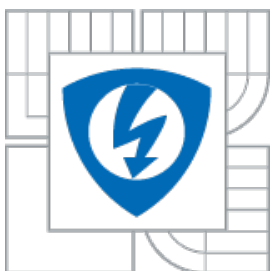




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



**FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH
TECHNOLOGIÍ**
ÚSTAV AUTOMATIZACE A MĚŘICÍ TECHNIKY

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION
DEPARTMENT OF CONTROL AND INSTRUMENTATION

MĚŘENÍ ELEKTRICKÉHO POTENCIÁLU NA BIOLOGICKÝCH OBJEKTECH

MEASUREMENT OF ELECTRIC POTENTIAL ON BIOLOGICAL OBJECTS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

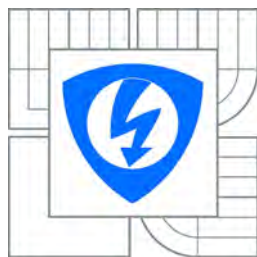
RADEK RÚBAL

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. STANISLAV KLUSÁČEK

BRNO 2012



VYSOKÉ UČENÍ
TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky
a komunikačních technologií

Ústav automatizace a měřicí techniky

Bakalářská práce

bakalářský studijní obor
Automatizační a měřicí technika

Student: Radek Růbal

ID: 129135

Ročník: 3

Akademický rok: 2011/2012

NÁZEV TÉMATU:

Měření elektrického potenciálu na biologických objektech

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

Cílem bakalářské práce bude návrh měření elektrického potenciálu na biologických objektech. Na základě poznatků semestrální práce vyhodnotíte principy stávajících metod a podle získaných poznatků navrhnete vlastní experiment. Realizujete pracoviště pro plně automatizované měření elektrického potenciálu, které bude ovládané z osobního počítače. Proveďte experimentální měření, kde ověříte a vyhodnotíte navržená a uskutečňovaná měření i realizované pracoviště. Výsledkem bude souvislost elektrického potenciálu a složení vyživujícího substrátu. Práce bude realizována ve spolupráci s UTEE VUT v Brně.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] Elektrotechnická měření. 1. vydání Brno : BEN - technická literatura, 2002. 256 s. ISBN 978-80-7300-022-6.

[2] A. G. Volkov; Plant Electrophysiology Theory and methods, Springer Berlin Heidelberg New York; ISBN 10 3-540-32717-7

Termín zadání: 6.2.2012

Termín odevzdání: 28.5.2012

Vedoucí práce: Ing. Stanislav Klusáček

Konzultanti bakalářské práce: Ing. Zoltán Szabó

doc. Ing. Václav Jirsík, CSc.

Prezident oborové rady

UPOZORNĚNÍ:

Autor bakalářské práce nesmí ani vytváření bakalářské práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

Abstrakt

Byla navržena sestava pro měření zdrojů nízkého napětí s vysokým vnitřním odporem. Tato sestava je vhodná pro měření elektrického potenciálu na biologických objektech, především na rostlinách. Na základě návrhu bylo realizováno pracoviště řízené z osobního počítače, které umožňuje automatické měření. Funkčnost pracoviště byla experimentálně ověřena. Experimenty vedly k použití elektrod, které minimalizují rušivé elektrochemické napětí. Byla zaznamenána závislost změn napětí nejen na složení vyživujícího substrátu, ale i na intenzitě osvětlení.

Klíčová slova

Biopotenciál, elektrofyzologie rostlin, elektrochemické napětí, měřící systémy.

Abstract

Resource kit for measuring voltage sources with high impedance was designed. This resource kit is suitable for measuring electric potentials on biological objects, especially on plants. Based on the design, workplace controlled from PC that allows automatic measurement was implemented. Workplace functionality was experimentally verified. Experiments led to use of electrodes that minimize interfering electrochemical voltage. Electric potential changes were recorded not only in connection with different substrates but also with the change of light intensity.

Keywords

Biopotential, plant electrophysiology, electrochemical voltage, measurement systems.

Bibliografická citace

RÚBAL, R. *Měření elektrického potenciálu na biologických objektech*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2012. 50 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Stanislav Klusáček.

Prohlášení

„Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma Měření elektrického potenciálu na biologických objektech jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této bakalářské práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

V Brně dne: **23. května 2012**

.....
podpis autora

Poděkování

Děkuji konzultantovi bakalářské práce Ing. Zoltánu Szábovi za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé bakalářské práce.

V Brně dne: **23. května 2012**

.....
podpis autora

Obsah

1. Úvod	9
2. Metody měření biopotenciálu	10
2.1. Zjednodušený model rostliny	10
2.2. Elektrody z oxidu stříbrného	11
2.3. Ag/AgCl elektrody	11
2.4. Photrode™	12
2.1. Platinové elektrody	13
3. Zdroje chyb měření	15
3.1. Chyby způsobené vysokým vnitřním odporem zdroje	15
3.1.1. Zatěžovací odporu voltmetru	15
3.1.2. Klidový proud voltmetru	16
3.1.3. Odpor mezi vodiči	16
3.1.4. Kapacita mezi vodiči	18
3.2. Chyby při měření zdrojů nízkého napětí	19
3.2.1. Ofsetová napětí	19
3.2.2. Rušení	20
3.3. Elektrochemická napětí	22
3.3.1. Galvanický článek	22
3.3.2. Koncentrační článek	25
4. Měření složení substrátu	25
4.1. Výživa rostliny	25
4.2. Rhizosféra	25
4.3. Měření redoxního potenciálu	26
4.3.1. Princip funkce iontově-selektivních mikroelektrod (ISE)	26
5. Návrh měřicí sestavy	27
5.1. Připojení rostliny	27
5.2. Připojení Keithley 6517A k PC	28

5.3.	Program pro měření.....	28
5.3.1.	Ovládací panel.....	28
5.3.2.	Kód programu	29
5.3.3.	Záznam měření	32
5.4.	Testování měřicí sestavy	33
5.4.1.	Měření napětí na nabitém kondenzátoru	33
5.4.2.	Měření elektrochemického napětí	35
5.5.	Úprava platinových elektrod.....	38
6.	Měření elektrického potenciálu na rostlinách.....	40
6.1.	Substrát 0,0g na 1litr (bez hnojiva)	41
6.2.	Substrát 0,5g na 1litr	42
6.3.	Substrát 1,0g na 1litr	43
6.4.	Substrát 1,5g na 1litr	44
7.	Závislost napětí na složení substrátu.....	46
7.1.	Výpočet závislosti napětí	46
7.1.1.	Koncentrace 0g na 1l.....	46
7.1.2.	Koncentrace 0,5g na 1l.....	47
7.1.3.	Koncentrace 1,5g na 1l.....	47
7.1.4.	Použitý výpočet v Matlabu.....	47
8.	Závěr	48

1. Úvod

Měření elektrického potenciálu na rostlinách spadá do oblasti mezioborových disciplín, která se někdy nazývá elektrofyziologií rostlin. Dnes je již v celku běžné měření elektrických dějů na lidech a živočiších, které přineslo mnoho praktických využití. Stačí si vzpomenout jen na ECG a EEG. Elektrické vlastnosti rostlin jsou zkoumány přibližně 200 let. Za tu dobu se několikrát vedly spory o to, jestli jde skutečně o elektrické signály, jaké známe např. u nervového systému živočichů.

V literatuře lze nalézt řadu pokusů, které se zabývaly mimo jiné elektrickým napětím uvnitř buněk, signály, které údajně prochází rostlinou, jako reakce na nejrůznější podněty z okolního prostředí [5] [6] , a také dlouhodobým napětím, které lze naměřit na rostlině v závislosti na složení substrátu, ve kterém se rostlina nachází. Měření napětí na rostlině provedl prof. Ing. Karel Bartušek, DrSc. Elektrický potenciál +45 mV až -60 mV naměřil mezi rostlinou a výživným substrátem. Toto napětí bylo závislé na složení substrátu.

Kontrola chemického složení prostředí kolem kořene je klíčovým faktorem pro zdravý růst rostlin. Předpokládaným výstupem práce je závislost elektrického potenciálu na složení substrátu. Tento potenciál bude chápán jako rozdílový potenciál na rostlině, který lze naměřit mezi jednotlivými částmi nebo substrátem.

2. Metody měření biopotenciálu

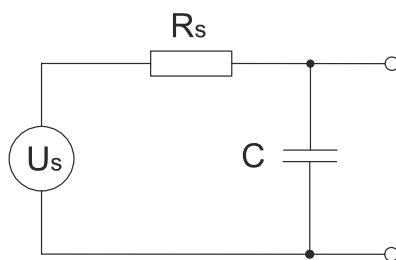
Metoda měření a způsob, jakým je k rostlině přistupováno, jsou zcela zásadní pro správnou interpretaci naměřených hodnot.

Pro měření potenciálu na rostlině potřebujeme vytvořit uzavřený obvod. Jako zdroj signálu slouží rozdílové napětí mezi jednotlivými částmi rostliny. Elektrický kontakt s biologickým objektem by měl mít co možná nejvyšší vodivost a neměl by ovlivňovat měřený objekt. Za tímto účelem se mohou použít platinové elektrody nebo Ag/AgCl elektrody. Pokus o měření potenciálu byl proveden také pomocí elektrod z oxidu stříbrného Ag_2O . Odpor kontaktů můžeme snížit pomocí indiferentního vodivého gelu, který se používá pro EKG. Novým prostředkem pro snímání potenciálů na biologických objektech je fotonová elektroda, zkráceně nazývaná Photrode™.

Elektrody se vhodně připojí přes napěťový sledovač, nebo přímo k vysokoimpedančnímu elektrometru. Použití fotonové elektrody je jiné a bude popsáno později.

2.1. Zjednodušený model rostliny

Rostlinu si lze pro jednoduchost představit jako kapacitu C , kterou nabíjí zdroj nízkého napětí U_s s vysokým vnitřním odporem R_s , jak je vidět na obr. 1.



Obr. 1 Elektrický ekvivalent rostliny

Přesné vlastnosti a původ zdroje napětí U_s znám není. Předpokládá se, že napětí bude v řádu mV , s časem se bude měnit a může docházet i ke změně jeho polarity. Rychlost těchto změn je nízká, a proto lze U_s při měření považovat za zdroj stejnosměrného napětí. Vnitřní odpor zdroje a kapacita rostliny závisí na její struktuře, složení jejího vnitřního prostředí a místě zapojení elektrod. Vnitřní odpor tedy také není znám, ale může se pohybovat odhadem v řádech $G\Omega$. Není chybou, pokud se předpokládá vnitřní odpor větší, než je ve skutečnosti.

2.2. Elektrody z oxidu stříbrného

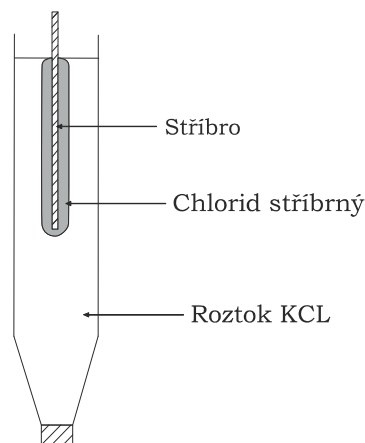
Těmito elektrodami experimentálně měřil Prof. Ing. Karel Bartušek, DrSc napětí na rostlinách. Při pokusu byly vlastnosti zeminy eliminovány umístěním rostliny do vaničky s kapalinou, která tvořila substrát. Do substrátu byla připojena referenční elektroda z oxidu stříbrného, další stejná elektroda byla přiložena na jednotlivé listy. Pro různé druhy hnojiva, vodovodní a destilovanou vodu bylo změřeno napětí řádově desítek milivoltů.

Elektrody z oxidu stříbrného se používají v bateriích. [1] Mezi dvěma kovovými elektrodami v elektrolytickém roztoku, kterým je i voda s hnojivem, se vytváří elektrochemické napětí. Podmínkou je ovšem různá koncentrace iontů v místech umístění elektrod. Takto vznikne koncentrační článek. Více se tomuto jevu věnuje kapitola 3.3, která popisuje elektrochemická napětí.

Tyto elektrody nebudou použity pro měření biopotenciálu, protože by mohlo elektrochemické napětí vzniknout.

2.3. Ag/AgCl elektrody

Elektroda se skládá ze stříbrného drátku vloženého do roztoku chloridu draselného (KCl, standardní koncentrace 1M), jak ukazuje obr. 2. Tenká vrstva AgCl se vytvoří elektrolýzou roztoku KCl za použití platinové elektrody jako katody.



Obr. 2 Ag/AgCl elektroda.

Aplikujeme napětí přibližně 0.5 V na stříbrnou elektrodu po dobu 30 minut. [7] Tato elektroda se používá jako referenční pro měření aktivity iontů v roztocích. Z tohoto důvodu se nemusíme obávat interakce mezi ionty a případné změny elektrochemického napětí. Napětí mezi touto elektrodou a standardní vodíko-

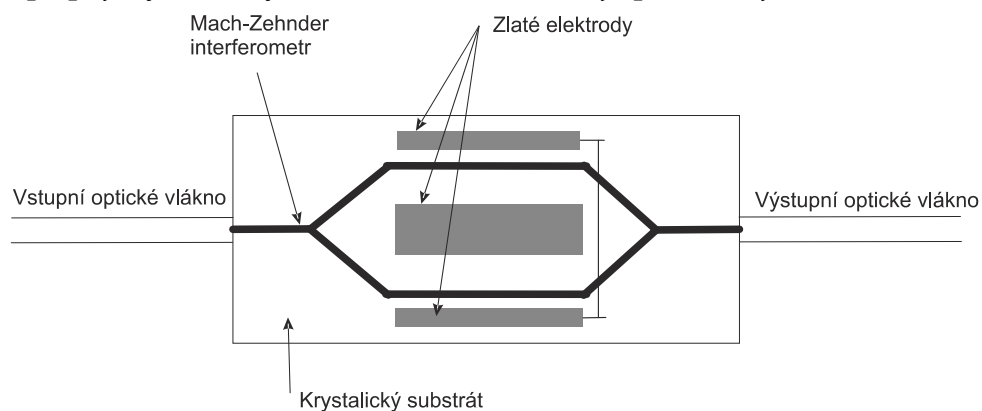
vou elektrodou je +0,22 V. Rozdíl potenciálů mezi dvěma stejnými elektrodami je nulové. Podrobněji se tímto zabývají kapitoly 3.3 a 4.

Dvě takovéto elektrody se připojí na různá místa rostliny, případně na kořen nebo do substrátu. Kontakt s měřeným objektem zajišťuje solný roztok KCl. Vnitřní odpor těchto elektrod je velmi vysoký ($\sim 10^{12} \Omega$) a měření s nimi má vysoké nároky na měřicí zařízení.

2.4. Photrode™

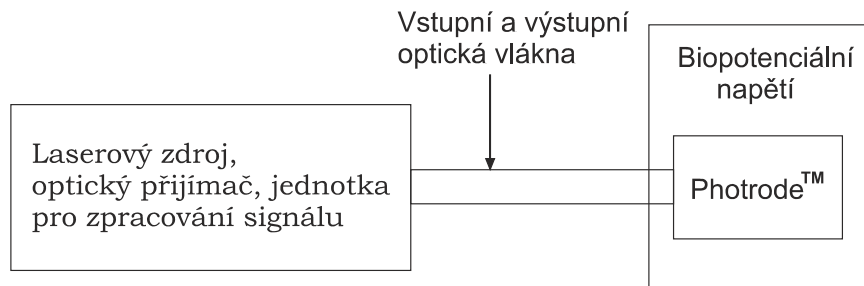
Photrode™ je revoluční optický senzor napětí. Jeho vývoj byl sponzorován armádou USA ve spolupráci s NASA a primárně byl určen pro měření ECG a EEG pilotů ve stresových situacích. Zařízení má extrémně vysoký vstupní odpor.

Vnitřní strukturu senzoru zachycuje schéma na obr. 3. Základem je Mach-Zehnder Interferometr (MZI), elektro-optický modulátor vytvořený v krystalickém substrátu lithium niobátu (LiNbO_3). K substrátu jsou připojeny elektrody z tenkého zlatého filmu. Optickým vláknem je přiveden laserový paprsek, který prochází krystalem. V důsledku elektro-optického efektu, biopotenciál připojený ke zlatým elektrodám moduluje procházející světlo.

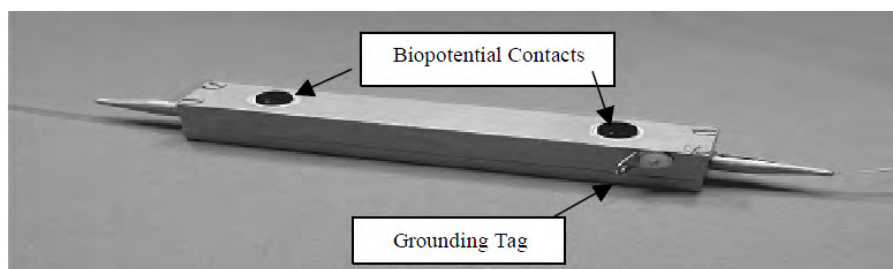


Obr. 3 Schéma vnitřní struktury senzoru Photrode™.

Intenzitně modulovaný paprsek je veden optickým vláknem do optického přijímače, který detekuje a zpracovává signál z Photrode™. Blokové schéma takového zapojení je na obr. 4. Na obr. 5 je vidět, jak vypadá photroda ve skutečnosti, jedná se o prototyp.

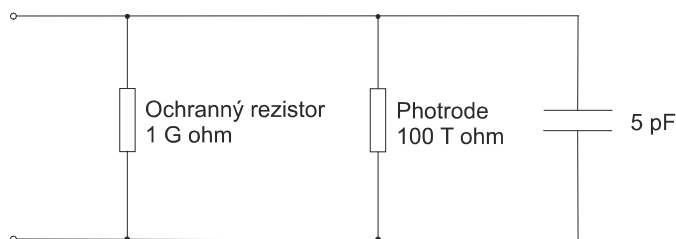


Obr. 4 Blokové schéma zapojení Photrode™.



Obr. 5 Prototyp Photrode™. Zdroj [2]

Elektrodu charakterizuje neobyčejná citlivost a funguje jako vysokoimpedanční zařízení. Má velkou šířku pásma a je schopna detekovat od nízkých frekvencí až po vysokofrekvenční signály. Její extrémně vysoký vnitřní odpor ($10^{14} \Omega$) je pozoruhodnou vlastností obzvláště výhodnou pro měření biopotenciálů. Zjednodušený elektrický ekvivalent je na obr. 6. Elektrostatický výboj může poškodit tuto elektrodu (ESD). Aby se snížilo riziko poškození, je připojen paralelně rezistor $1 \text{ G}\Omega$ k Photrode™. [2]



Obr. 6 Elektrický ekvivalent Photrode™.

2.1. Platinové elektrody

Platina je velice stabilní prvek a nepodléhá samovolné oxidaci. Má vysokou odolnost vůči chemickým látkám a stabilní elektrické vlastnosti. Předpokladem bylo, že použitím dvou platinových elektrod by nemělo vzniknout elektrochemického napětí, jako je tomu u elektrod z oxidu stříbrného. Stejně tak by mělo být možné elektrodu umístit do výživného roztoku s rostlinou, aniž by platina

reagovala s látkami obsaženými v roztoku. Pokusem popsáním v části 5.4.2 bylo zjištěno, že tomu tak není a elektrochemické napětí vznikne. Následně byla doplněna kapitola 3.3, která souvisí s chemií a objasňuje probíhající jevy.

3. Zdroje chyb měření

3.1. Chyby způsobené vysokým vnitřním odporem zdroje

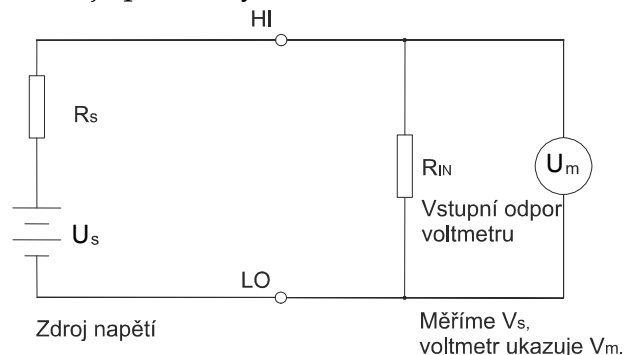
Měření zdrojů napětí s vysokým vnitřním odporem jsou zatížena množstvím chyb, které je třeba snížit na minimum. Nejvíce se projevují chyby způsobené vstupním zatěžovacím odporem voltmetru, klidovým proudem voltmetru, odporem a kapacitou mezi vodiči

3.1.1. Zatěžovací odpor voltmetru

Skutečný voltmetr se dá popsat jako ideální voltmetr s nekonečně velkým odporem paralelně připojený ke vstupnímu odporu R_{IN} , který zatěžuje měřený zdroj. Situace je znázorněna na obr. 7. Ke konektorům HI a LO voltmetru je připojena vyšší a nižší úroveň zdroje napětí. Měřené napětí U_m není skutečné napětí zdroje U_s , ale je změněno poměrem děliče podle rovnice (1).

$$U_m = U_s \frac{R_{IN}}{R_S + R_{IN}} \quad (1)$$

Ideálním stavem je, když vstupní odpor voltmetru R_{IN} je řádově vyšší než vnitřní odpor zdroje R_S . Potom lze v rovnici (1) zanedbat R_S , poměr děliče se blíží k 1 a chyba měření je prakticky nulová.



Obr. 7 Schéma měření skutečným voltmetrem.

V opačném případě, máme-li například $U_s = 10V$, vnitřní odpor zdroje $R_S = 200 k\Omega$ a vstupní odpor voltmetru $R_{IN} = 10 M\Omega$.

$$U_m = U_s \frac{R_{IN}}{R_S + R_{IN}} = 10 \frac{10^7}{2 * 10^5 + 10^7} = 9.8039V \quad (2)$$

Vstupní odpor voltmetru v tomto případě způsobí chybu měření 1.96%, kterou spočítám z výsledku (2).

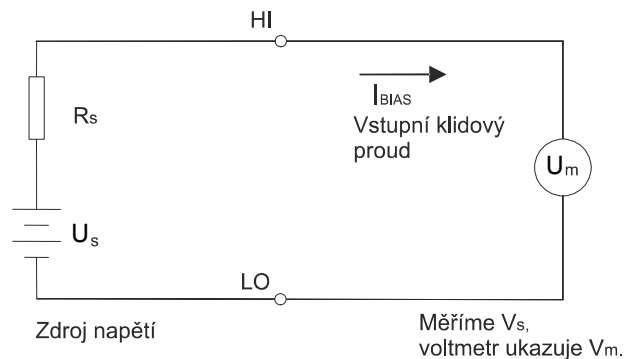
3.1.2. Klidový proud voltmetru

Vstupní klidový proud vzniká v důsledku vnitřních elektronických obvodů voltmetru. Ačkoliv je tento proud řádově velikosti pA, v případě zdrojů s vysokou impedancí je výrazným zdrojem chyb. Vstupní klidový proud I_{BIAS} , někdy označovaný jako I_{OFFSET} , vytváří napětí na vnitřní impedanci zdroje, viz obr. 8. Měřené napětí se liší od napětí zdroje podle rovnice (4).

Uvažujme například $R_S = 10\text{ G}\Omega$, $U_S = 10\text{ V}$, $I_{BIAS} = 1\text{ pA}$ podle obr. 8. Měřené napětí v takovém případě je názorně spočítáno v rovnici (3).

$$U_m = U_S + I_{BIAS}R_S = 10 + 10^{10} * 10^{-12} = 10.01\text{V} \quad (3)$$

Stejně tak může být výsledek (3) roven 9.99V v závislosti na směru toku I_{BIAS} . Klidový proud v tomto případě způsobí chybu měření 0.1%.



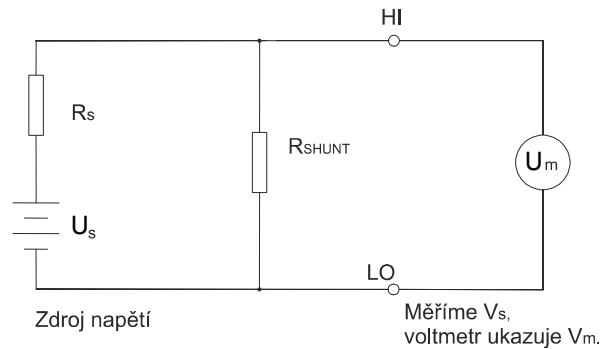
Obr. 8 Vstupní klidový proud I_{BIAS} vytváří napětí na R_S

$$U_m = U_S + I_{BIAS}R_S \quad (4)$$

Klidový proud voltmetru je standardním zdrojem tohoto druhu chyby, stejně tak ale může způsobit chybu jakýkoliv zdroj proudu v měřeném obvodu.

3.1.3. Odpor mezi vodiči

Zvýšená vodivost mezi vodiči propojující voltmetr se zdrojem napětí, způsobená slabou, poškozenou nebo znečištěnou izolací, může způsobit chybu měření. Odpor mezi vodiči by měl být ideálně nekonečný. Jak je znázorněno na obr. 9, tvoří R_{SHUNT} s vnitřním odporem zdroje R_S dělič napětí. Měřené napětí s ideálním voltmetrem, kdy $R_{IN} \rightarrow \infty$, je dáno rovnicí (5).



Obr. 9 Odpor mezi vodiči R_{SHUNT} tvořící dělič

$$U_m = U_s \frac{R_{SHUNT}}{R_s + R_{SHUNT}} \quad (5)$$

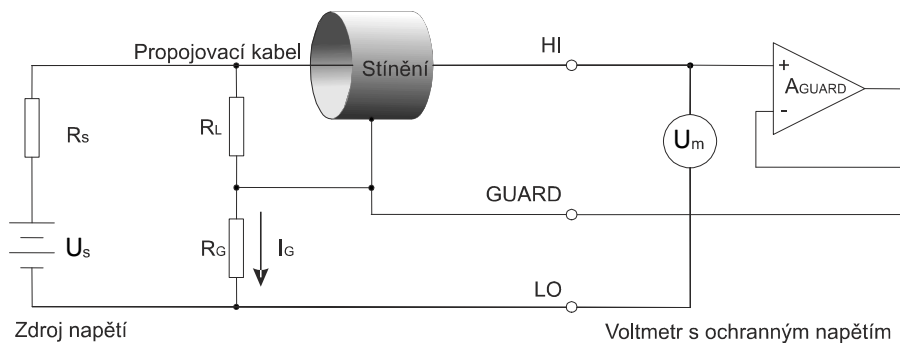
Měřené napětí ve skutečnosti závisí ještě na vnitřním odporu voltmetru, jak bylo popsáno ve 3.1.1. Dělič tak tvoří paralelní kombinace $R_{SHUNT} // R_{IN}$ s vnitřním odporem zdroje R_s .

Názorně je měřené napětí spočítáno v rovnici (6). Uvažujeme ideální voltmetr a například $R_s = 10 \text{ G}\Omega$, $U_s = 10 \text{ V}$, $R_{SHUNT} = 100 \text{ G}\Omega$.

$$U_M = 10 \frac{10^{11}}{10^{10} + 10^{11}} = 9.09 \text{ V} \quad (6)$$

V tomto případě způsobí odpor mezi vodiči chybu měření 9%.

Pro snížení této chyby na minimum je třeba použít co nejlepší izolaci vodičů. Přidáním ochranného vodiče je možné chybu téměř eliminovat. Zapojení s ochranným vodičem je na obr. 10. V tomto zapojení je vodič připojený na vyšší potenciál HI veden stíněným kabelem.



Obr. 10 Zapojení voltmetru s ochranným napětím

Stínění není standardně připojeno na nižší potenciál nebo na zem, ale na ochranný výstup voltmetru. Ochranný výstup je řízením udržován na stejném potenciálu, který je na vstupu HI. R_L je odpor mezi vodičem HI a stíněním, R_G zde reprezentuje odpor mezi stíněním a nižším terminálem LO. Proud I_G je

výsledkem řízení a není odebírán z měřeného zdroje. Ochranný výstup je řízen pomocí zesilovače s jednotkovým zesílením a vysokým vstupním odporem. Zesílení v otevřené smyčce A_{GUARD} bývá v rozmezí 10^4 až 10^6 . Odpor R_L mezi vodičem a stíněním je tímto zesílením násoben a měřené napětí je potom upraveno podle rovnice (7).

$$U_m = U_s \frac{A_{GUARD} R_L}{R_s + A_{GUARD} R_L} \quad (7)$$

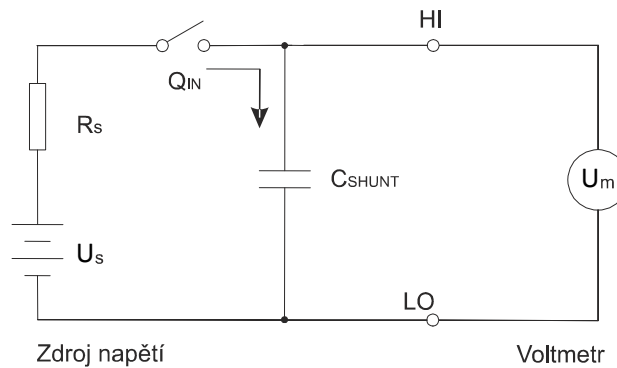
Pro případ $A_{GUARD} = 10^5$, $R_s = 10 \text{ G}\Omega$, $U_s = 10 \text{ V}$, $R_L = 100 \text{ G}\Omega$ je skutečné měřené napětí názorně spočítáno v rovnici (8).

$$U_m = 10 \frac{10^{16}}{10^{10} + 10^{16}} = 9.99999 \text{ V} \quad (8)$$

V tomto případě je chyba způsobená vodivostí mezi vodiči 0.001%, což je mnohem menší nepřesnost, než při nechráněném zapojení s chybou 9% (6).

3.1.4. Kapacita mezi vodiči

Na vnitřním odporu zdroje a vzájemné kapacitě mezi vodiči závisí doba ustálení při měření napětí. Kapacita mezi vodiči je paralelně připojena k vnitřní kapacitě voltmetru a sčítá se s ní. Tato situaci je schematicky nakreslena na obr. 11. Vypínač zde reprezentuje přiložení elektrody k rostlině. I zdánlivě malá kapacita může v kombinaci s vysokým vnitřním odporem zdroje výrazně prodloužit dobu ustálení.



Obr. 11 Kapacita mezi vodiči

Časový průběh měřeného napětí lze popsat rovnicí (9).

$$U_m = U_s \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau}} \right) \quad (9)$$

Časová konstanta τ , která se spočítá podle (10), vyjadřuje čas ustálení napětí na 63% jeho maximální hodnoty.

$$\tau = R_s C_{SHUNT} \quad (10)$$

Pro uspokojivou přesnost měření je třeba počkat více časových konstant. Doba potřebná pro ustálení na požadovanou přesnost měření se řídí exponenciální

funkcí a orientační hodnoty jsou vidět v tabulce 1. Velikost náboje, který je z rostliny odebrán, lze určit podle rovnice (11).

$$Q_{IN} = U_S C_{SHUNT} \quad (11)$$

Počet časových konstant	1	2	3	4	5
Procent z konečné hodnoty	63	86	95	98	99.3

Tabulka 1 Hodnota ustálení podle počtu časových konstant

Použití ochranného vodiče, které bylo popsáno v kapitole 3.1.3, výrazně zkrátí dobu odezvy měřicího obvodu a z velké části tento problém odstraní. Časový průběh měřeného napětí v zapojení s ochranným vodičem je popsáno rovnicí (12) a celkový náboj odebraný ze zdroje je podle (13).

$$U_M = U_S \left(1 - e^{-\frac{t_{AGUARD}}{\tau}} \right) \quad (12)$$

$$Q = \frac{U_S C_{SHUNT}}{A_{GUARD}} \quad (13)$$

3.2. Chyby při měření zdrojů nízkého napětí

Při měření nízkých napětí se začínají významně projevovat chyby způsobené zdroji rušení a ofsetová napětí obvodu, které lze při běžném měření zanedbat.

3.2.1. Ofsetová napětí

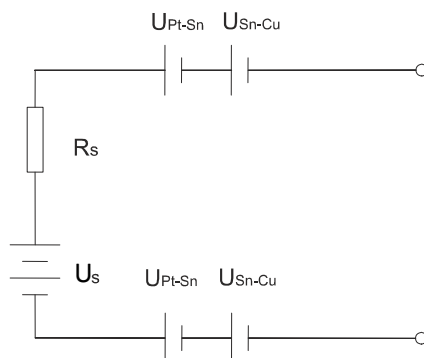
Ideálně, když připojíme voltmetr k obvodu s relativně malým odporem, měli bychom naměřit nulové napětí. Většinou však naměříme ofsetové napětí, které je způsobeno různými zdroji chyb. Většinou stačí pouze posunout referenční napětí. Ofsetové napětí se však během měření může měnit a způsobit tak chyby měření. Nejčastějšími zdroji jsou termoelektrická napětí, vnitřní offset voltmetru a případný posun nuly. Hlídáním stále teploty a vlhkosti prostředí lze tyto chyby značně omezit.

Termoelektrická napětí

Termoelektrické napětí vzniká, když je na různých místech v obvodu rozdílná teplota a jsou k sobě spojeny vodiče z různých materiálů. Obr. 12 je náhradní schéma dvou elektrod připojených k rostlině. Rostlina může mít jinou teplotu než okolní místnost z důvodu velké tepelné kapacity vody. Platinová elektroda potom může být chladnější než měděný vodič. V tomto zapojení však výsledné termoelektrické napětí bude nulové, protože napětí jednotlivých elektrod se

odečtou. Za určitých podmínek ale může vzniknout stav, kdy na každé elektrodě je jiný rozdíl teplot, v takovém případě by chyba vznikla.

Eliminovat tuto chybu můžeme jednoduše udržováním relativně stálé teploty v místě pokusu. Chyby způsobené rozumnou změnou teploty nebudou mít zásadní vliv na naměřená data.



Obr. 12 Schéma pro termoelektrická napětí dvou elektrod připojených k rostlině

3.2.2. Rušení

Různé rušivé signály mohou mít pro měření nízkých napětí významný efekt. Patří mezi ně Johnsonův šum, magnetická pole a zemní smyčky. Bez porozumění těmto jevům nebudou mít naměřená data vypovídající hodnotu.

Johnsonův šum

Johnsonův šum je limitní hranicí pro elektrická měření. Toto rušivé napětí je spojeno s pohybem elektronů, který je způsoben jejich termální energií při teplotách nad absolutní nulou. Toto napětí je závislé na šířce pásma, teplotě a vnitřním odporu zdroje napětí. Rušivé napětí vyvolané kovovým odporem lze spočítat podle (14).

$$U = \sqrt{4kTB R} \quad (14)$$

k = Boltzmanova konstanta, $1,381,38 \cdot 10^{-23} \text{J/K}$

U = rušivé napětí RMS vyvolané ve vnitřním odporu zdroje

T = termodynamická teplota [K]

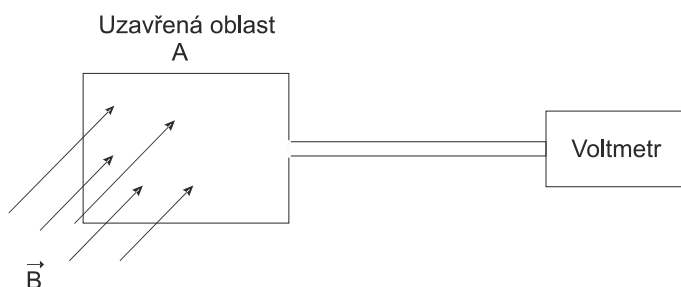
B = šířka pásma rušení

R = vnitřní odpor zdroje

Pro naše měření toto rušení nemá velký význam, jelikož měříme prakticky stejnosměrná napětí, tedy šířka pásma B je téměř nulová a rušivou složku můžeme eliminovat například průměrováním hodnot. Zvětšením šířky pásma by se tato chyba mohla stát významnou, protože vnitřní odpor rostliny je velký.

Magnetická pole

Magnetická pole vyvolávají rušivé signály v případě, že se pole s časem mění, nebo pokud dochází k pohybu mezi obvodem a magnetickým polem. Ze základních fyzikálních zákonů vyplývá, že indukované napětí je přímo úměrné ploše, kterou vodiče obklopují, a rychlosti změny vektoru magnetické indukce. Tento základní princip popisuje vztah (15) v souvislosti s obr. 13, na kterém vodiče používané k měření obklopují určitou uzavřenou plochu A.



Obr. 13 Magnetická indukce

Abychom minimalizovali napětí indukované magnetickým polem, je potřeba vést vodiče co nejbliže u sebe a zmenšit tak plochu A na minimum, dobře vodiče upevnit a zamezit jejich pohybu. Standardně bývají vodiče vedeny jako kroucená linka. Vodiče je vhodné navíc magnetický odstínit. Jako stínění lze použít např. speciální slitinu mu-metal.

$$U_B = \frac{d\phi}{dt} = \frac{d(\vec{B}A)}{dt} = \vec{B} \frac{dA}{dt} + A \frac{d\vec{B}}{dt} \quad (15)$$

U_B = indukované napětí

A = plocha, kterou obklopuje uzavřená smyčka tvořená vodiči

\vec{B} = vektor magnetické indukce

ϕ = magnetický tok

Zemní smyčky

Zemní smyčky mohou vzniknout, pokud je uzemněný měřený zdroj napětí i voltmetr na různých místech. Body připojení k zemi mohou mít rozdílný potenciál, což způsobí tok proudu, který vyvolá napětí v měřícím obvodu.

Tento jev lze odstranit uzemněním všech zařízení na jednom místě. Někdy také bývá voltmetr uzemněn přes vysoký odpor, který brání toku takových proudů.

Elektrostatická interference a stínění

Elektrostatická interference se projevuje, pokud se elektricky nabitý objekt přiblíží k testovanému elektrickému obvodu. Toto se projeví pouze u obvodů s vysokou impedancí. Může jít o DC nebo AC elektrostatická pole. Elektrostatické stínění je schopné minimalizovat tuto chybu. Můžeme stínit vodiče a navíc uzavřít celý objekt do Faradayovy klece.

DC elektrostatická pole se projevují například při pohybu v blízkosti měřeného obvodu. Pohyb osoby pracující s měřicím zařízením způsobuje kolísání zobrazeného napětí.

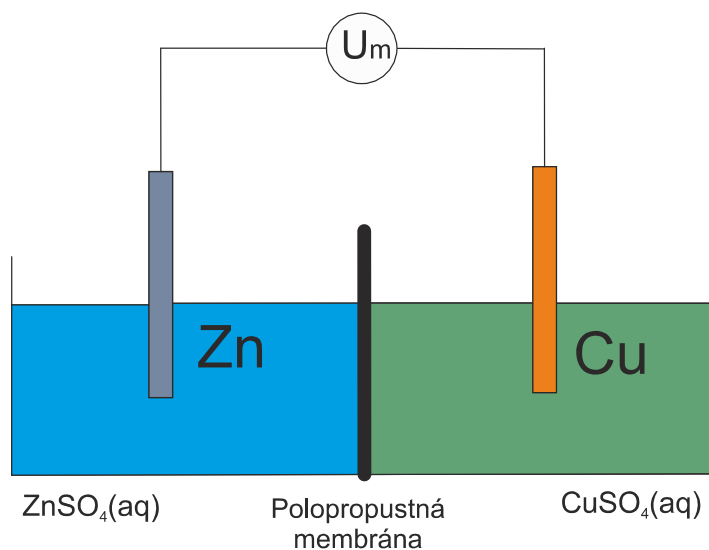
AC elektrostatická pole jsou nejčastěji způsobena napájecími vodiči a rádiovými frekvencemi jako je televizní vysílání, mobilní sítě a podobně.

3.3. Elektrochemická napětí

Elektrochemická napětí vznikají jako důsledek přeměny chemické energie na elektrickou a svou podstatu mají v oxidačně redukčních reakcích. Tohoto principu je využíváno u baterií, k měření složení roztoků a opačně například ke galvanickému pokovování. Základem jsou vždy elektrody a elektrolytický roztok. Elektrochemické napětí může vzniknout, pokud vytvoříme galvanický článek, nebo koncentrační článek. Pro měření napětí kovovými elektrodami je elektrochemické napětí nežádoucí.

3.3.1. Galvanický článek

Galvanický článek vznikne mezi dvěma elektrodami z různých kovů. Příklad galvanického článku je na Obr. 14.



Obr. 14 Příklad galvanického článku

Napětí U_m , které bychom takto změřili, je možné vypočítat pomocí Nernstovi rovnice (16). Polopropustná membrána zabraňuje smíchání roztoků a přitom umožňuje výměnu iontů, může být nahrazena solným mostem.

$$U_m = U_0 - \frac{R * T}{z * F} \ln(K) \quad (16)$$

U_m = Standardní elektrodový potenciál. Viz. Tabulka 2.

R = Molární plynová konstanta $8.314 \text{ J} * \text{K}^{-1} * \text{mol}^{-1}$.

T = Termodynamická teplota [K].

z = Počet vyměněných elektronů.

F = Faradayova konstanta $96485 \text{ C} * \text{mol}^{-1}$.

K = Rovnovážná konstanta reakce

$$K = \frac{a_E^e * a_F^f}{a_B^b * a_D^d} \quad (17)$$

B, D, E, F Jednotlivé složky reakční směsi.

b, d, e, f Stechiometrické koeficienty reakce.

a Aktivita (koncentrace).

Obecně lze říct, že napětí záleží především na materiálu elektrod a na druhu a koncentraci elektrolytického roztoku. Rostoucí teplota zvyšuje aktivitu iontů, proto je také důležitým faktorem.

Tabulka 2 udává napětí, které naměříme mezi kovovou elektrodou a standardní vodíkovou elektrodou pro roztoky s koncentrací $c = 1 \text{ mol} * \text{l}^{-1}$ za standardních podmínek. Každý kov stojící na vyšší pozici má snahu nahradit kov stojící pod ním z jeho solného roztoku. Ušlechtilější z kovů je vždy redukován, méně ušlechtilý je oxidován a vytvoří iont. Naměřené napětí přímo vyjadřuje aktivitu daných iontů a jejich koncentraci lze dopočítat. Výpočty jsou uvedeny pouze pro jednoduchou situaci. Na elektrody při měření bude působit více iontů zároveň. Důležité je, abychom se dotýkali pouze elektrodami ze stejného kovu.

Názorný výpočet napětí pro galvanický člunek na obr. 14.

Pro $T = 25^\circ\text{C}$, má rovnice (16) tvar (18).

$$U_m = U_0 - \frac{0.059}{z} \ln(K) \quad (18)$$

Rovnice probíhající reakce:



Uvažujeme, že koncentrace obou roztoků je stejná $c = 1 \text{ mol} * \text{l}^{-1}$. Koncentrace látek v pevném stavu Cu a Zn je považována za konstantní o stejné hodnotě,

v rovnici (17) se vzájemně vykrátí. Potom bude změřené napětí podle výpočtu (21) rovno 1,10 V.

$$U_m = 1.10 - \frac{0.02569}{2} \ln\left(\frac{1}{1}\right) = 1,10 \text{ V} \quad (21)$$

Pokud změním koncentraci roztoku síranu měďnatého na $c = 0.01 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, naměřené napětí se změní na hodnotu 1,04 V podle výpočtu (22).

$$U_m = 1.10 - \frac{0.02569}{2} \ln\left(\frac{1}{0.01}\right) = 1,04 \text{ V} \quad (22)$$

Kov	Standardní napětí [V]	Redoxní systém
Lithium	-3.05	Li \rightleftharpoons Li ⁺ + e ⁻
Draslík	-2.92	K \rightleftharpoons K ⁺ + e ⁻
Vápník	-2.76	Ca \rightleftharpoons Ca ²⁺ + 2 e ⁻
Sodík	-2.71	Na \rightleftharpoons Na ⁺ + e ⁻
Hořčík	-2.34	Mg \rightleftharpoons Mg ²⁺ + 2 e ⁻
Hliník	-1.67	Al \rightleftharpoons Al ³⁺ + 3 e ⁻
Mangan	-1.05	Mn \rightleftharpoons Mn ²⁺ + 2 e ⁻
Zinek	-0.76	Zn \rightleftharpoons Zn ²⁺ + 2 e ⁻
Chrom	-0.56	Cr \rightleftharpoons Cr ³⁺ + 3 e ⁻
Železo	-0.44	Fe \rightleftharpoons Fe ²⁺ + 2 e ⁻
Kobalt	-0.28	Co \rightleftharpoons Co ²⁺ + 2 e ⁻
Nikl	-0.23	Ni \rightleftharpoons Ni ²⁺ + 2 e ⁻
Cín	-0.14	Sn \rightleftharpoons Sn ²⁺ + 2 e ⁻
Olovo	-0.12	Pb \rightleftharpoons Pb ²⁺ + 2 e ⁻
Vodík	0.00	1/2H₂ \rightleftharpoons H⁺ + e⁻
Měď	+0.35	Cu \rightleftharpoons Cu ²⁺ + 2 e ⁻
Stříbro	+0.80	Ag \rightleftharpoons Ag ⁺ + e ⁻
Rtuť	+0.85	Hg \rightleftharpoons Hg ²⁺ + 2 e ⁻
Platina	+1.20	Pt \rightleftharpoons Pt ²⁺ + 2 e ⁻
Zlato	+1.36	Au \rightleftharpoons Au ³⁺ + 3 e ⁻

Tabulka 2 Standardní elektrodové potenciály.[3]

3.3.2. Koncentrační článek

Koncentrační článek vzniká mezi elektrodami ze stejného kovu, ponořenými do elektrolytických roztoků různých koncentrací. Vztah pro napětí koncentračního článku popisuje rovnice (23). Tato rovnice je pouze speciálním případem Nernstovi rovnice (16).

$$U_m = \frac{R * T}{F} * \ln \frac{a_1}{a_2} \quad (23)$$

a_1, a_2 Aktivita (koncentrace) roztoků.

Toto napětí je pro měření kovovými elektrodami velmi podstatné a nežádoucí.

4. Měření složení substrátu

Průběžně měřit složení substrátu je možné pomocí speciálních iontově-selektivních mikroelektrod. Touto metodou jsme schopni zjistit koncentrace základních živin pro rostlinu. Nejdříve je třeba určit přibližné složení substrátu a tím látky, které chceme měřit.

4.1. Výživa rostliny

Kromě uhlíku, kyslíku a vodíku potřebují rostliny další biogenní prvky, které přijímají ve formě iontů. Ty jsou součástí půdního roztoku. Nejvýznamnějšími ionty jsou NO_3^- , NH_4^- , SO_4^{2-} , HPO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$, K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} . V menších koncentracích jsou zastoupeny také mikrobiogenní prvky. [4]

4.2. Rhizosféra

Výživný roztok s rostlinou není homogenní. Vedle náhodných vysokých či nízkých koncentrací iontů se vytváří kolem kořene rostliny rhizosféra, což je oblast v bezprostřední blízkosti, přibližně 1-4 mm od povrchu kořene. Velikost této oblasti závisí na rostlině a různí se ve všech směrech. Koncentrace jednotlivých iontů v rhizosféře může být vyšší, stejná, nebo nižší jako v okolním substrátu v závislosti na koncentraci iontů v půdním roztoku, jejich pohyblivosti a rychlosti příjmu rostlinou. Rostliny mají schopnost modifikovat složení rhizosféry příjmem látek nebo vylučováním látek a to i organických. Rhizosféra nám může dát informaci o tom, jak si rostlina poradila s daným prostředím. Složení a velikost rhizosféry úzce souvisí s transpirací. S prouděním vody do kořene roste koncentrace iontů, především solí, u povrchu kořene proti koncentraci ve volné půdě. Tím se zvyšuje vodivost rhizosféry. Přitékající voda sebou přináší ionty a

ty se hromadí u kořene. Koncentrace iontů obsahujících P a K bývá v rhizosféře nižší než ve volné půdě, protože jejich koncentrace ve volné půdě je přirozeně nízká a rostlina je rychle spotřebovává. Složení rhizosféry se někdy popisuje měřením redoxního potenciálu. [4]

4.3. Měření redoxního potenciálu

Společně s hodnotou pH je redoxní potenciál jednou z nejčastěji sledovaných hodnot u průmyslových i soukromých odpadních vod, stejně jako při sledování čistoty vody v bazénech a pitné vody. Na stejném principu fungují iontově-selektivní mikroelektrody. [3]

4.3.1. Princip funkce iontově-selektivních mikroelektrod (ISE)

Funkce je založena na měření elektrochemického napětí. Elektroda se skládá z iontově-selektivní membrány umístěné na špičce skleněné pipety. Pipeta je naplněná solným roztokem, ve kterém je vložena kovová elektroda. ISE jsou citlivé na aktivitu vybraných iontů podle použité membrány, roztoku a elektrody.

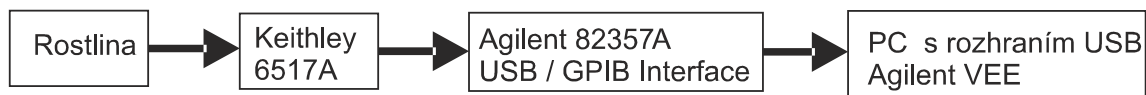
Takto sestavená elektroda vytváří poločlánek, na kterém napětí přímo měřit nelze. Pro správnou funkci je třeba ještě druhé, referenční elektrody, aby-chom vytvořili monočlánek. Standardní referenční elektrodou je vodíková elektroda s potenciálem 0V. Napětí elektrod vychází z Beketovovi řady napětí kovů, standardní potenciály udává Tabulka 2. Existují různá provedení těchto elektrod, některé najdeme např. na stránce www.wpiinc.com. Základní charakteristiku každé elektrody určuje selektivita pro daný iont, detekční limit, strmost a čas odezvy. [8]

Nevýhodou těchto elektrod je vysoký vnitřní odpor řádově stovky $G\Omega$ až $T\Omega$ a hodí se spíše pro měření roztoků než půdního substrátu. Měření s nimi vyžaduje mimo jiné hlídání hodnoty pH, je značně komplikované a přesahuje rámec této práce.

Pro naše potřeby postačí závislost potenciálu pro substráty o známém složení. Různá hnojiva přibližně namíchaná na dané koncentrace mohou být ideálním řešením.

5. Návrh měřicí sestavy

Při návrhu měřicí sestavy byly uvažovány především metody popsané v kapitole 2 a jevy popsané v kapitole 2.1. Blokové schéma celé sestavy je na obr. 16.



Obr. 15 Blokové schéma měřicí sestavy

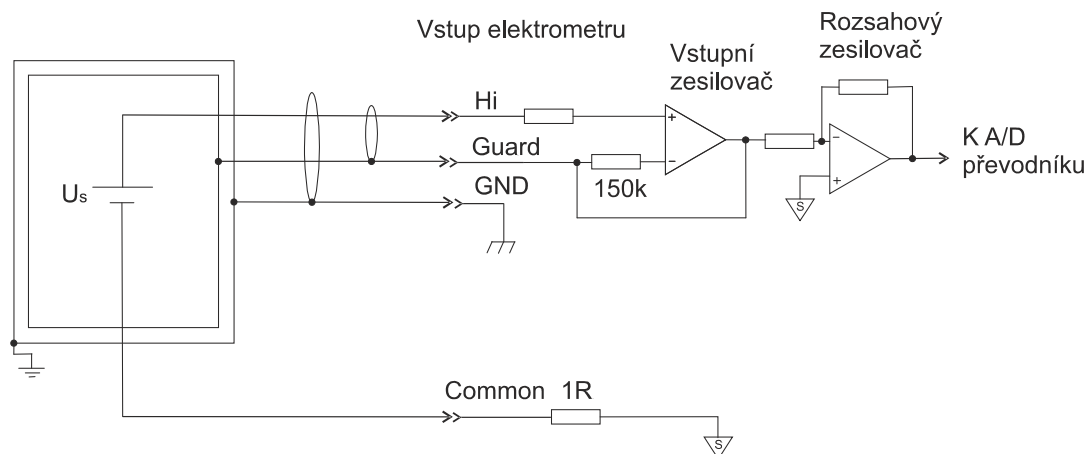
5.1. Připojení rostliny

Kontakt s rostlinou je zajištěn platinovými elektrodami. Elektrody jsou připojeny k elektrometru Keithley 6517A v zapojení s ochranným napětím. Toto zapojení umožňuje ALG-2 Triaxiální kabel.



Obr. 16 AGL-2 Triaxiální kabel

Ochranný zemní vodič by měl být připojen, pokud měřené napětí U_s přesahuje 30 V. Na vodiči *Guard* může být v takovém případě nebezpečné napětí. Maximální povolené souhlasné napětí Common vůči zemi GND je 500 V, tento limit zřejmě nebude překročen.



Obr. 17 Zapojení s ochranným vodičem

K elektrometru Keithley 6517A je možné navíc připojit sondy pro měření vlhkosti a teploty. Tím mohou být sledovány nejdůležitější vlastnosti prostředí.

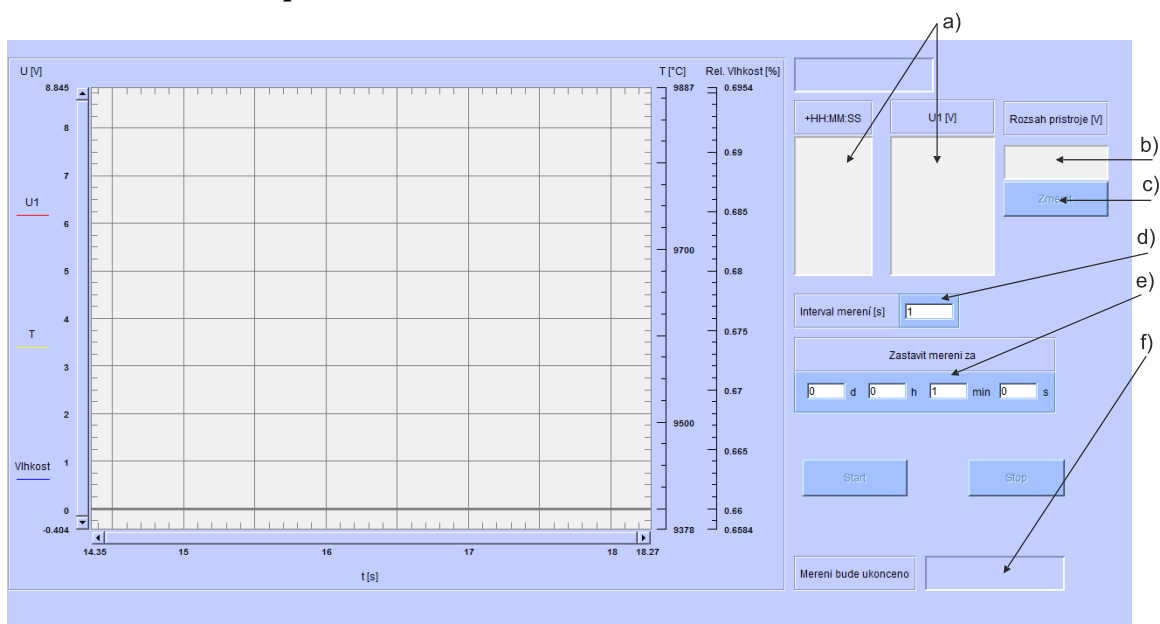
5.2. Připojení Keithley 6517A k PC

Jak zobrazuje schéma na obr. 16, pro připojení k PC je použit USB/GPIB převodník Agilent 82357A. Umožňuje připojení k většině osobních počítačů a využití všech funkcí GPIB rozhraním přístroje. Pro sběr dat potom stačí běžný osobní počítač s vhodným softwarem a rozhraním USB.

5.3. Program pro měření

Za účelem sběru dat byl vytvořen program pro obsluhu přístroje v prostředí Agilent VEE Pro 7.0. Pro jeho funkci je třeba nainstalovat Agilent VEE runtime a Agilent IO libraries verze 7.0 nebo vyšší. Instalace jsou volně dostupné ke stažení na stránkách Agilentu.

5.3.1. Ovládací panel



Obr. 18 Ovládací panel programu pro měření

Ovládání je zcela intuitivní. Uživatelské rozhraní obsahuje grafické zobrazení průběhu napětí, teploty a relativní vlhkosti v čase. Na ose X je čas $t[s]$, který uběhl od spuštění měření. Osa Y vlevo vyjadřuje naměřené napětí $U[V]$. Další dvě osy Y vpravo vyjadřují teplotu $T[°C]$ a relativní vlhkost [%]. Rozsah stupnic je volen automaticky podle naměřených hodnot. Automatický rozsah je možné vypnout a nastavit pevně. Barvu jednotlivých průběhů lze měnit dle libosti.

V oblasti a) se zobrazují poslední naměřené hodnoty napětí v čase, který uplynul od začátku měření. Začátek měření je zobrazen nad těmito hodnotami. Aktuální rozsah měřicího přístroje je zobrazen v b). Jiný rozsah lze zvolit tlačítkem *Změnit* c). Při každé změně rozsahu je možné provést korekci nulového napětí přístroje, kdy dojde k vynulování offsetu přístroje a následně program uživatele provede nulováním offsetu připojených vodičů a elektrod.

Spuštěné měření je automaticky zastaveno za čas zadaný v e), nebo lze měření ukončit tlačítkem *Stop* okamžitě. Políčko označené f) je pro informaci a zobrazuje čas, kdy dojde k automatickému ukončení měření. Do políčka d) se zadává interval měření. Standardně je perioda měření zvolena na 1 s, to znamená, že program zjišťuje hodnoty každou sekundu. Po zmáčknutí tlačítka *Start* se program zeptá, jestli chcete uložit záznam měření a poté je měření spuštěno.

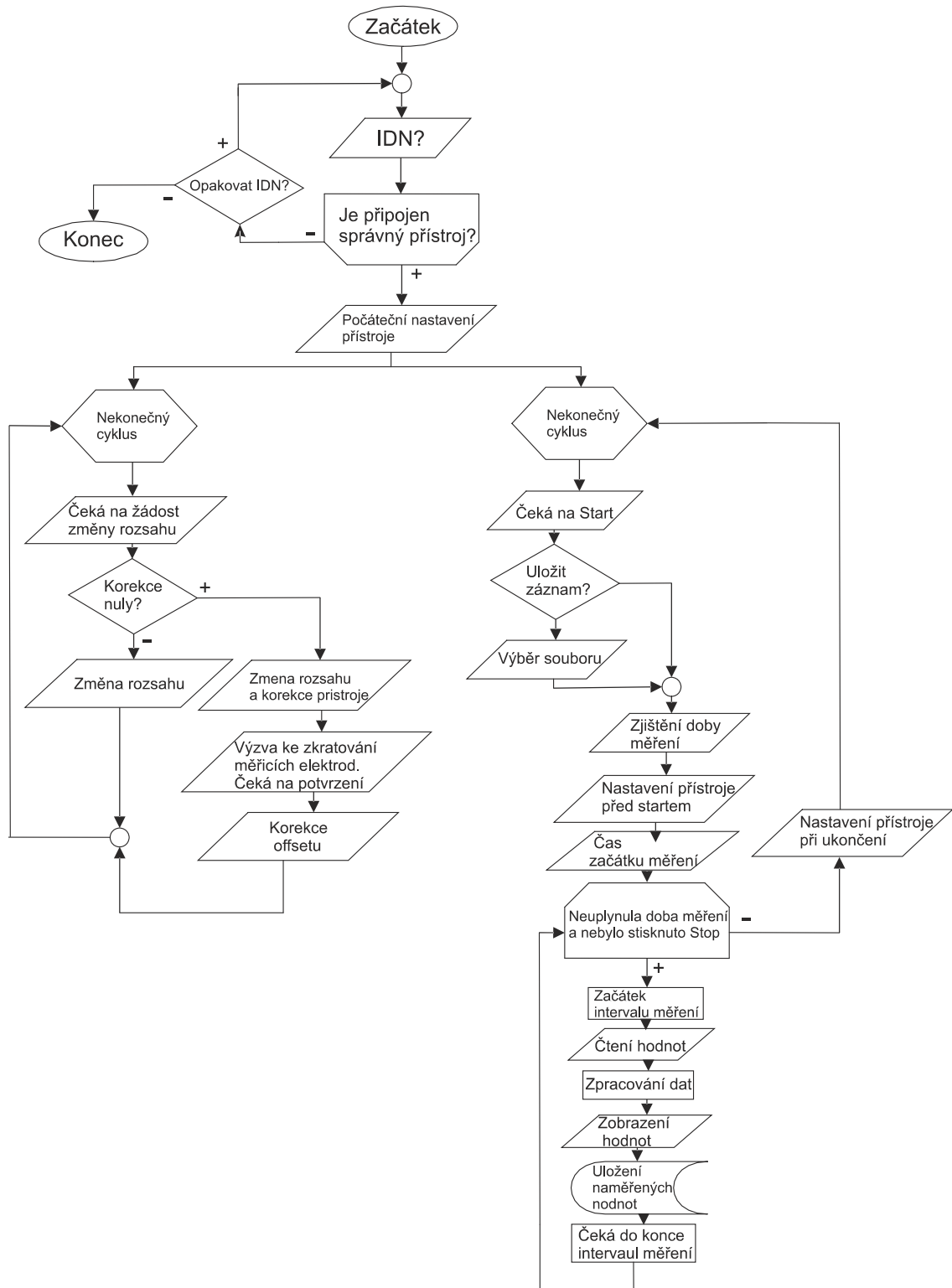
5.3.2. Kód programu

Prostředí Agilent VEE 7.0 je založené na toku dat. Vývojový diagram je na obr. 19. Vlastní kód programu lze nalézt v příloze. Pro komunikaci s přístrojem byly použity příkazy dle standartu SCPI a obecné příkazy dle normy IEE-488.2, které přístroj podporuje.

Počáteční nastavení přístroje

```
volt:aver:type none //Vypne funkci průměrování hodnot.  
syst:zch 1 //Zapne Zero Check.  
syst:zcor 0 //Zruší korekce nuly.  
voltage:DC:range:auto 1 //Rozsah je nastaven na automatický.  
voltage:DC:guard 0 //Pokud je zapnuta funkce guard, je vypnuta.  
voltage:DC:median 0 //Vypne funkci medián.
```

Funkce medián a averaging v programu nejsou řešeny, a proto se při spuštění vypnou. Jsou odečítány vždy aktuální hodnoty. Po spuštění programu je možné tyto funkce nastavit manuálně použitím tlačítka *Local* na přístroji.



Obr. 19 Vývojový diagram

Změna rozsahu s korekcí

```
func \'voltage:DC\           //Přístroj je nastaven pro měření DC napětí.  
syst:zch 1                   //Zapne Zero check, pokud není aktivní.  
voltage:DC:range <n>        //Změna rozsahu dle výběru. Zde <n> je  
                             numerická hodnota rozsahu.  
wait interval 3 s           //Vyčká 3 sekundy pro ustálení přístroje.  
syst:zcor:acquire           //Odečte se hodnota pro korekci přístroje.  
syst:zch 0                   //Vypne Zero Chcek.  
syst:zcor 1                  //Provede korekci nuly přístroje.
```

Korekce offsetového napětí je následně provedena virtuálním stiskem klávesy REL. Pokud změníme rozsah bez korekce, je proveden pouze třetí řádek. Je doporučeno provést korekci při každé změně a také před každým měřením.

Nastavení přístroje před startem

```
func \'voltage:DC\           // Přístroj je nastaven pro měření DC  
data:points 1                //Velikost zásobníku.  
form:elem TST,read,HUM,ETE   //Prvky, které budou ukládány.  
trace:feed:control allways   //Do zásobníku je zapisováno neustále,  
                             staré hodnoty jsou přepisovány.  
syst:macro:trigger:source timer  
syst:macro:trigger:timer <n> //Nastaví interval n měření přístroje.  
syst:TST:type REL            //Aktivuje relativní časovou stopu  
syst:TSC 1                    //Aktivuje teplotní čidlo  
syst:HSC 1                    //Aktivuje čidlo relativní vlhkosti  
syst:TST:REL:RES             //Reset relativní časové stopy  
syst:zch 0                    //Vypne Zero Chcek  
voltage:DC:guard 1           //Zapne funkci Guard
```

Po této sekvenci následuje zpoždění 0,8 s pro reset časové stopy.

Čtení naměřených dat

```
:data?  
READ text x STR
```

Změřená data jsou čtena ze zásobníku přístroje ve formátu řetězce. Zásobník je nastaven před měřením tak, aby obsahoval pouze jeden řetězec s poslední změřenou hodnotou napětí, teploty a relativní vlhkosti. K hodnotám je přiřazena relativní časová stopa. Čas je počítán vždy od resetu relativní časové stopy. Přesnost časové stopy je nejspíš zbytečná, ale to určitě není na závadu. Přechtená

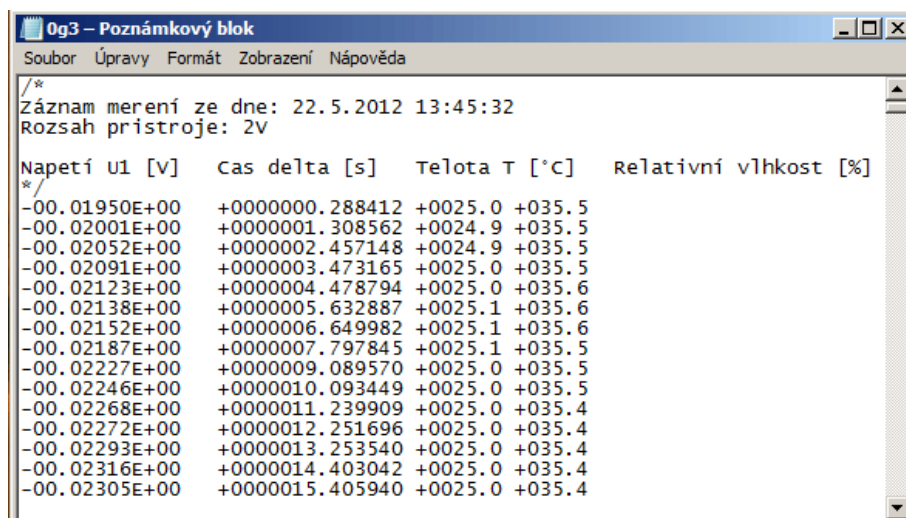
data jsou vhodně upravena a zobrazena v uživatelském rozhraní, případně zároveň ukládána na disk počítače.

Nastavení přístroje po ukončení měření

Po ukončení měření, ať už automaticky nebo pomocí tlačítka *Stop*, je zapnut Zero Check a vypnuta funkce Guard.

5.3.3. Záznam měření

Záznam měření je veden ve formátu textového souboru *.txt a obsahuje standardní ASCII znaky. Jako oddělovací znak byl zvolen tabulátor. Tabulátor je nativní oddělovač v programu MS Excel. Soubor stačí otevřít v Excelu a hodnoty jsou automaticky rozděleny do tabulky. Mimo naměřená data obsahuje soubor hlavičku s datem měření a použitým rozsahem přístroje. Oddělovací znaky /* */ slouží pro jednoduchý skript *VytvorGrafy.m* spustitelný v Matlabu.



```
0g3 - Poznámkový blok
Soubor Úpravy Formát Zobrazení Nápověda
/*
Záznam merení ze dne: 22.5.2012 13:45:32
Rozsah přístroje: 2V
Napetí u1 [V] Cas delta [s] Teplota T [°C] Relativní vlhkost [%]
*/
-00.01950E+00 +0000000.288412 +0025.0 +035.5
-00.02001E+00 +0000001.308562 +0024.9 +035.5
-00.02052E+00 +0000002.457148 +0024.9 +035.5
-00.02091E+00 +0000003.473165 +0025.0 +035.5
-00.02123E+00 +0000004.478794 +0025.0 +035.6
-00.02138E+00 +0000005.632887 +0025.1 +035.6
-00.02152E+00 +0000006.649982 +0025.1 +035.6
-00.02187E+00 +0000007.797845 +0025.1 +035.5
-00.02227E+00 +0000009.089570 +0025.0 +035.5
-00.02246E+00 +0000010.093449 +0025.0 +035.5
-00.02268E+00 +0000011.239909 +0025.0 +035.4
-00.02272E+00 +0000012.251696 +0025.0 +035.4
-00.02293E+00 +0000013.253540 +0025.0 +035.4
-00.02316E+00 +0000014.403042 +0025.0 +035.4
-00.02305E+00 +0000015.405940 +0025.0 +035.4
```

Obr. 19 Ukázka záznamu měření

VytvorGrafy.m

Soubor *VytvorGrafy.m* lze nalézt v příloženém CD. Tento skript automaticky vytvoří grafy pro průběhy naměřených hodnot. Je třeba nahradit desetinné čárky desetinnou tečkou, což lze provést například v Poznámkovém bloku volbou *Úpravy/Nahradit*. Do skriptu stačí zadat cestu k souboru se záznamem.

Skript je také schopný opravit grafy pomocí lineární korekční křivky v případě, že dojde k posunu napětí elektrod na konci měření. V takovém případě stačí zadat zjištěný offset a odstranit komentář příslušného řádku. Skript používá funkci *plotyyy*, ke které se vztahuje příložená licence.

5.4. Testování měřící sestavy

Navržená sestava byla testována dvěma pokusy, aby ověřily její možnosti a spolehlivost. Na základě testů si lze představit, jak moc lze naměřeným údajům důvěřovat. Při správné obsluze prokázala velmi uspokojivé výsledky.

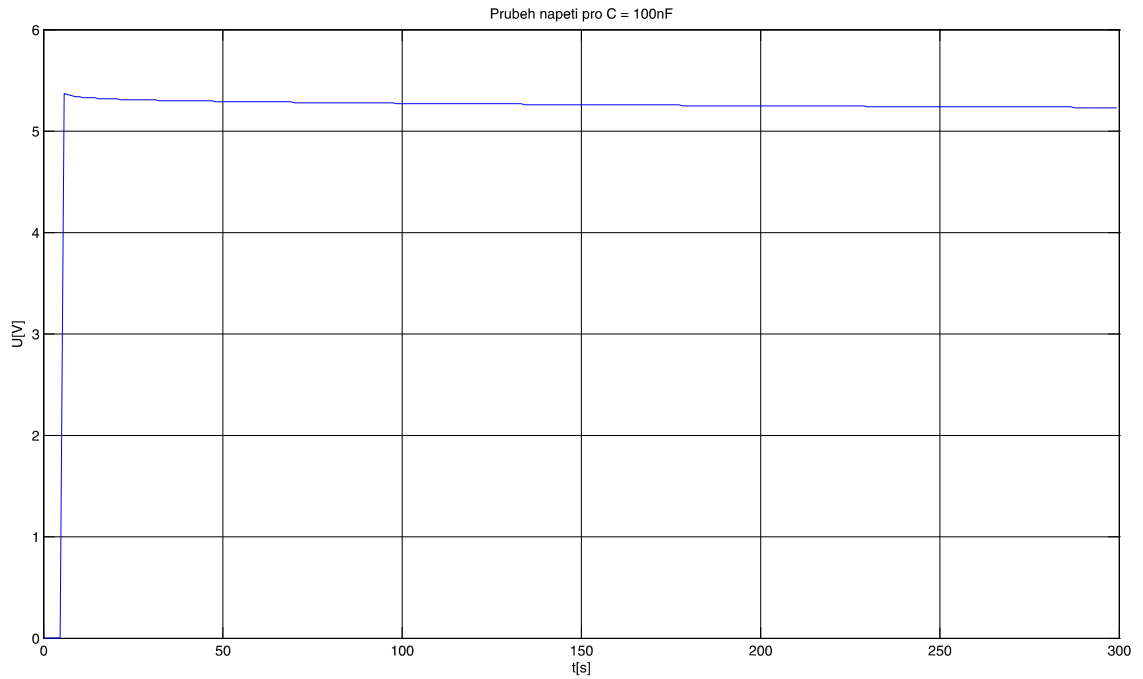
5.4.1. Měření napětí na nabitém kondenzátoru

Bylo měřeno napětí na kondenzátorech o kapacitě 100nF, 100pF, 22pF a 1pF. Kondenzátory byly připojeny na svorky elektrometru a následně bylo spuštěno měření. Z laboratorního zdroje byl kondenzátor nabit krátkým impulzem o napětí přibližně 5V. Napětí na kondenzátoru 1pF se změřit nepovedlo kvůli manipulaci v okolí při jeho nabíjení. Na obr. 21 je vidět jak probíhalo měření.

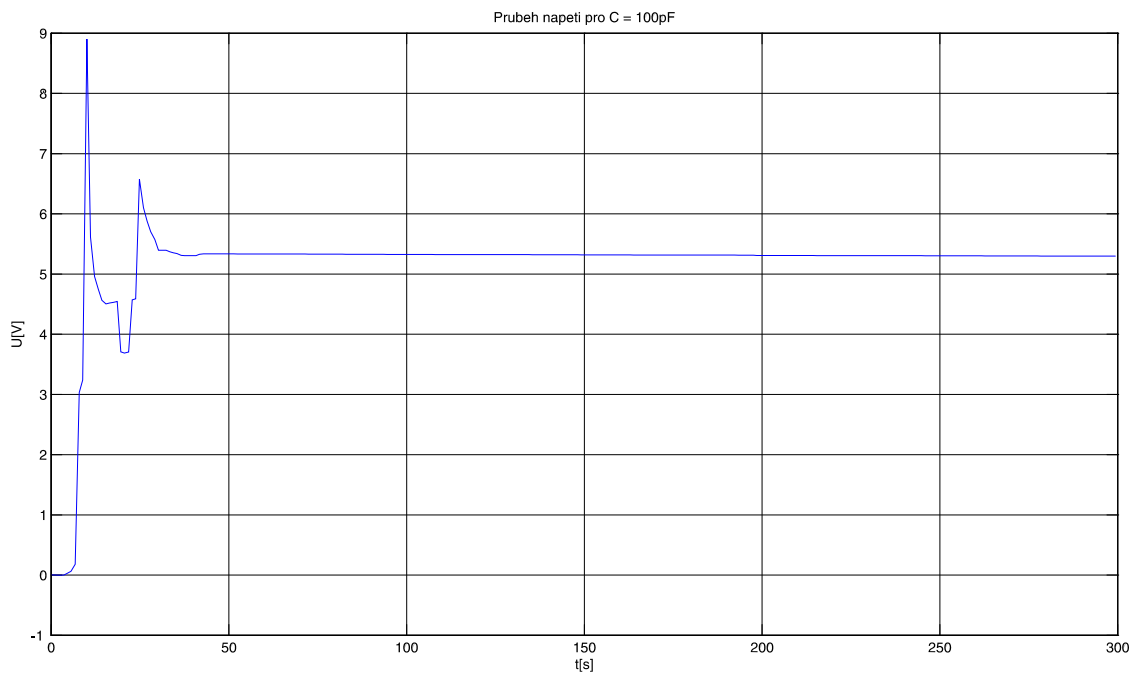


Obr. 20 Měření napětí na nabitém kondenzátoru

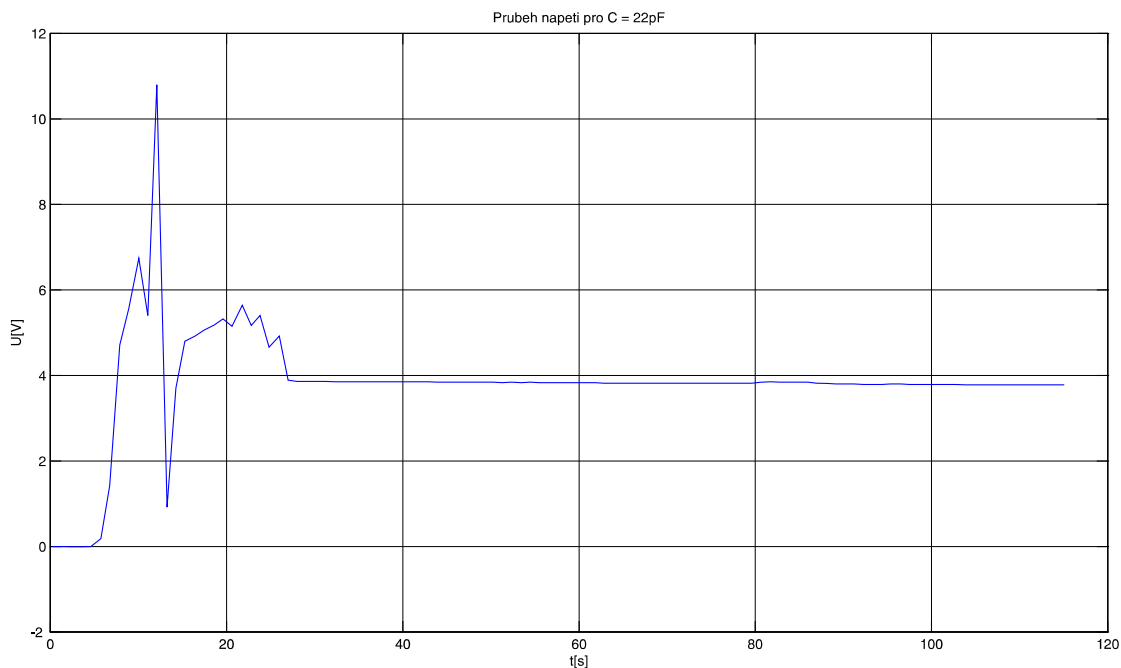
Následující grafy jsou výsledkem tohoto měření. Je zcela patrné, že k vybíjení kondenzátorů docházelo velmi pozvolna. Rychlost poklesu napětí na kondenzátoru 100nF byla při začátku měření menší než $2\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ a exponenciálně klesala téměř k nulové limitě. Je zřejmé, že odběr měřící sestavy je zanedbatelný vzhledem k předpokládanému měřenému napětí v řádech mV. Při měření na kondenzátoru 22pF docházelo již ke značnému kolísání napětí při začátku měření. Toto je způsobeno manipulací v bezprostřední blízkosti nožiček kondenzátoru při jeho nabíjení. Je vidět, že po skončení manipulace již napětí zůstává stabilní. Minimální pokles napětí nejspíš není způsoben jen odběrem sestavy, ale také samovolným vybíjením kondenzátoru mezi přípojnými kontakty.



Graf 1 Měřené napětí na kondenzátoru s kapacitou 100nF



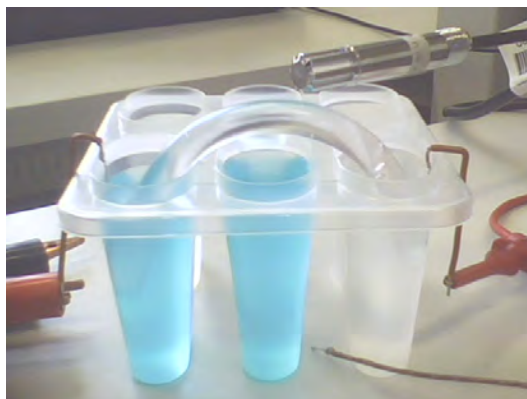
Graf 2 Měřené napětí na kondenzátoru s kapacitou 100pF



Graf 3 Měřené napětí na kondenzátoru s kapacitou 22pF

5.4.2. Měření elektrochemického napětí

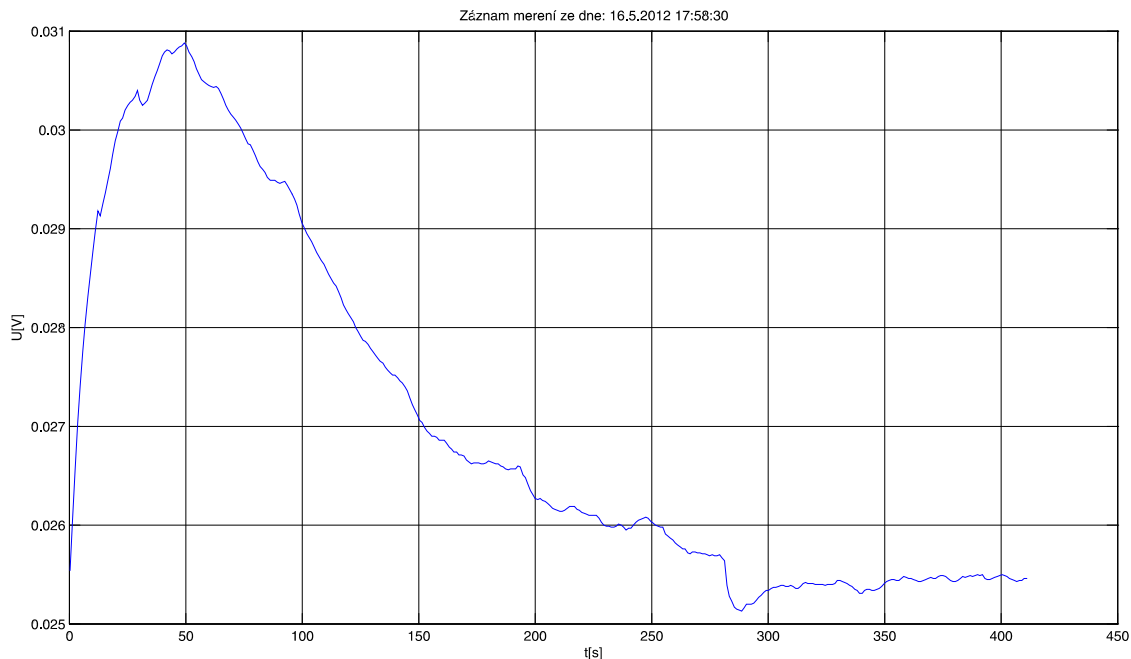
Tento test měl ověřit, jestli je vhodné použít platinové elektrody pro měření biopotenciálu. Byl namíchán přibližně 5% roztok hnojiva a připraven pokus, který je vidět na obr. 22.



Obr. 22 Měření napětí mezi roztoky

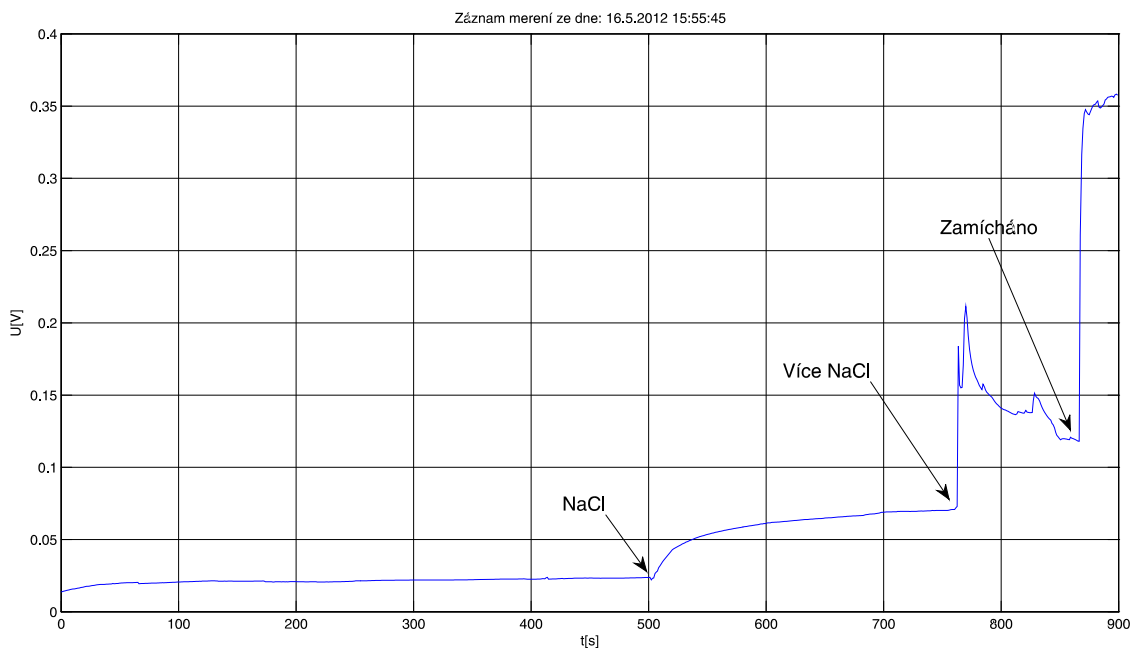
Modře zbarvená kapalina je voda s hnojivem. Tento výživný roztok je vodivě spojen potravinářskou hadičkou naplněnou indiferentním gelem s druhou nádobkou, ve které je běžná voda z vodovodu. Platinové elektrody jsou ponořeny do roztoků a měří se napětí mezi nimi. Pokud by nevzniklo elektrochemické napětí, byla by změřená hodnota přibližně nulová. Stejným způsobem byly spojeny dvě nádoby s výživným roztokem, dvě nádoby s obyčejnou vodou a bylo změřeno napětí mezi nimi.

Pro různé roztoky bylo naměřeno napětí větší než 25mV, což je zachyceno v grafu 4. Počáteční přechodový děj je způsoben nejspíš depolarizací elektrod.



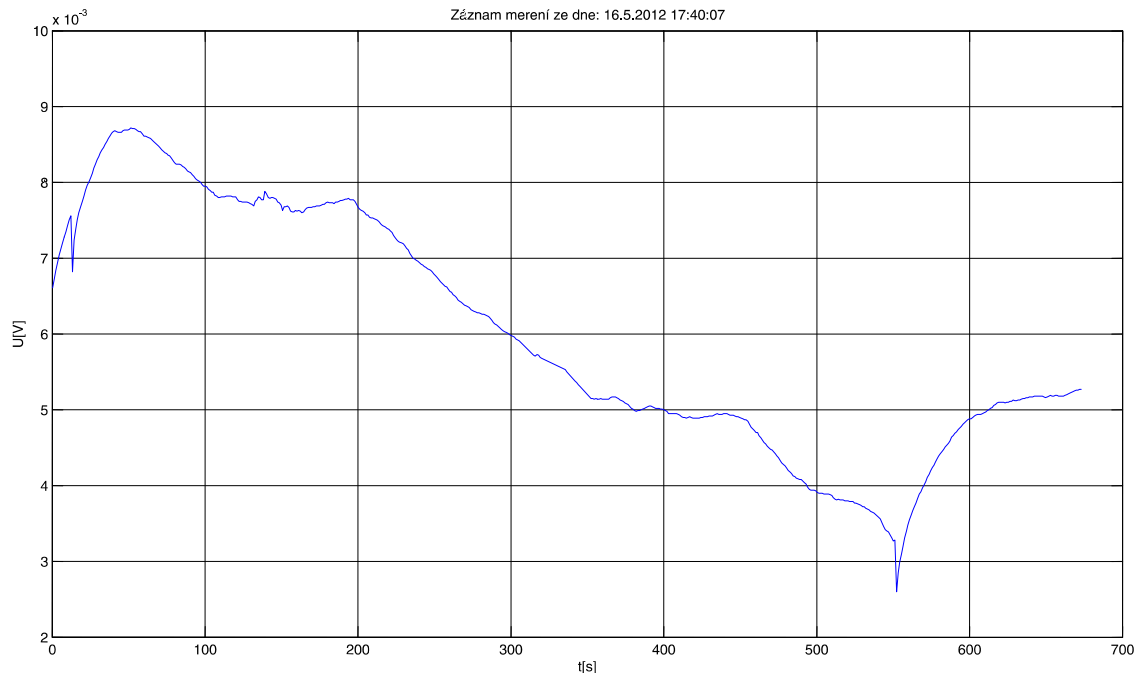
Graf 4 Průběh napětí mezi roztokem Kristalonu Start a vodovodní vodou

Graf 5 zobrazuje výrazný nárůst napětí až na 350mV, při zvýšení koncentrace iontů soli NaCl. Běžná kuchyňská sůl byla přidána do nádoby s vodovodní vodou. Všimněme si, že počáteční hodnota cca 25mV se nemění a je shodná s ustálenou hodnotou v Grafu 4.

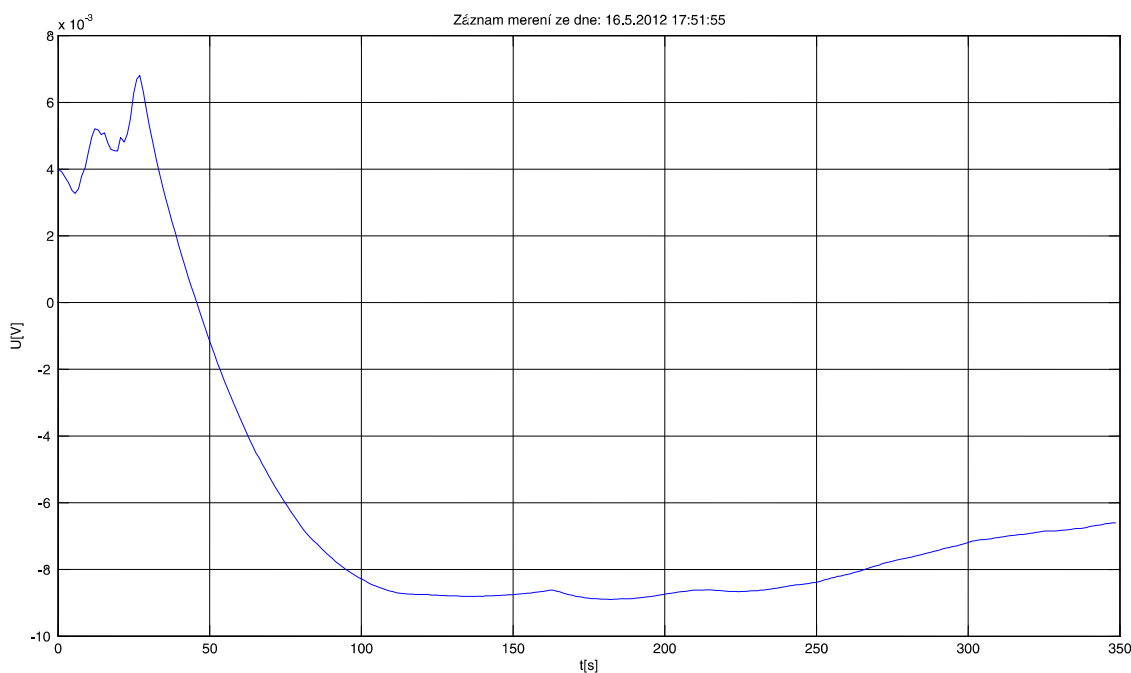


Graf 5 Napětí mezi roztokem Kristalonu Start a vodovodní vodou po přidání NaCl

Pro roztoky se stejným složením bylo naměřeno napětí nepřesahující $\pm 10\text{mV}$ a mělo tendenci se pohybovat kolem nuly, jak je vidět v grafech 6 a 7.



Graf 6 Průběh napětí mezi dvěma roztoky vodovodní vody



Graf 7 Průběh napětí mezi dvěma roztoky Kristalonu Start

Toto napětí je způsobeno nejspíš nečistotami, které se dostaly na elektrody při manipulaci s nimi. Dalším důvodem nenulového napětí může být mírně odlišné složení roztoků v nádobkách. Vodovodní voda vždy obsahuje určité procen-

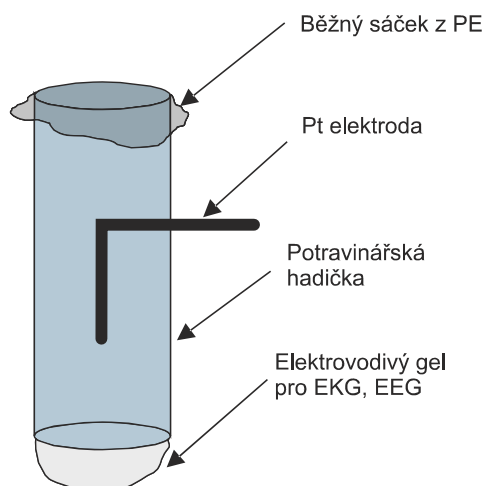
to rozpuštěných látek. Pro nulové napětí by musela být voda destilovaná, ta by však nevedla elektrický proud.

Z testů měření napětí mezi roztoky je zcela patrné, že použitím platinových elektrod měříme elektrochemické napětí. Tento jev byl popsán podrobněji v kapitole 3.3. Připojením platinových elektrod k rostlině tak budeme měřit spíše rozdíl aktivity iontů v místech připojení, než biopotenciál.

5.5. Úprava platinových elektrod

Za účelem odstranění rušivého elektrochemického napětí byly upraveny platinové elektrody s ohledem na kapitolu 3.3. Obrázek 21 zachycuje tuto úpravu. Podstatou úpravy je zajištění stálé a nejlépe stejné koncentrace (aktivity) iontů v okolí obou elektrod. Jedná se o improvizované řešení, které je podobné Ag/AgCl elektrodě popsané v kapitole 2.3. Toto řešení jsem zvolil mimo jiné z toho důvodu, že všechny potřebné věci již byly v místě pracoviště a nestálo ani korunu navíc.

Je třeba poznamenat, že Ag/AgCl elektrody jsou speciální elektrody pro měření koncentrace iontů a proto vyžadují definované referenční napětí. Pro naše měření není důležité, jaké napětí na elektrodě (monočláнку) vzniká. Podstatné je, aby bylo na obou elektrodách stejné. Měřené napětí mezi dvěma takovými elektrodami bude nulové.



Obr. 21 Upravená Pt elektroda

Do potravinářské hadičky, která se hodí mimo jiné při kvašení švestek a dalšího ovoce, jsem propíchnul jehlou díрку a zasunul do ní platinový drátek. Následně jsem hadičku naplnil speciálním gelem pro EKG. Tento gel by měl být indiferentní, tedy stejné koncentrace a stejného složení v celém svém objemu. Pokud se provádí měření EKG, dochází ke vzniku elektrochemického napětí na

přípojných elektrodách. Tento gel je vyvinutý speciálně pro podobné účely a napomáhá odstranění tohoto napětí. Mimo jiné velmi pozvolna vysychá. Vyschnutí gelu by mělo za následek zvýšení koncentrace iontů a tím by se změnilo elektrochemického napětí. Aby gel vysychal ještě pomaleji, je hadička shora zakrytá obyčejným sáčkem. Kontakt s rostlinou nebo substrátem je potom zajištěn pouze prostřednictvím vodivého gelu.

Bylo by jistě vhodné použít robustnější řešení v podobě skleněné trubičky. Platinový drátek by měl být lépe uchycený. Místo sáčku by se určitě dala použít vhodnější zátka.

Bylo měřeno těmito elektrodami napětí mezi roztoky různých koncentrací způsobem, který je popsán v kapitole 5.4.2. Naměřené napětí se pohybovalo v rozmezí $\pm 10\text{mV}$, jako tomu bylo v případě roztoků stejných koncentrací. Toto napětí je nejspíš opět způsobeno nečistotami na platinových elektrodách. Po deseti minutách od sestavení elektrody došlo k ustálení napětí na určité hodnotě, které lze odečíst jako offset při korekci nulového napětí přístroje.

Pokud budeme měřit v roztocích, vždy bude docházet k postupnému přechodu iontů do elektrovedného gelu a naopak, až do vyrovnání koncentrací. Dochází tak ke vzniku multiplikativní chyby.

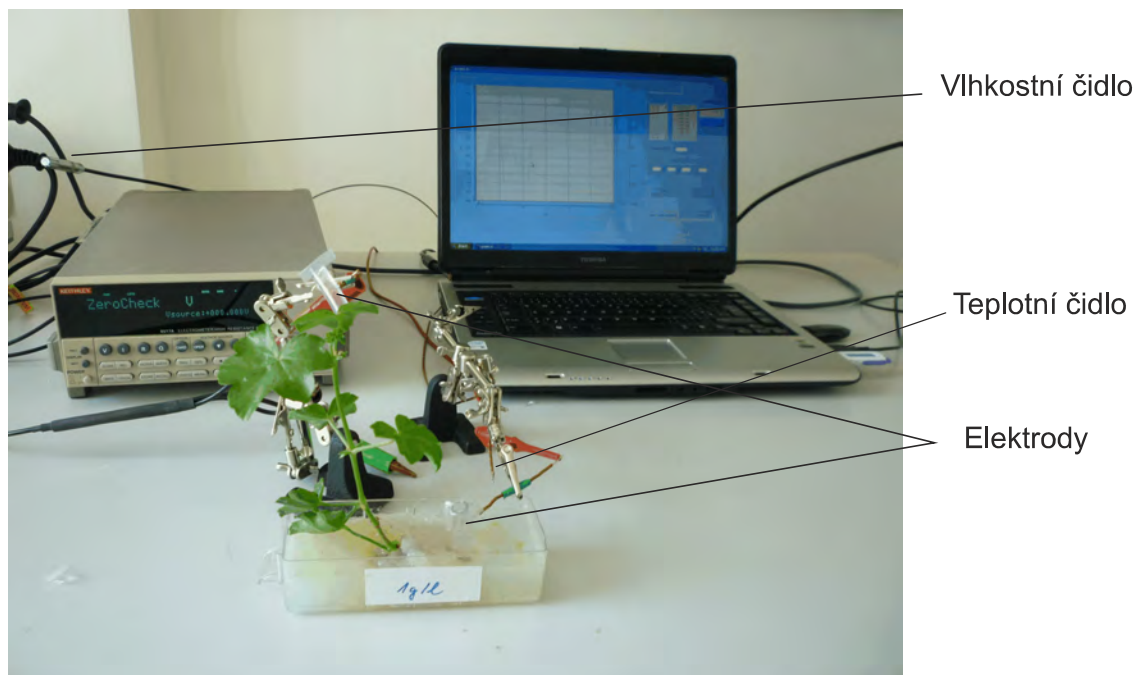
6. Měření elektrického potenciálu na rostlinách

Měření bylo prováděno na sazeničkách pelargónií, které byly zakoupeny v nejmenovaném zahrádkářství. Sazeničky byly přibližně stejného věku, což alespoň částečně zajistilo nezávislost na jednotlivých rostlinách. Kořeny rostlin byly propláchnuty vodou a zbaveny tak zeminy. Omyté rostliny byly následně zasazeny do substrátu z agarů uvařeného v poměru 12g na 1 litr vody. Každý vzorek měl svoji nádobu se substrátem. Jednotlivé substráty měly rozdílné koncentrace hnojiva Kristalon Start namíchané v poměrech 0g na 1 litr vody, tedy bez hnojiva, 0,5g na 1 litr, 1g na 1 litr, což je doporučená koncentrace pro hnojení tímto hnojivem a čtvrtý substrát byl namíchan v poměru 1,5g hnojiva na 1 litr vody. Takto vytvořené vzorky jsou vidět na obr. 22



Obr. 22 Měřené rostliny

Pro měření byla použita navržená sestava s platinovými elektrodami, upravenými podle 5.5. Elektroda značená podle obr. 17 *common* byla připojena do substrátu a elektroda označená jako HI, tedy vyšší potenciál, byla připevněna na list rostliny. Jak probíhalo měření je zachyceno na obr. 23.

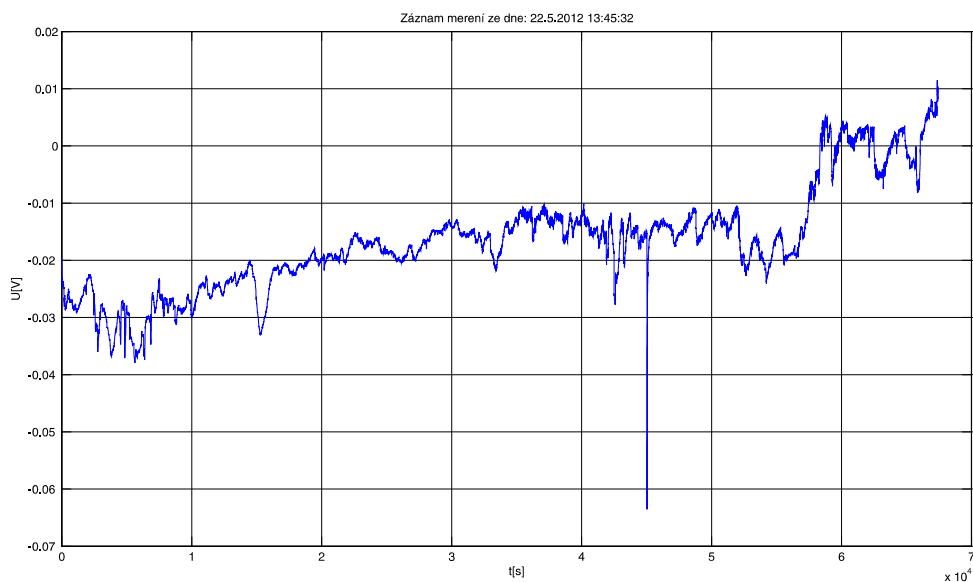


Obr. 23 Měřící pracoviště

6.1. Substrát 0,0g na 1litr (bez hnojiva)

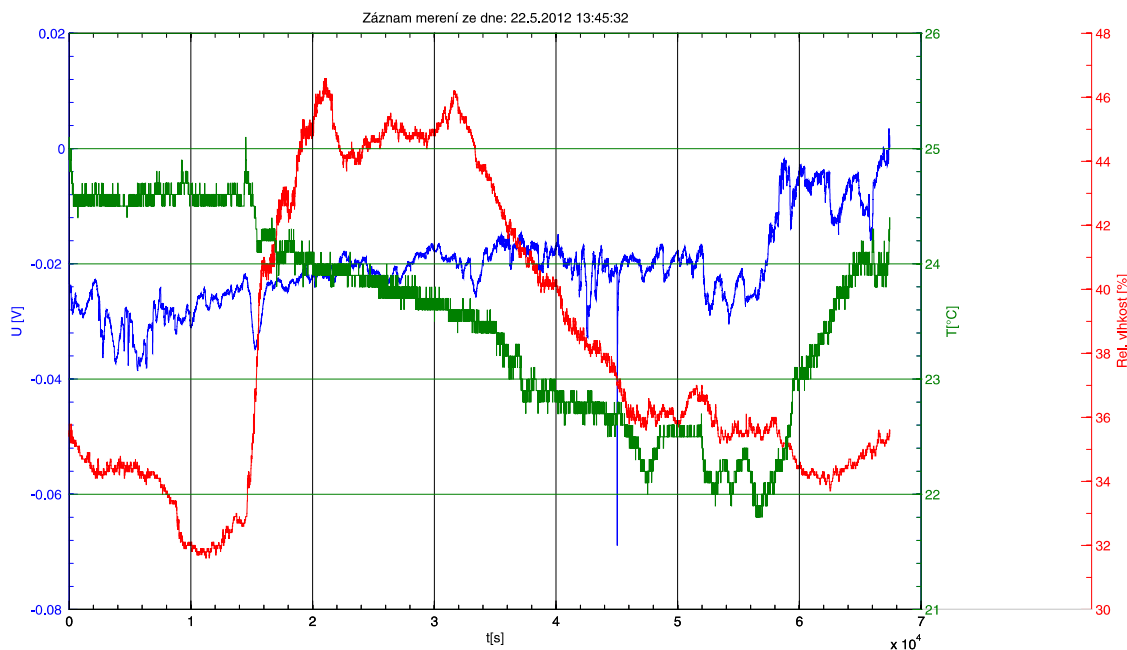
Průběh naměřeného napětí během necelých 24 hodin je zachycen na grafu 8. Na konci měření byl zjištěn offset měřících elektrod 8mV. Jedná se multiplikativní chybu popsanou v 5.5. Za předpokladu, že jde o lineární závislost, byla stanovena korekční křivka (23).

$$y = 1.1865 * 10^{-7}t \quad (23)$$



Graf 8 Naměřené napětí na rostlině v substrátu bez hnojiva, bez korekce.

Opravený průběh napětí je potom v grafu 9 zobrazen společně s teplotou a relativní vlhkostí v okolí měření.



Graf 9 Substrát bez hnojiva

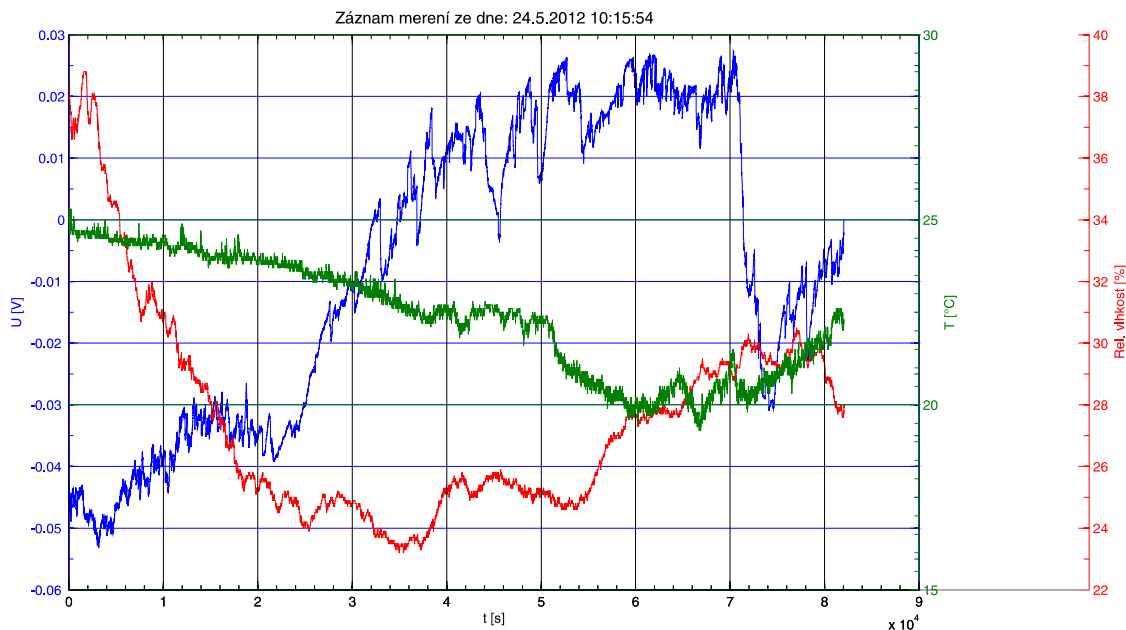
Interpretaci dat je lepší nechat odborníkům na biologii, přesto je dobré poukázat na některé výrazné a zajímavé projevy. Je vidět závislost elektrického potenciálu na osvětlení. Napěťové špičky jsou v časech západu a východu Slunce.

Napětí se během dne pohybovalo kolem -30mV. V podvečer se projevila bouřka nárůstem relativní vlhkosti. V čase 15000s od začátku měření, to je kolem 18:00, vidíme napěťovou špičku, která je způsobena nejspíš zatažením oblohy bouřkovými mraky. Dále je vidět pokles teploty po bouřce v nočních hodinách. V noci se napětí pohybovalo kolem -20mV.

Napětí teplotou není ovlivněno, i když to tak může na první pohled vypadat především v ranních hodinách. Při detailním pohledu na graf 9 zjistíme, že napěťové špičky předchází teplotní o 5 až 10 minut. Vzhledem k tomu, že na místo měření dopadá ranní slunce, je změna napětí způsobena spíš osvětlením, až následně se zvýší teplota v místnosti. Východ slunce vedl ke změně potenciálu na hodnoty kolem -10mV.

6.2. Substrát 0,5g na 1litr

Záznam měření rostliny v substrátu s poměrem 0.5g hnojiva na 1 litr vody je vidět v grafu 10.



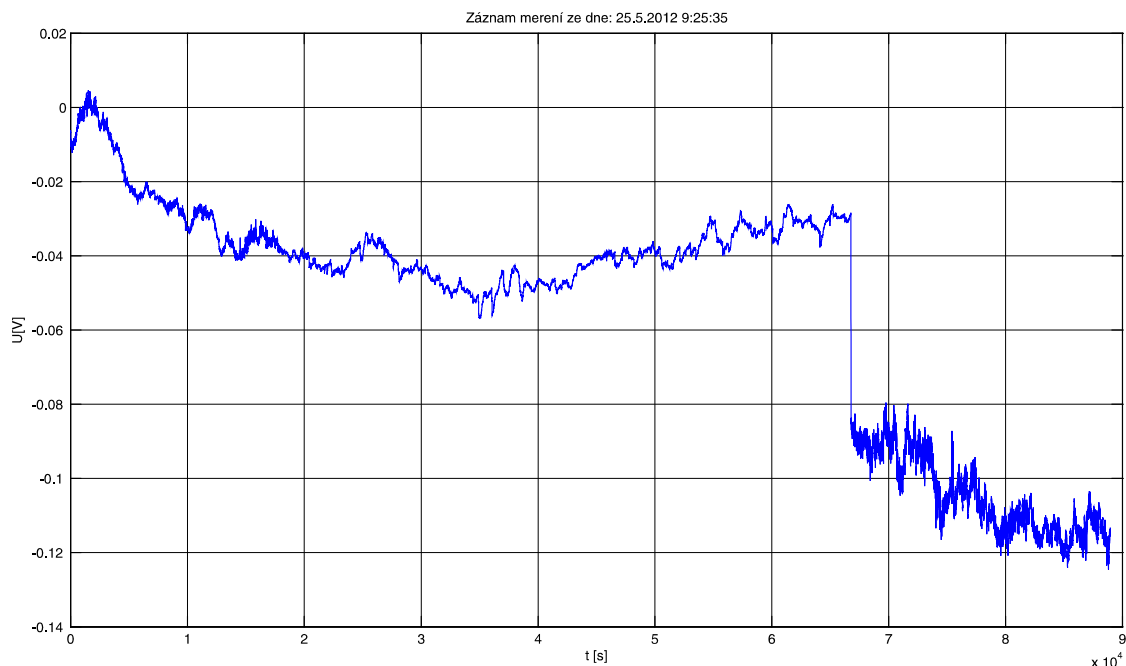
Graf 10 Substrát s poměrem 0,5g hnojiva na 1 litr vody

Před připojením rostliny se skutečné napětí mezi elektrodami ustálilo na hodnotě $-34,16\text{mV}$. Takto výrazný posun byl způsoben nejspíš většími nečistotami na elektrodách. Tuto hodnotu jsem zvolil jako referenční pro měření. Na konci měření bylo skutečné napětí mezi elektrodami $-3,66\text{mV}$. Zjistil jsem tedy posun napětí o $+30,5\text{mV}$ od začátku měření. Je zřejmé, že došlo k vyrovnání koncentrací a jedná se opět o multiplikativní chybu, která je odstraněna pomocí lineární korekční křivky.

Do času 25000s lze považovat hodnoty odpovídající koncentraci substrátu při běžném režimu rostliny. Přibližně 2,5 hodiny od západu slunce lze vidět výraznou napěťovou špičku. Prudký pokles napětí odpovídá východu slunce a v ranních hodinách se napětí opět pohybuje kolem -10mV .

6.3. Substrát 1,0g na 1litr

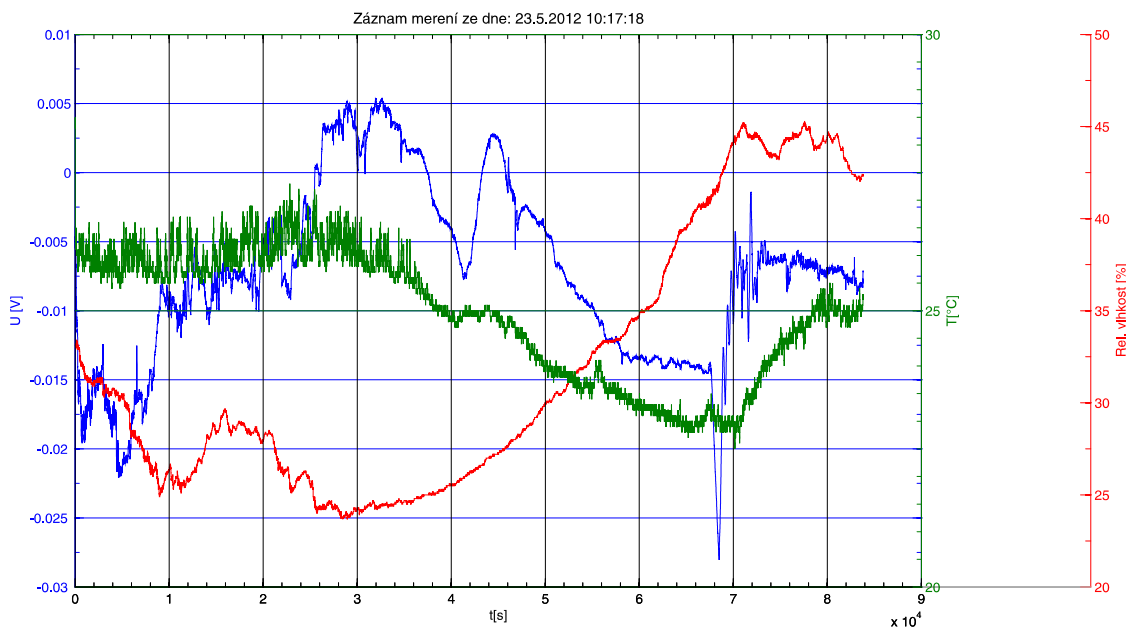
Pro substrát s poměrem 1g hnojiva na 1 litr vody bylo měření zatíženo hrubými chybami a nelze z něj vyčíst charakteristiku. První chybou měření je aditivní chyba způsobená počátečním offsetem elektrod $-3,66\text{mV}$. Ve čtyři hodiny ráno, což je hodinu před východem slunce, došlo k vyschnutí elektrovedného gelu a elektrody tak ztratily kontakt s rostlinou. Na konci měření proto nebylo možné určit offset elektrod a z něj korekční křivku. Naměřená data zobrazuje graf 11.



Graf 11 Substrát s poměrem 1,0g hnojiva na 1 litr vody

6.4. Substrát 1,5g na 1litr

Měření s rostlinou umístěnou v substrátu s poměrem 1,5 g hnojiva na 1 litr vody je zobrazeno v grafu 12. U tohoto měření byl na konci zjištěn offset elektrod 8mV. Pro korekci byla rovněž zvolena lineární závislost. Všechny výpočty spojené s korekcí zvládne skript VytvorGrafy.m.



Graf 12 Substrát s poměrem 1,5g hnojiva na 1 litr vody

Po prvních dvou hodinách lze spatřit změnu napětí z hodnot -23mV až -10mV na hodnoty -5mV až -10mV . To je způsobeno nejspíš tím, že rostlina byla před začátkem měření zalita čistou vodou. Napětí odpovídá přibližně hodnotám pro substrát bez hnojiva. Po dvou hodinách nejspíš došlo k vyrovnání koncentrací živin mezi původním substrátem a přilítou vodou. Napětí -5mV až -10mV lze považovat za ustálené pro danou koncentraci hnojiva. Kolem času $42\ 000\text{s}$ ($21:55$) je vidět výrazná špička napětí. V tento čas uplynuly přibližně 2 hodiny od západu slunce. V $5:01$ dochází k relativně prudkému poklesu napětí až na hodnotu -28mV . Pro den a místo, kde probíhalo měření, je východ slunce v $5:01$. V ranních hodinách se napětí ustálilo opět v rozmezí -5mV až -10mV .

7. Závislost napětí na složení substrátu

Podobnost grafu 9, grafu 10 a grafu 12 je zcela evidentní a průběhy lze považovat za určitou charakteristiku dějů v rostlině. S ohledem na závěry, ke kterým došel prof. Ing. Karel Bartušek, DrSc ve své zprávě o měření potenciálu na rostlinách [10] a s přihlédnutím ke kapitole 4.1 se lze domnívat, že závislost napětí na složení substrátu bude mít podobnou charakteristiku jako koncentrační článek popisovaný v části 3.3.2. Bude nějakým způsobem záviset na rozdílu koncentrací rozpuštěných látek ve vnitřním prostředí rostliny a substrátu.

Z toho důvodu je zcela vyloučen průběh napětí v nočních a ranních hodinách a přechody mezi těmito stavy. V těchto fázích rostlina mění rychlost odběru látek, taktéž může látky do substrátu vylučovat. V noční fázi se chová zcela odlišně než v denní. Může se tak měnit koncentrace substrátu v bezprostřední blízkosti kořene, jak již bylo zmíněno v části 4.2. Je třeba se zaměřit na oblast během dne, ve které jsou relativně stálé podmínky.

Průběh napětí pro koncentraci 0g hnojiva na 1 litr je odlišný od ostatních. Rostliny nejspíš udržují stále vnitřní prostředí. Lze se domnívat, že koncentrace živin uvnitř rostliny v tomto případě klesá pod běžnou úroveň, protože substrát není schopný živiny doplnit. Rozdíl koncentrací je menší, než pro substrát 0,5g na 1 litr vody. Ze substrátu 0,5g na 1 litr rostlina doplňuje živiny a rozdíl koncentrací je mnohem větší navíc tím, že substrát v bezprostřední blízkosti kořene bude téměř bez živin.

7.1. Výpočet závislosti napětí

Následující výpočty pro určení závislosti napětí na složení substrátu spíše ukazují, jak by se postupovalo. Výsledná závislost má pouze orientační charakter. Pro stanovení přesnější závislosti by bylo vhodné zajistit především stálou intenzitu osvětlení a ostatní podmínky. Také by se mělo měřit více vzorků zároveň. Může zde být mnoho chyb, které zatím nelze určit.

7.1.1. Koncentrace 0g na 1l

Napětí bylo stanoveno jako aritmetický průměr hodnot do chvíle, kdy se projevil zatažení oblohy bouřkovými mraky. Tento čas byl odhadem určen z grafu 9 na 14800s od začátku měření. Výpočet byl proveden pomocí Matlabu podle rovnice (24).

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (24)$$

$$\bar{U} = -28,51mV$$

Výběrová směrodatná odchylka pro toto napětí je určena podle rovnice (25).
V rovnicích se $n \neq 14800$, ale počtu vzorků do tohoto času.

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (25)$$

$$s = 3,64 mV$$

7.1.2. Koncentrace 0,5g na 1l

Byl zvolen stejný postup jako v 7.1.1. Zvolená oblast je od začátku měření do 25000s, ve které nejspíš nedocházelo k výrazným změnám intenzity osvětlení.

$$\bar{U} = -38,64mV$$

$$s = 6,17 mV$$

7.1.3. Koncentrace 1,5g na 1l

Aby byla zmenšena chyba způsobená přilitím čisté vody před začátkem měření, byla vybrána oblast odhadem z grafu 12 od 9057s do 25200s.

$$\bar{U} = -7,32mV$$

$$s = 2,02 mV$$

7.1.4. Použitý výpočet v Matlabu

```
%Skript pro výpočet aritmetického průměru
%a výběrové směrodatné odchylky
d=8561; %dolní mez intervalu
h=23261; %horní mez intervalu
ar=(sum(u(d:h))/(h-d)+1);
s=sqrt((sum((u(d:h)-ar).^2)/(h-d));
```

8. Závěr

Zelené rostliny jsou unikátním systémem, ze kterého se můžeme hodně naučit. Studium elektrofyziologie rostlin se dostáváme k objevování a vylepšování biosenzorů pro sledování prostředí, detekci znečišťujících látek, sledování klimatických změn, interakcím mezi rostlinami a v zemědělství k řízení a rychlé kontrole podmínek ovlivňujících úrodu. K udržení přirozených podmínek pro život na Zemi bude ochrana rostlin hrát stále důležitější roli.

Byla navržena sestava pro změření nízkého napětí zdroje s vysokým vnitřním odporem, jakým je rostlina. Experimentálně byl změřen průběh napětí na rostlinách v délce jednoho dne. Byly stanoveny orientační hodnoty napětí v závislosti na složení substrátu. Hodnoty jsou $-28,51 \pm 3,64 \text{ mV}$ pro substrát bez hnojiva, $-38,64 \pm 6,17 \text{ mV}$ pro koncentraci 0,5g hnojiva na 1 litr a $-7,32 \pm 2,02 \text{ mV}$ pro substrát namíchaný v poměru 1g hnojiva na 1 litr vody. Hodnoty nejsou příliš vypovídající, protože napětí výrazně závisí na intenzitě osvětlení rostliny.

Pro stanovení přesnější závislosti napětí na složení substrátu je třeba zajistit stále podmínky pro rostlinu, především teplotu a intenzitu osvětlení. V grafech 9,10 a 12 je kolísání způsobeno z velké části přechodem mraků, které mění intenzitu osvětlení. Je třeba zdokonalit elektrody, kterými se připojí rostlina, aby nedocházelo k jejich vysychání a kontaminaci nečistotami při jejich výrobě, které způsobují posun napětí. Pro kontrolu by bylo vhodné měřit více vzorků zároveň. V budoucnu se předpokládá použít zařízení pro měření živých kultur. Zpracování dat je třeba konzultovat s odborníky na biologii.

Elektrometr Keithley 6517A je univerzální zařízení a jeho pořízení je velmi nákladné, stejně tak i převodníku Agilent 82357A. Tato sestava neumožňuje měřit více než jednu rostlinu. Vzhledem k tomu, že je využívána jen část funkcí elektrometru, pro širší využití bych uvažoval o vývoji specializovaného zařízení.

Literatura

- [1] KOZUMPLÍK, Josef. Chemické zdroje proudu ve sdělovací technice. 1. vyd. Praha: Nakladatelství dopravy a spojů, 1981. 231 s. ISBN 80-302-5326-8.
- [2] KINGSLEY, Stuart. A., Sriram SRIRAM, Andrea POLLICK a John MARSH SRICO, Inc. *Photrodes™ for physiological sensing*. 2724 Sawbury Blvd., Columbus, OH USA 43235-4579. Dostupné z:
<http://www.srico.com/files/SPIE%20Photonics%20West%202004.pdf>
- [3] KREMMER, Matthias, Ulrich BRAUN a Jürgen SCHLEICHER. JUMO GMBH & CO. KG. *Information on redox voltage measurement*. Moltkestraße 13 - 31 D-36039 Fulda, Germany, 2007.
- [4] BALÍK, Jiří. Praha: Česká zemědělská univerzita, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, 2008. ISBN 978-80-213-1861-8.
- [5] AVIES, Eric. Electric signals in plants: Facts and Hypotheses. In: VOLKOV, A. G. *Plant Electrophysiology Theory and methods*. Springer Berlin Heidelberg New York, 2006.
- [6] FROMM, Jörg. Long-Distance Electrical Signaling and Physiological Functions in Higher Plants. In: VOLKOV, A. G. *Plant Electrophysiology Theory and methods*. Springer Berlin Heidelberg New York, 2006.
- [7] EGGINS, Brian R. *Biosensors: An Introduction*. Wiley & Teubner. ISBN 0471962856.
- [8] Electrochemical Methods and Measuring Transmembrane Ion Gradients: Manufacture and use of ion-selective electrodes. In: VOLKOV, A. G. *Plant Electrophysiology Theory and methods*. Springer Berlin Heidelberg New York, 2006.
- [9] KEITHLEY INSTRUMENTS, Inc. *Low Level Measurements Handbook: Precision DC Current, Voltage, and Resistance Measurements*, 6th Edition. 2004
- [10] KAREL, Bartušek. ÚSTAV PŘÍSTROJOVÉ TECHNIKY AV ČR KRÁLOVOPOLSKÁ 147, 61264 Brno. *Měření biopotenciálů na rostlinách*.

Seznam příloh

Příloha 1. Vytisknutý kód programu pro měření

Příloha 2. CD