

На правах рукописи

Барышева Надежда Николаевна

**МЕТОД И СРЕДСТВО КОНТРОЛЯ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА
ЗЕРЕН ПШЕНИЦЫ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ОЦЕНКИ
ВСХОЖЕСТИ**

05.11.13 – Приборы и методы контроля природной среды, веществ, материалов
и изделий

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Томск - 2015

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова» (ФГБОУ ВПО АлтГТУ)

Научный руководитель: доктор технических наук, профессор
Пронин Сергей Петрович

Официальные
оппоненты:

Сафатов Александр Сергеевич, доктор технических наук, федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», отдел биофизики и экологических исследований, заведующий отделом

Латышенко Константин Павлович, доктор технических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный машиностроительный университет (МАМИ)», профессор кафедры «Машины и аппараты химических производств»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «**Новосибирский государственный технический университет**»

Защита состоится «1» декабря 2015 года в 15:00 на заседании диссертационного совета Д 212.269.09 при ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» по адресу: 634028, г. Томск, ул. Савиных, 7, ауд. 215.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» и на сайте:
<http://portal.tpu.ru:7777/council/916/worklist>

Автореферат разослан “ _____ ” _____ 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
к. т. н., доцент



Васендина Е.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы.

Одной из важных гарантий продовольственной безопасности нашей страны является стабильное производство достаточного количества высококачественного зерна. Всхожесть семян пшеницы является основным показателем, который определяет посевные качества семян, их пригодность для посева, норму высева.

В производстве сельскохозяйственной продукции в предпосевной период играет ключевую роль оценка посевных качеств семян пшеницы. Зачастую семена, не прошедшие дозревания после уборки урожая, при лабораторном анализе отличаются пониженной всхожестью, поэтому необходимо проводить дополнительную экспресс-оценку всхожести непосредственно перед высевом семян.

Современный метод оценки всхожести представляет собой лабораторный анализ, который включает в себя несколько продолжительных по времени этапов: выведение семян из состояния покоя (4-7 дней), проращивание семян (7 дней), подсчет нормально проросших зерен из четырех проб по 100 штук в каждой и оценку всхожести. Этот метод является трудоемким, отличается длительным процессом подготовки к исследованию, поэтому для экспресс-оценки всхожести в сжатые сроки не подходит.

Оценка всхожести семян пшеницы в максимально сжатые сроки во время предпосевного периода является актуальной задачей. В настоящее время предпосевной анализ всхожести семян пшеницы занимает от 10 до 14 дней по ГОСТ 12038-84.

На сегодняшний день существует метод и средство контроля всхожести семян пшеницы по изменению потенциала действия (Матлаев А.Г. Метод и средство контроля всхожести семян пшеницы по изменению потенциала действия: автореф. дис. кандидата тех. наук: 05.11.13. Барнаул, 2009. 19 с.), который позволяет значительно сократить срок контроля всхожести, а именно на 7 – 10 суток по сравнению с используемым методом. Однако разработанные метод и средство обладают низкой достоверностью данных о всхожести семян пшеницы. Метод основан на графоаналитической модели, которая, во-первых, не учитывает воздействие температуры на изменение мембранного потенциала, во-вторых, не позволяет оценить воздействие солевых растворов разной концентрации на изменение мембранного потенциала, так как при проращивании семян пшеницы используют только дистиллированную воду.

Поэтому разработка метода и средства контроля мембранного потенциала зерен пшеницы, как показателя их качества, с учетом температуры и солевых растворов при проращивании дает возможность осуществлять оценку всхожести семян пшеницы с более высокой степенью достоверности и является актуальной задачей, которая представляет, как теоретический, так и практический интерес.

Основываясь на уравнении Гольдмана-Ходжкина-Катца, предлагается модель контроля мембранного потенциала зерен пшеницы, которая позволяет учесть влияние температуры, определить зависимость мембранного потенциала от изменения концентрации ионов K^+ , Na^+ , Cl^- на внешней стороне оболочки зерна

пшеницы с помощью солевых растворов, что, в результате, дает высокую достоверность оценки всхожести семян пшеницы.

Актуальность работы подтверждается реализацией проекта по программе «У.М.Н.И.К.», организованной Фондом содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере при поддержке Федерального агентства по науке и инновациям и Федерального агентства по образованию, на тему «Метод и средство контроля всхожести семян пшеницы по изменению потенциала действия». Проект реализован по договору № 12/нр на выполнение научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ сроком с января 2012 года по декабрь 2013 года.

Целью диссертационной работы является разработка метода и средства контроля мембранного потенциала зерен пшеницы с учетом температуры и растворов КСl разной концентрации при проращивании семян для повышения достоверности оценки всхожести зерен пшеницы.

Основные задачи диссертационной работы.

Для достижения поставленной цели в диссертационной работе были сформулированы следующие задачи:

- провести аналитический обзор существующих методов оценки всхожести семян пшеницы;
- на основе уравнения Гольдмана-Ходжкина-Катца разработать модель контроля мембранного потенциала зерен пшеницы, как показателя их всхожести;
- разработать экспериментальную установку для исследования изменения мембранного потенциала зерен пшеницы с различной всхожестью в зависимости от температуры и растворов КСl различной концентрации;
- исследовать мембранный потенциал зерен пшеницы в зависимости от температуры, растворов КСl различной концентрации и возможность его применения для оценки всхожести;
- разработать метод контроля мембранного потенциала зерен пшеницы, как показателя их всхожести, с учетом температуры и концентрации растворов КСl при проращивании.

Объектом исследования является мембранный потенциал зерен пшеницы разной всхожести.

Предметом исследования является метод контроля мембранного потенциала зерен пшеницы, как показателя их всхожести, который основан на зависимости мембранного потенциала зерен пшеницы с различной всхожестью от температуры, концентрации раствора КСl на внешней стороне оболочки зерен, используемого при проращивании семян.

Методы исследования.

Для решения поставленных задач в диссертационной работе были использованы методы экспериментального исследования, методы статистической обработки экспериментальных данных и методы математического моделирования.

Достоверность.

Достоверность полученных результатов основывается на использовании семян пшеницы с известной всхожестью, полученных в лаборатории ФГУП

«Россельхознадзор», как эталонных, на высоком коэффициенте детерминации при определении зависимости мембранного потенциала семян пшеницы с различной всхожестью от температуры, концентрации солевых растворов KCl.

Результаты аналитических исследований подтверждаются результатами проведенных экспериментов и не противоречат фундаментальным исследованиям.

На защиту выносятся:

1. Обоснование необходимости разработки метода контроля мембранного потенциала семян пшеницы, как показателя их всхожести, с учетом воздействия изменения температуры и солевых растворов разной концентрации при проращивании.

2. Модифицированное уравнение Гольдмана-Ходжкина-Катца, на основании которого разработана модель контроля мембранного потенциала семян пшеницы, как показателя их всхожести.

3. Результаты исследований изменения мембранного потенциала семян пшеницы с различной всхожестью в зависимости от температуры, концентрации растворов KCl.

4. Расчет абсолютных значений коэффициентов проницаемости оболочки семян пшеницы, а также внутренней концентрации ионов K^+ , Na^+ , Cl^- .

5. Алгоритм контроля мембранного потенциала семян пшеницы и его применение для оценки всхожести.

Научная новизна работы заключается в следующем.

В диссертационной работе представлено новое решение актуальной научно-практической задачи контроля мембранного потенциала семян пшеницы, как показателя их всхожести. Разработанные метод и средство позволяют повысить достоверность данных о всхожести семян пшеницы.

Впервые модифицировано уравнение Гольдмана-Ходжкина-Катца, которое позволяет определять концентрации ионов K^+ , Na^+ , Cl^- на внутренней стороне оболочки и ее коэффициенты проницаемости. На основании полученного уравнения можно разрабатывать новые методы контроля, изменяя внешние параметры – температуру, концентрацию, использовать другие растворы.

Впервые определены концентрации ионов на внутренней стороне оболочки и ее коэффициенты проницаемости для семян пшеницы мягких сортов с различной всхожестью, которые могут выступать в виде сравнительной оценки для семян других сортов.

Практическая ценность работы.

Разработанные метод и средство контроля мембранного потенциала семян пшеницы, как показателя их всхожести, могут быть использованы сельскохозяйственными предприятиями и частными фермерами для оценки всхожести семян пшеницы в сжатые сроки.

Разработанное средство контроля мембранного потенциала семян пшеницы позволяет исключить температурное влияние и повысить точность измерения.

Предложенная модификация уравнения Гольдмана-Ходжкина-Катца и математический алгоритм могут быть использованы для расчета концентраций ионов K^+ , Na^+ , Cl^- на внутренней стороне оболочки и ее коэффициентов

проницаемости для зерен пшеницы любых сортов, что позволяет разрабатывать новые методы контроля.

Модифицированное уравнение позволяет исследовать влияние той или иной почвы на изменение мембранного потенциала семян пшеницы и, как следствие, всхожесть в конкретной почве.

На основе уравнения Гольдмана-Ходжкина-Катца и экспериментальных исследований научно доказано, что проращивание семян пшеницы при температуре 20°C обеспечивает достоверные данные о всхожести семян. Полученный результат не противоречит диапазону температур, рекомендуемому ГОСТ.

Апробация и реализация результатов работы.

Результаты диссертационной работы внедрены в Барнаульский филиал ФГУ «Россельхозцентр» по Алтайскому краю, в ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет» на кафедре «Сельскохозяйственные машины ИФ» и использованы при чтении лекций, курсовом и дипломном проектировании на кафедре «Информационные технологии» Алтайского государственного технического университета им. И.И. Ползунова.

Основные результаты диссертации докладывались на науч.–практич. конф. «Виртуальные и интеллектуальные системы», г. Барнаул, 2010, 2011, 2012, 2013 гг.; на всероссийской молодежной конференции «Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине», г. Саратов, 2011, 2012 гг.; на XL научно-технической конференции по итогам работы профессорско-преподавательского состава СевКавГТУ за 2010 год, г. Ставрополь, 2011 г.; на IX Всероссийской научно-технической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Наука и молодежь», г. Барнаул, 2012 г.

Публикация результатов исследования.

По теме диссертационной работы опубликовано 14 научных работ, в том числе 4 статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, входящих в Перечень ВАК.

Личный вклад автора заключается в разработке и испытании средства контроля мембранного потенциала зерен пшеницы, в экспериментальных исследованиях зависимости изменения мембранного потенциала семян пшеницы с различной всхожестью от температуры и растворов KCl с различной концентрацией при проращивании семян, в обработке результатов, на основании которых был разработан новый метод контроля.

Структура и объем диссертации.

Диссертационная работа включает введение, четыре главы, заключение, список литературы и приложения.

В диссертационной работе обобщены результаты исследований, проведенных автором с 2010 по 2015 гг.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение содержит актуальность исследований, научную и практическую ценность результатов работы, сформулированы цели и задачи, приведены основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе осуществлен обзор существующих методов и средств оценки всхожести семян пшеницы. Проанализированы используемые методы контроля всхожести по ГОСТ, выявлены их основные преимущества и недостатки – за короткий промежуток времени, без использования дорогостоящих, опасных реагентов контроль всхожести не возможен. Проведено исследование возможности применения мембранного потенциала в качестве параметра оценки всхожести, а также изучена теория мембранного потенциала, особенности строения зерна пшеницы. Проведен анализ метода контроля всхожести зёрен пшеницы по потенциалу действия, в процессе которого было выявлено, что данный метод позволяет значительно сократить срок контроля всхожести (на 7-10 дней) по сравнению с используемым методом, однако обладает низкой достоверностью данных. Метод основан на графоаналитической модели, которая не учитывает влияние температуры на изменение потенциала действия и не позволяет оценить воздействие солевых растворов разной концентрации на изменение потенциала действия, так как при проращивании семян пшеницы используют только дистиллированную воду.

Теоретически установлено, что значение мембранного потенциала зависит от температурных условий. Изменение температуры на 0,5°C влечет изменение мембранного потенциала на 2%, что уменьшает достоверность полученных результатов.

В результате обзора уравнений изменения мембранного потенциала в качестве модели контроля было выбрано уравнение Гольдмана-Ходжкина-Катца, в котором учитываются температура, концентрации трёх основных ионов K^+ , Na^+ , Cl^- на внутренней и внешней стороне оболочки семян пшеницы и ее проницаемость.

Во второй главе, основываясь на фундаментальных исследованиях в области биоэлектрических явлений в растениях, а также на основании уравнения Гольдмана, А.Л. Ходжкина и Б. Катца, были выявлены основные факторы влияния на изменение мембранного потенциала. На основании выявленных факторов была разработана модель контроля мембранного потенциала зерен пшеницы, как показателя их всхожести.

Оболочку зерна пшеницы можно рассматривать в качестве мембраны. Для вычисления мембранного потенциала было выбрано уравнение Гольдмана-Ходжкина-Катца, в котором учитывается проницаемость оболочки зерна пшеницы, концентрация ионов на внешней и внутренней стороне оболочки, а также температура:

$$\varphi = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K[K^+]_{out} + P_{Na}[Na^+]_{out} + P_{Cl}[Cl^-]_{in}}{P_K[K^+]_{in} + P_{Na}[Na^+]_{in} + P_{Cl}[Cl^-]_{out}}, \quad (1)$$

где R - универсальная газовая постоянная; F - постоянная Фарадея; T - абсолютная температура; P_K, P_{Na}, P_{Cl} – коэффициенты проницаемости для ионов K^+ , Na^+ , Cl^- ;

$[K^+]_{out}, [Na^+]_{out}, [Cl^-]_{out}$ – концентрация ионов на внешней стороне мембраны;
 $[K^+]_{in}, [Na^+]_{in}, [Cl^-]_{in}$ – концентрация ионов внутри мембраны.

Таким образом, согласно уравнению (1), мембранный потенциал изменяется в зависимости от температуры и от концентрации ионов на внешней стороне оболочки.

Использование в экспериментальных исследованиях разных растворов на этапе проращивания семян пшеницы позволяет установить взаимосвязь между значением мембранного потенциала и концентрацией ионов K^+ , Na^+ , Cl^- на внешней оболочке зёрен пшеницы, и в конечном результате определить новые методы контроля всхожести.

Уравнение (1) требует модификации. Так как проращивание семян пшеницы в дистиллированной воде позволяет исключить воздействие на концентрацию ионов на внешней стороне оболочки зерна, концентрация ионов на внешней стороне оболочки определяется только за счет перераспределения ионов с внутренней стороны оболочки. В таком случае, уравнение (1) примет следующий вид:

$$\varphi = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K[K^+]_{in} + P_{Na}[Na^+]_{in} + P_{Cl}[Cl^-]_{in}}{P_K[K^+]_{in} + P_{Na}[Na^+]_{in} + P_{Cl}[Cl^-]_{in}} = 0. \quad (2)$$

Поскольку числитель и знаменатель под знаком логарифма принимают одинаковые значения, согласно уравнению (2), получаем значение мембранного потенциала, равного нулю, что отличается от результатов экспериментальных исследований, поэтому в уравнение (1) были внесены поправки.

Предположим, что на внутренней стороне оболочки зёрен пшеницы концентрации ионов калия K^+ , натрия Na^+ , хлора Cl^- составляют соответственно $[K^+]_{in}, [Na^+]_{in}, [Cl^-]_{in}$. Концентрации ионов на внешней стороне оболочки зерна зависят от коэффициентов проницаемости P_K, P_{Na}, P_{Cl} и определяются как $P_K[K^+]_{in}, P_{Na}[Na^+]_{in}, P_{Cl}[Cl^-]_{in}$. Тогда на внутренней стороне мембраны концентрация ионов K^+ будет определяться: $[K^+]_{in} - P_K[K^+]_{in} = (1 - P_K)[K^+]_{in}$. Концентрации ионов Na^+ будет определяться: $[Na^+]_{in} - P_{Na}[Na^+]_{in} = (1 - P_{Na})[Na^+]_{in}$, а концентрации ионов Cl^- : $[Cl^-]_{in} - P_{Cl}[Cl^-]_{in} = (1 - P_{Cl})[Cl^-]_{in}$. Для дистиллированной воды уравнение (1) примет вид:

$$\varphi = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K[K^+]_{in} + P_{Na}[Na^+]_{in} + (1 - P_{Cl})[Cl^-]_{in}}{(1 - P_K)[K^+]_{in} + (1 - P_{Na})[Na^+]_{in} + P_{Cl}[Cl^-]_{in}}. \quad (3)$$

Полученное уравнение формально позволяет вычислить и сравнить значения мембранного потенциала зёрен пшеницы, проницаемости их оболочек и концентрации ионов.

Однако воспользоваться уравнением (3) для определения коэффициентов проницаемости и концентрации ионов невозможно, так как в уравнении содержится 6 неизвестных. Следовательно, должно быть не менее 6 уравнений.

Дополнительные уравнения можно составить, если будут известны внешние концентрации $[K^+]_{out}, [Na^+]_{out}, [Cl^-]_{out}$.

Тогда с учетом внешних концентраций и вышеприведенных рассуждений о проницаемости ионов K^+ , Na^+ , Cl^- уравнение (3) примет вид:

$$\varphi_j = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K K_{in} + (1 - P_K) K_{jout} + P_{Na} Na_{in} + (1 - P_{Na}) Na_{out} + (1 - P_{Cl}) Cl_{in} + P_{Cl} Cl_{jout}}{(1 - P_K) K_{in} + P_K K_{jout} + (1 - P_{Na}) Na_{in} + P_{Na} Na_{out} + P_{Cl} Cl_{in} + (1 - P_{Cl}) Cl_{jout}}, \quad (4)$$

где K_{jout} , Cl_{out} - концентрации ионов в солевом растворе, используемом при проращивании зерен пшеницы; Na_{out} - концентрация ионов во внешнем растворе, используемом при проращивании семян пшеницы; j - номер солевого раствора с заданной концентрацией; φ_j - мембранный потенциал семян пшеницы, пророщенных с использованием j -го солевого раствора.

Таким образом, уравнение (4) позволяет учитывать воздействие температуры на изменение мембранного потенциала семян пшеницы, а также определить зависимость всхожести семян пшеницы от концентрации ионов на внутренней оболочке и ее проницаемости.

В третьей главе представлены результаты экспериментальных исследований зависимости мембранного потенциала от температуры и концентрации раствора KCl для семян пшеницы мягких сортов с различной всхожестью, пророщенных как с использованием дистиллированной воды при различных температурных условиях, так и с использованием солевых растворов KCl разной концентрации при заданной начальной температуре.

Для проведения исследований разработано средство контроля мембранного потенциала семян пшеницы, в состав которого входит термокамера, плата сбора данных ЛА-50USB, измерительные электроды, программное обеспечение и ПК (рисунок 1).



Рисунок 1 – Средство контроля. Вид спереди (а) и справа (б)

Состав: 1 - каркас установки; 2 - отверстия для рук с резиновыми перчатками; 3 - пластиковое окно, 4 - двухкнопочный выключатель; 5 - плата сбора данных «ЛА-50USB»; 6 - блок питания; 7 - кабель USB; 8 - автомат S231R C10; 9 - реле 600DSKY RK307 ALT установленное на релейную базу PF 113B-E; 10 - терморегулятор ОВЕН 2ТРМ1.

Термокамера позволяет в автоматическом режиме поддерживать температуру в диапазоне от 18°C до 30°C с погрешностью $\Delta T = 0,1^\circ C$.

Для контроля и поддержания температуры в заданных пределах внутри термокамеры используется серийный измеритель температуры - универсальный логический модуль «ОВЕН 2ТРМ1». В качестве датчиков температуры к модулю подключены 2 термодпары.

Диапазон измерения мембранного потенциала составляет от 20 мВ до -200 мВ, погрешность составляет $\Delta\varphi = 2\%$.

Так как размер зерновки составляет всего 5-8 мм, поэтому для проведения экспериментальных исследований были разработаны два специальных электрода. Один из них представляет собой электрод-зажим, выполненный в виде прищепки, для соединения с оболочкой зерновки и для ее фиксации, этот электрод установлен на текстолитовой площадке. Вторым электродом является тонкая стальная игла (длина иглы - 4 мм).

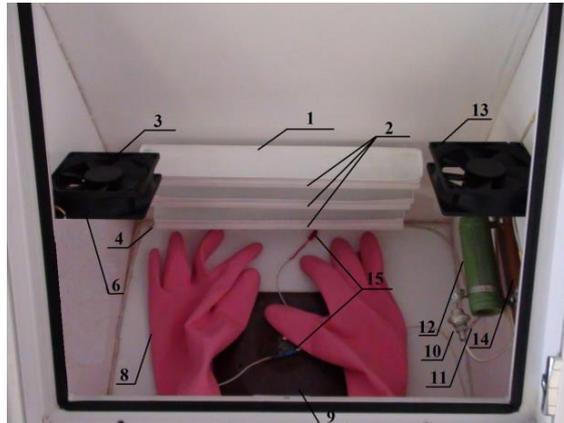


Рисунок 2 – Средство контроля. Вид сверху

Состав: 1 – Пластмассовый лоток; 2 - Пластиковые полочки; 3 – Вентилятор для конвекции воздуха внутри установки; 4 – Горячий спай термопары; 8 – Резиновые перчатки; 9 – Текстолитовая площадка, предназначенная для проведения замеров; 10 – Диод, служащий для понижения напряжения; 11 - Горячий спай термопары; 12 – Остеклованный резистор; 13 – Вентилятор для конвекции воздуха внутри установки; 14 – Текстолитовая площадка; 15 – Измерительные щупы.

Подготовка семян пшеницы к проведению исследований представляет собой их замачивание в дистиллированной воде или солевом растворе KCl с заданной концентрацией. Затем зерна пшеницы помещают в термокамеру на 12 часов с установленной температурой в 20°C.

По истечении времени каждое зерно по очереди закрепляют зажимом и после этого прокалывают вторым электродом-иглой в боковую поверхность зерна в области хохолка.

С помощью программы Saver данные сохраняются в файлы в формате .dat, после конвертируются для дальнейшей обработки в формат MS Excel.

Для исследования были выбраны значения мембранного потенциала в начальный момент времени.

В регистрируемом сигнале присутствует высокий уровень шума. Для уменьшения шума применяли метод низкочастотной фильтрации.

В полученном сигнале анализировали значения мембранного потенциала в нулевой момент времени.

Используя доверительные интервалы распределения Пуассона при уровне значимости 0,05 для параметра $\lambda = \varphi$, провели оценку средних значений мембранных потенциалов:

$$\left(\sqrt{\lambda} - \frac{x_{\alpha}}{2\sqrt{n}}\right)^2, \left(\sqrt{\lambda} + \frac{x_{\alpha}}{2\sqrt{n}}\right)^2, \quad (5)$$

где λ – параметр распределения Пуассона, равный среднему значению мембранного потенциала ($\lambda = \varphi$); x_{α} – квантиль уровня $1 - \frac{\alpha}{2}$ стандартного нормального распределения; n – объем выборки.

Из уравнения (1) следует, что мембранный потенциал зерен пшеницы зависит и от изменения температурных условий, а также от изменения внешней концентрации ионов.

Важным подтверждением воздействия изменения температуры стали результаты измерений мембранного потенциала семян пшеницы с различной всхожестью, пророщенных в дистиллированной воде при температуре от 20⁰С до 25⁰С с шагом в 1⁰С.

График зависимости значений мембранного потенциала зерен пшеницы с различной всхожестью от температуры представлен на рисунке 3.

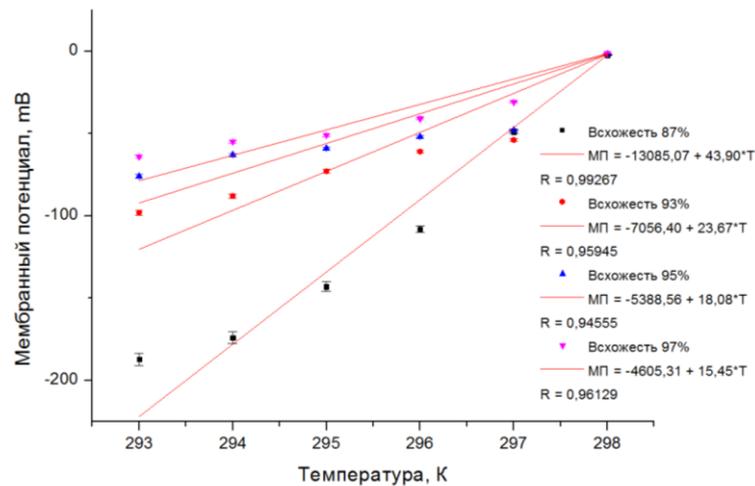


Рисунок 3 - Зависимость изменения мембранного потенциала зерен пшеницы различной всхожести от температуры

Аппроксимируя экспериментальные данные, получены следующие зависимости изменения мембранного потенциала от температуры, которые, в свою очередь, соответствуют теоретическим заключениям о воздействии температуры на мембранный потенциал, согласно уравнению (1). Для семян с низкой всхожестью (87%):

$$\varphi = -13085,07 + 43,90 \cdot T \quad (6)$$

Для семян со всхожестью 93%:

$$\varphi = -7055,40 + 23,67 \cdot T \quad (7)$$

Для семян со всхожестью 95%:

$$\varphi = -5388,56 + 18,08 \cdot T \quad (8)$$

Для семян со всхожестью 97%:

$$\varphi = -4605,31 + 15,45 \cdot T \quad (9)$$

Чем выше всхожесть семян, тем ниже коэффициент в уравнении.

В процессе экспериментальных исследований изменения мембранного потенциала зерен пшеницы в зависимости от температуры выявлены оптимальные температурные условия для проращивания зерен с целью контроля мембранного потенциала.

По критерию максимального диапазона изменения мембранного потенциала в зависимости от всхожести для проведения контроля необходимо обеспечить диапазон температур от 293К (20°C) до 295К (22°C), что соответствует регламентируемому ГОСТ 12038-84 диапазону температур от 20°C до 22°C для проращивания семян пшеницы. В этом диапазоне температур зарегистрирована максимальная разница между значениями мембранных потенциалов для семян пшеницы разной всхожести.

Точность контроля мембранного потенциала семян пшеницы, как показателя их всхожести, можно повысить, установив температуру для проращивания зерен 293К (20°C). Если температура будет превышать 23°C, оценка всхожести зерен пшеницы по мембранному потенциалу не покажет достоверных результатов, так как значения мембранного потенциала зерен пшеницы со всхожестью 97%, 95%, 93% и 87% становятся идентичными.

Согласно уравнению (4), значения мембранного потенциала зёрен пшеницы зависят как от температуры, так и от концентрации ионов внутри и снаружи оболочки зерна пшеницы и ее проницаемости.

Определить коэффициенты проницаемости оболочки и концентрацию ионов с помощью уравнения (4) невозможно, потому что в уравнении получается 6 неизвестных, поэтому для решения необходимо не менее 6 уравнений.

Дополнительные уравнения можно получить, если добавить концентрации $[K^+]_{out}$, $[Na^+]_{out}$, $[Cl^-]_{out}$ на внешней стороне оболочки. В таком случае, учитывая внешние концентрации и вышеприведенные рассуждения о проницаемости ионов K^+ , Na^+ , Cl^- , уравнение (4) примет вид:

$$\varphi = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K[K]_{in} + (1-P_K)[K]_{jout} + P_{Na}[Na]_{in} + (1-P_{Na})[Na]_{out} + (1-P_{Cl})[Cl]_{in} + P_{Cl}[Cl]_{jout}}{(1-P_K)[K]_{in} + P_K[K]_{jout} + (1-P_{Na})[Na]_{in} + P_{Na}[Na]_{out} + P_{Cl}[Cl]_{in} + (1-P_{Cl})[Cl]_{jout}}, \quad (10)$$

где $[K]_{jout}$, $[Cl]_{jout}$, Na_{jout} - концентрации ионов во внешних солевых растворах, используемых при проращивании зерен пшеницы; j - номер солевого раствора с заданной концентрацией; φ_j - мембранный потенциал семян пшеницы, пророщенных с использованием j -го солевого раствора.

Поскольку в качестве внешнего раствора для экспериментов выбран раствор KCl, поэтому в уравнении $[Na]_{jout} = 0$, и тогда уравнение (10) примет вид:

$$\varphi = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K[K]_{in} + (1-P_K)[K]_{jout} + P_{Na}[Na]_{in} + (1-P_{Cl})[Cl]_{in} + P_{Cl}[Cl]_{jout}}{(1-P_K)[K]_{in} + P_K[K]_{jout} + (1-P_{Na})[Na]_{in} + P_{Cl}[Cl]_{in} + (1-P_{Cl})[Cl]_{jout}}. \quad (11)$$

В таблицах 1, 2, 3, 4, 5 приведены результаты экспериментов с использованием раствора KCl при проращивании семян. Таблицы содержат концентрации растворов KCl, средние значения мембранных потенциалов семян пшеницы разной всхожести и доверительные интервалы средних значений φ распределения Пуассона. Величинами $\varphi_{87\%}$, $\varphi_{90\%}$, $\varphi_{92\%}$, $\varphi_{95\%}$ и $\varphi_{97\%}$ обозначены средние значения

мембранных потенциалов зерен пшеницы со всхожестью 87%, 90%, 92%, 95% и 97% соответственно.

Таблица 1. Результаты экспериментальных исследований для зерен пшеницы со всхожестью 87%

J	KCl, мг/л	Количество сигналов выборки $\varphi_{j87\%}$	$\varphi_{j87\%}$, мВ	Доверительный интервал для $\varphi_{j87\%}$, мВ
1	0,0000	103	-187,15	(-189,81;-184,52)
2	0,0005	107	0,39	(0,28;0,52)
3	0,0100	109	1,90	(1,65;2,17)
4	0,0500	101	2,12	(1,84;2,41)
5	0,2500	105	5,13	(4,70;5,57)
6	0,5000	108	5,59	(5,15;6,04)

Таблица 2. Результаты экспериментальных исследований для зерен пшеницы со всхожестью 90%

j	KCl, мг/л	Количество сигналов выборки $\varphi_{j90\%}$	$\varphi_{j90\%}$, мВ	Доверительный интервал для $\varphi_{j90\%}$, мВ
1	0,0000	100	-125,05	(-127,25;-122,87)
2	0,0005	100	-3,70	(-4,08;-3,33)
3	0,0100	100	-1,89	(-2,17;-1,63)
4	0,0500	101	-1,65	(-1,91;-1,41)
5	0,2500	105	-0,51	(-0,66;-0,38)
6	0,5000	108	-0,05	(-0,1;-0,02)

Таблица 3. Результаты экспериментальных исследований для зерен пшеницы со всхожестью 92%

j	KCl, мг/л	Количество сигналов выборки $\varphi_{j92\%}$	$\varphi_{j92\%}$, мВ	Доверительный интервал для $\varphi_{j92\%}$, мВ
1	0,0000	100	-105,00	(-107,02;-103,00)
2	0,0005	100	-6,58	(-7,09;-6,09)
3	0,0100	115	-3,32	(-3,65;-2,98)
4	0,0500	110	-3,11	(-3,43;-2,78)
5	0,2500	106	-0,21	(-0,29;-0,12)
6	0,5000	121	-0,11	(-0,16;-0,05)

Таблица 4. Результаты экспериментальных исследований для зерен пшеницы со всхожестью 95%

j	KCl, мг/л	Количество сигналов выборки $\varphi_{j95\%}$	$\varphi_{j95\%}$, мВ	Доверительный интервал для $\varphi_{j95\%}$, мВ
1	0,0000	100	-76,00	(-77,55;-74,47)
2	0,0005	100	-10,47	(-11,11;-9,85)
3	0,0100	111	-4,45	(-4,85;-4,07)
4	0,0500	117	-4,32	(-4,70;-3,94)
5	0,2500	115	-0,51	(-0,64;-0,38)
6	0,5000	120	-0,17	(-0,25;-0,10)

Таблица 5. Результаты экспериментальных исследований для зерен пшеницы со всхожестью 97%

j	KCl, мг/л	Количество сигналов выборки $\Phi_{j97\%}$	$\Phi_{j97\%}$, мВ	Доверительный интервал для $\Phi_{j97\%}$, мВ
1	0,0000	100	-64,00	(-65,58;-62,44)
2	0,0005	100	-13,54	(-14,27;-12,83)
3	0,0100	109	-5,05	(-5,48;-4,64)
4	0,0500	115	-4,80	(-5,21;-4,41)
5	0,2500	113	-0,63	(-0,78;-0,49)
6	0,5000	129	-0,21	(-0,30;-0,13)

Установлено, что значения мембранных потенциалов зерен пшеницы со всхожестью 90%, 92%, 95%, 97% и 87%, пророщенных с использованием дистиллированной воды, находятся в области отрицательных значений. При этом значения мембранного потенциала в начальный момент времени у зерен пшеницы с высокой всхожестью составляет значительно ниже, чем с высокой всхожестью.

Применение растворов KCl с различной концентрацией при замачивании семян обеспечивает положительные значения мембранных потенциалов для зёрен пшеницы с низкой всхожестью 87% и отрицательные значения с высокой всхожестью (90%, 92%, 95%, 97%).

На основании экспериментальных данных, представленных в таблице, были составлены 6 уравнений с соответствующими концентрациями раствора KCl. Для исследования были выбраны значения мембранных потенциалов с низкой всхожестью 87% и высокой всхожестью 90%, 92%, 95% и 97%. Уравнения справедливы для разной всхожести.

В результате математического моделирования в среде Mathcad с использованием экспериментальных данных и системы уравнений были получены абсолютные значения коэффициентов проницаемости, а также концентрации ионов K^+ , Na^+ , Cl^- .

Результаты представлены для всхожести 87% и 97%. Для зёрен пшеницы со всхожестью 97% коэффициенты проницаемости составили $P_K = 0,510$, $P_{Na} = 0,020$, $P_{Cl} = 0,450$. Относительные коэффициенты проницаемости: $P_K:P_{Na}:P_{Cl} = 1:0,04:0,88$.

Для зерен пшеницы со всхожестью 97% концентрации ионов на внутренней стороне мембраны $[K^+]_{in} = 1 \cdot 10^{-5}$ мг/л, $[Na^+]_{in} = 1 \cdot 10^{-3}$ мг/л, $[Cl^-]_{in} = 1 \cdot 10^{-4}$ мг/л.

Для зерен пшеницы со всхожестью 87% коэффициенты проницаемости равны: $P_K = 0,02600$, $P_{Na} = 0,00010$, $P_{Cl} = 0,10000$.

Относительные коэффициенты проницаемости составляют: $P_K:P_{Na}:P_{Cl} = 1:0,004:0,400$. Для зерен пшеницы с низкой всхожестью концентрации ионов на внутренней стороне мембраны $[K^+]_{in} = 1 \cdot 10^{-7}$ мг/л, $[Na^+]_{in} = 1 \cdot 10^{-5}$ мг/л, $[Cl^-]_{in} = 1 \cdot 10^{-9}$ мг/л.

Исследования показали, что коэффициенты проницаемости и концентрации ионов для зерен пшеницы со всхожестью 87% значительно ниже, чем для зерен с высокой всхожестью.

Исходя из экспериментальных данных, получено, что при использовании дистиллированной воды значения мембранного потенциала по модулю для зерен с высокой всхожестью значительно ниже, чем для зерен с низкой всхожестью. Факт существенного различия потенциалов объясняется высокой проницаемостью оболочки у зерен со всхожестью 97%. Согласно уравнению (7), числитель под знаком логарифма для зерен пшеницы со всхожестью 97% оказывается выше, чем для зерен пшеницы 87% всхожестью. Поэтому и мембранный потенциал получаем меньше: $|\varphi_{97\%}| < |\varphi_{87\%}|$.

Из приведенных в таблице экспериментальных данных с использованием солевых растворов KCl с различной концентрацией видно, что мембранные потенциалы зерен пшеницы со всхожестью 97% лежат в области отрицательных величин. С увеличением внешней концентрации ионов калия K^+ значения мембранного потенциала приближаются к нулю. У зерен пшеницы со всхожестью 87% наблюдаются положительные значения мембранных потенциалов, что связано с более низкой проницаемостью ионных каналов. Согласно уравнению (10), внешняя концентрация ионов увеличивается с каждым увеличением концентрации раствора KCl.

Для подтверждения правильности выбора модели, подставим рассчитанные коэффициенты проницаемости и концентрации ионов на внутренней стороне оболочки в уравнение (1) и сравним с полученными в результате эксперимента данными.

На рисунке 4 представлены рассчитанные значения мембранного потенциала по уравнению Гольдмана-Ходжкина-Катца (пунктирная линия) и результаты эксперимента с использованием дистиллированной воды при проращивании зерен пшеницы (сплошная линия).

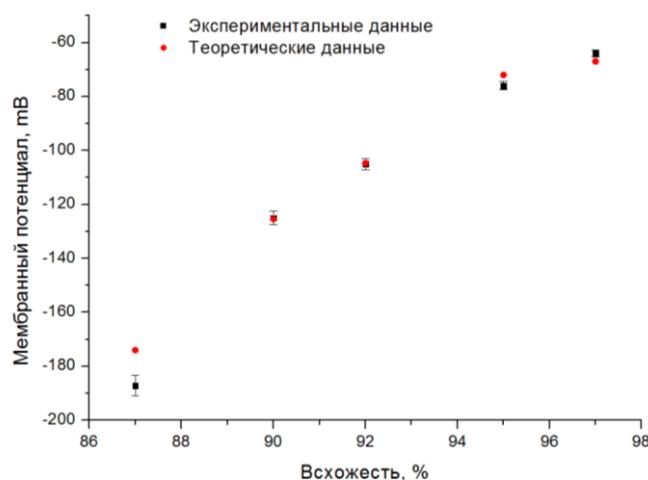


Рисунок 4 – Теоретические и экспериментальные значения мембранного потенциала

В четвертой главе представлен разработанный метод контроля мембранного потенциала семян пшеницы, как показателя их всхожести.

Метод контроля мембранного потенциала семян пшеницы состоит из следующих этапов:

Первый этап - подготовка зерен пшеницы к экспериментальным исследованиям путем замачивания их в течении 12 часов при температуре 20°C в дистиллированной воде.

Второй этап – это измерение начального значения мембранного потенциала семян пшеницы с помощью измерительных электродов.

Заключительный этап – это обработка полученных данных с применением статистических методов анализа, расчет всхожести по формуле (12), используя значения мембранного потенциала семян пшеницы, пророщенных с использованием дистиллированной воды.

Разработанный метод позволяет провести оценку всхожести по изменению мембранного потенциала семян пшеницы.

Контроль мембранного потенциала семян пшеницы осуществляется с помощью разработанной экспериментальной установки, состоящей из герметичной термокамеры и измерительного блока (см. рис.1 и рис.2). Метод разработан в соответствии с уравнением Гольдмана-Ходжкина-Катца и теории мембранного потенциала, метод не противоречит нормам подготовки семян к эксперименту, установленным ГОСТ 12038–84.

На рисунке 5 представлен полученный в результате многочисленных экспериментальных исследований график зависимости всхожести семян пшеницы, пророщенных в дистиллированной воде при температуре 20°C, от значений мембранного потенциала в начальный момент времени.

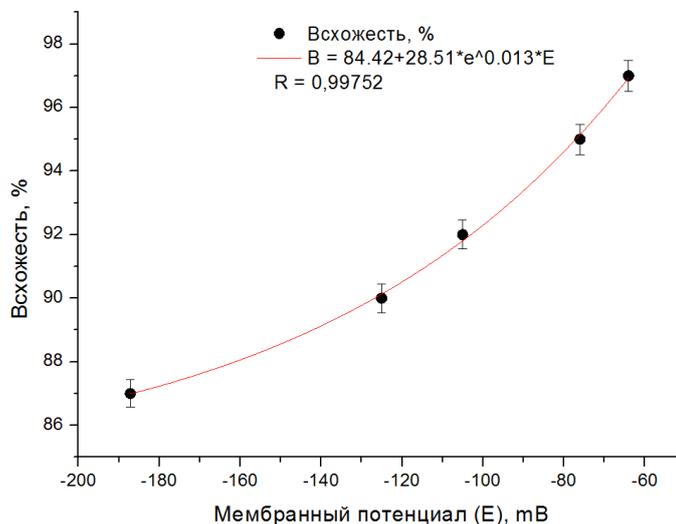


Рисунок 5 – Зависимость всхожести семян пшеницы от значения мембранного потенциала семян, пророщенных с использованием дистиллированной воды

Аппроксимируя экспериментальные данные, получена зависимость всхожести семян пшеницы от мембранного потенциала:

$$V_d = 84,42 + 28,51e^{0.013\varphi}. \quad (12)$$

На основании формул теории ошибок рассчитана погрешность всхожести семян пшеницы (ΔB_d) путем дифференцирования полученной функции:

$$\Delta B_d = \left| \frac{\partial B}{\partial \varphi} \right| \cdot \Delta \varphi = \left| \frac{dB}{d\varphi} \right| \cdot \Delta \varphi, \quad (13)$$

где $B(\varphi)$ – косвенно измеряемая величина, зависящая от измеряемого мембранного потенциала φ ; $\Delta \varphi$ – погрешность непосредственного измерения мембранного потенциала φ .

Относительную погрешность вычислили по формуле:

$$\varepsilon B_d = \frac{\Delta B_d}{B_d} \cdot 100\% = 0,5\%. \quad (14)$$

Таким образом, учитывая погрешность средства контроля, погрешность измерений (2%), а также погрешность метода (0,5%), погрешность разработанного метода контроля составляет:

$$\Delta B_d = \sqrt{(0,02)^2 + (0,02)^2 + (0,04)^2 + (0,5)^2 + (2)^2} = 2\%. \quad (15)$$

На рисунке 6 представлен график зависимости всхожести семян пшеницы от мембранного потенциала семян пшеницы, пророщенных с использованием раствора KCl с концентрацией 0,0005 мг/л при температуре 20°C. Концентрация раствора выбрана по критерию максимального диапазона изменения мембранного потенциала в зависимости от всхожести.

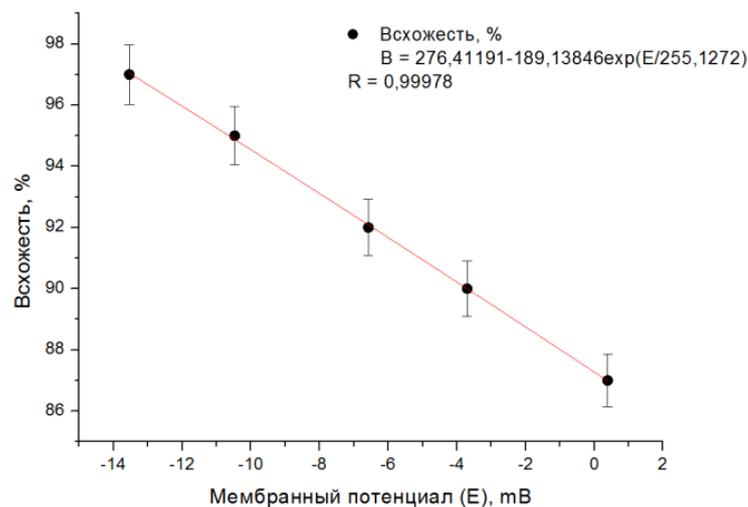


Рисунок 6 – Зависимость всхожести семян пшеницы от значений мембранного потенциала с использованием раствора KCl при проращивании

Аппроксимируя экспериментальные данные с помощью показательной функции, получена зависимость всхожести семян пшеницы от мембранного потенциала:

$$B_{KCl} = 276,42 - 189,14e^{0,004\varphi}. \quad (16)$$

Относительная погрешность составляет: $\varepsilon B_{KCl} = 1,4\%$

Погрешность метода в данном случае будет составлять: $\Delta B_d = 2,5\%$.

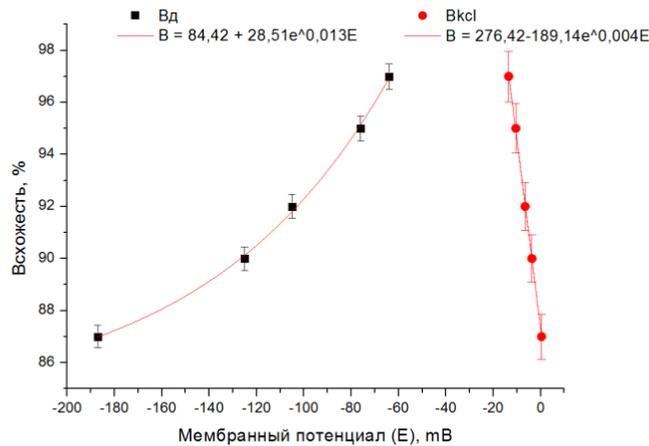


Рисунок 7 – Зависимости всхожести семян пшеницы от мембранного потенциала с использованием раствора КСl (V_{kcl}) и дистиллированной воды (V_d)

Согласно полученным результатам, для оценки всхожести семян пшеницы выбран метод контроля с использованием дистиллированной воды для проращивания. Так как погрешность данного метода ниже, чем погрешность метода с использованием раствора КСl при проращивании семян.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

1. Решена актуальная задача оценки всхожести семян пшеницы путем разработки метода и средства контроля мембранного потенциала зерен пшеницы, как показателя их всхожести, с учетом температуры и солевых растворов, что дает возможность определять всхожесть семян пшеницы в короткие сроки с более высокой степенью достоверности.

2. На основе уравнения Гольдмана-Ходжкина-Катца разработана модель контроля мембранного потенциала семян пшеницы. Модель учитывает воздействие изменения температуры, позволяет определить зависимость мембранного потенциала от изменения концентрации ионов K^+ , Na^+ , Cl^- на внешней стороне оболочки зерен пшеницы с помощью растворов КСl с различной концентрацией, что дает теоретическую основу для разработки новых методов контроля качества семян пшеницы.

3. Разработано средство контроля мембранного потенциала семян пшеницы, в состав которого входит термокамера, плата сбора данных ЛА-50USB, измерительные электроды, программное обеспечение и ПК.

Термокамера позволяет в автоматическом режиме поддерживать температуру в диапазоне от $18^{\circ}C$ до $30^{\circ}C$ с погрешностью $\Delta T = 0,1^{\circ}C$.

Диапазон измерения мембранного потенциала составляет от 20 мВ до -200 мВ, погрешность составляет $\Delta \varphi = 2\%$.

Калибровка средства контроля осуществлялась с помощью двух магазинов сопротивления R4831 класса точности 0,02, источником напряжения выступал калибратор П320 (погрешность калибратора 0,04%).

4. Экспериментальные исследования изменения мембранного потенциала в диапазоне температур от $20^{\circ}C$ до $25^{\circ}C$ позволили установить следующую закономерность: при температуре от $20^{\circ}C$ до $22^{\circ}C$ наблюдается существенная

разница значений мембранного потенциала семян пшеницы в зависимости от всхожести, при температуре 23°C и выше свойства зерен пшеницы всхожестью 97%, 95%, 93% и 87% становятся идентичными. Оценка всхожести зерен пшеницы по мембранному потенциалу при температуре свыше 23°C не дает достоверных результатов. Проведенные эксперименты с точки зрения мембранного потенциала научно обосновывают регламентируемый ГОСТ 12038-84 диапазон температур проращивания зерен пшеницы от 20°C до 22°C. Для проведения контроля мембранного потенциала семян пшеницы рекомендуется температура 20°C.

5. На основе полученных экспериментальных результатов разработан метод контроля мембранного потенциала зерен пшеницы, как показателя их всхожести. Метод включает в себя подготовку семян к экспериментальным исследованиям путем замачивания их в течение 12 часов при температуре 20°C в дистиллированной воде, измерение начальных значений мембранного потенциала семян пшеницы, обработку полученных данных с применением статистических методов анализа, расчет всхожести по математической формуле (12).

Для зерен пшеницы со всхожестью 97% мембранный потенциал составляет: -64 мВ, для зерен пшеницы со всхожестью 95%: -76 мВ, со всхожестью 92%: -105 мВ, со всхожестью 90%: -125 мВ, для зерен пшеницы со всхожестью 87%: -187 мВ. Погрешность разработанного метода составляет 2%.

6. В результате экспериментальных исследований с растворами KCl с различной концентрацией и математического моделирования с использованием модифицированного уравнения Гольдмана-Ходжкина-Катца впервые были определены коэффициенты проницаемости оболочки зерен пшеницы мягких сортов для семян разной всхожести, а также концентрации ионов на внутренней стороне оболочки. Полученные результаты дают теоретическую базу для дальнейших разработок методов оценки качества семян как мягких, так и твердых сортов.

Список опубликованных работ по теме диссертации.

В ведущих рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК:

1. Мерченко, Н.Н. Разработка метода контроля всхожести зерен пшеницы по мембранному потенциалу / Н.Н. Мерченко, С.П. Пронин, А.Г. Зрюмова // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. - № 10 (108). – С. 103-106
2. Мерченко, Н.Н. Зависимость мембранного потенциала зерен пшеницы от концентрации ионов на внутренней стороне оболочки и ее проницаемости / Н.Н. Мерченко, С.П. Пронин // Фундаментальные исследования. – 2014. - № 8. – С. 1539-1544
3. Барышева, Н.Н. Метод контроля мембранного потенциала семян пшеницы и его применение для оценки всхожести / Н.Н. Барышева, С.П. Пронин // Ползуновский вестник. – 2015. - №2. – С.70–74.
4. Мерченко, Н.Н. Исследование и моделирование контроля всхожести зерна пшеницы с использованием формулы Нернста / Н.Н. Мерченко, С.П. Пронин, А.Г. Зрюмова // Естественные и технические науки. - 2013. - №2. – С. 189-192.

Публикации в других изданиях:

5. Мерченко, Н.Н. Влияние температуры на изменение мембранного потенциала зерна пшеницы / Н.Н. Мерченко, А.Г. Зрюмова // Материалы XL научно-технической конференции по итогам работы профессорско-преподавательского состава СевКавГТУ за 2010 год. Естественные и точные науки. -Т1. - 2011. - С. 202-204
6. Мерченко, Н.Н. Исследование изменения потенциала действия зерна пшеницы / С. П. Пронин, А. Г. Зрюмова, Н. Н. Мерченко, Л. М. Башук, И. А. Гребенникова, А. Н. Каратеева // Ползуновский альманах. - 2010. - № 2. С. 204-206.
7. Мерченко, Н.Н. Экспериментальная установка для исследования потенциала действия зерен пшеницы / Н.Н. Мерченко, С.П. Пронин, А.Г. Зрюмова, Е.А. Долженко // Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2011: материалы ежегод. Всерос. науч. школы-семинара. – Саратов: Изд-во «Саратовский источник». - 2011. - С.163-166.
8. Мерченко, Н.Н. Экспериментальная установка для исследования потенциала действия зерен пшеницы / М. В. Шереметьев, А. А. Зырянов, Н. Н. Мерченко, А. Г. Зрюмова, С. П. Пронин // Ползуновский альманах. - 2011. - № 1. С. 177-178.
9. Мерченко, Н.Н. Исследование изменения потенциала действия семян пшеницы в зависимости от их всхожести при заданной температуре / Н.Н. Мерченко, С.П. Пронин, А.Г. Зрюмова // Ползуновский альманах. - 2011. - № 1. С. 170-171.
10. Мерченко, Н.Н. Контроль всхожести семян пшеницы при заданной начальной температуре / Н.Н. Мерченко // Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине – 2012: материалы Всерос. молодеж. конф. – Саратов: Изд-во Сарат. университета. - 2012. – С.195-198.
11. Мерченко, Н.Н. Отличительные признаки всхожести семян пшеницы / Н.Н. Мерченко, С.П. Пронин, А.Г. Зрюмова // Материалы IX Всероссийской научно-технической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Наука и молодежь». – Барнаул: изд-во АлтГТУ. - 2012. - 1 с.
12. Мерченко, Н.Н. Исследование воздействия температуры на изменение переменного потенциала зерна пшеницы / Н.Н. Мерченко, С.П. Пронин, А.Г. Зрюмова // Ползуновский альманах. - 2012. - № 2. С. 153-155.
13. Мерченко, Н.Н. Обзор методов контроля всхожести семян пшеницы по изменению мембранного потенциала / Н.Н. Мерченко, С.П. Пронин, А.Г. Зрюмова // Ползуновский альманах. - 2013. - № 1. С. 142-144.
14. Барышева, Н.Н. Разработка модели контроля всхожести семян пшеницы по изменению мембранного потенциала / Н.Н. Барышева С.П. Пронин // Ползуновский альманах. - 2014. - № 1. С. 103-105.