

基于可变光脉冲诱导荧光的浮游植物 光合作用参数测量系统设计

石朝毅¹ 高先和^{1*} 殷高方² 周泽华¹ 卢军¹ 胡学友¹

¹合肥学院电子信息与电气工程系, 安徽 合肥 230601

²中国科学院安徽光学精密机械研究所国家环境保护环境光学监测技术重点实验室, 安徽 合肥 230031

摘要 浮游植物光合作用参数的快速测量对水华和赤潮灾害预警及水体生态研究具有重要作用。针对高速重复脉冲(FRR)光合作用参数测量技术中由窄脉冲光源激发引起的高数据采样率问题,采用单光脉冲实现单周转模式激发,应用脉冲积分法实现弛豫模式微弱光脉冲信号检测,设计了基于可变光脉冲诱导荧光的浮游植物光合作用参数测量系统,将数据采样率需求由10 MS/s以上降低至1 MS/s。实现了浮游植物光系统II(PSII)功能吸收截面、PSII最大光化学量子产率以及 Q_A^- (还原后的初级电子受体)再氧化时间常数的快速测量。实验表明,测量结果的相对标准偏差均小于3%。

关键词 光学器件; 光合作用参数; 可变光脉冲; 荧光; 浮游植物

中图分类号 O439 **文献标识码** A

doi: 10.3788/LOP53.072301

Design of Phytoplankton Photosynthetic Parameter Measurement System Based on Variable Pulse Induced Fluorescence

Shi Chaoyi¹ Gao Xianhe¹ Yin Gaofang² Zhou Zehua¹ Lu Jun¹ Hu Xueyou¹

¹Department of Electronic Information and Electrical Engineering, Hefei University, Hefei, Anhui 230601, China

²State Environmental Protection Key Laboratory of Optical Monitoring Technology, Anhui Institute of Optics and Fine Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Hefei, Anhui 230031, China

Abstract Rapid measurement of phytoplankton photosynthetic parameters is important for bloom and red tide prediction as well as water ecological research. In order to solve the problem of high data sampling rate caused by narrow pulse light source when the fast repetition rate (FRR) method is applied, a phytoplankton photosynthetic parameter measurement system based on variable pulse induced fluorescence is designed. The designed system utilizes a single pulse to realize the single turnover excitation mode, and employs pulse integration to implement weak light pulse signal detection in the relaxation mode. The data sampling rate can be reduced from higher than 10 MS/s to 1 MS/s. The functional absorption cross section of photosystem II (PSII), maximum quantum yield of photochemistry in PSII, and Q_A^- (reduced primary electron acceptor) reoxidation time constant, can be measured rapidly. The relative standard deviation of the three parameters is less than 3%.

Key words optical devices; photosynthetic parameter; variable pulse; fluorescence; phytoplankton

OCIS codes 230.0250; 260.2510; 010.4450

1 引言

浮游植物光合作用参数测量能够实现浮游植物生长趋势的实时监测,为水华和赤潮灾害预警防治提供

收稿日期: 2016-02-01; **收到修改稿日期:** 2016-03-04; **网络出版日期:** 2016-06-22

基金项目: 国家自然科学基金(31400317)、安徽省高校自然科学研究重点项目(KJ2016A594, KJ2014A211)、安徽省自然科学基金(1408085MD72)

作者简介: 石朝毅(1986—),男,博士,讲师,主要从事光电信息处理方面的研究。E-mail: chaoyi@mail.ustc.edu.cn

* **通信联系人.** E-mail: gaohx@hfu.edu.cn

重要依据^[1-4],同时对于水体生态环境评估以及海洋环境研究也有重要作用^[5-6]。目前主要的浮游植物光合作用参数测量包括¹⁴C 标记法、¹⁸O 标记法、叶绿素荧光法^[7]。其中,叶绿素荧光法作为一种非侵入、便捷、可靠的光合作用参数测量方法,已被广泛应用于浮游植物光合作用参数测量^[8-11]。Mauzerall^[12]最早提出了泵与探针技术(P&P),在此基础上,Schreiber^[13]提出了脉冲振幅调制(PAM)技术并实现了产品商业化;Kolber 等^[14]提出了高速重复脉冲(FRR)技术,并同样有商业化产品投入使用。国内也开展了相关研究,王俊生等^[15]研制了基于延迟荧光的高等植物光合速率检测系统,刘晶等^[16]研制了基于 PAM 技术的浮游藻类光合作用活性监测仪器。

与 P&P 和 PAM 技术相比,FRR 技术具有更高的信噪比,除了能够测量 P&P、PAM 技术均可测量的浮游植物光系统 II(PSII)最大光化学量子产率 F_v/F_m (F_v 为最大可变荧光产率, F_m 为最大荧光产率)外,还能够测量更多光合作用参数,如 PSII 功能吸收截面 σ_{PSII} 、 Q_A^- (还原后的初级电子受体)再氧化时间常数 τ_{Q_A} 等。该技术基于浮游植物活体叶绿素荧光产率与光合作用电子传递之间的关系,以 Q_A 为节点,采用单周转和弛豫两种激发模式调节光合作用的电子传递状态,并诱导产生相应的荧光产率曲线。通过荧光产率曲线分析,获取光合作用参数^[17]。在 FRR 技术基础上,Oxborough 等^[18]发展了计算 PSII 电子传递速率的吸收算法,使得 FRR 技术能够直接应用于浮游植物总光合作用的评估。随后,Silsbe 等^[19]进一步发展了吸收算法中系数的校正方法。本课题组已建立了基于 FRR 技术的测量系统,实现了部分光合作用参数(σ_{PSII} 、 F_v/F_m)的测量^[20]。然而,FRR 技术采用窄光脉冲(半峰全宽约为 $0.3\sim 2\ \mu\text{s}$)序列作为激发光源,光脉冲频率最高达 250 kHz,且要求信号采样率达到 10 MS/s 以上以实现光脉冲信号的无失真采集^[15],因此,对快速窄光脉冲驱动电路、高速数据采集电路的设计均提出较高要求,增加了系统的复杂度和设计成本。

本文对 FRR 技术进行了改进,设计了一种基于可变光脉冲诱导荧光的浮游植物光合作用参数测量系统。该系统将单周转模式中的快速重复光脉冲激发改为单光脉冲激发,并对弛豫模式的微弱光脉冲信号进行积分检测,降低了系统对采样率的要求,进而降低了系统复杂度,实现了 PSII 功能吸收截面 σ_{PSII} 、PSII 最大光化学量子产率 F_v/F_m 以及 Q_A^- 再氧化时间常数 τ_{Q_A} 的快速准确测量。

2 测量原理

PSII 的捕光色素以一定的光能吸收与传递效率(即 PSII 功能吸收截面 σ_{PSII})将光能捕获并传递至反应中心(RCII),反应中心色素 P680 受激发射电子,电子传递至初级电子受体 Q_A 将其还原为 Q_A^- ,使反应中心关闭,引起荧光产率上升;随后, Q_A^- 将电子传递至质醌(PQ)池,反应中心被再次打开,引起荧光产率下降。 Q_A^- 将电子传递至 PQ 池需要 $100\sim 300\ \mu\text{s}$,若采用合适的激发方式,可在 $100\ \mu\text{s}$ 内还原全部 Q_A ,而 Q_A^- 的再氧化过程基本可以忽略,该激发方式称为单周转模式。该模式下诱导产生的荧光产率曲线的离散形式可描述为

$$f_n = F_o + (F_m - F_o)C_n, \quad (1)$$

$$C_n = C_{n-1}A_n + I_n\sigma_{\text{PSII}}(1 - C_{n-1}A_n), \quad (2)$$

$$A_n = A_{n-1} + C_{n-1}/\sigma_{\text{PSII}}, \quad (3)$$

式中 f_n 为第 n 个采样点, C_n 为第 n 个采样周期后关闭的 PSII 反应中心的比例, I_n 为第 n 个采样周期期间的激发能。利用(1)~(3)式拟合荧光产率曲线,可获取 PSII 功能吸收截面 σ_{PSII} ,同时可得初始荧光产率 F_o 和最大荧光产率 F_m ,并由此计算得到最大可变荧光产率 F_v ($F_v = F_m - F_o$)和 PSII 最大光化学量子产率 F_v/F_m ^[21-22]。

单周转模式激发结束后, Q_A^- 将电子传递至 PQ 池,荧光产率开始下降,称为弛豫模式。该模式采用光强足够小的窄光脉冲作为测量光,记录荧光产率下降曲线,以避免引起额外的光化学过程,干扰荧光产率衰减过程。荧光产率下降过程的离散形式可描述为

$$f_n = F_o + (F_m - F_o)\exp(-t/\tau_{Q_A}), \quad (4)$$

式中 F_o 和 F_m 由单周转模式测量得到。利用(4)式拟合荧光产率下降曲线,可计算得到 Q_A^- 再氧化时间常数 τ_{Q_A} ^[21-22]。

3 测量系统设计

测量系统如图 1 所示,包括光学系统和电子学系统两部分。光学系统主要包括发光二极管(LED)光源及准直与滤波单元、光学信号滤波及接收单元,电子学系统包括光源驱动单元、荧光及 LED 参考光信号探测单元和数据采集与分析单元。LED 光源在驱动模块的控制下产生光强、频率和占空比可调的激发光,激发光经光学准直与滤波后,照射样品池,诱导产生荧光信号。探测器收集的荧光信号和 LED 参考光信号经电流电压转换、二级放大等预处理后,由采集卡采集并传输至计算机进行光合作用参数反演。

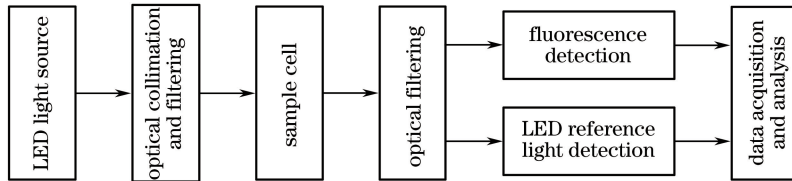


图 1 基于可变光脉冲诱导荧光的光合作用参数测量系统原理框图

Fig. 1 Block diagram of photosynthetic parameter measurement system based on variable pulse induced fluorescence

3.1 光学系统设计

3.1.1 LED 光源及准直与滤波单元

激发光源采用中心波长为 468 nm 的 9 个高亮蓝光 LED 组成的 LED 阵列,并对光源光进行准直。光源在单片机及金属氧化物半导体场效应晶体管(MOSFET)驱动下,能够产生光强高达 $20000 \mu\text{mol quanta} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、持续时间约为 $100 \mu\text{s}$ 的单光脉冲,实现单周转模式激发^[23];同时能够产生平均光强低至 $3 \mu\text{mol quanta} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、半峰全宽为 $0.3 \mu\text{s}$ 、脉冲间隔为 $60 \mu\text{s}$ 的光脉冲序列,实现弛豫模式激发^[23-24]。单周转模式采用单光脉冲进行激发,避免了快速窄光脉冲驱动电路的设计;同时由于脉冲持续时间约为 $100 \mu\text{s}$,采用 1 MS/s 的采样率即可实现无失真采集,降低了高速数据采集模块的设计难度。

由于 468 nm LED 的发射光谱呈高斯分布^[25],在荧光发射区(683 nm)仍有约 2% 的能量,该能量与荧光能量在同一个数量级甚至比荧光能量更高^[26]。因此,在激发光源前设置 BG 39 型带通滤光片(图 2),该滤光片对 683 nm 波长的透过率为 0.23%,可消除绝大部分光源光长波干扰。

3.1.2 光学信号滤波及接收单元

分别采用滨松公司的光电倍增管模块(H6779-01)和 First Sensor 公司的蓝光增强型 PIN 光电二极管(PC10-6B)进行荧光信号探测和 LED 参考光探测。荧光探测器前设置 HB670 型高通滤光片和 BP682 型带通滤光片组,滤除荧光波长之外的杂散光。LED 参考光探测器前设置 BG39 型带通滤光片,消除荧光对参考光测量的干扰。利用上述滤光片组合,将到达荧光探测器端面的光源光长波干扰由激发光强的 2% 降至仅约 0.003%。同时采用正交型探测光路,即 90° 方向探测荧光,进一步消除光源光长波干扰(图 2)。

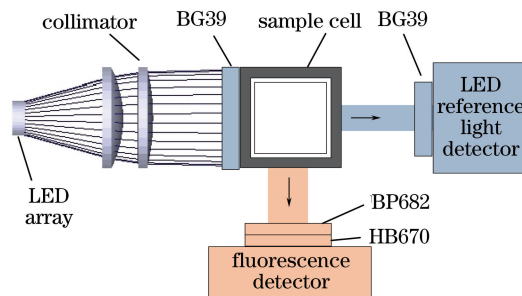


图 2 光学系统示意图

Fig. 2 Schematic diagram of optical system

3.2 电子学系统设计

3.2.1 荧光及参考光信号带宽

单周转或弛豫模式下,LED 参考光信号和荧光信号为突变信号或调制信号,信号带宽较大。为保证信号的无失真处理,需确定被测信号带宽,以设计带宽足够大的检测电路。信号带宽计算公式为^[27]

$$B_{BW} = \frac{0.35}{t}, \quad (5)$$

式中 t 为信号的上升时间(10%~90%),单位为 s;带宽的单位为 Hz。

图 3 为 LED 阳极电压信号,从中可以看出 LED 阳极电压上升时间为 178 ns,由(5)式得其带宽为 1.97 MHz。由于 LED 存在 2.7 V 的导通电压,其发光过程滞后于阳极电压上升过程,因此 LED 参考光信号的带宽小于 1.97 MHz。由于荧光为光致发光^[28],其发光过程滞后于 LED 发光过程,且根据活体浮游植物光合作用过程中荧光的发生过程可知,叶绿素荧光存在一个上升过程(图 4),因此,其带宽同样小于 1.97 MHz。

鉴于参考光信号和荧光信号的带宽均小于 2 MHz,为了无失真检测参考光信号和荧光信号,需设计带宽不小于 10 MHz 的电流/电压(I/V)转换电路和二级放大电路^[27]。

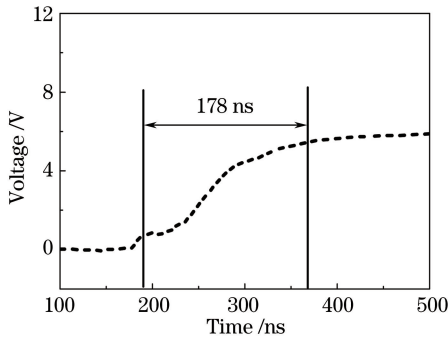


图 3 LED 阳极电压信号

Fig. 3 LED anode voltage

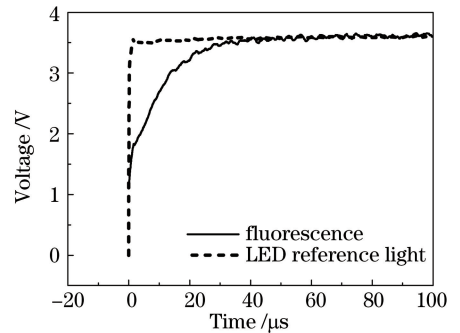


图 4 LED 参考光信号和荧光信号上升过程

Fig. 4 Rise process of LED reference light and fluorescence

3.2.2 I/V 转换电路

光电探测器输出信号均为电流信号,需进行 I/V 转换。I/V 转换电路的-3 dB 带宽计算公式为^[29]

$$f_{-3dB} = \sqrt{\frac{G_{BW}}{2\pi C_T R_F}}, \quad (6)$$

式中 G_{BW} 为运放增益带宽积, R_F 为反馈电阻, C_T 为运算放大器反相端总电容,包括探测器电容(C_{PD})和输入电容(C_{IN})。由于 I/V 转换电路的-3 dB 带宽与反馈电阻值 R_F 成反比,重点考虑带宽性能,因此需采用一个适中的跨阻增益级进行 I/V 转换。

为了维持放大器的稳定性, R_F 两端跨接一个反馈电容器 C_F ,最佳 C_F 值为^[22]

$$C_F = \sqrt{\frac{C_T}{2\pi R_F G_{BW}}}. \quad (7)$$

设计基于放大器 OPA656($G_{BW} = 230$ MHz)的 I/V 转换电路,应用(6)式和(7)式,结合放大器 OPA656 性能参数和探测器参数,分别计算得到荧光和 LED 参考光探测电路中 I/V 转换电路的配置参数及性能指标,如表 1 所示,满足信号带宽需求。

表 1 I/V 转换电路配置参数及性能指标

Table 1 I/V conversion circuit configurations and performance parameters

| Signal | Detector | Detector | Input | Feedback | Feedback | -3 dB |
|---------------------|----------|-------------|--------------|-------------|-------------------|-------|
| | | capacitance | capacitance | capacitance | resistance | |
| | | C_D /pF | C_{IN} /pF | C_F /pF | R_F /k Ω | /MHz |
| Fluorescence | H6779-01 | 10 | 2.8 | 1 | 25 | 10.7 |
| LED reference light | PC10-6B | 18 | 2.8 | 2 | 10 | 13.3 |

3.2.3 脉冲积分电路

单周转模式下,LED 参考光信号和诱导产生的荧光信号均较强,经 I/V 转换后电压均达到 2 V 左右,信噪比约为 28 dB,且为约 100 μ s 的连续信号,可采用 1 MS/s 采样率进行信号采集,并计算荧光产率曲线(图 5)。而弛豫模式下,经 I/V 转换后的荧光信号和 LED 参考光信号幅值仍然较小(约为几十毫伏)且信号脉

宽较窄(半峰全宽为 $0.3 \mu\text{s}$),需进一步放大,同时要求采样率达到 10 MS/s 以上^[14],以实现无失真采集窄脉冲信号,增加了系统设计难度。由于窄脉冲信号半峰全宽仅为 $0.3 \mu\text{s}$,而脉冲间隔为 $60 \mu\text{s}$,因此脉冲间隔期间采集了大量无用数据,增加了数据处理的复杂度。

采用积分检测法可解决以上问题。积分检测法对一定时间内的信号求和,能够实现微弱信号的无失真放大,且求和过程可以使探测器噪声与电路噪声等白噪声收敛为零,提高信号检测信噪比。但一般积分电路放电期间积分电流会在积分开关上造成残余电压,且需要采样保持电路以进行积分输出采集。针对积分检测电路的问题及弛豫模式信号的特点,设计了图 6 所示的 IVC102 脉冲积分电路。图 7 所示为 IVC102 原理框图及 LED 参考光信号的积分过程,其中,积分电容为 10 pF ,积分时间为 $0.5 \mu\text{s}$,采用开关-输入测量法进行积分。

开关-输入测量法通过控制积分开关 S1 和 S2,实现复位期、积分前保持期、积分期、保持期 4 个阶段,并与光脉冲控制信号配合,在光脉冲激发期间进行积分,脉冲间隔期间进行积分电容放电复位。放电复位期间,S1 打开,S2 闭合,积分电容 C1 放电。由于 S1 打开,且脉冲间隔期间无光电流,因此,积分输出电压 V_o 恢复为 0,消除了放电复位期间积分电流在积分开关上造成的残余电压对测量结果的影响。放电复位结束后,S2 打开, $15 \mu\text{s}$ 后光脉冲开始,S1 闭合,进入积分期, $0.5 \mu\text{s}$ 后打开 S1,积分结束,并进入保持期(约 $15 \mu\text{s}$)。保持期内,积分输出电压 V_o 保持不变,采用 1 MS/s 采样率即可实现无失真数据采集,降低了数据采样率需求,即降低了高速数据采集模块的设计难度,并避免了脉冲间隔期间采集大量无用数据,简化了数据处理过程;同时避免了采样保持电路的使用,简化了电路设计。荧光信号同样采用 IVC102 脉冲积分电路处理,积分电容与积分时间根据荧光信号大小自动调整。

3.2.4 光强标定与参数反演

分析(1)~(3)式可知, I_n 为第 n 个采样周期内的实际激发光能,单位为 $10^{20} \text{ quanta/m}^2$ 。采集得到的

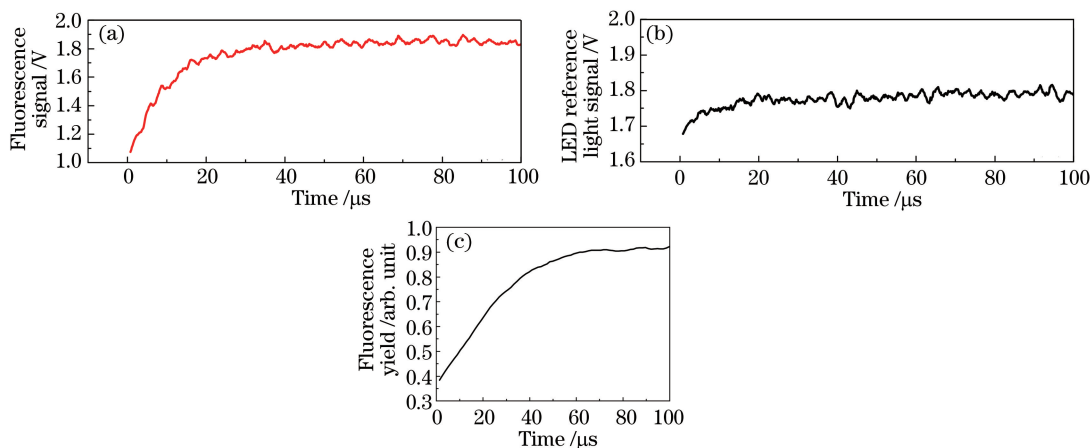


图 5 单周转模式下的信号。(a) 荧光信号; (b) LED 参考光信号; (c) 荧光产率曲线

Fig. 5 Signals under single turnover mode. (a) Fluorescence signal; (b) LED reference light signal; (c) fluorescence yield curve

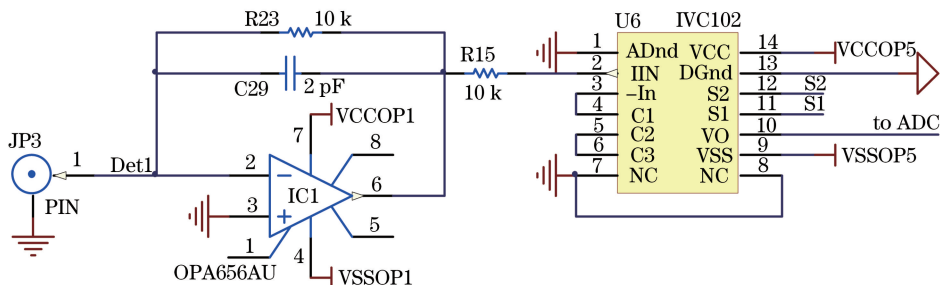


图 6 脉冲积分电路

Fig. 6 Pulse integration circuit

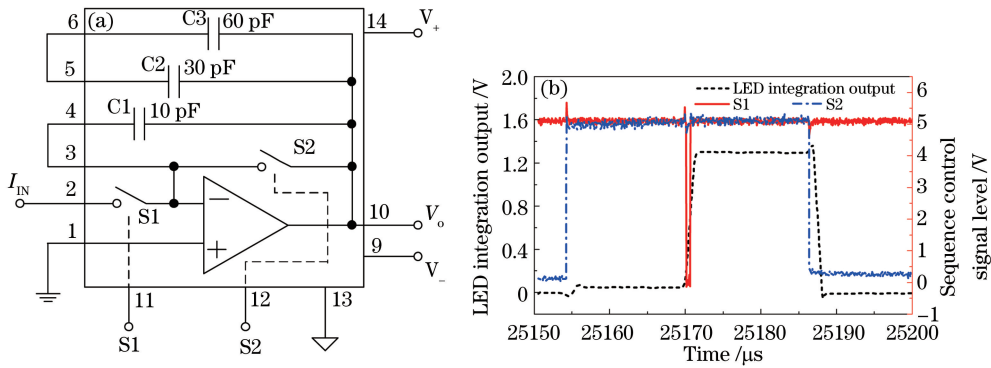


图 7 (a) IVC102 原理框图; (b) LED 参考光信号的积分时序及输出

Fig. 7 (a) Functional block diagram of IVC102; (b) integration sequence and output of LED reference light

LED 参考光信号 I'_n 为无量纲的标量, 仅表征采样点处的激发光强。因此需要建立 I_n 和 I'_n 之间的对应关系。 I_n 和 I'_n 之间存在一个系数 k , 该系数为与系统有关的常数, 可通过标定的方法确定^[17]。

采用一定光强的稳定蓝光 LED 直流光作为光源, 采用光量子计测量光量子通量密度 E , 单位为 $\mu\text{mol quanta} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 则第 n 个采样周期 Δt 内的激发光能为

$$I_n = E \cdot \Delta t, \quad (8)$$

单位为 $10^{20} \text{ quanta}/\text{m}^2$ 。同时采集 LED 直流光信号产生的直流电压值, 记为 I'_n , 则系数为

$$k = \frac{I_n}{I'_n}, \quad (9)$$

实际标定时, 采用多次测量求平均的方式消除 LED 光强的微小波动和电路噪声影响。

实际测量时, 采用系数 k 完成光强换算后即可进行荧光产率曲线拟合。单周转模式下荧光产率曲线采用最速下降法进行拟合, 反演得到 σ_{PSII} 、 F_o 、 F_v , 并计算得到 F_v/F_m ; 基于单周转模式反演结果的特点, 采用指数模型对弛豫模式下荧光产率曲线进行拟合, 得到 τ_{QA} 。 σ_{PSII} 、 F_o 、 F_v 和 τ_{QA} 的初始值根据经验分别确定为 $200 \times 10^{20} \text{ m}^2/\text{quanta}$ 、1、2、100 μs 。

4 系统稳定性分析

采用基于可变光脉冲诱导荧光的光合作用参数测量系统对暗适应状态下的正常生理状态蛋白核小球藻进行 8 次平行测量, 结果如表 2 所示, σ_{PSII} 、 F_v/F_m 和 τ_{QA} 的相对标准偏差均小于 3%, 系统具有良好的稳定性。

表 2 正常生理状态下蛋白核小球藻平行测量结果

Table 2 Parallel measurement results of *Chlorella pyrenoidosa* at normal physiological state

| Sample No. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | Relative standard deviation /% |
|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------------------------|
| $\sigma_{\text{PSII}}/(10^{20} \text{ m}^2/\text{quanta})$ | 258.6 | 263.1 | 251.4 | 249.8 | 260.3 | 259.9 | 258.3 | 262.5 | 2.06 |
| F_v/F_m | 0.657 | 0.640 | 0.639 | 0.670 | 0.651 | 0.662 | 0.649 | 0.655 | 1.05 |
| $\tau_{\text{QA}}/\mu\text{s}$ | 223 | 216 | 235 | 230 | 228 | 220 | 219 | 227 | 2.83 |

5 结 论

设计了一种基于可变光脉冲诱导荧光的浮游植物光合作用参数测量系统, 与 FRR 技术相比, 该系统采用单光脉冲实现单周转模式激发, 采用脉冲积分法实现弛豫模式微弱光脉冲信号检测, 使得信号采样率需求由 10 MS/s 降至 1 MS/s, 极大地降低了系统的设计难度和复杂度。实验结果表明, PSII 功能吸收截面 σ_{PSII} 、PSII 最大光化学量子产率 F_v/F_m 以及 τ_{QA} 再氧化时间常数 τ_{QA} 的相对标准偏差均小于 3%, 系统具有很好的稳定性。通过该系统获取浮游植物光合作用参数, 可为相关研究提供重要数据支持。此外, 该系统经过适当改进, 还可应用于高等植物光合作用参数测量。

参 考 文 献

- 1 Dubinsky Z. Photosynthesis[M]. Croatia: InTech, 2013.
- 2 Antonowicz J P, Mudryk Z, Zdanowicz M. A relationship between accumulation of heavy metals and microbiological parameters in the surface microlayer and subsurface water of a coastal Baltic lake[J]. Hydrobiologia, 2015, 762(1): 65-80.
- 3 Yin Gaofang, Zhao Nanjing, Hu Li, *et al.*. Classified measurement of phytoplankton based on characteristic fluorescence of photosynthetic pigments[J]. Acta Optica Sinica, 2014, 34(9): 0930005.
殷高方, 赵南京, 胡 丽, 等. 基于色素特征荧光光谱的浮游植物分类测量方法[J]. 光学学报, 2014, 34(9): 0930005.
- 4 Wu Zhenzhen, Yao Peng, Su Rongguo, *et al.*. Algae chemotaxonomy technology by fluorescence based on alternating trilinear decomposition analysis[J]. Chinese J Lasers, 2015, 42(5): 0515003.
吴珍珍, 姚 鹏, 苏荣国, 等. 基于交替三线形分解的浮游藻荧光识别分析技术研究[J]. 中国激光, 2015, 42(5): 0515003.
- 5 Barnes M K, Tilstone G H, Smyth T J, *et al.*. Absorption-based algorithm of primary production for total and size-fractionated phytoplankton in coastal waters[J]. Marine Ecology Progress Series, 2014, 504: 73-89.
- 6 Yusuf M A, Kumar D, Rajwanshi R, *et al.*. Overexpression of γ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements[J]. Biochimica Biophysica Acta, 2010, 1797(8): 1428-1438.
- 7 Pei Shaofeng, Laws E A, Ye Siyuan, *et al.*. Study on the discrepancy in applying ^{14}C tracer technique to measure marine primary productivity[J]. Marine Sciences, 2014, 38(12): 149-156.
裴绍峰, Laws E A, 叶思源, 等. 利用 ^{14}C 标记技术测定海洋初级生产力的争议[J]. 海洋科学, 2014, 38(12): 149-156.
- 8 Suggett D J. Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: Methods and applications[M]. Dordrecht: Springer, 2011.
- 9 Schreiber U, Klughammer C, Kolbowski J. Assessment of wavelength-dependent parameters of photosynthetic electron transport with a new type of multi-color PAM chlorophyll fluorometer[J]. Photosynthesis Research, 2012, 113(1): 127-144.
- 10 Zhang Wenting, Li Pengmin. Application of simultaneous measurement of prompt and delayed chlorophyll fluorescence and the 820 nm reflection kinetics in photosynthesis study[J]. Acta Biophysica Sinica, 2015, 31(3): 221-229.
张雯婷, 李鹏民. 瞬时与延迟叶绿素荧光及 820 nm 光反射动力学同步测量技术在光合作用研究中的应用[J]. 生物物理学报, 2015, 31(3): 221-229.
- 11 Perron M C, Qiu B, Boucher N, *et al.*. Use of chlorophyll a fluorescence to detect the effect of microcystins on photosynthesis and photosystem II energy fluxes of green algae[J]. Toxicon, 2012, 59(5): 567-577.
- 12 Mauzerall D. Light-induced fluorescence changes in *Chlorella*, and the primary photoreactions for the production of oxygen [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1972, 69(6): 1358-1362.
- 13 Schreiber U. Detection of rapid induction kinetics with a new type of high-frequency modulated chlorophyll fluorometer [J]. Photosynthesis Research, 1986, 9(1): 261-272.
- 14 Kolber Z, Falkowski P G. Use of active fluorescence to estimate phytoplankton photosynthesis *in situ* [J]. Limnology and Oceanography, 1993, 38(8): 1646-1665.
- 15 Wang Junsheng, Xu Wenhai, Li Jian, *et al.*. Design of photosynthesis rate system based on high-sensitive delayed fluorescence detection[J]. Opto-Electronic Engineering, 2007, 34(3): 118-122.
王俊生, 许文海, 黎 坚, 等. 高灵敏延迟荧光探测植物光合速率检测系统[J]. 光电工程, 2007, 34(3): 118-122.
- 16 Liu Jing. Method of phytoplankton photosynthesis activity measurement *in situ* and system design[D]. Hefei: University of Science and Technology of China, 2013.
刘 晶. 浮游植物光合作用活性原位测量方法与系统研制[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2013.
- 17 Kolber Z, Falkowski P. Fast repetition rate (FRR) fluorometer and method for measuring fluorescence and photosynthetic parameters: US5426306[P]. 1995-06-20.
- 18 Oxborough K, Moore C M, Suggett D J, *et al.*. Direct estimation of functional PSII reaction center concentration and PSII electron flux on a volume basis: A new approach to the analysis of fast repetition rate fluorometry (FRRf) data[J]. Limnology and Oceanography: Methods, 2012, 10(3): 142-154.
- 19 Silsbe G M, Oxborough K, Suggett D J, *et al.*. Toward autonomous measurements of photosynthetic electron transport

- rates: An evaluation of active fluorescence-based measurements of photochemistry[J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 2015, 13(3): 138-155.
- 20 Shi C Y, Zhang Y J, Yin G F, *et al.*. Measurement of algae PSII photosynthetic parameters using high-frequency excitation flashes[J]. *Chinese Optics Letters*, 2014, 12(8): 080101.
- 21 Kolber Z S, Prášil O, Falkowski P G. Measurements of variable chlorophyll fluorescence using fast repetition rate techniques: Defining methodology and experimental protocols[J]. *Biochimica Biophysica Acta*, 1998, 1367(1-3): 88-106.
- 22 Kolber Z S, Falkowski P G. Multiple protocol fluorometer and method: US6121053[P]. 2000-09-19.
- 23 Shi Chaoyi, Zhang Yujun, Yin Gaofang, *et al.*. Determining the optimal excitation condition of high-frequency flash method for algae photosynthetic parameters measurement[J]. *Acta Photonica Sinica*, 2015, 44(2): 0217002.
石朝毅, 张玉钧, 殷高方, 等. 快速光脉冲藻类光合作用测量方法的激发条件研究[J]. *光子学报*, 2015, 44(2): 0217002.
- 24 Liu Jing, Liu Wenqing, Zhao Nanjing, *et al.*. Phytoplankton chlorophyll fluorescence characteristics excited by various light qualities and intensities[J]. *Acta Optica Sinica*, 2013, 33(9): 0930001.
刘晶, 刘文清, 赵南京, 等. 浮游植物在不同光质和光强激发下的叶绿素荧光特性[J]. *光学学报*, 2013, 33(9): 0930001.
- 25 Yang Chu, Jin Shangzhong, Shao Maofeng, *et al.*. Research on LED performance of glass substrate with COB packaging [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2015, 52(1): 012304.
杨初, 金尚忠, 邵茂丰, 等. 玻璃基板 COB 封装的 LED 性能研究[J]. *激光与光电子学进展*, 2015, 52(1): 012304.
- 26 Wen Jing, Wen Yumei, Li Ping, *et al.*. Test method for the electrical characteristics of LED based on photo excitation and photo detection[J]. *Journal of Optoelectronics • Laser*, 2011, 22(7): 1051-1056.
文静, 文玉梅, 李平, 等. 采用光激励和光检测的 LED 电特性测试方法[J]. *光电子 • 激光*, 2011, 22(7): 1051-1056.
- 27 Li Jiaming. Study on high precision, wide bandwidth CMOS fully differential operational amplifier technology [D]. Chengdu: University of Electronic Science and Technology of China, 2006.
李嘉明. 高精度、宽带宽 CMOS 全差分运算放大器技术研究[D]. 成都: 电子科技大学, 2006.
- 28 Lakowicz J R. Principles of fluorescence spectroscopy (3rd edition)[M]. New York: Springer Science & Business Media, 2013.
- 29 Graeme J. Photodiode amplifiers: Op amp solutions[M]. New York: McGraw-Hill, Inc., 1995.