

利用吸收光谱确定叶绿素 a 和 b 的颜色

董金一¹, 程晓舫¹, 符泰然², 丁金磊¹, 范学良¹

1. 中国科学技术大学热科学和能源工程系, 安徽 合肥 230027

2. 中国安全生产科学研究院, 北京 100029

摘要 叶绿素 a 和 b 在植物生长过程中起着至关重要的作用, 精确测定其含量, 可为农作物生长状况、植物病理诊断等提供科学依据, 是实施精准农业的关键所在。文章将前人已经给出的叶绿素 a 和叶绿素 b 的吸收光谱实验数据, 转换为透过光谱。用人眼观察其透过光谱, 显然就形成叶绿素 a 和 b 的颜色。于是, 根据色度学的三基色原理, 选择具有确定光谱功率分布的标准光源作为照明光源, 确定了它们在 CIE1931-色品图中的色度坐标: 叶绿素 a 为(0.1981, 0.3341), 落在蓝绿色区域内; 叶绿素 b 为(0.2704, 0.5663), 落在黄绿色区域内。上述处理的要点是: 将叶绿素 a 和叶绿素 b 的光谱曲线压缩成色度图上的坐标点, 其结果将为发展植物单叶或群体的非接触式、远距离、无损测定植物色素含量的新技术提供必要的理论支持。

关键词 颜色; 吸收光谱; 色度坐标; 叶绿素 a; 叶绿素 b

中图分类号: Q632; O432.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2008)01-0141-04

引言

准确地判断植物叶色可为农作物科学施肥、植物病理诊断等提供科学依据。植物叶子呈现出的绿色是由含有植物叶细胞中的叶绿素产生的^[1], 而叶绿素在绿色植物中主要包含叶绿素 a 和 b^[2], 所以精确的确定叶绿素 a 和 b 的颜色对准确判断植物叶色有着重大的意义。

通常人们所知的叶绿素 a 和 b 的颜色是在实验过程中通过目视法得出颜色^[3], 而且在不同的文献中给出的颜色存在差异, 文献[1]中给出叶绿素 a 的颜色为蓝绿色, b 为纯绿色, 文献[4]给出的叶绿素 a 的颜色为蓝绿色, b 为黄绿色。这主要是因为人的眼睛虽然有优异的视觉功能, 但是不能准确识别微细的色彩差异, 常常出现色彩判断失误、测量的结果精度低^[5]。本文将从分光光度法的测量原理^[6]出发, 计算叶绿素 a 和 b 的颜色三刺激值, 由此推知它们的颜色参数, 从色度学角度定量地确定叶绿素 a 和 b 的准确颜色。本文的分析将为发展单叶或作物群体的非接触式、远距离、无损测定植物色素含量^[7-11]的新技术提供理论基础, 使记录叶色数据的一般彩色记录装置成为色素检测的科学仪器成为可能。

1 颜色的定量描述

光谱功率分布为 $(\bar{x}(\lambda), \bar{y}(\lambda), \bar{z}(\lambda))$ 的颜色可由下述色系数方程给出定量描述^[12]

$$\begin{cases} X = k \int_{380}^{780} \bar{x}(\lambda) \bar{x}(\lambda) d\lambda \\ Y = k \int_{380}^{780} \bar{y}(\lambda) \bar{y}(\lambda) d\lambda \\ Z = k \int_{380}^{780} \bar{z}(\lambda) \bar{z}(\lambda) d\lambda \end{cases} \quad (1)$$

其中: $\bar{x}, \bar{y}, \bar{z}$ 是 CIE1931 标准色度观察者光谱三刺激值; k 为归一化系数。在色度学中, 通常采用颜色的三刺激值各自在 (X, Y, Z) 总量中的相对比例来表示颜色

$$\begin{cases} x = \frac{X}{X + Y + Z} \\ y = \frac{Y}{X + Y + Z} \\ z = \frac{Z}{X + Y + Z} \end{cases} \quad (2)$$

称, x, y, z 为某一颜色的色品坐标。由于 $x + y + z = 1$, 所以只用其中任意两个参数(通常选择 x 和 y) 即可表示一个颜色。

根据刺激值与色品坐标的关系, 直接用光谱三刺激值 $\bar{x}(\lambda), \bar{y}(\lambda), \bar{z}(\lambda)$ 求得光谱色在 $x - y$ 坐标系统中的各坐标

收稿日期: 2006-05-10, 修订日期: 2006-08-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(50606033)资助

作者简介: 董金一, 1974年生, 中国科学技术大学热科学和能源工程系硕士 e-mail: jydong@mail.ustc.edu.cn

值,将光谱色的坐标点连成马蹄形状曲线,此曲线为 CIE1931-xy 色品图的光谱轨迹。一切物理上能实现的颜色均落在马蹄形曲线与连接 380 和 780 nm 两个谱色点的连线所包围的面积中,如图 1 所示。

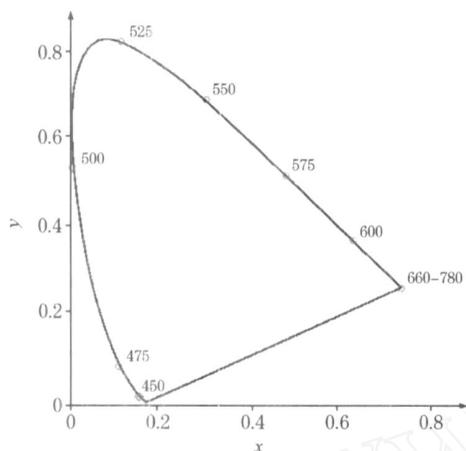


Fig 1 Chromaticity diagram for CIE 1931 observer

2 叶绿素吸收光谱和透过率的计算

2.1 叶绿素的吸收光谱

绿色植物的叶绿素主要含有叶绿素 a 和叶绿素 b,它们吸收光的能力极强,Zscheile 和 Comar 采用分光光度计法分别在特定条件下测定了叶绿素 a 和 b 的吸收光谱^[3],如图 2 所示。本文将利用它们的吸收光谱实验值,根据色度理论计算其色品坐标。

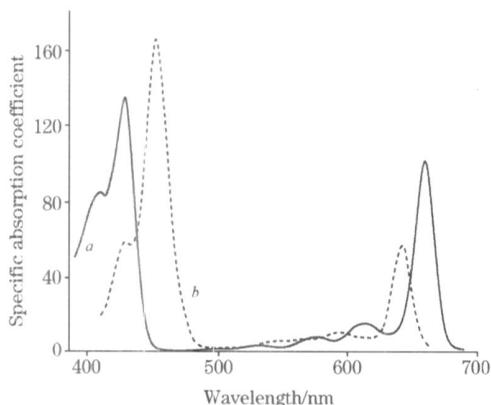


Fig 2 Absorption spectra of chlorophylls a and b in ether

2.2 透过率的计算

分光光度法是依据 Lambert-Beer 定律作为其理论基础的^[13],它将某波长下溶液的吸光率 A 定义为

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I_t} = (\) cl \quad (3)$$

而在叶绿体色素的测量过程中,通过调整溶液浓度来使 $\log_{10} \frac{I_0}{I_t}$ 的值保持在 0.200 ~ 0.800,将吸收光谱纵坐标-吸收系数 (Specific absorption coefficient) $(\)$ 定义为

$$(\) = \frac{\log_{10} \frac{I_0}{I_t}}{cl} \quad (4)$$

这里 I_0 为透过溶剂的光强, I_t 为透过溶液的光强, c 为溶液浓度, l 为光程。

因为透过率定义为

$$= \frac{I_t}{I_0}$$

则(4)式可转化为

$$\log_{10} \frac{I_0}{I_t} = \log_{10} \frac{1}{(\)} = (\) cl$$

可得叶绿素的透过率

$$(\) = 10^{-(\) cl} \quad (5)$$

3 叶绿素色度坐标的计算

对于分光光度法测量的叶绿素吸收光谱,其透过光谱的功率分布为

$$(\) = (\) \cdot S(\) \quad (6)$$

其中 $(\)$ 为物体的光谱透射比, $S(\)$ 为照明光源的相对光谱功率分布。

将(5)和(6)式代入(1)和(2)式中,可得叶绿素 a 和 b 的色品坐标 (x, y) 的计算公式为,

$$\left\{ \begin{aligned} x &= \frac{\int_{380 \text{ nm}}^{780 \text{ nm}} 10^{-(\) cl} \cdot S(\) \bar{x}(\) d(\)}{\int_{380 \text{ nm}}^{780 \text{ nm}} 10^{-(\) cl} \cdot S(\) [\bar{x}(\) + \bar{y}(\) + \bar{z}(\)] d(\)} \\ y &= \frac{\int_{380 \text{ nm}}^{780 \text{ nm}} 10^{-(\) cl} \cdot S(\) \bar{y}(\) d(\)}{\int_{380 \text{ nm}}^{780 \text{ nm}} 10^{-(\) cl} \cdot S(\) [\bar{x}(\) + \bar{y}(\) + \bar{z}(\)] d(\)} \end{aligned} \right. \quad (7)$$

其中, $c = 1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $l = 1 \text{ cm}$ ^[3],再将 CIE1931 标准色度观察者光谱三刺激值 $\bar{x}(\)$, $\bar{y}(\)$, $\bar{z}(\)$ ^[14]和标准光源光谱功率分布^[14]与图 2 所示的叶绿素 a 和 b 吸收系数 $(\)$ 数值代入(7)式。从而计算可得两种色素在色品图中的坐标,如图 3 所示,

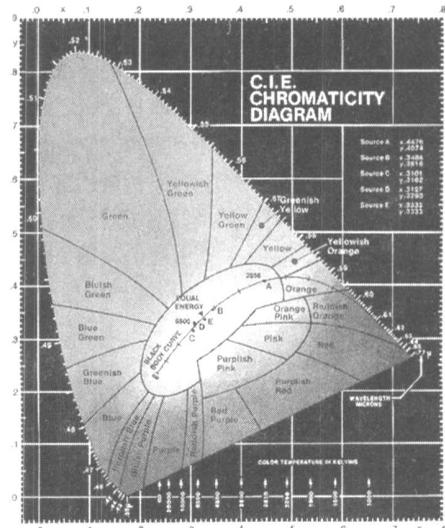


Fig 3 Chromaticity coordinates of chlorophylls a and b chromaticity diagram for CIE 1931 observer

其中, a: 叶绿素 a (0.198 1, 0.334 1), b: 叶绿素 b (0.270 4, 0.566 3)。值得注意的是: 由于仪器限制和减小色散, 图 2 的实验仅对 380 ~ 690 nm 的区域进行了研究, 所以我们在此处计算时波长的取值范围为 380 nm ~ 690 nm, 实际上未进行实验测量的 690 ~ 780 nm 光谱区间会对色度坐标的计算有一定影响, 但对于我们选择的标准光源而言, 这种影响是非常小的^[15], 可以忽略。

叶绿素 a、b 在 CIE1931 的色度图中的色度坐标, 叶绿素 a (0.198 1, 0.334 1), 叶绿素 b (0.270 4, 0.566 3), 依据坐标点在色度图中的分布可知叶绿素 a 的色度坐标落到了蓝绿色区域内, 而叶绿素 b 的坐标则落到黄绿色区域内。叶绿素颜色在色度图中的定量表述将对植物叶色的判别具有显著的意义, 从而将为发展单叶或作物群体的非接触式、远距离、无损测定植物色素含量的新技术提供理论基础。

4 结 论

本文从色度学角度出发, 利用色度理论定量地求出了叶

参 考 文 献

- [1] Bernard S Meyer, Donald B Anderson. Plant Physiology. Toronto: D. Van Nostrand Company, Inc, 1952. 293.
- [2] PAN Rui-chi, DONG Yur-de (潘瑞炽, 董愚得). Phytobiology, (1) (植物生理学, 上册). Beijing: People's Education Press (北京: 人民教育出版社), 1979. 81.
- [3] Zscheile F P, Comar C L. Botanical Gazette, 1941, 102: 463.
- [4] Steward F C. Plant Physiology. New York and London: Academic Press, 1960. 46.
- [5] LI Hong-guang, WU Bao-ning, SHI Huan-fang (李宏光, 吴宝宁, 施浣芳). Journal of Applied Optics (应用光学), 2005, 26(3): 60.
- [6] WU Ji-zong, YE Guan-ying (吴继宗, 叶关英). Optical Radiation Measurement (光辐射测量). Beijing: China Machine Press (北京: 机械工业出版社), 1992. 328.
- [7] LIU Chang, WANG Shi-cai, LU Dong-yu (刘畅, 王世才, 卢东昱). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2005, 25(12): 38.
- [8] LEI Qiao, ZHOU Ying-yue (雷桥, 周颖越). Shanghai Agricultural Science and Technology (上海农业科技), 2004, (1): 19.
- [9] YANG Jin-feng, CHEN Qing, HAN Xiao-ri, et al (杨劲峰, 陈清, 韩晓日, 等). Transactions of the CSAE (农业工程学报), 2002, 4(18): 155.
- [10] SU Zheng-shu, ZHANG Xian-zheng (苏正淑, 张宪政). Plant Physiology Communications (植物生理学通讯), 1989, (5): 77.
- [11] HUI Rui-hua, HOU Dong-yan, GUAN Chong-xin (回瑞华, 侯冬岩, 关崇新). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2004, 24(9): 1106.
- [12] TANG Shun-qing (汤顺青). Colorimetry (色度学). Beijing: Beijing Institute of Technology Press (北京: 北京理工大学出版社), 1990. 45.
- [13] FU Tai-ran, CHENG Xiao-fang, FAN Xue-liang, et al (符泰然, 程晓舫, 范学良, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2005, 25(10): 1548.
- [14] FU Tai-ran, CHENG Xiao-fang, FAN Xue-liang, et al (符泰然, 程晓舫, 范学良, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析), 2005, 25(2): 166.
- [15] Nobel P S (诺贝尔 P S). Introduction to Biophysics Phytobiology (生物物理的植物生理学导论). Beijing: Science Press (北京: 科学出版社), 1984. 235.

Determination of Chlorophyll a and b Using Absorption Spectrum

DONG Jin-yi¹, CHENG Xiao-fang¹, FU Tai-ran², DING Jin-lei¹, FAN Xue-liang¹

1. Department of Thermal Science and Energy Engineering, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China

2. China Academy of Safety Science & Technology, Beijing 100029, China

Abstract Chlorophyll a and chlorophyll b play a significant role in the plant growth process. Precise determination of its content could provide the scientific basis for the crops growth state, the plant pathology diagnosis and so on, and is the key point of implementing accurate agriculture. The authors transferred the absorption spectrum experiment data of chlorophyll a and chlorophyll b determined by predecessor into a transmission spectrum. Observing the transmission spectrum using human eyes, the color of chlorophyll a and chlorophyll b was obtained. Thus, according to the predecessor's experiment curve of absorption spectrum of chlorophyll a and chlorophyll b, combining the three primary color principles of colorimetry, and choosing a standard light source with spectrum power distribution similar to D65 as the illumination, the authors determined their chromaticity coordinates in the 1931CIE x, y chromaticity diagram: Chlorophyll a is (0.1981, 0.3341), which falls in the cyan color region; Chlorophyll b is (0.2704, 0.5663), which falls in the yellowish green region. The main point of above processing is: reducing the spectrum curves of chlorophyll a and the chlorophyll b to coordinates on the chromaticity diagram, and the result could offer the essential theoretical support for a new non-contact, long-distance and non-damage technology to determine the pigment content in single leaf or mass.

Keywords Color; Absorption spectra; Chromaticity coordinator; Chlorophyll a; Chlorophyll b

(Received May 10, 2006; accepted Aug. 20, 2006)