

УДК 681.518.5

В. Г. ПЕТРУК, д-р техн. наук, проф., **С. М. КВАТЕРНЮК**, наук. співроб.,

Вінницький національний технічний університет, м. Вінниця

О. Є. КВАТЕРНЮК, викл.

Вінницький гуманітарно-педагогічний коледж, м. Вінниця

АВТОМАТИЗОВАНІЙ КОНТРОЛЬ ЕКОЛОГІЧНОГО СТАНУ ВОДНИХ ОБ'ЄКТІВ НА ОСНОВІ СПЕКТРОПОЛЯРИМЕТРИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ФІТОПЛАНКТОНУ

Запропоновано новий підхід до контролю екологічного стану водних об'єктів, як полідисперсних середовищ, що дозволяє підвищити швидкодію та вірогідність засобів контролю за спектрополяриметричними зображеннями завислих частинок фітопланктону. Алгоритмічне і програмне забезпечення розроблені засобів контролю виконано під MATLAB R2008a

Ключові слова: водні об'єкти, екологічний стан, полідисперсне середовище, фітопланктон, спектрополяриметричні дослідження

A new approach to monitoring the ecological state of aquatic environments, as polydisperse media, which improves performance and reliability of control over the spectral polarimetric images of suspended particles of phytoplankton. Algorithmic and program providing of the developed controls are executed under MATLAB R2008a

Keywords: monitoring, water objects, ecological state, polydisperse media, phytoplankton, spectral polarimetric images

Предложен новый подход к контролю экологического состояния водных объектов, как полидисперсных сред, который позволяет повысить быстродействие и достоверность средств контроля за спектрополяриметрическими изображениями взвешенных частиц фитопланктона. Алгоритмическое и программное обеспечение разработанных средств контроля выполнены под MATLAB R2008a

Ключевые слова: водные объекты, экологическое состояние, полидисперсная среда, фитопланктон, спектрополяриметрическое исследование

Вступ

Контроль екологічного стану та охорона біорізноманіття водних екосистем займають важливе місце в загальній системі охорони природи і є важливими компонентами, які визначають стабільний розвиток суспільства. Проте теоретичні та практичні аспекти автоматизованого контролю екологічного стану водних екосистем розвинуті недостатньо, оскільки інтегральні показники, за якими оцінюється їх стан, у значній мірі є відносними і суб'єктивними. У даній роботі запропоновано новий підхід до контролю стану водних екосистем, як полідисперсних середовищ, що включають в себе частинки різних типів, розмірів і форм, які знаходяться у завислому стані в колоїдних та істинних розчинах та перебувають у складній взаємодії. Завислі частинки фітопланктону є біологічними клітинами та можуть виступати біоіндикаторами забруднення водних

об'єктів. Основним параметром таких полідисперсних середовищ, як об'єктів контролю, є об'ємні концентрації частинок фітопланктону різних видів. Кількісні співвідношення між об'ємними концентраціями цих частинок є критерієм оцінки стану водних екосистем, зокрема, індексів біорізноманіття, екологічного балансу, біоіндикатором комплексного антропогенного та техногенного впливу, різноманітних забруднень тощо.

Актуальність теми викликана необхідністю розроблення нових методів та засобів контролю стану водних об'єктів на основі біоіндикації по фітопланктону, оскільки для традиційних, наприклад, автоматизованої мікроскопії [1], характерні низькі значення швидкодії та вірогідності контролю. Метою дослідження є підвищення швидкодії та вірогідності контролю екологічного стану водних об'єктів на основі біоіндикації по фітопланктону за спектрополяриметричними зображеннями завислих частинок, на основі яких визначаються їх об'ємні концен-

трації та розроблення відповідних методу і засобів контролю.

Аналіз особливостей полідисперсних водних середовищ, як об'єктів контролю

Визначення об'ємних концентрацій частинок фітопланкtonу пов'язано з порівнянням їх параметрів, які для кожного з типів частинок знаходиться в межах допустимих інтервалів та визначаються формою, внутрішньою будовою, анізотропністю, спектральними і поляризаційними властивостями. Найбільш часто для дослідження параметрів завислих частинок використовують електрохімічні методи. Кондуктометричний метод заснований на вимірюванні електричного опору окремих частинок у проточних приладах за допомогою комірки Култера. Даний метод є недостатньо чутливим для надійної ідентифікації завислих частинок різних типів та не дозволяє оцінювати їх агрегацію. Оптичні методи дозволяють визначати значно більшу кількість характеристик завислих частинок. Найбільш повно пружне розсіювання світла окремими частинками чи ансамблями частинок описується за допомогою матриці розсіювання світла (МРС) – матриці Мюллера, кожний з елементів якої є функцією довжини хвилі, розміру, форми і внутрішньої будови частинок. Для вимірювання МРС використовують методи поляризаційної нефелометрії, тобто здійснюється вимірювання індикаторис розсіювання для всіх 16 елементів матриці Мюллера при відповідних положеннях поляризатора та аналізатора [3]. Вимірювання індикаторис одиночних частинок вимагає доставки і утримання частинок у зоні вимірювання, що зазвичай виконується за допомогою оптичного або електростатично-го пінцета чи проточної системи з гідродинамічним фокусуванням. Для дослідження ПБР широко використовується скануюча проточна цитометрія (СПЦ), особливістю якого є дослідження частинок в тонкому потоці створеному гідрофокусуючою головкою. СПЦ дозволяє визначати розмір і показник заломлення одиночних часток у реальному часі без використання процедури калібрування. Основною перевагою такої технології аналізу одиночних часток є висока швидкість і універсальність технології. Недоліком є неможливість досліджувати частинки з великим діапазоном розмірів, а також утворення лінійних та сферичних

комбінацій завислих частинок, що обмежується розмірами потоку створеного гідрофокусуючою головкою, а також деформацією частинок складної форми у потоці.

Фітопланктон є одним із біологічних елементів класифікації екологічного статусу водних об'єктів відповідно до Водної Рамкової Директиви ЄС 2000/60 [2]. Фітопланктонні водорості переважно одноклітинні, хоча серед них є багато колоніальних та нитчастих форм, особливо у прісноводних водоймах. Синьо-зелені водорості (або ціанобактерії) значно відрізняються від інших водоростей простою внутрішньою будовою клітин. Клітини цих водоростей не мають сформованого ядра, що наближує їх до бактерій. Разом з бактеріями синьо-зелені водорості складають розділ організмів, відомий як прокаріоти (Prokaryota), на відміну від решти організмів клітини яких мають сформоване ядро і відомих як еукаріоти (Eukaryota). Клітини водоростей-еукаріотів мають складну будову, в їх складі (за виключенням синьо-зелених водоростей) є особливі внутрішньоклітинні утворення – хлоропласти, що складаються з білків, ліпідів, нуклеїнових кислот та пігментів. У синьо-зелених водоростей є пігментомісні ламелли-тілакоїди, що пронизують усю клітину, але найбільшу концентрацію мають біля поверхні. Структура хлоропластів, що є центрами фотосинтезу у клітині, залежить від конкретного організму.

Діапазон розмірів клітин фітопланкtonу складає від 0,2 до 100 мкм. Розміри колоніальних видів, наприклад, *Volvox*, *Ruggerphyta*, досягаються в діаметрі 500 мкм. Найменша фракція фітопланкtonу – пікопланктон з розмірами від 0,2 до 2 мкм довгий час не досліджувалась детально. Однак у останній час встановлено, що ця група фітопланкtonу може складати значну частину загальної біомаси та бути основним продуцентом органічної речовини. Розміри клітин фітопланкtonу важливі з оптичної точки зору, оскільки клітини різних розмірів мають різні спектральні та кутові характеристики світловозсіювання. Крім того, при оцінці біомаси водоростей за вмістом хлорофілу *a* слід враховувати, що клітини різних розмірів мають різний вміст цього пігменту на одиницю їх біомаси та, відповідно, і різне поглинання ними світла.

Данні про вміст фітопланктону у водних об'єктах мають значну просторову та часову його варіацію. Відповідно, будують характеристики об'ємних концентрацій та відносного співвідношення різних видів фітопланктону в залежності від часу в масштабі сезонних річних змін, а також в залежності від глибини водойми, її поперечного перетину та вздовж всієї протяжності водного об'єкту. Analogічні дослідження проводяться і для океанічного фітопланктону за допомогою зондів, що працюють на заданій глибині та географічних координатах. Результати порівнюються з даними космічних спостережень на різних довжинах хвиль. У кожній конкретній водоймі характер поля об'ємної концентрації фітопланктону визначається фізико-хімічними та біологічно-ценотичними умовами.

Метод контролю та алгоритмічно-програмне забезпечення

Спектрополяриметричний метод контролю екологічного стану водних об'єктів на основі біоіндикації по фітопланктону полягає у порівняні масивів спектрополяриметричних зображень частинок фітопланктону отриманих *in vitro* за допомогою ПЗЗ-камери у складі розроблених засобів контролю на характеристичних довжинах хвиль пігментів при встановлених положеннях кутів поляризатора і аналізатора, що дозволяє більш достовірно їх ідентифікувати, визначати об'ємні концентрації та кількісні співвідношення між частинками певних типів. Для реалізації запропонованого методу розроблений засіб контролю, що містить монохроматора, поляриметричну систему та проточну вимірювальну кювету. При підготовці до експерименту кювета промивається стандартним розчином за допомогою промиваючого насосу. Оскільки параметри об'єкту контролю суттєво залежать від температури до вимірювальної кювети підключено цифровий сенсор температури та термостат. Сформовані спектрополяриметричні зображення завислих частинок потрапляють на ПЗЗ-камеру через аналізатор та оптичну систему. Далі цифрове зображення передається для подальшої обробки та визначення об'ємних концентрацій частинок певних типів у персональний комп'ютер.

Використання ПЗЗ-камери дозволяє отримувати цифрові спектрополяриметричні зображення частинок фітопланктону, що має

ряд переваг: можливість комп'ютерної обробки зображень частинок, висока достовірність ідентифікації частинок певного типу, архівування та створення бібліотеки зображень частинок різних типів.

Загальний алгоритм роботи засобу контролю такий: на початку роботи встановлюються основні параметри експерименту – діапазон та крок зміни довжини хвилі випромінювання зондування. У випадку застосування у якості джерела випромінювання монохроматора, який може перестроюватися, ці значення встановлюються за допомогою руху дифракційної гратки кроковим двигуном, на який подаються сигнали керування з мікроконтролера. Далі здійснюється встановлення кута повороту поляризатора. Враховуючи неповну поляризацію випромінювання у поляризаційних елементах на ПЗЗ камері буде отримано змішане зображення поляризованої та неполяризованої компоненти. Враховуючи особливості індикаторис розсіювання частинок полідисперсних середовищ, яка полягає у тому що інформація про форму та властивості частинок міститься у бічних пелюстках індикаторис доцільно підвищити їх рівень на зображені відносно головної пелюстки індикаторис. Це реалізується шляхом встановлення поляризатора у таке положення, при якому досягається мінімум інтегрального сигналу зображення. Далі здійснюється отримання інформаційного зображення за допомогою ПЗЗ-камери та запис його у файл. Далі здійснюється комплексна обробка зображення та обчислення параметрів частинок. Робота програми повторюється на інших довжинах хвиль. Після проведення усіх вимірювань здійснюється статистична обробка результатів, що дає співвідношення частинок різних типів; середні, мінімальні та максимальні їх розміри і середньоквадратичне відхилення, а також гістограму розподілу їх параметрів у межах певного типу частинок. Алгоритмічне і програмне забезпечення розроблених засобів контролю виконано під MATLAB R2008a, що дозволило використати бібліотеки функцій для обробки зображень та роботи із пристроями підключеними до комп'ютера через СОМ та USB порти, а графічний інтерфейс користувача наведено на рис. 1.

Для виділення зображення на фоні шумів може використовуватись лінійна та не-

лінійна фільтрація. Однак при застосування лінійної низькочастотної фільтрації приходить до розмиття контурів зображення. Для того, щоб знізити рівень шуму без розмиття контурів зображення необхідно використовувати нелінійну фільтрацію. Використаємо для цього медіанний фільтр та фільтр Вінера.

Тип фільтрації та її параметри підбираються та налаштовуються для кожного виду

зображень частинок полідисперсної біологічної рідини індивідуально. Для виділення необхідних елементів зображення використовують нелінійні криві перетворення яскравості застосовуючи гамма-корекцію. Результати перетворення яскравості зображення для прикладу зразку фітопланктону, проведені у MATLAB наведено на рис. 2.

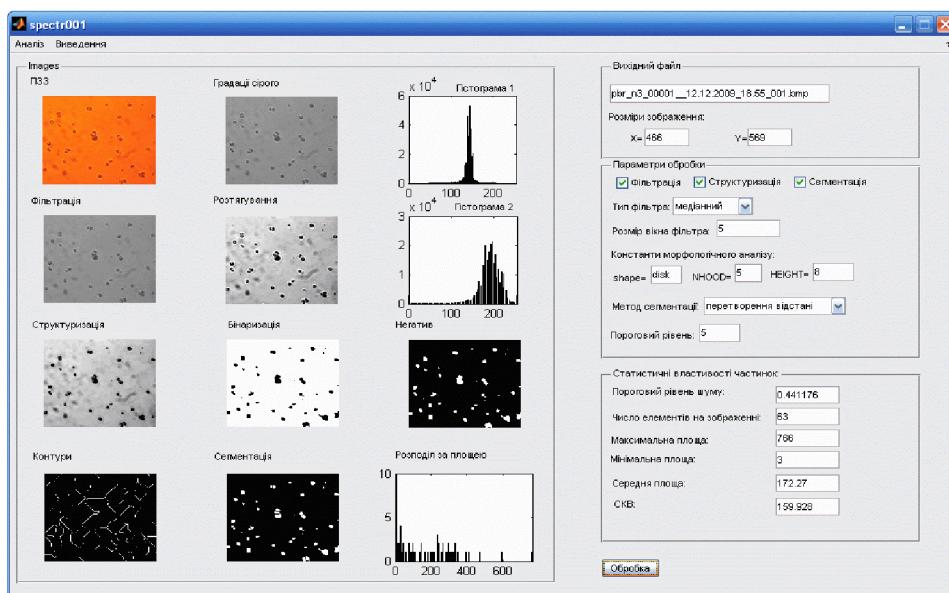


Рисунок1 – Графічний інтерфейс програми для контролю стану водних об'єктів

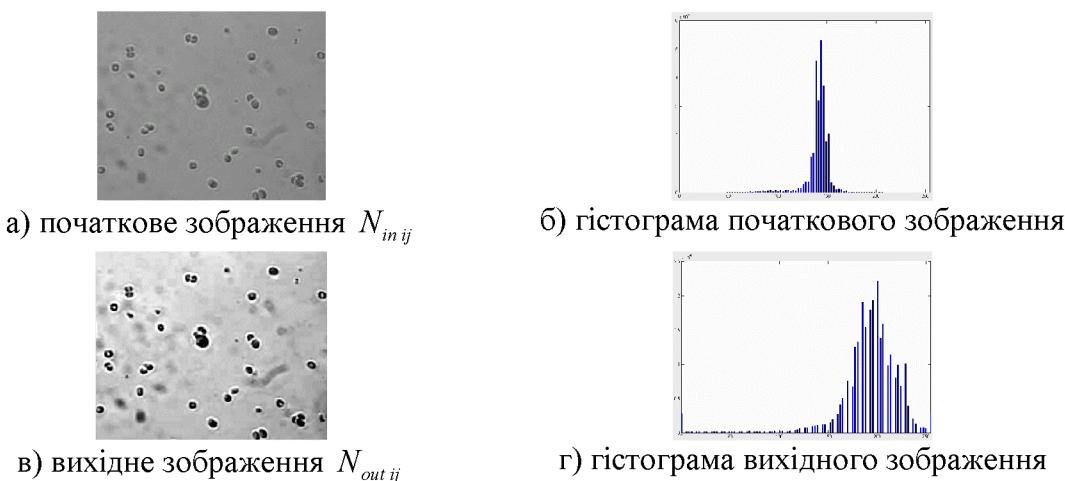


Рисунок 2 – Корекція яскравості зображення зразків фітопланктону

Для збільшення достовірності контролю стану ПБР необхідно зменшувати помилку при ідентифікації типу частинок та похибку вимірювання їх параметрів. Для цього використаємо метод ідентифікації на основі поєднання спектрополяриметричних зобра-

женъ однієї частинки отриманих на різних довжинах хвиль та їх одночасного порівняння зі зразковими мультиспектральними зображеннями. Для цього необхідно обчислити зважену відстань між середніми векторами сімейств цих зображень \mathbf{m}_x та \mathbf{m}_y .

Така метрика визначається відстанню Махalanобіса:

$$d(\mathbf{m}_Y, \mathbf{m}_X) = (\mathbf{m}_Y - \mathbf{m}_X)^T \mathbf{C}_X^{-1} (\mathbf{m}_Y - \mathbf{m}_X), \quad (1)$$

де \mathbf{m}_X , \mathbf{m}_Y середні вектори, \mathbf{C}_Y – коваріаційна матриця зразкового зображення.

$$d''_j(\mathbf{m}_X) = \ln(P(\omega_j)) - \frac{1}{2} \ln |\mathbf{C}_j| - \frac{1}{2} \left[(\mathbf{m}_X - \mathbf{m}_j)^T \mathbf{C}_j^{-1} (\mathbf{m}_X - \mathbf{m}_j) \right]. \quad (2)$$

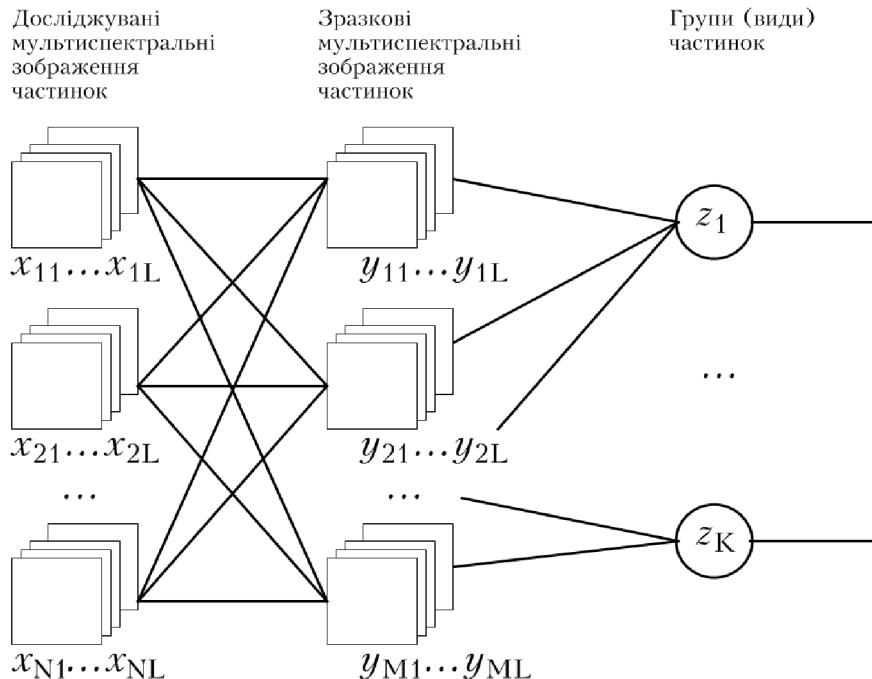


Рисунок 3 – Схема ідентифікації частинок на основі порівняння зі зразковими мультиспектральними зображеннями за допомогою класифікатора Байеса

Об'ємна концентрація частинок певної групи z_k визначається виходячи з загальної кількості частинок цієї групи N_{z_i} отриманої у серії дослідів, об'єму робочої частини кювети, що потрапляє у поле зору приладу V'_e та кількості дослідів $N_{\hat{A}}$:

$$C_{z_i} = \frac{N_{z_i}}{V'_e N_{\hat{A}}} = \frac{N_{z_i}}{l'_x l'_y l_h N_{\hat{A}}}, \quad (3)$$

де l'_x , l'_y , l_h – геометричні розміри робочої частини кювети.

Виявлені види водоростей-індикаторів якості води засвідчують приналежність досліджених водойм в переважній більшості до бета-мезосапробного типу. Факторами деградації біорізноманіття виступає антропогенне евтрофування, яке зумовлене забрудненням водойм стічними водами різного типу, а також надмірне заростання стоячих водойм і масовий розвиток синьо-

зелених водоростей, які викликають “цвітіння” води.

В зв'язку з цим доцільно використати індекси біоіндикації для оцінки антропогенного впливу. Ступінь індикаторності видів встановлюється з використанням зведеніх таблиць та атласів сапробних організмів і монографічних опрацювань конкретної групи фітогідробіонтів чи таксономічної групи взагалі.

Оцінку якості води на основі результатів біоіндикації по фітопланктону проведемо таким методом. Індекс забруднення навколошнього середовища розроблений на основі методу Зелінки–Марвана реалізується таким чином [5]:

$$S_{EPI} = \frac{\sum_{i=1}^N s_i h_i J_i}{\sum_{i=1}^N h_i J_i}, \quad (4)$$

Таблиця 1

Результати аналізу об'ємної концентрації фітопланкtonу різних видів

№	Вид	Об'ємна концентрація, $10^6 \cdot \text{є} \cdot \text{є}^{-1}$				
		Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3	Зразок 4	Зразок 5
1	Anabaena flos-aquae	0,923	1,321	1,213	0,624	0,122
2	Coelastrum sphaericum	0,768	0,512	0,724	0,245	0,064
3	Dictyosphaerium pulchellum	1,792	0,896	1,408	0,520	0,256
4	Crucigeniella irregularis	0,640	0,384	1,792	0,384	0,257
5	Miclosira varians	0,218	0,136	0,144	0,056	0,016
6	Acutodesmus pectinatus	0,284	0,096	0,385	0,091	0,032
7	Trachelomonas oblonga	0,088	0,016	0,034	0,021	0,032
8	Cryptomonas caudata	0,056	0,008	0,004	0,006	0,008
9	Euglena caudata	0,032	0,012	0,015	0,016	0,024

де N – число видів фітопланкtonу, що є біоіндикаторами; h_i – абсолютна чисельність в пробі i -того виду; s_i , J_i – сапробна валентність та індикаторна вага i -того виду

взяті з довідниківих таблиць для видів-біоіндикаторів [4, 5].

Індекс забруднення пов'язаний наступним чином з класом та категорією якості вод, а також з рівнями сапробності, галобності та трофічним рівнем (табл. 2.).

Таблиця 2

Взаємозв'язок між класами якості вод згідно різних систем оцінки

Індекс забруднення	Клас якості води	Категорія	Рівень сапробності	Рівень галобності	Трофічний рівень
0,0 – 0,5	I	дуже чисті	ксеносапробний	галофобний	гіпотрофний
0,5 – 1,0					
1,0 – 1,5	II	чисті	олігосапробний	олігогалобно-індиферентний	оліготрофний
1,5 – 2,0		досить чисті			
2,0 – 2,5	III	слабко забруднені	бетамеза-сапробний		мезатрофний
2,5 – 3,0		помірно забруднені			
3,0 – 3,5	IV	брудні	альфамеза-сапробний	олігогалобно-галофільний	евтрофний
3,5 – 4,0	V	дуже брудні	полісапробний	галофільно-мезагалобний	гіпертрофний

Висновок

Удосконалено експериментальну методику екологічного контролю стану водних об'єктів на основі показників біоіндикації по фітопланкtonу, в якій співвідношення між видами фітопланкtonу отримувалось за допомогою розробленого засобу контролю стану ПБР за спектрополяриметричними зображеннями завислих частинок, а клас якості води визначався за методом Зелінки-Марвана і сапробної валентності та індикаторної ваги різних видів фітопланкtonу, що дозволило об'єктивно оцінювати комплексний антропогений та техногенний вплив на водні екосистеми.

ЛІТЕРАТУРА

- Єльнікова Т.О. Автоматизована система для вимірювання геометричних параметрів фітопланкtonу / Т. О. Єльнікова // Вісник ЖДТУ, 2009. – №1. – С. 160–164.
- Водна Рамкова Директива ЄС 2000/60/ЕС. Основні терміни та їх визначення. – К.: 2006. – 244 с.
- Лопатин В. Н. Введение в оптику взвесей клеток / В. Н. Лопатин, Ф. Я. Сидько. – Новосибирск: Наука, 1988. – 240 с.
- Царенко П. М. Кадастр водоростей водойм міста Вінниці / П. М. Царенко, П. Д. Ключенко, О. П. Царенко, Є. І. Ворона – Вінниця: О. Власюк, 2006. – 81 с.
- Баринова С.С. Биоразнообразие водорослей-индикаторов окружающей среды / С. С. Баринова, Л. А. Медведева, О. В. Анисимова. – Тельль Авив: PiliesStudio, 2006. – 498 с.

Надійшла до редколегії 23.03.2010