

# Aplicación cómputo-optoelectrónica para medir clorofila en plantas.

## Computer-optoelectronics application to measure chlorophyll in plants.

Jorge Luis Camas Anzueto (1).

Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez-Tecnológico Nacional de México.

[jcamas@ittg.edu.mx](mailto:jcamas@ittg.edu.mx).

Héctor Guerra Crespo (2), Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez-Tecnológico Nacional de México,

[hgcrespo@hotmail.com](mailto:hgcrespo@hotmail.com).

Madaín Pérez Patricio (3), Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez-Tecnológico Nacional de México,

[mperez@ittg.edu.mx](mailto:mperez@ittg.edu.mx).

Joaquín Adolfo Montes Molina (4), Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez-Tecnológico Nacional de México,

[jmontes@ittg.edu.mx](mailto:jmontes@ittg.edu.mx).

Abiel Garza López (5), Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez-Tecnológico Nacional de México,

[agarza@ittg.edu.mx](mailto:agarza@ittg.edu.mx)

**Artículo recibido en noviembre 05, 2016; aceptado en diciembre 06, 2016.**

### Resumen.

*En este trabajo se desarrolla un medidor de clorofila que utiliza método no destructivo mediante el uso de la tecnología óptica. Los resultados obtenidos fueron calibrados a través de la obtención de una función de proporcionalidad que depende de la medición de la absorbancia. La caracterización fue llevada a cabo con plantas que fueron cultivadas en el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. Resaltar que la implementación de este prototipo utiliza electrónica que hoy en día puede ser encontrado comercialmente en México. Los resultados obtenidos son confiables ya que fueron comparados con un medidor de clorofila comercial.*

**Palabras clave:** medidor de clorofila, tecnología optoelectrónica, programación optoelectrónica.

### Abstract.

*This work presents a Chlorophyll meter using nondestructive method by using optical technology is proposed. The results obtained were calibrated by means of obtaining a proportionality function that depends on the absorbance measurement. The characterization was carried out with plants that were cultivated in the Technological Institute of Tuxtla Gutiérrez. It is necessary to mention that the implementation of this prototype uses electronic devices that today can be found commercially in México. The results obtained are reliable because they were compared with a commercial chlorophyll meter.*

**Keywords:** chlorophyll meter, optoelectronic technology, optoelectronic computing.

## 1. Introducción.

La clorofila al ser excitada por la radiación solar, tiene la capacidad de re-emitir fotones aproximadamente en 685 y 740 nm. Después de fluorecer, la clorofila regresa a su estado estable. La relación entre la fluorescencia y la cantidad

de clorofila activa es directamente proporcional (Espinosa et al., 2012). El Nitrógeno juega un papel importante en la producción de clorofila, la cual es fundamental en el proceso de la fotosíntesis. Es por ello, que el contenido de clorofila se puede utilizar como un indicador de estado de nitrógeno porque es un elemento esencial en la síntesis de proteínas fotosintéticas (Muñoz et al., 2013). Es necesario mencionar que en la caracterización de parámetros químicos en vegetales debe de ser llevada a cabo con métodos no destructivos, y la tecnología óptica ofrece una medición no destructiva y una medición en tiempo real con tiempo de respuesta rápida. Tal es el caso de la reflectancia y la espectroscopía de emisión de luz por los pigmentos que contienen hojas y frutos son excelentes candidatos para evaluar material vegetal. Cuando la luz incide sobre una hoja, una parte de dicha luz es reflejada, otra parte se transmite a través de ella y una tercera es absorbida por los pigmentos que contiene (Cordon, 2009).

En este trabajo se presenta un medidor optoelectrónico que utiliza técnica no destructiva utilizando programación de un arduino para interpretar los resultados. Este prototipo trabaja con la luz transmitida a través de la hoja y mediante el cálculo de absorbancia, se mide la cantidad de clorofila que una hoja contiene. El diseño electrónico utiliza como fuente de luz diodos emisores de luz y como receptor un fotodiodo PIN. El diseño es fácil y barato de construir. Los resultados fueron comparados con un medidor de clorofila SPAD comercial.

## 2. Propuesta del medidor.

El sistema electrónico de procesamiento de activación de medición de la clorofila, está controlada con un arduino *one*. Para la alimentación de voltaje del arduino, se utilizó una fuente de poder atx, ya que éste presenta estabilidad en cuanto al nivel de voltaje y corriente, con lo cual evitamos al máximo errores por corriente en las lecturas del fotodiodo. El prototipo presenta un inicio a la medición, cuando la fuente de luz se enciende y permanece encendida por 1 segundo. De preferencia coloque la hoja pegada al fotodiodo, y procure no medir sobre el centro de la hoja, puesto que en esta zona están la estructura de la misma, la cual obstruye la luz proporcionando un dato falso. En la figura 1 se presenta de forma general el prototipo donde se encuentra ensamblado cada uno de los componentes que constituye el medidor optoelectrónico de clorofila.



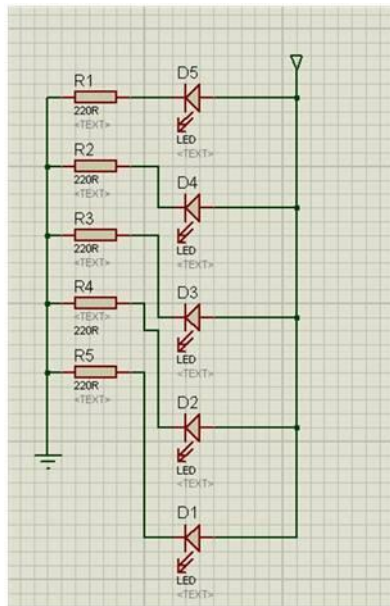
**Figura 1.** Prototipo del medidor de clorofila.

Al conectar a una fuente de voltaje, el medidor iniciará automáticamente el calibrado del dispositivo. Mientras esto sucede no introduzca ningún objeto entre el fotodiodo y la fuente de luz. Si nota un cambio en la luz ambiente recalibre reiniciando el dispositivo. Con el botón de reinicio del arduino, y esto se hace para evitar un error en el censado el cual se presenta como una elevación o una disminución del valor real. El plug para la fuente trabaja en un rango entre 5-12 volts, utilice una fuente mayor a 5v para evitar falta de corriente en la fuente de luz. La conexión para datos de arduino se utiliza un cable usb tipo A para la computadora en un extremo y uno tipo B para el otro. El fotodiodo trabaja a 5 volts, conectado inversamente. La distancia debe ser de 1 cm (línea amarilla) desde el encapsulado de la fuente hasta el encapsulado del sensor (figura 2).



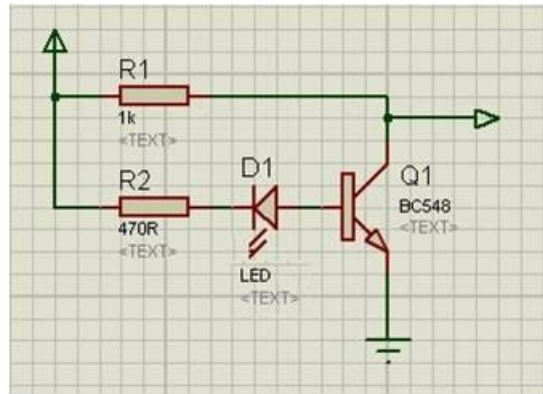
**Figura 2.** Distancia óptima entre el fotodiodo y la fuente de luz.

Se fabricó la fuente de luz, compuesta por 5 led's azules con sus respectivas longitudes de onda centrales en 465, 466, 470, 475, 480nm, con la finalidad de cubrir un rango espectral de 465 a 480 nm continua. Se caracterizó su eficacia individualmente, sin embargo, en conjunto la intensidad y la absorción fue mejor y más cercana a la medición real. Su voltaje de alimentación es de 5 volts, provenientes de la salida de arduino, como se muestra en el diagrama (figura 3).



**Figura 3.** Diagrama de la fuente de luz.

La etapa de la detección de luz fue diseñada usando fotodiodo PIN BPW24R, cuya corriente se amplificó con un transistor BC548, alimentado con 5 volts, conectado a la entrada A5 de los pines analógicos (figura 4).



**Figura 4.** Diagrama del proceso de recepción de luz.

A continuación se programó el arduino separando las etapas de encendido, lectura y las fórmulas de absorbancia y la constante SPAD siendo esta variable adimensional y proporcional a la cantidad de clorofila.

El programa de arduino se estructuró de la siguiente forma:

```
#include <math.h>

int Leds=12;
int Fotod=A5;
int FDvalor=0;
int Sensor=10;
int FDvalor1;
int bandera=0;
int FDvalor4;
int respuesta;

void setup()
{
  Serial.begin(9600);
  pinMode(Leds,OUTPUT);
  pinMode(Fotod,INPUT);
  pinMode(Sensor,INPUT);
  pinMode(11,OUTPUT);
}

void loop()
{
  digitalWrite(11,HIGH);
  respuesta = digitalRead(Sensor);
  if(bandera==0)
  {
    digitalWrite(Leds,HIGH);
    FDvalor=analogRead(Fotod);
    FDvalor1=FDvalor;
    delay(100);
    digitalWrite(Leds,LOW);
    delay(100);
    digitalWrite(Leds,HIGH);
    FDvalor=analogRead(Fotod);
    int FDvalor2=FDvalor;
    delay(100);
    digitalWrite(Leds,LOW);
    delay(100);
    digitalWrite(Leds,HIGH);
    FDvalor=analogRead(Fotod);
    int FDvalor3=FDvalor;
    delay(100);
  }
}
```

```

    FDvalor4=(FDvalor1+FDvalor2+FDvalor3)/3;
    delay(10);
    bandera=1;
    digitalWrite(Leds,LOW);
    delay(100);
}
if(bandera==1)
{
    digitalWrite(Leds,LOW);
}
if(bandera==1&&respuesta==HIGH)
{
    digitalWrite(Leds,HIGH);
    delay(100);
    FDvalor=analogRead(Fotod);
    FDvalor=1023-FDvalor;
    FDvalor4=1023-FDvalor;
    double Div=FDvalor4/FDvalor;
    double Absorb=log10(Div);
    double SPADPOLI6 =-57.298*(pow (Absorb, 6)) + 582.02*(pow (Absorb, 5)) - 2390.8*
        (pow (Absorb, 4)) + 5097.7*(pow (Absorb, 3)) - 5990.4*
        (pow (Absorb, 2)) + 3735.6*Absorb - 954.7;
    Serial.println(SPADPOLI6);
    delay(1000);
}
else
{
    digitalWrite(Leds,LOW);
}
}




```

Finalmente, es importante destacar que el programa inicia con una secuencia de medición y un promedio de 3 mediciones, (teniendo en cuenta que no hay nada entre la fuente de luz y el fotodiodo). Luego espera la orden del usuario, cuando este presiona el botón de medir, se tomará el nivel de luz detectado, se calculará la absorbancia junto a la constante proporcional de clorofila la cual conseguimos calcular en base a otro medidor de clorofila.

### 3. Resultados de la calibración y caracterización de medidor.

Una vez diseñado el prototipo se procedió a calibrarlo, utilizando un medidor SPAD, el cual se obtiene una constante proporcional a la cantidad de clorofila. Esta manipulará la medición aproximada a la que el equipo SPAD proporciona. Los datos serán comparados y la variable independiente será la absorbancia tomada del medidor propuesto, esto nos dará una variación bastante grande debido a una serie de errores tales como la luz ambiente, la cual a pesar de estar siendo controlada, tiene protagonismo en las mediciones al aire libre, lo que hace una variable de importancia. Además, el hecho de no saber con exactitud si está midiendo la misma área de la hoja, por lo cual desecharemos una cantidad grande de datos, intentando dejar una curva de medición la cual interpolaremos para obtener un dato similar o igual al del SPAD siempre dependiendo de nuestra lectura de absorbancia. A continuación, hacemos una serie de mediciones en distintas hojas tratando siempre de medir en la misma área con ambos medidores. El equipo utilizado para medir cantidad de clorofila en unidades SPAD fue SPAD-502 (Konica-Minolta, Japón). En la tabla 1 se presentan los datos obtenidos y comparados entre ambos equipos. Cabe mencionar que se tomaron en cuenta 8 hojas de muestra de *Jatropha Curcas*, Croto, cresta de gallo y dos ramas del árbol de neem y de olivo cimarrón, pero por simplificación del artículo de presentan nada más 3 hojas de muestra.

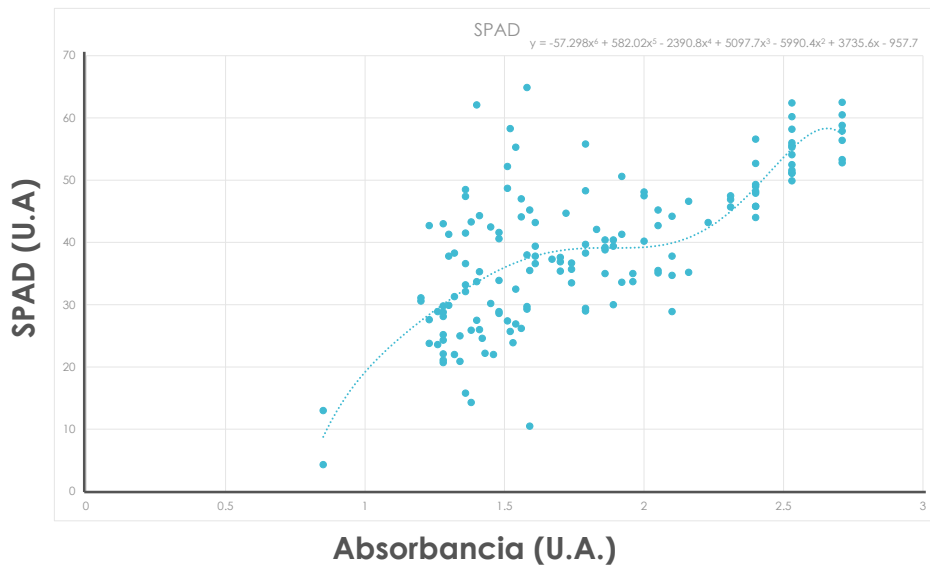
**Tabla 1.** Foto de la hoja de muestra, absorbancia calculada con el equipo optoelectrónico y medición de la clorofila en unidades SPAD.

Tipo de hoja.	Absorbancia.	SPAD-502.
 Jatropha Curcas	1.23	23.8
	1.28	20.7
	1.26	23.6
	1.28	21.1
	1.28	25.2
 Croto	1.36	15.8
	1.74	35.7
	1.59	10.5
 Cresta de gallo	1.86	40.4
	2.16	46.6
	1.92	41.3

Con los datos obtenidos, se realizó una gráfica comparando resultados del número de SPAD proporcionado por el equipo SPAD-502 como función de la absorbancia obtenida por el equipo optoelectrónico. En la figura 5 se presenta el comportamiento de ambas mediciones, donde se realizó un ajuste de curva obteniendo una curva polinómica de aproximación de orden 6 como se presenta en la ecuación (1):

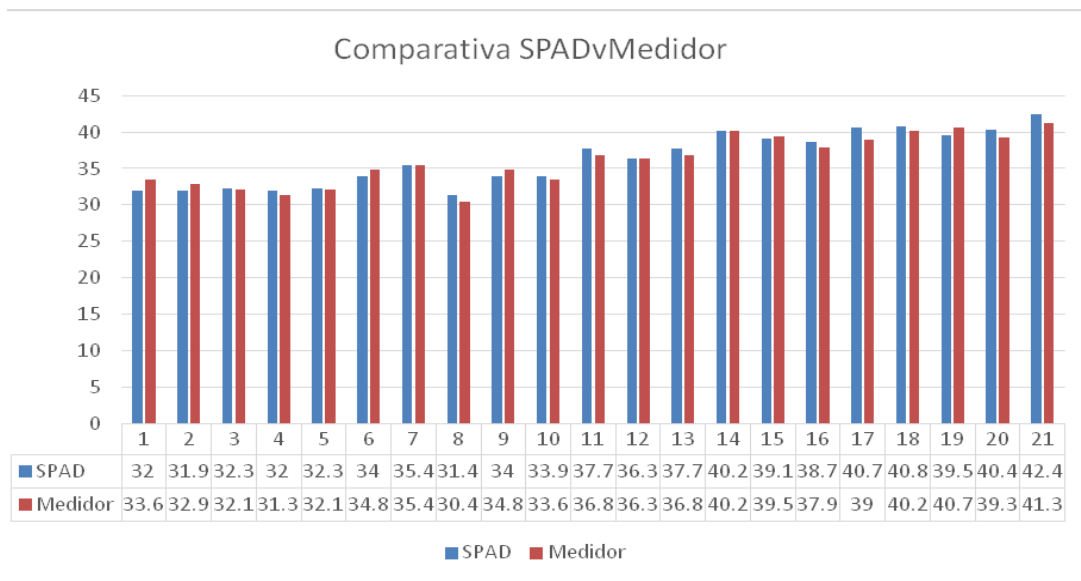
$$C = -57.298A^6 + 582.06A^5 - 2390.8A^4 + 5097.7A^3 - 5990.4A^2 + 3735.6A - 954.7 \quad (1)$$

Donde  $C$  es la constante de proporcionalidad y  $A$  es la absorbancia medida con el medidor de clorofila propuesta.



**Figura 5.** Comparación del número de SPAD en función a la absorbancia.

Cabe mencionar que esta ecuación es utilizada como constante de proporcionalidad del equipo optoelectrónico propuesto, por consiguiente es insertada en la programación del arduino para que durante la medición de la clorofila sea tomada en cuenta. Nuevamente se llevaron a cabo las mediciones realizadas anteriormente con las mismas hojas de muestra y los resultados se observan en la figura 6.



**Figura 6.** Medición de clorofila con el SPAD-502 y el equipo optoelectrónico propuesto.

Como se observa en la figura 6, existen resultados de la medición de la clorofila confiables ya que los valores obtenidos entre ambos son cercanamente igual con un error relativo máximo de 5%.

## Conclusiones.

En conclusión la medición de clorofila con el dispositivo propuesto realiza una medición comparable con un equipo medidor de clorofila SPAD-502. El medidor utiliza la una curva calibrada que depende del cálculo de la absorbancia de la hoja de prueba. Uno de los errores más frecuentes al momento de medir tanto con el medidor construido como con el SPAD, es medir sobre la nervadura, ya que no debe ser un punto de medición de la hoja, ya que se al observa comportamiento errático. Esto se debe a que ésta parte tiene un tallo grueso, la cual obstruye el paso de la luz, generando un resultado que variaba con cada medición y para nada se aproximaba entre sí ni a las otras mediciones en la misma hoja, lo correcto es siempre medir la hoja en los lados y no en el centro. Otra observación es el hecho de que la misma fórmula de la absorbancia permite al dispositivo saber si se ha colocado una hoja o un objeto extraño, siendo así que obstruir con una placa que no permita el paso de la fuente de luz, da un error matemático, y lo contrario medir sin nada eleva a infinito.

## Créditos.

Al Tecnológico Nacional de México y al Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez por financiamiento parcial de éste proyecto, con número 5906.16-P y proyecto interno 2016.

## Agradecimientos.

Los autores agradecen a la carrera de Ingeniería Electrónica y a la Maestría en Ciencias en Ingeniería Mecatrónica del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez por el apoyo otorgado en la realización de éste proyecto.

## Referencias Bibliográficas.

**A. Espinosa Calderón, I. Torres Pacheco, R. Guzmán Cruz, A.A. Fernández Jaramillo, R.F. Muñoz Huerta, J.G. Torres López, R.G. Guevara González.** (2012). Principios ópticos para el diseño de sensors no invasivos de fotosíntesis en plantas, *Ciencia@UAQ*, 1:1, 1-9 (2012).

**Cordon, Gabriela Beatriz.** (2009). "Métodos ópticos no destructivos para monitoreo de salud vegetal", Tesis de Doctorado, Universidad de Buenos Aires.

**Rafael F. Muñoz-Huerta, Ramón G. Guevara-González, Luis M. Contreras-Medina, Irineo Torres-Pacheco, Juan Prado-Olivares and Rosalía V. Ocampo-Velázquez.** (2013). A Review of Methods for Sensing the Nitrogen Status in Plants: Advantages, Disadvantages and Recent Advances, *Sensors*, 13, 10823-10843.

## Información de los autores.





**Jorge Luis Camas Anzueto** es graduado como Ingeniero en Electrónica por el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, graduado como Maestro en Ciencias y Doctor en Ciencias con la Especialidad en Óptica y subespecialidad Optoelectrónica por el Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica (INAOE). Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores nivel 1, miembro honorífico del Sistema Estatal de Investigadores. Actualmente docente-investigador de la Maestría en Ciencias en Ingeniería Mecatrónica y de la carrera en Ingeniería Electrónica del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. Su área de interés es Sensores ópticos, sensores de fibra óptica, optoelectrónica y optomecatrónica.



**Héctor Crespo Guerra** es Doctor en Sistemas Computacionales por la Universidad del Sur, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, en 2011. Es profesor en el área de Ingeniería en Sistemas Computacionales del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez y en el área de Licenciatura en Sistemas Computacionales de la Universidad Autónoma de Chiapas, en ambas desde 1995, líder del cuerpo académico “tecnologías de información para el desarrollo regional” donde dirige el área de trabajo “aplicaciones sobre mapas” y colabora en la línea “tecnología para población con necesidades educativas especiales”. [www.hectorguerracrespo.com](http://www.hectorguerracrespo.com)



**Madain Pérez Patricio** es graduado como Doctor en Ciencias en Automatización y computación industrial en 2005, por la Universidad de Ciencias y Tecnologías de Lille, Francia. Investigador- Docente desde 1997 en el Departamento de Posgrado y la Carrera en Sistemas Computacionales del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. Su área de interés incluye visión por computadora y computación reconfigurables.



**Joaquín Adolfo Montes Molina** graduado en la Licenciatura en Químico Farmacéutico Industrial por la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas en 1976. Graduado como Maestro en Ciencias en Biotecnología por la Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH). Graduado como Doctor en Ciencias en la Especialidad de Biotecnología por el Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV). Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores nivel 1. Actualmente es docente-investigador en el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez desde 1976 a la fecha. Su área de interés es la biotecnología.



**Abiel Garza López** es graduado como Ingeniero Agrónomo Fitotecnista por la Universidad Autónoma de Nuevo León. Especializado profesionalmente en cultivos de células, tejidos y órganos vegetales por la Universidad Autónoma de Chapingo. Candidato a Maestro en Ciencias con especialidad en Productividad Agrícola por la Universidad Oaxaca de Juárez, Oaxaca. Profesor de Tiempo completo en el Instituto Tecnológico de Comitán de 1985-2013 y actualmente Profesor de Educación superior titular B en el Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Su área de interés se encuentra enfocada en el área del monitoreo de parámetros fisicoquímicos de vegetales.