зависимости.

В §5 проведено экспериментальное исследование насыщения флуоресценции нескольких видов чистых культур водорослей. Параграф состоит из 5 разделов. В первом разделе приводится описание лазерного флуориметра, основными элементами которого являются ИАГ: Nd³⁺ - лазер с удвоителем частоты (длина волны возбуждения $\lambda_{\text{возб}} = 532$ нм), лазер на красителях с перестраиваемыми длиной волны излучения и частотой повторения импульсов, и автоматизированная система регистрации спектров, состоящей из оптического многоканального анализатора ОМА-1 и микрокомпьютера TRS-80. Основные параметры лазерного излучения на длине волны 532 нм: длительность импульса $\tau_n = 11$ нс, максимальная плотность потока фотонов в излуче с исследуемым объектом $F_{\text{max}} = 2,5 \cdot 10^{24}$ см⁻²с⁻¹, частота повторения импульсов 7,5 Гц.

Во втором разделе §5 проведен анализ данных о насыщении флуоресценции шести видов чистых культур водорослей, относящихся к типам диатомовых, приривневых, золотистых и зеленых. Теоретический вывод о линейной зависимости Φ^{-1} от \sqrt{F} подтвердился во всех экспериментах - в подавляющем большинстве случаев экспериментальные точки аппроксимировались прямой линией с относительным среднеквадратичным отклонением меньше, чем 1%. Тем самым показана определяющая роль S-S аннигиляции в насыщении флуоресценции. Кроме того экспериментально был

установлен важный факт очень слабой ($\pm 5\%$) зависимости углов наклона кривых насыщения, нормированных на значение $\Phi^{-1}(F_{\text{fix}})$, от вида водорослей (здесь F_{fix} - фиксированное значение плотности потока фотонов в области $F_{\text{fix}} \sim F_{\text{max}}$).

В третьем разделе §5 экспериментально исследована возможность определения концентрации хл"а" по формулам $C_{\text{хл"а"}}$, мкг/л = $\alpha A^{-1} = \beta B^{-1}$. Коэффициенты α и β определялись по измерениям $C_{\text{хл"а"}}$ стандартной экстракционной методикой. Показано, что количественное определение $C_{\text{хл"а"}}$ по коэффициенту A^{-1} возможно с точностью $\pm 40...50\%$ без предварительной идентификации водорослей. В связи с неточностью определения $B \ll A\sqrt{F}$, разброс коэффициента β больше.

В четвертом разделе §5 исследовано влияние пигментного состава на коэффициент α . Показано, что разброс значений в пределах каждой из исследованных чистых культур вызван изменением пигментного состава в процессе роста культуры.

В пятом разделе §5 проводится оценка константы скорости S-S аннигиляции G_1 из экспериментально измеряемого отношения A/B. Считая $W_{12} = I$ (вероятность переноса с ВП на хл"а" 50%) и взяв для σ_n , n_{01} и ρ_1 оценочные значения $\sigma_n = 2 \cdot 10^{-16}$ см⁻²с⁻¹, $n_{01} = 0,1$ М = $6 \cdot 10^{19}$ см⁻³ и $\rho_1 = 3 \cdot 10^8$ с, мы получили значение $G_1 \approx 1,5 \cdot 10^{-9}$ см³с⁻¹, неплохо согласующееся с литературными данными.

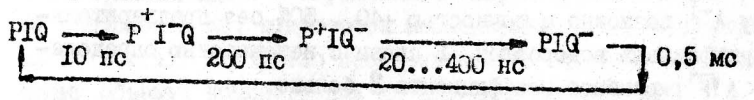
Вторая глава диссертации целиком посвящена обзору современных представлений о первичных стадиях фотосинтеза, определяющих, в частности, флуоресцентный отклик Ф1 на лазерное возбуждение. Глава состоит из четырех параграфов.

В §1 рассмотрена структура фотосинтетической единицы в соответствии с представлениями о хлорофилл-белковых комплексах.

В §2 приводятся современные представления о влиянии состояния реакционного центра (РЦ) фотосистемы 2 (ФС 2) на интенсивность флуоресценции, выражающиеся в кривой индукции флуоресценции (кривой Каутского). Показано, что флуоресценция объекта содержит два компонента: постоянную (не зависящую от состояния РЦ) и переменную флуоресценцию. Последняя возникает в результате рекомбинации зарядов в РЦ, находящемся в закрытом состоянии РЦ⁻. Здесь Р - пигмент (хлоро-

(мл), входящий в состав РЦ ФС 2, на который переносится энергия возбуждения, "захваченная" светособирающей антенной; I - промежуточный акцептор электрона, отбираемого от Р и дозируемого первичному стабильному акцептору электрона - Q.

В §3 рассматривается кинетика первичных фотофизических процессов и функционирование РЦ ФС 2 [4]. Процессы, индуцируемые попаданием энергии возбуждения в РЦ, можно представить цепочкой



(под стрелками переходов показаны времена, за которые они происходят).

Переменная флуоресценция возникает в результате рекомбинации зарядов первичной пары $P^+ I^- \rightarrow PI$ + флуоресценция, происходящей за время 2...4 нс в условиях, когда Q восстановлен и не может принять электрон (в закрытом РЦ).

В §4 приводятся литературные данные о замедленной флуоресценции фотосинтезирующих организмов и возможностях ее использования для диагностики объекта.

В третьей главе работы проведено теоретическое и экспериментальное исследование влияния РЦ фотосистемы 2 на характеристики флуоресценции при импульсном лазерном возбуждении. Глава состоит из четырех параграфов.

В §1 проводится оценка числа возбуждений, приходящихся на один РЦ за время импульса $\Phi_{РЦ_{имп}}$ (фотоны на РЦ на импульс). Рассмотрен конкретный случай импульса с длительностью 10 нс, часто используемого при зондировании. Показано, что при малой частоте повторения зондирующих импульсов (когда период повторения импульсов T много больше времени окисления $Q^- \tau_Q$) переменная флуоресценция не должна проявляться по двум причинам: 1) в случае $\Phi_{РЦ_{имп}} \gg I$ она находится в сильном насыщении и ее вклад в общую флуоресценцию пренебрежимо мал; 2) поскольку длительность импульса $\tau_{имп}$ много меньше времени восстановления окисленного при разделении зарядов первичного донора P^+ , основная часть фотонов взаимодействует с РЦ в тушащем состоянии $P^+ IO^-$. Экспериментальное подтверждение

этих выводов было получено в большой серии экспериментов, проведенных в автоматическом режиме с помощью специальной программы, позволяющей получать спектры после каждого выстрела лазера при частоте повторения импульсов 7,5 Гц. Исследования кинетики установления флуоресцентного сигнала показали; при использованном нами импульсном лазерном возбуждении не наблюдается ни индукции флуоресценции, возбуждаемой лазером, ни влияния постоянного света на квантовый выход флуоресценции, что свидетельствует об отсутствии вклада переменной флуоресценции в регистрируемый сигнал.

В §2 разработана строгая теория учета влияния РЦ на флуоресцентный отклик при импульсном лазерном для случая полностью восстановленных (закрытых) РЦ (PIQ^-) - например, в присутствии диурона, блокирующего перенос электрона с Q^- . Получено аналитическое выражение для числа квантов переменной флуоресценции:

$$N_v = \frac{N_v^{max}}{1 + \tau_v/\tau_n} \left\{ Z + \frac{\tau_v}{\tau_n} Z^2 \right\}$$

Здесь $Z = [1 + (\nu \tau_v)^{-1}]^{-1}$, ν - частота попадания возбуждений в РЦ, τ_v - время затухания переменной флуоресценции, N_v^{max} - "насыщенное" значение переменной флуоресценции.

Из приведенной зависимости следует, что при $\Phi_{РЦ_{имп}} \gg I$ переменная флуоресценция "насыщена" и является лишь малой поправкой к постоянной даже в случае полностью восстановленных РЦ. Оценка важна для определения флуоресцентного отклика параметр $\Phi_{РЦ_{имп}}$ из экспериментально получаемых зависимостей Φ^{-1} от \sqrt{F} в случае присутствия диурона, когда вклад переменной флуоресценции возрастает с уменьшением $\Phi_{РЦ_{имп}}$, и без диурона, когда она не проявляется даже при малых значениях $\Phi_{РЦ_{имп}}$. На основе разработанной теории насыщения переменной флуоресценции получено значение $\Phi_{РЦ_{имп}} \approx 60$ при $F \approx 2,5 \cdot 10^{24} \text{ см}^{-2} \text{ с}^{-1}$ (длина волны возбуждения 532 нм). Обработка этих же экспериментальных данных позволила оценить время затухания переменной флуоресценции $\tau_v \approx 3 \text{ нс}$, которое хорошо согласуется с литературными данными [4].

В §3 теоретически анализируется зависимость квантового выхода флуоресценции от периода повторения лазерных импульсов

Т. В основе этой зависимости лежит возможность накопления PIG^- в "закрытом" состоянии PIG^- от импульса к импульсу при подходе T к величине τ_a . Получена оценка $\Phi_{PIG} \sim 2$ для использованного нами для измерения этой зависимости импульса лазера на красителях ($\lambda_{возб} = 575$ нм). В этом случае число квантов флуоресценции приближенно выражается формулой

$$N_{фл} \approx N_0 + N_V^{max} \exp(-T/\tau_a)$$

где N_0 и N_V^{max} - числа квантов постоянной и переменной флуоресценции соответственно при $T \ll \tau_a$.

В §4 проведено экспериментальное исследование зависимости $N_{фл}(T)$ и сравнение ее с теоретической. Предложена методика определения функционального состояния водорослей по соотношению $N_V^{max} / (N_V^{max} + N_0)$, получаемого путем соответствующей обработки экспериментальной зависимости $N_{фл}(T)$. Методика апробирована на различных культурах водорослей, находящихся в различном функциональном состоянии.

В четвертой главе проводится анализ формы полосы флуоресценции некоторых видов водорослей с помощью метода Фурье деконволюции спектров. Глава состоит из трех параграфов.

В §1 приведен обзор литературных данных о положениях пиков низкотемпературной флуоресценции фотосинтезирующих объектов и их интерпретация. Основные полосы, проявляющиеся в низкотемпературных спектрах флуоресценции, обозначены по положению их максимумов на шкале длин волн: F680, F685, F695, F710, F725-735.

В §2 подробно излагаются основы метода Фурье-деконволюции (метода разрешения перекрывающихся спектральных линий) [5].

В §3 метод деконволюции применяется для анализа компонентов, составляющих полосу флуоресценции нескольких видов чистых культур водорослей при комнатной и низких температурах. Показано, что в спектре флуоресценции водорослей при комнатной температуре содержатся те же полосы, что и в низкотемпературных спектрах. Предложено использовать различия в "наборе" компонентов для каждого вида водорослей для определения видового состава фитопланктона.

Основные результаты диссертационной работы

1. Разработана теория насыщения флуоресценции фитопланктона. На основе приближенных аналитических выражений показано, что основной вклад в насыщение вносит $S-S$ аннигиляция возбужденных состояний молекул вспомогательных пигментов-каротиноидов. Из теории следует корневая зависимость числа квантов флуоресценции от плотности потока фотонов возбуждающего излучения F : $\Phi^{-1}(\sqrt{F})$, где Φ - интенсивность флуоресценции фитопланктона, нормированная на интенсивность сигнала комбинационного рассеяния воды. Предсказанная зависимость наблюдалась во всех экспериментах с высокой точностью, что подтверждает теоретический вывод об определяющей роли $S-S$ аннигиляции в насыщении флуоресценции.

2. Предложен метод определения концентрации хл "а" в фитопланктоне *in-vivo* по параметрам прямой $\Phi^{-1}(\sqrt{F})$. Возможность количественного определения хл "а" *in-vivo* проверена на четырех чистых культурах водорослей с существенно различающимся набором каротиноидов. Полученные результаты показывают возможность оценки концентрации хл "а" в фитопланктоне без предварительной идентификации его видового состава. Погрешность определений ($\pm 40\%$) связана с различием в сечениях поглощения каротиноидов на длине волны зондирования и других спектроскопических характеристик для разных видов водорослей; их предварительная идентификация может улучшить точность определения концентрации.

3. На основе современных представлений о рекомбинационной природе переменной флуоресценции разработана теория взаимодействия лазерных импульсов с фотосинтетической единицей. Показано, что основным параметром, определяющим величину вклада переменной флуоресценции в общую флуоресценцию, является число возбуждений, приходящееся на один реакционный центр за время импульса ($\Phi_{PIG} \cdot \tau_{имп}$). На основе разработанной теории насыщения переменной флуоресценции экспериментально оценено ее время жизни $\tau_V \approx 3$ нс, а также получено значение параметра $\Phi_{PIG} \approx 60$ при $F \approx 2,5 \cdot 10^{24} \text{ см}^{-2} \text{ с}^{-1}$. Доказана корневая зависимость Φ_{PIG} от F при $\Phi_{PIG} \gg 1$.

4. Предложен метод определения функционального состояния водорослей, составляющих ФП, по соотношению переменной и постоянной флуоресценции, получаемому из зависимости числа квантов флуоресценции от частоты повторения лазерных импульсов в случае ФРЦ_{имп} ~ I.

5. Впервые методом Фурье-деконволюции исследована структура полосы флуоресценции водорослей при комнатной температуре. Показано, что она содержит те же компоненты, что и низкотемпературный спектр. Показана возможность идентификации типа водорослей на основе структуры полосы флуоресценции, выявляемой с помощью Фурье-деконволюции.

Основные результаты диссертации представлены в следующих работах:

1. Баулин Е.В., Брагинская О.В., Демидов А.А., Иванов И.Г., Ищенко В.З., Рубин Л.Б., Фадеев В.В., Чекалок А.М. Нелинейная лазерная флуориметрия фотосинтезирующих организмов. - В кн.: XI Всес. конф. по когерентной и нелинейной оптике. Ереван, ноябрь 1982, ч. II, с. 717-718.

2. Баулин Е.В., Иванов И.Г., Маторин Д.Н., Фадеев В.В. К проблеме лазерной диагностики фитопланктона: исследование факторов, определяющих флуоресцентный отклик фитопланктона. - В кн.: Всес. семинар "Проблемы лазерного аэрозондирования поверхности Земли", Ташкент, 14-16 ноября 1984, с. 51.

3. Гоголинская Т.А., Иванов И.Г., Папаева С.В., Серов Н.Я., Цивевский В.В. О точности определения температуры и солености морской воды методом лазерной КР спектроскопии. - В кн.: Всес. семинар "Проблемы лазерного аэрозондирования поверхности Земли", Ташкент, 14-16 ноября 1984, с. 54-55.

4. Baulin E.V., Fadeev V.V., Ivanov I.G., Rubin L.B., The studing of the photosynthetic organisms fluorescence nature band under the laser excitation. - In: 1'st symposium on laser spectroscopy, august 28-30 1986, Pecs, Hungary, p.P/19.

5. Abroskin A.G., Ivanov I.G., Nolde S.E., Fadeev V.V., Fedorov V.V. A phytoplankton and dissolved organic matter monitoring in water by nonlinear & multifrequency laser-induced

fluorescence. - In: 1'st symposium on laser spectroscopy, august 28-30 1986, Pecs, Hungary, p.P/22.

Цитированная литература

1. Мажес Р. Применение лазеров для дистанционного зондирования в аналитических целях. - В кн.: Аналитическая лазерная спектроскопия. /Под. ред. Н.Оменетто, М.: Мир, 1982, с.325-448.
2. Фадеев В.В. Лазерная спектроскопия водных сред. - Дисс. ... докт. физ.-мат. наук, М., 1983, - 455 с.
3. Клышко Д.Н., Фадеев В.В. Дистанционное определение концентрации примесей в воде методом лазерной спектроскопии с калибровкой по комбинационному рассеянию. - ДАН СССР, 1978, т.238, № 2, с.320-323.
4. Климов В.Е., Красновский А.А. Участие феофитина в первичных процессах переноса электрона в реакционных центрах фотосистемы II. - Биофизика, 1982, т.27, вып. I, с.179-189.
5. Kauppinen J.K., Moffatt D.J., Mantsch H.N., Cameron D.G. Fourier self-deconvolution: a method for resolving intrinsically overlapped bands. - Appl.Spectroscopy, 1981, v.35, N3, p.271-276.