

КОМП'ЮТЕРНІ ЗАСОБИ, МЕРЕЖІ ТА СИСТЕМИ

V. Kondratov, N. Milchenko

MEASUREMENT OF SUPERFICIAL CONCENTRATION OF THE CHLOROPHYLL IN LEAVES OF PLANTS

In article the approach to measurement of superficial concentration of chlorophyll in leaves of the plants, based on redundant measurements is considered. The estimation of errors of measurements is given.

Key words: chlorophyll, measurement, concentration, leaves of plants.

Розглянуто новий підхід до вимірювання поверхневої концентрації хлорофілу в листі рослин, що оснований на надлишкових вимірюваннях. Приведена функціональна схема пристрою для його реалізації. Дана оцінка похибок вимірювань.

Ключові слова: хлорофіл, вимірювання, концентрація, листя рослин.

Рассмотрен новый подход к измерению поверхностной концентрации хлорофилла в листьях растений, основанный на избыточных измерениях. Приведена функциональная схема устройства для его реализации. Дана оценка погрешностей измерений.

Ключевые слова: хлорофилл, измерение, концентрация, листья растений.

© В.Т. Кондратов,
А.В. Мильченко, 2011

УДК 556.01

В.Т. КОНДРАТОВ, А.В. МИЛЬЧЕНКО

ИЗМЕРЕНИЕ ПОВЕРХНОСТНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЬЯХ РАСТЕНИЙ

Введение. Важную роль в жизни человека играет хлорофилл, содержащийся в листьях растений. При участии фотосинтетических пигментов хлорофилла осуществляется процесс фотосинтеза, т. е. процесс поглощения, превращения и использования энергии Солнца и Луны (квантов света) как в различных реакциях синтеза и восстановления (эндэргонических реакциях), так и в реакциях синтеза органических веществ из неорганических, например, из углекислого газа.

Измерение поверхностной концентрации хлорофилла в листьях растений является важной технической задачей. Ее актуальность не вызывает сомнений, поскольку она связана как с проблемами обеспечения экологической безопасности страны, одной из задач которой является определение состояния растительного покрова по значению концентрации хлорофилла, так и с проблемой обеспечения высокой точности ее измерений.

В работе рассматривается техническое решение цифрового измерителя поверхностной концентрации хлорофилла в листьях растений, реализующий метод избыточных измерений, дана оценка погрешностей измерений.

Объект исследования – процесс и средство измерений поверхностной концентрации хлорофилла в листьях растений.

Предмет исследования – процесс избыточных измерений поверхностной концентрации хлорофилла в листьях растений.

Цель работы – ознакомление ученых и специалистов с возможностью создания высокоточного цифрового измерителя поверхностной концентрации хлорофилла в листьях

растений, реализующий метод избыточных измерений.

Результаты исследований

Объект измерения. Известно, что в клетках большинства растений имеются пластиды – небольшие тельца, в которых происходит синтез или накопление органических веществ. Наиболее важные пластиды, называемые хлоропластами, содержат зеленый пигмент хлорофилл. Последний относится к классу белков. Хлорофилл придает растению зеленую окраску и играет важнейшую роль в фотосинтезе.

Изучение образца листа под микроскопом показывает, что зеленый пигмент не распределен по клетке равномерно, а сосредоточен в мелких тельцах, называемых хлоропластами. Хлоропласты построены из мембран, плотно уложенных параллельно друг другу. Каждая клетка содержит от 20 до 100 хлоропластов, которые могут расти и делиться, образуя дочерние хлоропласты. Хлоропласт, подобно митохондриям, имеет двухслойную наружную мембрану, в которой имеется множество мелких телец (гран), содержащих хлорофилл. Слоистое (ламельлярное) строение гран облегчает перенос энергии в процессе фотосинтеза от одной молекулы к близлежащей. В ламеллах обнаружены повторяющиеся структуры, названные квантосомами, которые состоят примерно из 230 молекул хлорофилла каждая. Предполагается, что квантосома служит функциональной единицей фотосинтеза. Остальная часть хлоропласта, находящаяся между гранями, называется стромой; она содержит ферменты, осуществляющие «темновые» реакции. Типичные хлоропласты – это дисковидные образования диаметром около 5 мкм и толщиной 1 мкм [1].

Отметим, что поверхностная концентрация – это концентрация слоя хлоропласта толщиной 1 мкм на поверхности листа растения заданной по размеру площади, содержащего хлорофилл. Для удобства расчетов в практических измерениях используются следующие площади поверхности образцов листа растений, нормированные по размеру:

- 1 мм² (содержит слой хлоропластов, состоящий, примерно, из 50929 дисков хлоропластов толщиной 1 мкм);
- 10 мм² (содержит слой хлоропластов, состоящий, примерно, из 5092958 дисков хлоропластов толщиной 1 мкм);
- 100 мм² (содержит слой хлоропластов, состоящий, примерно, из 50929581 дисков хлоропластов толщиной 1 мкм).

При этом длина волны потока оптического излучения должна быть меньше 1000 нм. На практике используется поток оптического излучения с длиной волны меньше 900 нм.

Техническое решение. В основу разработанного технического решения цифрового измерителя поверхностной концентрации (ЦИПК) хлорофилла в листьях растений положено воздействие на него потоком оптического излучения заданной мощности и длины волны и преобразование в напряжение, а затем и в код числа мощности отраженного и ослабленного потока оптического излучения. Причем измерения мощности ослабленного потока оптического излучения осуществляется на 3-х длинах волн, вместо 2-х длин волн, как это предлагается в

[2]. За основу нами взята математическая модель процесса преобразования ослабленного потока оптического излучения в электрический сигнал, приведенная в цитируемой литературе. Решение системы нелинейных уравнений величин, представляющей математическую модель процесса избыточных измерений, дало возможность получить уравнение избыточных измерений в неявном виде. Последнее обеспечивает существенное уменьшение систематической составляющей погрешности результата измерений.

Особенностью предложенного технического решения является использование оптической системы конфокального микроскопа (микро-объектива), отсекающей потоки оптического излучения от нижних слоев хлоропластов; иммерсионного фотоприемника, повышенная избирательность которого обусловлена наличием на его входе полусферической иммерсионной линзы, а также цифроаналогового преобразователя, обеспечивающего такое управление коэффициентами усиления отраженных потоков оптического излучения, при котором исключается влияние неравномерности спектральной характеристики ИФП на результат измерений.

На рис. 1 показана функциональная схема цифрового измерителя концентрации хлорофилла в листьях растений, где ИОИ – источник оптического излучения; ДЗ – диафрагма-затвор; КД – конфокальная диафрагма; ППП – полупрозрачная пластина; МО – микрообъектив; ПС – предметный столик; ОЛ – исследуемый образец листка растения; ИМ1, ИМ2, ИМ3 и ИМ4 – первый, второй, третий и четвертый исполнительные механизмы; БОФ – блок оптических фильтров; ИФП – иммерсионный фотоприемник; УУ – управляемый усилитель; АЦП – аналого-цифровой преобразователь; ЦАП – цифро-аналоговый преобразователь; Иф – интерфейс связи с антенной; ЦОУ – цифровое отсчетное устройство (матричный жидкостно-кристаллический индикатор); МК – микроконтроллер; БД – база данных; ОШ – общая шина.

Рассмотрим работу цифрового измерителя поверхностной концентрации.

После включения напряжения питания все функциональные блоки цифрового измерителя поверхностной концентрации хлорофилла (ЦИПК) устанавливаются в исходное состояние. Одновременно включается источник оптического излучения ИОИ. До проведения измерений проверяют значение мощности потоков оптического излучения на трех длинах волн. По команде с МК, с помощью исполнительного механизма ИМ1 блок оптических фильтров БОФ устанавливается в положение, при котором включается оптический фильтр с длиной волны λ_1 . При отсутствии образца листа растения поток оптического излучения отражается от зеркальной поверхности ПС, поступает на поверхность ППП, отражается от нее и поступает, через оптический фильтр, на ИФП. Выходное напряжение ИФП усиливается и преобразуется в код числа N_{λ_1} с помощью УУ и АЦП. Путем изменения значения коэффициента усиления k_1 получают априори установленное значение мощности потока оптического излучения. Если, при измерении, мощность потока оптического излучения соответствует заданной, то значение коэффициента усиления k_1 не изменяется. Аналогичным образом прове-

ряется (или устанавливается) значение мощности потоков оптического излучения на длинах волн λ_2 и λ_3 . Эти три процедуры осуществляются до помещения образца листа растения на ПС.

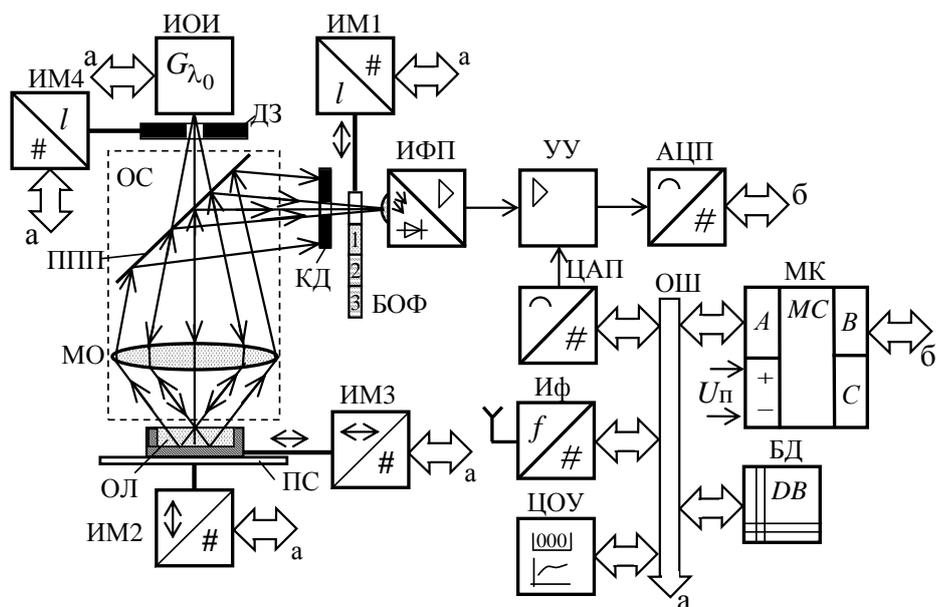


РИС. 1. Функциональная схема цифрового измерителя поверхностной концентрации хлорофилла в листьях растений

Затем на ПС устанавливается образец исследуемого листа растения. По команде с микроконтроллера МК ПС устанавливается в положение, при котором поток оптического излучения от источника оптического излучения ИОИ поступает на всю поверхность образца исследуемого листа. После установки образца листа растения автоматически, по команде с МК, осуществляется процесс избыточных измерений (ИИ) поверхностной концентрации хлорофилла в листьях растений.

По команде с МК, поступившей на цифровой вход исполнительного механизма ИМ1, БОФ устанавливается в такое положение, при котором поток оптического излучения проходит через оптический фильтр с центральной длиной волны λ_1 . ЦОУ показывает нули. Как правило, образец листа растения формируется диаметром 10 мм² из той части листа, где наименьшее число прожилок.

Работа ЦИПК состоит из четырех тактов измерения и одного такта вычисления.

В первом такте, между КД и ИФП БОФ устанавливается в положение, при котором через соответствующий оптический фильтр проходит только поток оптического излучения на длине волны λ_1 при полосе пропускания $2\{\Delta\lambda_1\}$.

Поток оптического излучения от ИОИ через ДЗ и ППП поступает на МО. С помощью МО он фокусируется на поверхность исследуемого ОЛ растения. Часть потока оптического излучения поглощается, часть рассеивается, а часть отражается от поверхности ОЛ. Отражённый поток оптического излучения фокусируется МО на ППП, от которой отражается, проходит через КД, оптический фильтр и поступает на вход ИФП.

С помощью ИФП мощность отражённого и ослабленного потока оптического излучения преобразуется в электрический сигнал и с помощью УУ (МДМ-усилителя) данный сигнал усиливается в k_1 раз. Коэффициент усиления k_1 УУ устанавливается априори по команде с МК, поступающей через порт А и ОШ на ЦАП. Следует отметить, что выход ЦАП подключён к управляющему входу УУ и формирует заданное управляющее напряжение U_{k1} , соответствующее априори записанному в постоянную память МК коду числа N_{k1} . Выходное напряжение УУ поступает на вход АЦП и преобразуется в код числа $N_1 = S_{пр}U_1$.

Полученный цифровой код числа N_1 через порт В поступает в оперативную память МК и запоминается. При наличии помех и шумов в первом (и других) тактах измерение может быть проведено многократно, до 30–50 раз с последующей статистической обработкой полученных результатов.

Во втором такте, по команде с МК, ИМ1 устанавливает БОФ в положение, при котором из отражённого и ослабленного потока ОФ выделяется составляющая потока с длиной волны λ_2 и полосой пропускания $2\{\Delta\lambda_2\}$. Процессы усиления выходного напряжения ИФП и преобразования в код повторяются аналогично описанному в первом такте процессу. Полученный код числа $N_2 = S_{пр}U_2$, где U_2 – выходной сигнал УУ, запоминается в оперативной памяти МК.

В третьем такте, по команде с МК, ИМ1 устанавливает БОФ в положение, при котором из отражённого и ослабленного потока ОФ выделяется составляющая на длине волны λ_3 при полосе пропускания $2\{\Delta\lambda_3\}$. В результате дальнейших преобразований на выходе УУ появляется напряжение U_3 . Последнее преобразуется с помощью АЦП в код числа $N_3 = S_{пр}U_3$ и запоминается в оперативной памяти МК.

В четвертом такте, по команде с МК, исполнительный механизм ИМ1 устанавливает БОФ в верхнее крайнее положение (см. рис. 1), при котором на вход ИФП поступает только сигнал засветки. Одновременно ИМ3 устанавливается в положение, при котором закрывается ДЗ. В результате прерывается действие отраженного от ОЛ ослабленного потока оптического излучения на вход ИФП. Выходное напряжение УУ U_4 , представляющее собой напряжение смещения (или дрейф нуля) измерительного канала, с помощью АЦП преобразуется в код числа $N_4 = S_{пр}U_4$.

В пятом такте в МК осуществляется обработка полученных кодов чисел по априори полученному в неявном виде уравнению числовых значений

$$\frac{(N_1 - N_2)(N_3 - N_4)}{N_0'(N_3 - kN_2)} = \left[e^{-[k_{\lambda_2}\{C_x\}\{s_0\}]} - e^{-[k_{\lambda_1}\{C_x\}\{s_0\}]} \right],$$

где $N_0' = N_0 e^{-[B_{\text{оп}} + B_{\text{пз}} + k_p\{s_0\}]}$; $N_0 = \{S_{\text{пр}}\}\{\Phi_0\}$; Φ_0 – нормированная по значению мощность потока оптического излучения; k_p – коэффициент рассеивания; s_0 – площадь образца исследуемого листа растения; k_{λ_1} , k_{λ_2} и k_{λ_3} – коэффициенты поглощения на длинах волн λ_1 , λ_2 и λ_3 , соответственно; $B_{\text{оп}}$ – показатель затухания потока оптического излучения в оптическом тракте (равен нулю в начале эксплуатации ЦИПК); $B_{\text{пз}}$ – показатель поглощения потока оптического излучения загрязненными и/или запотевшими элементами оптического тракта (равен нулю в начале эксплуатации ЦИПК).

Причём $N_0' = N_0 e^{-[B_{\text{оп}} + B_{\text{пз}} + k_p\{s_0\}]}$ подбирают одноразово, при вводе в действие ЦИПК с качественной оптической системой, путем замены исследуемого образца на стандартный образец с нормированным значением концентрации хлорофилла, т. е. при $\{C_x\} = \{C_0\}$.

Полученный результат избыточных измерений отображается с помощью ЦОУ в виде, удобном для восприятия и дальнейшего использования. Каждое из проводимых измерений по команде с МК записывается в базу данных БД. В последней полученные результаты структурируются по виду растений, по возрасту, по сезону, по температуре окружающей среды и так далее.

Периодически, один раз в час или в смену, структурированные результаты измерений через Иф передаются в центр (например, в компьютер центральной лаборатории роста растений). При необходимости ЦИПК оснащается сенсорами температуры и давления.

Как видно из приведенного уравнения числовых значений, результат измерений не зависит от параметров функции преобразования измерительного канала (ИК). Это свидетельствует об автоматическом исключении систематических составляющих погрешности, вносимых электронной частью ИК ЦИПК. На результат измерений оказывают влияние такие параметры функции преобразования мощности потока оптического излучения, как площадь образца листа растений; коэффициент перекрытия поверхности образца листа хлоропластами, содержащими хлорофилл; показатель оптического ослабления, вносимого элементами оптического тракта; показателя загрязнения и запотевания оптических элементов, через который проходит поток оптического излучения, коэффициентов поглощения и т. д. Естественно, учесть влияние всех параметров на результат измерений затруднительно.

Погрешности измерений. Нами проведены исследования влияния изменения значений показателя оптического ослабления, вносимого элементами оптического тракта, показателя загрязнения и запотевания оптических элементов при следующих исходных данных: $s_0 = 10 \text{ мм}^2$, $k_{\lambda 1} = 0,28$, $k_{\lambda 2} = 0,02$, $k_{\lambda 3} = 0,85$; $k_p = 0,2$; $B_{\text{оп}} = 0$ и $B_{\text{пз}} = 0$; $B_{\text{оп}} = 0,1$ и $B_{\text{пз}} = 0,25$; при коэффициенте перекрытия $k_{\text{пх1}} = 0,9$, крутизне преобразования $S_{\text{л}} = 2500 \text{ Вт/В}$, мощности потока оптического излучения $\Phi_0 = 2 \cdot 10^{-3} \text{ Вт}$ и дрейфе нуля измерительного канала $\Delta U_0 = 10 \cdot 10^{-6} \text{ В}$.

Исследования показали, что относительная погрешность измерения поверхностной концентрации хлорофилла в листьях растений находится в диапазоне 0,17 % ... 2,8 % при измерении поверхностной концентрации от 20 % до 95 %, т. е. изменяется в 1,65 раза. При этом установлен парадокс, заключающийся в уменьшении погрешности результата избыточных измерений при повышении степени загрязнения элементов оптического тракта и увеличения затухания в них, т. е. при повышении значений $B_{\text{оп}}$ и $B_{\text{пз}}$. Далее, на рис. 2, показаны соответствующие кривые для разных значений $B_{\text{оп}}$ и $B_{\text{пз}}$, подтверждающие наличие данного парадокса.

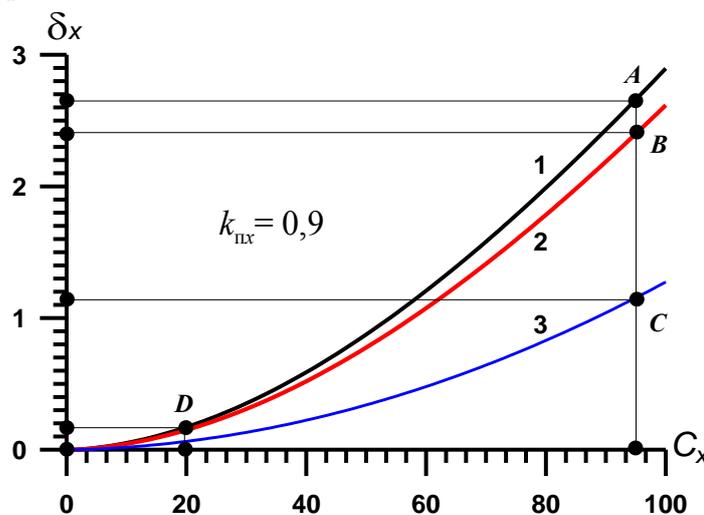


РИС. 2. Графики методической погрешности измерения концентрации при $k_{\text{пх}} = 0,9$:

кривая 1 ($B_{\text{оп}} = 0$, $B_{\text{пз}} = 0$); кривая 2 ($B_{\text{оп}} = 0,01$, $B_{\text{пз}} = 0,025$);

кривая 3 ($B_{\text{оп}} = 0,1$, $B_{\text{пз}} = 0,25$)

Как видно из графиков на рис. 2 увеличение значений $B_{\text{оп}}$ и $B_{\text{пз}}$ приводит к уменьшению погрешности результата измерений.

Анализ показал, что используемая модель требует доработки, поскольку не в полной мере учитывает тонкие нюансы происходящих процессов преобразования потоков оптического излучения, прошедших через ОЛ растения, на разных длинах волн.

Таким образом, решена техническая задача измерения поверхностной концентрации хлорофилла в листьях растений на трех длинах волн, обеспечивающая вполне удовлетворительные результаты по погрешности измерений. Данная задача решается без использования стандартного образца листа растений с нормированным значением поверхностной концентрации хлорофилла.

Выводы. Изучена тонкая структура объекта измерений, что позволило сделать вывод о возможности измерения концентрации хлорофилла в листьях растений в приповерхностном слое в 1 мкм и площадью образца 10 мм². В этом случае в приповерхностном слое образца листа растения содержится более пяти миллионов дисков хлоропластов.

Решена техническая задача измерения поверхностной концентрации хлорофилла в листьях растений на трех длинах волн без использования стандартного ОЛ растений с нормированным значением поверхностной концентрации хлорофилла. Особенностью разработанного технического решения цифрового измерителя поверхностной концентрации хлорофилла в листьях растений является использование оптической системы конфокального типа, блока оптических фильтров и усилителя с управляемым коэффициентом усиления.

Проведен анализ погрешностей, вносимых параметрами $B_{оп}$ и $B_{пз}$ при заданном значении коэффициента перекрытия поверхности образца листа растения хлоропластами. Установлено, что относительная погрешность измерения поверхностной концентрации хлорофилла в листьях растений находится в диапазоне 0,17 % ... 2,80 % при измерении поверхностной концентрации от 20 % до 95 %, т. е. изменяется в 1,65 раза.

Результаты исследований могут быть полезны для специалистов, создающих средства измерения поверхностной концентрации хлорофилла.

1. *Хлорофилл*. Интернет ресурс: <http://chel-o-vek.ru/12/khlorofill>.
2. *Войтович И.Д., Корсунский В.М.* Интеллектуальные сенсоры: Учебное пособие. Лаборатория знаний. – М.: Интернет-Университет Информационных Технологий; БИНОМ, 2009. – 624 с.

Получено 20.10.2011