

---



---

**МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ И МОДЕЛИРОВАНИЕ  
В ПРИБОРОСТРОЕНИИ**


---



---

УДК 581.11: 001.891.53-044.377

© С. И. Тарасов, Н. В. Герлинг, 2022

## ИЗМЕРЕНИЕ ПОТОКОВ CO<sub>2</sub> И H<sub>2</sub>O МЕЖДУ СРЕДОЙ И РАСТЕНИЯМИ ИНФРАКРАСНЫМ ГАЗОАНАЛИЗАТОРОМ НА ОСНОВЕ ОТКРЫТОЙ СИСТЕМЫ ГАЗООБМЕНА С УЧЕТОМ ИНСТРУМЕНТАЛЬНОЙ ОШИБКИ

В настоящее время изучение газообмена листьев и даже целых растений не вызывает затруднений. Измерение параметров газообмена, как правило, производится с помощью инфракрасных газоанализаторов, интегрированных с открытыми системами газообмена. Полученные в процессе измерения значения параметров используются для оценки и расчета показателей физиологических процессов, интересующих исследователя, таких как, например, скорость поглощения углекислого газа растением в процессе фотосинтеза или скорость выделения паров воды в процессе транспирации. В научной литературе, посвященной физиологии растений, погрешность результата измерения физиологических параметров приводится без учета инструментальной погрешности, вклад которой в суммарную погрешность может быть значительным, поскольку физиологические параметры, представляющие интерес для исследователя, в большинстве своем являются косвенно измеряемыми величинами. Данная работа посвящена исследованию влияния погрешности измерения параметров газообмена растений, полученных с использованием открытых систем газообмена, на погрешность оцениваемых физиологических параметров. В работе анализируются уравнения, которые используются для оценки скорости поглощения углекислого газа и выделения паров воды на основе параметров газообмена растения и фактически являются стандартными для открытых систем газообмена; рассматриваются вопросы, связанные с выделением двуокси углерода из растения в виде газа при респираторных процессах на свету. Дается оценка инструментальной погрешности результата измерения скорости поглощения углекислого газа в процессе фотосинтеза для открытых систем газообмена.

*Кл. сл.:* открытые системы газообмена, инфракрасный газоанализатор, инструментальная погрешность, скорость поглощения углекислого газа, уравнение массового баланса

### ВВЕДЕНИЕ

В основе количественного описания явлений лежат измерения, результаты любых измерений содержат ошибки [1, 2]. Пренебрежение ошибками или их неверная оценка может стать причиной выводов и рекомендаций, которые не соответствуют полученному результату. Поэтому исключительно важно уметь рассчитывать эти ошибки и сводить их к минимуму.

Необходимыми составляющими любого измерения являются метод измерения и средство измерения; кроме того, измерения часто проводятся с участием человека. Вклад в погрешность измерения определяется несовершенством каждой составляющей измерения [2]. В общем виде погрешность измерения может быть выражена как

$$\zeta = \zeta_m + \zeta_d + \zeta_p, \quad (1)$$

где  $\zeta$  — погрешность измерения,  $\zeta_m$  — методологическая погрешность,  $\zeta_d$  — инструментальная погрешность,  $\zeta_p$  — личная погрешность.

Каждый компонент погрешности измерения, в свою очередь, может быть вызван несколькими факторами. Погрешности инструментальных измерений вызваны несовершенством средств измерений.

Необходимость знания инструментальной погрешности диктуется следующими соображениями. Во-первых, измерительные приборы могут использоваться по назначению только тогда, когда известны их метрологические свойства. Во-вторых, инструментальная погрешность как неисключаемая часть ошибки результата измерения играет главную роль не только при однократных измерениях. При повторных измерениях число измерений целесообразно выбирать таким, чтобы случайная ошибка результата измерения была меньше инструментальной погрешности, с тем чтобы последняя опять определяла окончательную ошибку результата [3].

Исследователь, применяющий в своей научной практике измерительные приборы, может оценить инструментальную погрешность, используя номинальные метрологические характеристики измери-

тельного прибора, которые приводятся в технической документации.

Для сложных измерительных систем, одновременно измеряющих несколько параметров, окончательный результат измерения, как правило, является результатом косвенных измерений. В технической документации таких приборов приводятся метрологические характеристики только для компонент измерительной системы. В такой ситуации исследователь вынужден сам оценивать ошибку результата измерения. К таким измерительным системам относятся инфракрасные газоанализаторы (ИКГА) на основе открытых систем газообмена. К наиболее известным и популярным системам можно отнести такие портативные системы измерения фотосинтеза, как LI-6400, Li-Cor (Lincoln, Nebraska, USA); CIRAS-2, PPSystems (Hitchin, UK); LCA4, ADC-Biosciences (Hoddesdon, UK) [4].

Цель настоящего исследования — получить оценку инструментальной погрешности результата измерения с помощью инфракрасного газоанализатора на основе открытой системы газообмена скорости ассимиляции двуокси углерода.

## ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДИКИ

### Об оценке неопределенности в измерениях

С целью обеспечения общей основы для сопоставления результатов измерений, а также использования универсального метода для выражения и оценивания неопределенности измерений, применимого ко всем видам измерений и всем типам данных, которые используются при измерениях, при оценке погрешности результата измерения скорости ассимиляции использовали термины и методику, рекомендованные в [5], далее Руководство.

Коротко изложим основные моменты Руководства, имеющие непосредственное отношение к данной работе.

Результат измерения имеет ценность лишь тогда, когда можно оценить его интервал неопределенности, т.е. степень достоверности. Поэтому любой результат измерения должен сопровождаться указанием его погрешности. В узком смысле "неопределенность измерения есть параметр, связанный с результатом измерения, который характеризует разброс значений, которые могли бы быть обоснованно приписаны измеряемой величине" [5].

В качестве этого параметра в Руководстве используют *стандартную неопределенность*, *суммарную неопределенность* и *расширенную неопределенность*. Оценки перечисленных неопределенностей получают на основе ряда

экспериментальных данных (*оценки неопределенностей по типу А*) и на основе дополнительной, в том числе экспертной информации (*оценки неопределенностей по типу В*). К описанию неопределенностей применяется статистический подход независимо от способа их оценивания (при этом считается, что все поправки на систематические погрешности (эффекты) уже введены). В качестве неопределенности измерения обычно принимают расширенную неопределенность, а для промежуточных величин, на основе которых получают результат измерения, вычисляют стандартные неопределенности.

При косвенных измерениях истинное значение измеряемой величины  $Y$  связано с истинными значениями аргументов  $X_i$  ( $i = 1, \dots, N$ ) известной функцией  $f$ . В общей форме это отношение может быть записано в виде *уравнения измерения*:

$$Y = f(X_1, \dots, X_N). \quad (2)$$

Данная функция выражает не просто физический закон, но измерительный процесс, и включает все величины, которые вносят вклад в оценку неопределенности результата измерения [5].

Оценка измеряемой величины  $Y$  обозначается  $y$  и является результатом подстановки в уравнение измерения значений  $x_1, x_2, \dots, x_N$ , являющихся оценками входных величин  $X_1, X_2, \dots, X_N$ . Результат измерения записывается как

$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_N). \quad (3)$$

Суммарная стандартная неопределенность результата измерения  $y$  обозначается  $u_c(y)$  и для независимых  $x_1, x_2, \dots, x_N$  рассчитывается согласно

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N \left( \frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 u^2(x_i), \quad (4)$$

где частные производные  $\frac{\partial f}{\partial x_i}$  (коэффициенты

чувствительности) равны  $\frac{\partial f}{\partial X_i}$  в точке  $X_i = x_i$ ,

$u(x_i)$  — стандартная неопределенность  $x_i$ , оцениваемая по типу А или В. Уравнение (4) основывается на аппроксимации  $Y = f(X_1, \dots, X_N)$  рядом Тейлора первого порядка и называется *законом распространения неопределенности*.

Суммарную дисперсию  $u_c^2(y)$  можно рассматривать как сумму членов, каждый из которых представляет оцененную дисперсию, связанную с выходной оценкой  $y$ , вызванной оцененной дисперсией, связанной с каждой входной оценкой  $x_i$ . Тогда уравнение (4) может быть записано в общей форме как

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N [\beta_i u(x_i)]^2 \equiv \sum_{i=1}^N u_i^2(y), \quad (5)$$

где  $\beta_i \equiv \frac{\partial f}{\partial x_i}$ ,  $u_i(y) \equiv \beta_i u(x_i)$ .

### Оценки неопределенностей по типу А и Б

Традиционно ошибка рассматривается как сумма случайной и систематической компонент. Неопределенность результата измерения в общем случае состоит из нескольких компонент, которые могут быть сгруппированы в две категории согласно методу, которым оценено их численное значение. Согласно Руководству, неопределенности, которые оценены статистическими методами, относятся к типу А, неопределенности, которые оценены другими средствами, относятся к типу В. Соответственно, уравнение (5) может быть записано в виде

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N u_{A,i}^2(y) + \sum_{i=1}^N u_{B,i}^2(y), \quad (6)$$

где  $u_{A,i}(y)$  — стандартная неопределенность  $y$ , рассчитываемая по типу А,  $u_{B,i}(y)$  — стандартная неопределенность  $y$ , рассчитываемая по типу В. Если стандартная неопределенность  $y$ , рассчитываемая по типу А, отсутствует, например, при однократном измерении или в измерительной ситуации, когда оценивание по типу А основывается на небольшом числе статистически независимых наблюдений, то

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N u_{B,i}^2(y) \quad (7)$$

и, соответственно,

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left( \frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 u_B^2(x_i)}. \quad (8)$$

Если оценка  $x_i$  берется из спецификации изготовителя, свидетельства о поверке, справочника или другого источника, и ее неопределенность дается как некоторое кратное стандартного отклонения, то стандартную неопределенность  $u_B(x_i)$  можно принять равной указанному значению, деленному на множитель.

Во многих случаях информация о том, как была получена неопределенность, в документации отсутствует. В таких случаях Руководство предлагает для определения стандартной неопределенности использовать следующий подход: считать, что для того, чтобы вычислить суммарную неопределенность, использовалось нормальное распределение, и оценку стандартной неопре-

деленности  $x_i$  находить, деля неопределенность, указанную в документации, на соответствующий фактор для нормального распределения. Предпочтительно использовать 90, 95 или 99%-й доверительные уровни и соответствующие им коэффициенты: 1.64, 1.96 и 2.5. Практически при оценке стандартных неопределенностей входных величин рассматривали два варианта, соответствующих 95 и 99% доверительным уровням.

### Оценка результата измерения

Расширенная неопределенность результата измерения величины  $Y$ , согласно [5], выражается как

$$U(y) = k u_c(y), \quad (9)$$

где  $u_c(y)$  — суммарная стандартная неопределенность результата измерения  $Y$ ,  $k$  — коэффициент охвата.

Согласно Руководству, для нормального распределения вероятностей, характеризующего  $y$  и  $u_c(y)$ , и значительного числа эффективных степеней свободы принятие  $k = 2$  дает интервал, имеющий уровень доверия 95.45%. Принимая это, с практической точки зрения можно считать, что при уровне доверия 95%

$$U(y) = 2 u_c(y). \quad (10)$$

Соответственно расширенную неопределенность результата измерения скорости ассимиляции двуокси углерода оценивали согласно уравнению (10).

По общим правилам оценки и выражению неопределенности измерений, результат измерения представляется в виде

$$Y = y \pm U, \quad (11)$$

где  $y$  — оценка измеряемой величины  $Y$ ,  $U$  — расширенная неопределенность результата измерения величины  $Y$ .

## ВЫВОД ФОРМУЛ ДЛЯ ОЦЕНКИ СКОРОСТИ АССИМИЛЯЦИИ ДВУОКИСИ УГЛЕРОДА И СКОРОСТИ ТРАНСПИРАЦИИ

### Критический анализ имеющихся формул

Вывод формул для оценки скорости ассимиляции двуокси углерода и скорости транспирации, приводимых в руководствах к портативным системам измерения фотосинтеза [6, 7], в общем виде можно найти в [6, 8].

Скорость ассимиляции CO<sub>2</sub> является косвенно измеряемой величиной в инфракрасном газоанализаторе (ИКГА) и рассчитывается по формуле [6]:

$$A = \frac{F(C_r - C_s)}{100S} - C_s E, \quad (12)$$

где  $A$  — скорость нетто-ассимиляции  $\text{CO}_2$ ,  $\text{мкмоль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ ;  $C_r$  — мольная доля  $\text{CO}_2$  в эталонной камере ИКГА ( $\text{мкмоль}\cdot\text{моль}^{-1}$ );  $C_s$  — мольная доля  $\text{CO}_2$  в камере образца ИКГА ( $\text{мкмоль}\cdot\text{моль}^{-1}$ );  $F$  — молярный расход воздуха, входящего в камеру образца ( $\text{моль}\cdot\text{с}^{-1}$ );  $S$  — площадь поверхности листа ( $\text{см}^2$ );  $E$  — скорость транспирации ( $\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ ). Здесь и далее в уравнениях (13)–(16.2) используются обозначения физических величин, приводимые в [6, 8].

Обоснованность члена  $-C_s E$  в уравнении (12) вызывает вопросы, поэтому, прежде чем перейти к оценке погрешности результата измерения скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$ , проанализируем вывод данного уравнения.

Для открытых измерительных систем, к которым относится LI-6400, молярный баланс паров воды дается уравнением:

$$sE = u_o w_o - u_i w_i, \quad (13)$$

где  $s$  — площадь поверхности листа ( $\text{м}^2$ );  $E$  — скорость транспирации на единицу площади листьев ( $\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ );  $u_i$ ,  $u_o$  — мольные потоки воздуха, входящего и выходящего из камеры ( $\text{моль}\cdot\text{с}^{-1}$ );  $w_i$ ,  $w_o$  — мольные доли водяного пара во входящем и выходящем потоках воздуха ( $\text{моль}\cdot\text{с}^{-1}$ ) соответственно.

Уравнение (13) в таком виде дано в [8], а именно: как уравнение (B1) в Приложении 2 на с. 384; и в таком же виде приводится в [6] как уравнение (1-1) на с. 1-7. Отметим, что, в соответствии с [6], в уравнении (13) и далее, в отличие от уравнения (12), используются основные единицы физических величин. Далее в [8, Приложение 2, с. 384] дается уравнение (B3) в виде:

$$u_o = u_i + (u_o w_o - u_i w_i). \quad (13.1)$$

Откуда с учетом (13) имеет место следующее уравнение:

$$u_o = u_i + sE. \quad (14)$$

Уравнение (14) именно в таком виде приводится в [6] на с. 1-7 как уравнение (1-2).

Уравнение (14) можно переписать как:

$$sE = u_o - u_i. \quad (15)$$

Сравнение (13) и (15) показывает, что уравнение (13) явно противоречит уравнению (15). Также из (13) и (15) следует уравнение

$$u_o - u_i = u_o w_o - u_i w_i, \quad (16)$$

обращающееся в тождество только при  $w_o = w_i = 1$ ,

что не согласуется со смыслом измерительной задачи.

Несогласованность уравнений является следствием неверного написания балансного уравнения (13.1) [8], которое должно включать член  $sa = u_i c_i - u_o c_o$ , т.к. уравнение (13.1) по смыслу является уравнением баланса газовой смеси и должно быть записано в виде:

$$u_o = u_i + (u_o w_o - u_i w_i) + (u_i c_i - u_o c_o), \quad (16.1)$$

или

$$u_o = u_i + sE + sa, \quad (16.2)$$

где  $a$  — скорость ассимиляции  $\text{CO}_2$  ( $\text{моль}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ );  $c_i$  — мольная доля  $\text{CO}_2$  в эталонной камере ИКГА ( $\text{моль}\cdot\text{моль}^{-1}$ );  $c_o$  — мольная доля  $\text{CO}_2$  в камере образца ИКГА ( $\text{моль}\cdot\text{моль}^{-1}$ );  $s$  — площадь поверхности листа ( $\text{м}^2$ ). Отметим, что уравнение  $sa = u_i c_i - u_o c_o$  является уравнением молярного баланса  $\text{CO}_2$ .

Ошибочные предпосылки (уравнение (13.1)) приводят к появлению члена  $-C_s E$  в уравнении (12), а также множителя  $1/(1 - w_o)$  в уравнении для оценки скорости транспирации. С практической точки зрения наличие данного члена в уравнении приводит к смещению измеряемых значений скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$  и, соответственно, появлению отрицательных значений скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$ , когда растение находится на свету. Наличие данного члена в уравнении также приводит к неоднозначности оценки вклада в скорость ассимиляции  $\text{CO}_2$ , обусловленного фотодыханием и темным дыханием на свету [9], что делает определение точки световой компенсации проблематичным.

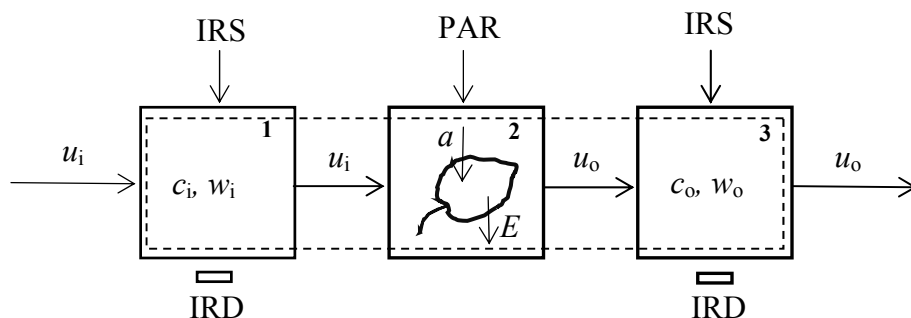
### Вывод уравнений для скоростей обмена

Рассмотрим вывод уравнения для оценки скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$ , принимая во внимание выявленные несоответствия.

Элементами любого ИКГА с открытой системой газообмена, обеспечивающими измерение скорости потока газа, являются эталонная камера, камера образца, аналитическая камера, два независимых излучателя, два независимых приемника инфракрасного излучения и источник фотосинтетически активной радиации (рис. 1) [10].

Смесь газов (сухой воздух, углекислый газ и пары воды) движется с некоторой скоростью, обуславливая поток смеси газов через каждую камеру измерительной системы.

Отметим, что обмен кислородом между растительным образцом и средой в [8] не рассматривается, мы также не учитываем кислород при выводе балансных уравнений, обоснование этого будет приведено ниже.



**Рис. 1.** Схематическая физическая модель измерительной системы (ИКГА). 1 — эталонная камера; 2 — камера образца; 3 — аналитическая камера; IRS — источники инфракрасного излучения; IRD — детекторы инфракрасного излучения; PAR — источник фотосинтетически активной радиации. Пунктирной линией выделен контрольный объем

Площади поперечных сечений эталонной и аналитической камер равны между собой. Молярный расход входного потока смеси газов в эталонную камеру равен молярному расходу входного потока смеси газов в камеру образца и равен  $u_i$ . Молярный расход выходного потока смеси газов из камеры образца равен молярному расходу входного потока смеси газов в аналитическую камеру и равен  $u_o$ .

Лист растения, находящийся в камере образца, при облучении его фотосинтетически активной радиацией (ФАР) одновременно поглощает углекислый газ и выделяет пары воды, что приводит к возникновению диффузных потоков этих газов и изменению концентраций этих газов в камере образца и аналитической камере. Если площадь поверхности листа равна  $s$  и скорость молярного потока  $CO_2$ , поглощаемого листом, равна  $a$ , то молярный расход  $CO_2$ , обусловленный фотосинтезом, равен  $sa$ . Соответственно, если скорость молярного потока паров  $H_2O$ , выделяемого листом, равна  $E$ , то молярный расход паров воды, обусловленный транспирацией, равен  $sE$ . При заданных внешних условиях скорости потоков постоянны.

Оценка скорости поглощения углекислого газа  $a$  растительным объектом (или оценка скорости выделения паров воды  $E$ ) является результатом косвенного измерения и рассчитывается по оценкам молярных долей газов смеси в эталонной и аналитической камерах.

Физические величины, измеряемые в процессе измерительного эксперимента (параметры системы):  $u_i$  — молярный расход газовой смеси, прохо-

дящей через эталонную камеру и входящей в камеру с образцом;  $c_i, w_i$  — молярная доля соответственно углекислого газа и паров воды в потоке газовой смеси, проходящем через эталонную камеру и входящем в камеру с образцом;  $u_o$  — молярный расход газовой смеси, выходящей из камеры с образцом и входящей в аналитическую камеру;  $c_o, w_o$  — молярная доля соответственно углекислого газа и паров воды в потоке газовой смеси, выходящей из камеры с образцом и проходящей через аналитическую камеру.

Физические величины, которые требуется оценить (параметры процесса):  $a$  — скорость молярного потока углекислого газа, поглощаемого в процессе фотосинтеза листом, имеющим площадь поверхности, равную  $s$ ;  $E$  — скорость молярного потока паров воды, испаряемых в процессе транспирации листом, имеющим площадь поверхности, равную  $s$ .

Для дальнейшего изложения приведем обозначение физических величин, принятых в [6, 8], к стандартному (общепринятому) виду [11] и введем дополнительные обозначения. Компоненты смеси будем обозначать цифрами: 1 — углекислый газ, 2 — пары воды, 3 — воздух, соответственно индекс  $j$  ( $j = 1, 2, 3$ ) будет означать принадлежность к  $j$ -й компоненте газовой смеси; индексом  $i$  будем обозначать величины, поступающие в систему, индексом  $o$  — величины, исходящие из системы, индексом  $l$  — величины, связанные с растительным объектом. Молярную долю будем обозначать  $x$ , тогда  $c_i \equiv x_{1i}$ ,  $c_o \equiv x_{1o}$ ,  $w_i \equiv x_{2i}$ ,  $w_o \equiv x_{2o}$ . Молярный расход будем обозначать символом  $Q$ , тогда  $u_i \equiv Q_{\Sigma i}$ ,  $u_o \equiv Q_{\Sigma o}$ .

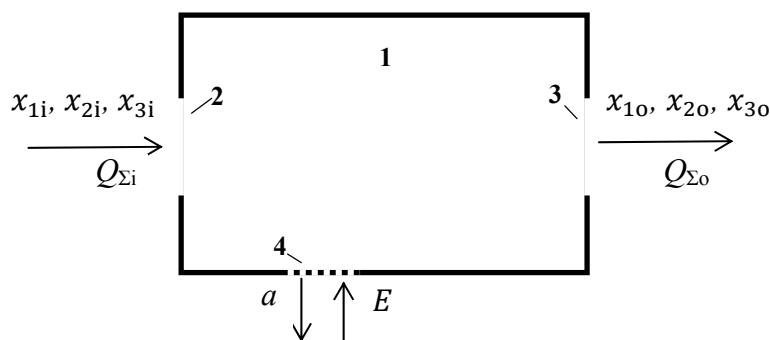
Чтобы измеренные значения физических величин имели информационный смысл, мольные доли компонент газовой смеси в камерах должны быть определены в момент времени, когда измерительная система находится в стационарном состоянии. Временные границы процесса измерения задаются интервалом, начало которого совпадает с моментом, когда смесь газов в камерах приходит в стационарное состояние (концентрация газов в камерах перестает изменяться), окончание — с моментом, когда концентрация газов в камерах начинает изменяться в результате изменения внешних условий [6].

При моделировании газового обмена между внешней средой и растительным образцом предполагается, что поверхность листа непроницаема для воздуха. Учет газового обмена через кутикулу (выделение и поглощение углекислого газа и паров воды) происходит в неявном виде и проявляется в изменении скорости ассимиляции и транспирации. Однако никаких потоков воздуха в камеру образца от листа (и из камеры образца к листу) в процессе фотосинтеза и транспирации не возникает, т.е. мольная объемная концентрация сухого воздуха в камере образца не изменяется. Отметим, что при выводе уравнений для оценки скорости ассимиляции и скорости транспирации вопрос кутикулярного обмена в [6, 8] не поднимается. Напротив, мольная доля воздуха изменяется, поскольку изменяются мольные концентрации углекислого газа и паров воды, обусловленные потоком смеси газов через устьяца (и кутикулу). Подробное рассмотрение диффузии газов при на-

личии непроницаемых поверхностей можно найти в [11]. В ситуации, когда один из структурных элементов системы обладает селективными свойствами, газообмен удобнее моделировать не источником (или стоком) газа, находящимся в системе, а как газообмен системы с внешней средой через селективную мембрану определенной площади. Тогда растительный образец, помещаемый в камеру 2 (рис. 1), можно рассматривать как селективную мембрану площадью  $s$ , которая обеспечивает транспорт паров воды в систему и углекислого газа из системы.

Используя качественное описание процесса измерения скорости потока газа, поглощаемого (выделяемого) растительным образцом, и физическую модель измерительной системы, построим теоретическую модель, описывающую газообмен в измерительной системе (рис. 2). В контексте проблемы измерения скорости поглощения углекислого газа (выделения паров воды) под системой (контрольным объемом системы) будем понимать объем газовой смеси, заключенный в эталонной, аналитической и образцовой камерах, т.е. ту часть измерительной системы, параметры которой определяют оценку искомой величины. При этом будем считать, что площади сечений, через которые входной и выходной потоки газовой смеси поступают в контрольный объем, равны.

Переменные  $Q_{\Sigma i}$ ,  $Q_{\Sigma o}$ ,  $x_{1i}$ ,  $x_{1o}$ ,  $x_{2i}$ ,  $x_{2o}$ ,  $x_{3i}$ ,  $x_{3o}$ , выражающие количественное поведение процесса газообмена, являются переменными состояния. Изменения переменных состояния задаются уравнениями баланса состояния [12].



**Рис. 2.** Модель газообмена в измерительной системе. 1 — контрольный объем; 2 — вход; 3 — выход; 4 — селективная мембрана

В общем виде уравнение баланса массы для открытой системы объемом  $V$  имеет следующий вид [13]:

$$\sum_j \frac{dm_j}{dt} = \sum_j \dot{m}_{j_i} - \sum_j \dot{m}_{j_o} \pm \sum_j \dot{m}_{j_l}, \quad (17)$$

где  $dm/dt$  — изменение массы  $j$ -й компоненты в системе,  $\dot{m}_{j_i}$  — интенсивность массового потока  $j$ -й компоненты, входящей в систему;  $\dot{m}_{j_o}$  — интенсивность массового потока  $j$ -й компоненты, выходящей из системы;  $\dot{m}_{j_l}$  — интенсивность производства (убыли) массы  $j$ -й компоненты в системе.

Уравнение баланса массы для  $j$ -й компоненты газовой смеси для открытой системы запишется как:

$$\frac{dm_j}{dt} = \dot{m}_{j_i} - \dot{m}_{j_o} \pm \dot{m}_{j_l}, \quad (18)$$

где величина  $\dot{m}_{j_l}$  положительна, когда масса добавляется к системе, и отрицательна, когда масса изымается из системы.

Так как по условиям измерения система находится в стационарном состоянии, то  $dm_j/dt = 0$  и, следовательно,

$$\dot{m}_{j_i} - \dot{m}_{j_o} \pm \dot{m}_{j_l} = 0. \quad (19)$$

Интенсивность входного (выходного) массового потока  $j$ -й компоненты может быть определена как  $\dot{m}_j = \rho_j \sigma_j v_j$ , где  $\rho_j$  — плотность  $j$ -й компоненты газовой смеси,  $v_j$  — скорость  $j$ -й компоненты газовой смеси относительно неподвижной системы отсчета,  $\sigma_j$  — площадь сечения потока  $j$ -й компоненты газовой смеси (т.к. площади входного и выходного сечений системы равны для всех компонент газовой смеси, то далее  $\sigma_j \equiv \sigma$ ) [14]. Моделирование интенсивности производства (или убыли)  $j$ -й компоненты газовой смеси в системе массовым потоком  $j$ -й компоненты через селективную мембрану площадью  $s$  дает  $\dot{m}_{j_l} = \rho_j s v_{j_l}$ . Тогда уравнение (19) может быть записано в виде:

$$\rho_j v_{j_i} \sigma - \rho_j v_{j_o} \sigma \pm \rho_j v_{j_l} s = 0. \quad (20)$$

Уравнение (20) может быть преобразовано в следующее уравнение

$$c_{j_i} v_{j_i} \sigma - c_{j_o} v_{j_o} \sigma \pm c_{j_l} v_{j_l} s = 0, \quad (21)$$

где  $c_j \equiv \rho_j / M_j$  — молярная плотность  $j$ -й компоненты газовой смеси,  $M_j$  — молекулярная масса  $j$ -й компоненты газовой смеси [14]. Подстановка  $H_j = c_j v_j$ , где  $H_j$  — скорость молярного потока  $j$ -й

компоненты газовой смеси, дает

$$H_{j_i} \sigma - H_{j_o} \sigma \pm H_{j_l} s = 0, \quad (22)$$

или

$$Q_{j_i} - Q_{j_o} \pm H_{j_l} s = 0, \quad (23)$$

где  $Q_j = H_j \sigma$  — молярный расход  $j$ -й компоненты.

При моделировании обменных процессов в многокомпонентных смесях принимаются некоторые упрощающие допущения. Многокомпонентное тело определяется как совокупность, элементами которой являются среднемассовые материальные частицы. Среднемассовая (среднемолярная) материальная частица многокомпонентной смеси ( $N$  компонент) представляет собой искусственную частицу, которая движется со среднемассовой скоростью смеси  $v \equiv \sum_{j=1}^N \omega_j v_j$  или среднемольярной скоростью смеси  $v^* \equiv \sum_{j=1}^N x_j v_j$  [14]. Тогда  $H_j = c_j v^*$  или с учетом  $x_j = c_j / c$ , где  $c$  — молярная плотность смеси газов, получаем  $H_j = c_j v^* = x_j H_\Sigma$ , где  $H_\Sigma = \sum_{j=1}^N H_j = c v^*$  — сумма молярных потоков всех компонент [14]. Умножив левую и правую части выражения на  $\sigma$ , получим выражение для молярного расхода  $j$ -й компоненты  $Q_j = x_j Q_\Sigma$ .

Принимая вышесказанное во внимание, уравнение сохранения молярного баланса  $j$ -й компоненты запишется как:

$$x_{j_i} Q_{\Sigma i} - x_{j_o} Q_{\Sigma o} \pm H_{j_l} s = 0. \quad (24)$$

Записав уравнение молярного баланса для каждой компоненты смеси, получим систему уравнений, описывающую изменение массы вещества в системе:

$$\begin{cases} x_{1i} Q_{\Sigma i} - x_{1o} Q_{\Sigma o} - H_{1l} s = 0, \\ x_{2i} Q_{\Sigma i} - x_{2o} Q_{\Sigma o} - H_{2l} s = 0, \\ x_{3i} Q_{\Sigma i} - x_{3o} Q_{\Sigma o} = 0. \end{cases} \quad (25)$$

Просуммировав данные уравнения, получим уравнение молярного баланса смеси газов:

$$Q_{\Sigma i} - Q_{\Sigma o} - H_{1l} s + H_{2l} s = 0. \quad (26)$$

Величина  $Q_{\Sigma i}$  известна и задается исследователем, величины  $x_{1i}$ ,  $x_{1o}$ ,  $x_{2i}$  и  $x_{2o}$  измеряются в ходе измерительного эксперимента. Неизвестной величиной является  $Q_{\Sigma o}$ , которую можно оценить на основании уравнения молярного баланса для воздуха.

Мольная доля воздуха во входящем в камеру 1 и выходящем из камеры 1 потоках смеси газов не оценивается в процессе измерения, однако по-

сколькx сумма мольных долей всех газов смеси, по определению, равна единице, то мольные доли  $x_{3i}$  и  $x_{3o}$  могут быть определены на основании следующих уравнений:

$$x_{3i} = 1 - x_{1i} - x_{2i}, \quad (27)$$

$$x_{3o} = 1 - x_{1o} - x_{2o}. \quad (28)$$

Тогда с учетом (25) имеем

$$Q_{\Sigma o} = \frac{x_{3i}}{x_{3o}} Q_{\Sigma i} = \frac{1 - x_{1i} - x_{2i}}{1 - x_{1o} - x_{2o}} Q_{\Sigma i}. \quad (29)$$

Оценим отношение  $x_{3i}/x_{3o}$ , используя типичные значения мольных долей смеси газов, которые встречаются в измерительном эксперименте. Типичное парциальное давление паров воды  $p_2$  в аналитической камере составляет от 20 до 30 мбар; таким образом, при общем давлении  $P$ , равном 1 бар, типичная мольная доля паров воды в смеси газов в аналитической камере составит  $x_{2o} = p_2/P$  от  $20 \cdot 10^{-3}$  до  $30 \cdot 10^{-3}$  моль · моль<sup>-1</sup> [8].

Типичные значения мольных долей CO<sub>2</sub>:  $x_{1i} = 370 \cdot 10^{-6}$  моль · моль<sup>-1</sup>;  $x_{1o} = 0 - 370 \cdot 10^{-6}$  моль · моль<sup>-1</sup>. Пусть  $x_{1o} = 0$  моль · моль<sup>-1</sup>, а  $x_{2i} = 0$  моль · моль<sup>-1</sup>.

Подстановка значений дает

$$\frac{1 - x_{1i} - x_{2i}}{1 - x_{1o} - x_{2o}} = \frac{1 - 370 \cdot 10^{-6} - 0}{1 - 0 - 30 \cdot 10^{-3}} = \frac{1.0}{0.97} = 1.03,$$

т.е. мольные доли воздуха в эталонной и аналитической камере отличаются на 3%. Практически в реальных условиях разность между  $x_{2i}$  и  $x_{2o}$  составляет от  $2 \cdot 10^{-3}$  до  $5 \cdot 10^{-3}$  моль · моль<sup>-1</sup>, что дает величину 1.005 (0.5%).

С учетом полученных оценок  $x_{3i}/x_{3o}$  можно записать

$$Q_{\Sigma o} \approx Q_{\Sigma i}. \quad (30)$$

Этот же результат может быть обоснован другим способом. Движение потока смеси газов и его расход обусловлены перепадом давления на входе в систему и на выходе из нее. Давление на выходе из системы равно атмосферному давлению, входное давление создается компрессором, входящим в состав прибора, и превышает атмосферное давление. Во время измерительного эксперимента давление, создаваемое компрессором, постоянно и задается исследователем при выборе скорости входного потока смеси газов. Атмосферное давление по крайней мере в течение эксперимента также постоянно. Следовательно, разность давлений, обуславливающая движение смеси газов, также постоянна. Изменения парциальных давлений газов, входящих в смесь, пренебрежимо малы по сравнению с атмосферным давлением и давлением компрессора и могут не учитываться. Пло-

щади входного и выходного сечений потока смеси газов равны и располагаются на одном уровне. Тогда равенство молярных расходов на входе в систему и на выходе из системы следует из уравнения Бернулли для стационарного движения идеальной жидкости [15]. Или еще проще: расходомер, поставленный на выходе из системы, покажет точно такой же молярный расход, как и на входе в систему, поскольку оценка молярного расхода в расходомере делается на основании средней плотности газовой смеси.

Подставляя (30) в (25), получим

$$H_{11} = \frac{Q_{\Sigma i} (x_{1i} - x_{1o})}{s}, \quad (31)$$

или в обозначениях, принятых в [6, 8],

$$a = \frac{u_i (c_i - c_o)}{s}. \quad (32)$$

Также, подставляя (30) в (25), получим

$$H_{21} = \frac{Q_{\Sigma i} (x_{2o} - x_{2i})}{s} \quad (33)$$

или

$$E = \frac{u_i (w_o - w_i)}{s}. \quad (34)$$

Оценивая (12) и принимая во внимание следующие выражения [6]:

$$u_i = F / 10^6, \quad (35)$$

$$w_i = W_r / 10^3, \quad (36)$$

$$w_o = W_s / 10^3, \quad (37)$$

$$c_i = C_r / 10^3, \quad (38)$$

$$c_o = C_s / 10^3, \quad (39)$$

$$s = S / 10^4, \quad (40)$$

уравнения (32) и (34) для портативной системы измерения фотосинтеза LI-6400 (в обозначениях Руководства) преобразуются в уравнения

$$A = \frac{F(C_r - C_s)}{100 \cdot S} \quad (41)$$

и

$$E = \frac{F(W_s - W_r)}{100 \cdot S}. \quad (42)$$

Величины  $F$ ,  $C_r$ ,  $C_s$ ,  $W_r$ ,  $W_s$  и  $S$  оцениваются в процессе измерения; подставляя их в уравнения (41) и (42), получим искомые значения скорости ассимиляции и скорости транспирации.



### ВЫДЕЛЕНИЕ ДВУОКСИ УГЛЕРОДА И ПОГЛОЩЕНИЕ КИСЛОРОДА РАСТЕНИЕМ НА СВЕТУ. ТЕОРИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТ

Поскольку выделение двуокиси углерода и поглощение кислорода растением на свету оказывают непосредственное влияние на систему балансных уравнений, описывающих массообмен в открытых системах газообмена, приведем аргументы, на основании которых система уравнений была сформирована.

При выводе уравнения (41) мы, как и [8], полагаем, что входной (относительно системы) поток углекислого газа от растительного образца, обусловленный фотодыханием и темным дыханием на свету [9], отсутствует, и не учитывали поток кислорода, потребляемого растительным образцом.

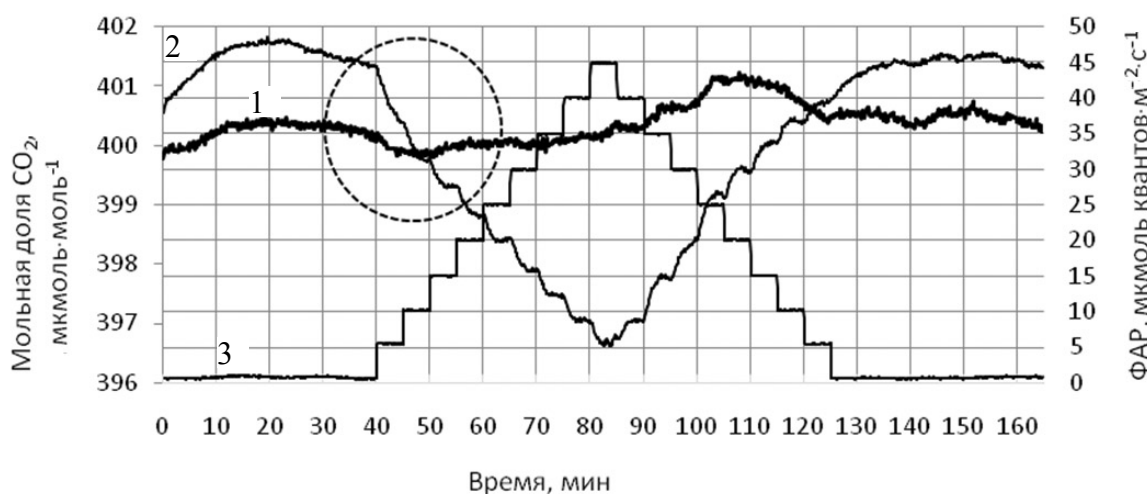
Отсутствие выделения углекислого газа при дыхании на свету в камеру образца можно аргументировать следующим образом. Для того, чтобы поток углекислого газа в систему от растительного образца был возможен, необходимо принять, по крайней мере, два предположения: 1) углекислый газ в подустьичной камере находится при двух различных концентрациях; 2) так как при любой интенсивности фотосинтетически активная радиация (ФАР) предполагается постоянство потока CO<sub>2</sub>, обусловленного дыхательными процессами на свету, а концентрация CO<sub>2</sub> в камере образца изменяется в зависимости от величины ФАР, то растение должно каким-то образом "измерять" концентрацию CO<sub>2</sub> в камере, чтобы контролировать и регулировать интенсивность выходного

потока CO<sub>2</sub>. Первый постулат противоречит явлению диффузии; разрешить данное противоречие можно, разделив входной и выходной потоки CO<sub>2</sub> в пространстве или во времени (например, считать, что фотосинтез осуществляется через одни устьица, а дыхание — через другие). Однако такое гипотетическое разделение находится в явном противоречии с физиологией растений, как и второй постулат, предполагающий наличие у растения органа, измеряющего концентрацию углекислого газа во внешней среде. Поэтому остается признать, что во время фотосинтеза выделение во внешнюю среду CO<sub>2</sub>, обусловленное дыхательными процессами на свету, в виде газа не происходит.

Относительно потока кислорода можно сказать следующее. ИКГА не измеряет мольную долю кислорода в камере образца, поэтому на основании показаний прибора ничего нельзя сказать о потоке кислорода. В [8] кислород не включен в систему балансных уравнений, т.к. в [8, Приложение 2, с. 384] утверждается: "поглощение CO<sub>2</sub> в камере уравновешивается потоком кислорода". Однако если поток кислорода, обусловленный респираторными процессами на свету, существует, то система балансных уравнений (25) должна быть дополнена уравнением молярного баланса кислорода

$$x_{4i}Q_{\Sigma i} - x_{4o}Q_{\Sigma o} - H_{4i}s = 0, \quad (43)$$

где индекс 4 соответствует кислороду (соответственно индекс *j* изменяется от 1 до 4); *H*<sub>4i</sub> — скорость молярного потока кислорода.



**Рис. 3.** Зависимость мольной доли CO<sub>2</sub> во входном и выходном потоках газового анализатора от времени и ФАР. 1 — мольная доля CO<sub>2</sub> в эталонной камере; 2 — мольная доля CO<sub>2</sub> в аналитической камере; 3 — интенсивность ФАР

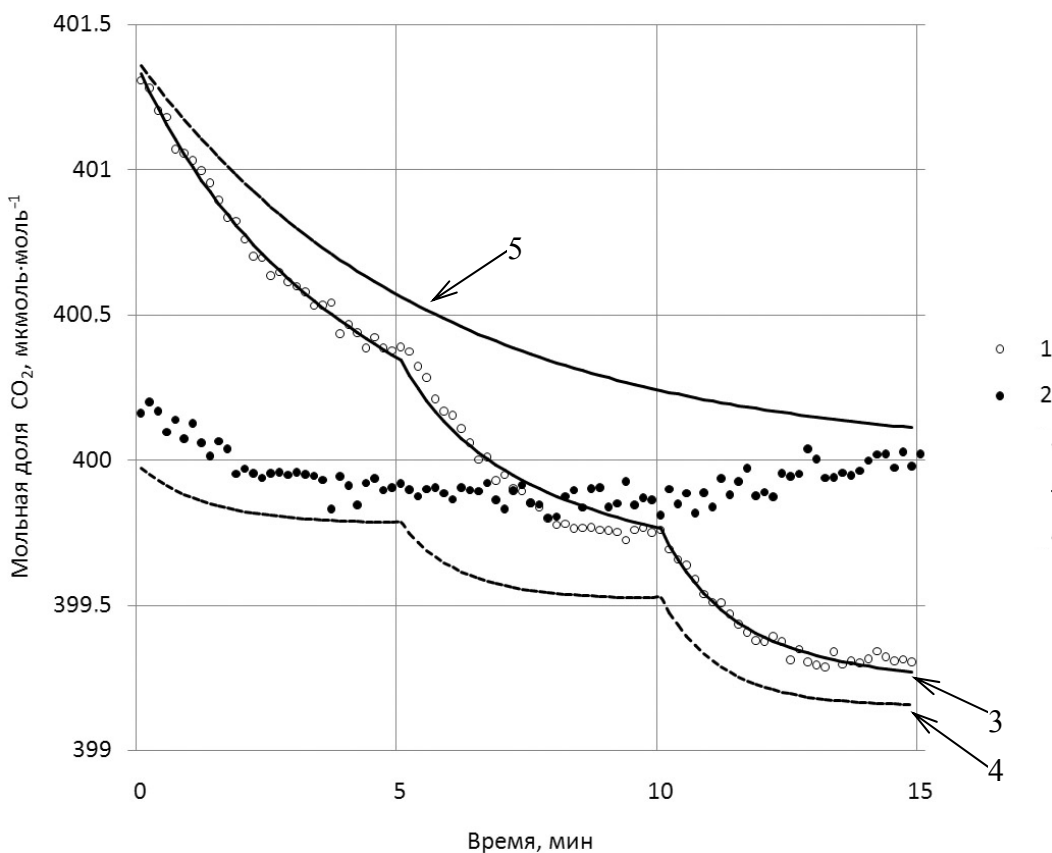
Но в этом случае имеются 4 уравнения и 6 неизвестных, т.е. система уравнений не имеет решения. Кроме того, молярные доли  $x_{4i}$  и  $x_{4o}$  без дополнительных измерений определить невозможно. Выход из ситуации заключается или в отказе от рассмотрения потока кислорода (см. [8]), или принятии предположения, что  $x_{4i}$  и  $x_{4o}$  не меняют соотношение (30) или меняют несущественно. Только в этом случае система будет иметь решение.

С другой стороны, наличие или отсутствие потока углекислого газа в камеру образца должно отражаться на показаниях измерительной системы. Проведем анализ световой кривой, полученной на побеге пихты сибирской (*Abies sibirica Ledeb.*) второго года жизни при температуре воздуха 18 °С, молярной доле  $\text{CO}_2$  во входящей газовой смеси, равной  $400 \text{ мкмоль}\cdot\text{моль}^{-1}$ , и изменении ФАР от 0 к  $45 \text{ мкмоль}\cdot\text{квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$  и обратно к  $0 \text{ мкмоль}\cdot\text{квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$  с переменным шагом  $5 \text{ мкмоль}\cdot\text{квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ . Растительный объект до начала облучения ФАР выдерживался в темно-

те. Необходимое содержание  $\text{CO}_2$  во входящей газовой смеси обеспечивалось баллоном с жидким  $\text{CO}_2$  и смесителем типа 6400-01. Измерение проводилось с использованием портативной системы измерения фотосинтеза LI-6400XT и непрозрачной камеры для хвойных типа 6400-22.

На рис. 3 представлены графики изменения молярной доли  $\text{CO}_2$  во входном и выходном потоках газового анализатора в зависимости от времени и ФАР. Отметим, что в целом на форму кривых сильное влияние оказывает нестабильность молярной доли во входном потоке. Рассмотрим фрагмент графика на рис. 3, выделенный окружностью (рис. 4).

Кривая из точек 1 на рис. 4 — это значения молярной доли  $\text{CO}_2$  в выходном потоке газовой смеси, полученные в ходе эксперимента при изменении ФАР, кривая из точек 2 — значения молярной доли  $\text{CO}_2$  во входном потоке газовой смеси. Отметим, что все кривые имеют экспоненциальный характер (см., например, [16, 17]).



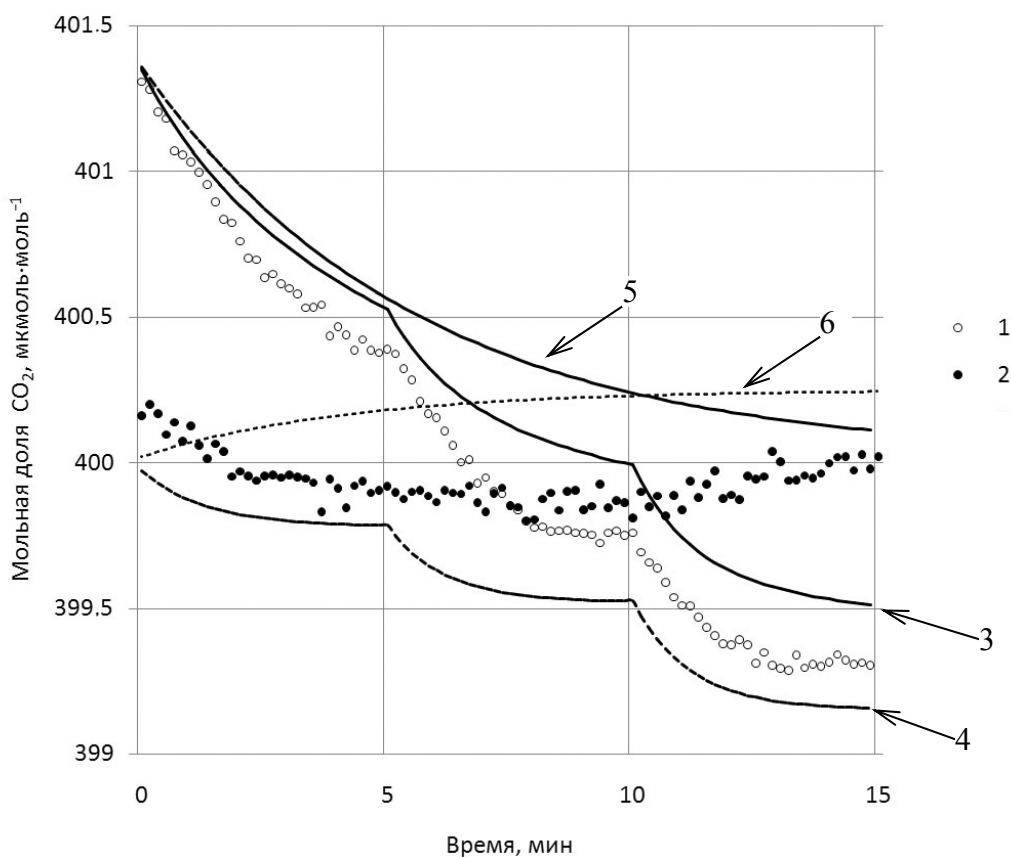
**Рис. 4.** Фрагмент зависимости молярной доли  $\text{CO}_2$  во входном и выходном потоках газовой смеси от времени при изменении ФАР от 0 до  $15 \text{ мкмоль}\cdot\text{квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ .

1 — экспериментальные значения молярной доли  $\text{CO}_2$  в аналитической камере; 2 — экспериментальные значения молярной доли  $\text{CO}_2$  в эталонной камере; 3 — теоретические значения молярной доли  $\text{CO}_2$  в аналитической камере; 4 — теоретические значения молярной доли  $\text{CO}_2$  в аналитической камере, обусловленные дыханием в темноте; 5 — теоретические значения молярной доли  $\text{CO}_2$  в аналитической камере, обусловленные фотосинтезом

Кривая 1 хорошо аппроксимируется кривой 3 (средняя ошибка аппроксимации составляет 0.008), которая является результатом суперпозиции двух независимых процессов, происходящих в аналитической камере: 1) процесса уменьшения мольной доли  $\text{CO}_2$  в выходном потоке газа от значения, соответствующего дыханию в темноте, до значения мольной доли  $\text{CO}_2$  во входном потоке (кривая 4) и 2) процесса изменения мольной доли  $\text{CO}_2$  в выходном потоке, обусловленного фотосинтетической активностью растительного образца (кривая 5). Очевидно, что одновременное развитие указанных процессов приводит к смещению значений мольной доли  $\text{CO}_2$  в выходном потоке при малых значениях ФАР.

В результате мольная доля  $\text{CO}_2$  в выходном потоке превышает значение мольной доли  $\text{CO}_2$  входного потока газа, что на практике проявляется как отрицательные значения скорости ассимиляции при наличии ФАР.

Если следовать гипотезе о выделении газообразного  $\text{CO}_2$  из растительного образца в процессе темного дыхания на свету, то следует добавить третий процесс — увеличение мольной доли  $\text{CO}_2$  в выходном потоке от эталонного значения мольной доли  $\text{CO}_2$  до значения мольной доли  $\text{CO}_2$ , соответствующей темному дыханию на свету (кривая 6, рис. 5).



**Рис. 5.** Фрагмент зависимости мольной доли  $\text{CO}_2$  во входном и выходном потоках газовой смеси от времени при изменении ФАР от 0 до 15 мкмоль квантов·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup> с учетом выделения газообразного  $\text{CO}_2$  в результате темного дыхания на свету.

1 — экспериментальные значения мольной доли  $\text{CO}_2$  в выходном потоке; 2 — экспериментальные значения мольной доли  $\text{CO}_2$  во входном потоке; 3 — теоретические значения мольной доли  $\text{CO}_2$  в выходном потоке; 4 — теоретические значения мольной доли  $\text{CO}_2$  в выходном потоке, обусловленные дыханием в темноте; 5 — теоретические значения мольной доли  $\text{CO}_2$  в выходном потоке, обусловленные фотосинтезом; 6 — теоретические значения мольной доли  $\text{CO}_2$  в выходном потоке, обусловленные дыханием на свету

Кривая 3 на рис. 5, представляющая собой результат суперпозиции трех вышеуказанных процессов, не совпадает с экспериментальными значениями. Это дает основание утверждать, что респираторные процессы на свету не приводят к выделению  $\text{CO}_2$  в атмосферу.

Кроме обоснования отказа от рассмотрения газовых потоков, обусловленных выделением двуокиси углерода и поглощением кислорода растением в результате респираторных процессов на свету, проведенный анализ позволяет сделать вывод о так называемой "точке световой компенсации". По-нашему мнению, точка световой компенсации является артефактом, обусловленным, во-первых, неверным расчетным уравнением для скорости ассимиляции (см. уравнение (12)); во-вторых, инерционностью измерительной системы, которая проявляется в невозможности мгновенного возврата в исходное (эталонное) состояние соотношения газов в газовой смеси в аналитической камере при переходе от темноты к свету; в-третьих, свой вклад вносит погрешность калибровки нуля измерительной системы.

#### ОЦЕНКА НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ РЕЗУЛЬТАТА ИЗМЕРЕНИЯ СКОРОСТИ НЕТТО-АССИМИЛЯЦИИ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА

Оценку неопределенности результата измерения скорости нетто-ассимиляции углекислого газа проводили на примере портативной системы измерения фотосинтеза LI-6400, однако все ниже-сказанное относится и к другим системам измерения фотосинтеза с открытым газообменом.

В [6, с. 16-58] дается методика приведения погрешности измерения разности концентраций  $\text{CO}_2$  к величине 2%. Однако методика является иллюзорной, поскольку, по сути, свидетельствует о том, каковы должны быть скорость нетто-ассимиляции углекислого газа, скорость входного потока воздуха и площадь поверхности листа, чтобы разность концентраций в эталонной камере и камере образца равнялась 10 ppm.

Для оценки неопределенности результата измерения скорости нетто-ассимиляции углекислого газа использовали методику, кратко изложенную в разделе "ОБОСНОВАНИЕ МЕТОДИКИ".

Как показано выше, в новой редакции скорость нетто-ассимиляции углекислого газа определяется

$$\text{согласно выражению (41): } A = \frac{F(C_r - C_s)}{100 \cdot S}.$$

Соответствующее ему уравнение измерения имеет вид:

$$A = f(F, C_r, C_s, S). \quad (44)$$

Использование производных единиц физических величин не очень практично, удобнее, когда в уравнениях (41), (44) используются основные единицы измерения, поэтому вместо (41), (44) будем рассматривать уравнения:

$$a = \frac{u_i(c_i - c_o)}{s} \quad (45)$$

и

$$a = f(u_i, c_i, c_o, s). \quad (46)$$

Чтобы избежать недоразумений, обозначим молярный расход газовой смеси  $u_i$  как  $v_i$  ( $u_i \equiv v_i$ ), тогда уравнение (45) запишется как

$$a = \frac{v_i(c_i - c_o)}{s}. \quad (47)$$

Согласно приведенной выше методике, суммарная стандартная неопределенность результата измерения  $a$  оценивалась в соответствии с уравнением (8):

$$u_c(a) = \left( \left( \frac{\partial f}{\partial v_i} \right)^2 u^2(v_i) + \left( \frac{\partial f}{\partial c_i} \right)^2 u^2(c_i) + \left( \frac{\partial f}{\partial c_o} \right)^2 u^2(c_o) + \left( \frac{\partial f}{\partial s} \right)^2 u^2(s) \right)^{1/2}, \quad (48)$$

где коэффициенты чувствительности имеют вид:

$$\frac{\partial f}{\partial v_i} = \frac{(c_i - c_o)}{s}, \quad \frac{\partial f}{\partial c_i} = \frac{v_i}{s}, \quad \frac{\partial f}{\partial c_o} = -\frac{v_i}{s}, \\ \frac{\partial f}{\partial s} = \frac{v_i \cdot (c_i - c_o)}{s^2}.$$

Коэффициенты получены дифференцированием функции (47). Подставляя коэффициенты чувствительности в явном виде в выражение (48), получим:

$$u_c(a) = \left( \left[ \frac{(c_i - c_o)}{s} \right]^2 u^2(v_i) + \left[ \frac{v_i}{s} \right]^2 u^2(c_i) + \left[ -\frac{v_i}{s} \right]^2 u^2(c_o) + \left[ \frac{v_i \cdot (c_i - c_o)}{s^2} \right]^2 u^2(s) \right)^{1/2}. \quad (49)$$

С учетом  $u^2(c_i) = u^2(c_o)$  получаем:

$$u_c(a) = \left( \left[ \frac{(c_i - c_o)}{s} \right]^2 \cdot u^2(v_i) + 2 \cdot \left[ \frac{v_i}{s} \right]^2 \cdot u^2(c_i) + \left[ \frac{v_i \cdot (c_i - c_o)}{s^2} \right]^2 \cdot u^2(s) \right)^{1/2} \quad (50)$$

Соответственно расширенная стандартная неопределенность результата измерения  $a$ , согласно (10), равна:

$$U(a) = 2u_c(a) = 2 \cdot \left( \left[ \frac{(c_i - c_o)}{s} \right]^2 \cdot u^2(v_i) + 2 \cdot \left[ \frac{v_i}{s} \right]^2 \cdot u^2(c_i) + \left[ \frac{v_i \cdot (c_i - c_o)}{s^2} \right]^2 \cdot u^2(s) \right)^{1/2} \quad (51)$$

**ОЦЕНКА РАСШИРЕННОЙ СТАНДАРТНОЙ НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ РЕЗУЛЬТАТА ИЗМЕРЕНИЯ СКОРОСТИ АССИМИЛЯЦИИ ДВУОКСИ УГЛЕРОДА**

С практической точки зрения интерес представляют количественные характеристики расширенной стандартной неопределенности результата измерения; чтобы получить их, оценим величины  $u^2(v_i)$ ,  $u^2(c_i)$  и  $u^2(s)$ .

Если оценка  $x_i$  берется из спецификации изготовителя, свидетельства о поверке, справочника или другого источника и ее неопределенность дается как некоторое кратное стандартного отклонения, то стандартную неопределенность  $u(x_i)$  можно принять равной указанному значению, деленному на множитель [5]. Если не указано другого, то можно предположить, что использовалось нормальное распределение для вычисления упомянутой неопределенности, и стандартную неопределенность для  $x_i$  получают делением приведенной неопределенности на соответствующий коэффициент для нормального распределения. Коэффициенты, соответствующие вышеуказанным трем доверительным уровням, следующие: 1.64; 1.96 и 2.58. В документации к LI-6400 неопределенность величин, входящих в уравнение (41), дается в виде  $x_i \pm \theta(x_i)$ , при этом доверительный уровень не указан [19]. В документации к CIRAS-2 [7] и LCA4 [18] не указан не только доверительный уровень, но и неопределенность величин, входящих в уравнение (51). Будем считать, что для вы-

числения неопределенности использовалось нормальное распределение при уровне доверия 95% (коэффициент равен 1.96). Руководствуясь [19], найдем стандартные неопределенности для  $v_i$ ,  $c_i$ ,  $c_o$  для газоанализатора LI-6400.

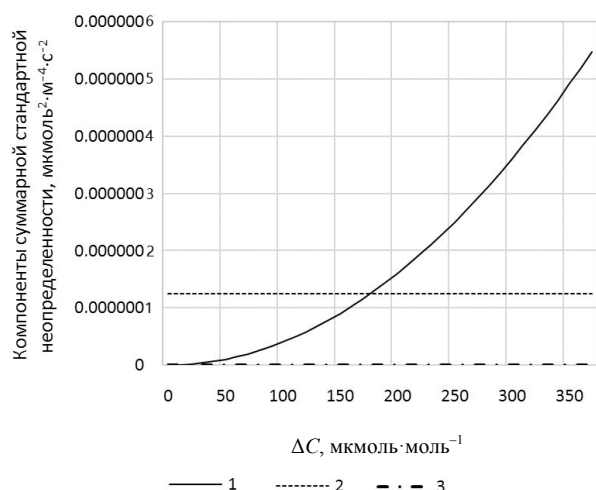
Абсолютная погрешность измерения молярного расхода  $\theta(F)$  в диапазоне 0–750 мкмоль·с<sup>-1</sup> равна  $\pm 20$  мкмоль·с<sup>-1</sup>, тогда  $u(F) = \theta(F) / 1.96 = 10.2$  мкмоль·с<sup>-1</sup>; соответственно  $u(v_i) = 10.2 \cdot 10^{-6}$  моль·с<sup>-1</sup>;  $u^2(v_i) = 104.4 \cdot 10^{-12}$  моль<sup>2</sup>·с<sup>-2</sup>. Следует отметить, что на сайте компании, производящей инфракрасные анализаторы [20], абсолютная погрешность измерения скорости потока не приводится, в отличие от абсолютной погрешности измерения других параметров.

Абсолютная погрешность измерения молярной доли CO<sub>2</sub>,  $\theta(C_r)$ ,  $\theta(C_s)$  в диапазоне 0–1500 мкмоль·моль<sup>-1</sup> равна  $\pm 5$  мкмоль·моль<sup>-1</sup>, тогда  $u(C_r) = \theta(C_r) / 1.96 = 2.55$  мкмоль·моль<sup>-1</sup>; соответственно  $u(c_i) = 2.55 \cdot 10^{-6}$  моль·моль<sup>-1</sup>,  $u^2(c_i) = 6.5 \cdot 10^{-12}$  моль<sup>2</sup>·моль<sup>-2</sup>. Аналогично  $u(C_s) = \theta(C_s) / 1.96 = 2.55$  мкмоль·моль<sup>-1</sup>; соответственно  $u(c_o) = 2.55 \cdot 10^{-6}$  моль·моль<sup>-1</sup>,  $u^2(c_o) = 6.5 \cdot 10^{-12}$  моль<sup>2</sup>·моль<sup>-2</sup>.

Стандартная неопределенность результатов измерения площади листовой поверхности  $s$  определяется исследователем в каждом конкретном случае самостоятельно. Зададим диапазон изменения площади поверхности листа от 30 см<sup>2</sup> до 100 см<sup>2</sup>, имея в виду, что, как следует из (51), чем меньше площадь, тем больше погрешность измерения скорости ассимиляции. Примем относительную погрешность измерения площади поверхности листа независимой от величины площади и равной  $\pm 5\%$ . Тогда при площади листа, равной 30 см<sup>2</sup>, абсолютная погрешность измерения площади листовой поверхности  $\theta(s)$  равна 1.5 см<sup>2</sup>,  $u(s) = \theta(s) / 1.96 = 0.77$  см<sup>2</sup> =  $0.77 \cdot 10^{-4}$  м<sup>2</sup>,  $u^2(s) = 0.59 \cdot 10^{-8}$  м<sup>2</sup>. При площади листа, равной 100 см<sup>2</sup>, абсолютная погрешность измерения площади листовой поверхности  $\theta(s)$  равна 5 см<sup>2</sup>,  $u(s) = \theta(s) / 1.96 = 2.55$  см<sup>2</sup> =  $2.55 \cdot 10^{-4}$  м<sup>2</sup>,  $u^2(s) = 6.5 \cdot 10^{-8}$  м<sup>2</sup>. Соответственно может быть рассчитана абсолютная погрешность измерения площади листовой поверхности для листа любой площади.

Используя полученные оценки  $u^2(v_i)$ ,  $u^2(c_i)$  и  $u^2(s)$ , исследуем поведение погрешностей результата измерения скорости ассимиляции CO<sub>2</sub>  $U(a)$  в диапазоне рабочих значений параметров:  $v_i = (100-700) \cdot 10^{-6}$  моль·с<sup>-1</sup>;  $(w_o - w_i) = (0-2) \cdot 10^{-3}$  моль·моль<sup>-1</sup>;  $c_i = 370 \cdot 10^{-6}$  моль·моль<sup>-1</sup>;  $c_o = (0-370) \cdot 10^{-6}$  моль·моль<sup>-1</sup>;  $s = (30-100) \cdot 10^{-4}$  м<sup>2</sup>.

Анализ уравнения (51) показывает, что при изменении разности концентраций от 0 до концентрации CO<sub>2</sub> в атмосферном воздухе компоненты

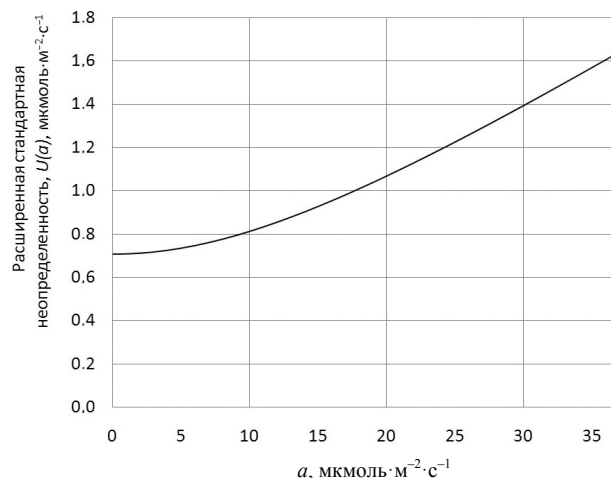


**Рис. 6.** Зависимость компонент суммарной стандартной неопределенности результата измерения скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$  от разности молярных долей  $\text{CO}_2$  в эталонной и аналитической камерах  $\Delta C$ . Молярный расход газовой смеси  $v_i = 500 \cdot 10^{-6} \text{ моль} \cdot \text{с}^{-1}$ ; площадь поверхности листа  $s = 50 \cdot 10^{-4} \text{ м}^2$ ; 1 — первый член подкоренного выражения (51); 2 — второй член подкоренного выражения (51); 3 — третий член подкоренного выражения (51)

уравнения ведут себя по-разному. В графическом виде зависимость членов подкоренного выражения уравнения (51) показана на рис. 6.

Из графиков следует, что вклад третьего члена незначителен, и суммарная стандартная неопределенность результата измерения скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$  определяется первым и вторым членами. Зависимость первого члена от разности концентраций описывается параболой, второй член не зависит от разности концентраций; как следует из уравнения (51), оба члена будут уменьшаться с увеличением площади поверхности растительного образца и увеличиваться с увеличением молярного расхода. Выявленные особенности изменения компонент определяют характер поведения суммарной стандартной неопределенности и, соответственно, расширенной стандартной неопределенности результата измерения скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$ . При рекомендованном в [6] молярном расходе газовой смеси  $v_i = 500 \cdot 10^{-6} \text{ моль} \cdot \text{с}^{-1}$  и площади поверхности листа  $s = 50 \cdot 10^{-4} \text{ м}^2$  зависимость расширенной стандартной неопределенности результата измерения скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$  от величины скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$  имеет вид, показанный на рис. 7.

Характерной особенностью расширенной стандартной неопределенности результата измерения скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$  является то, что она



**Рис. 7.** Зависимость расширенной стандартной неопределенности результата измерения скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$  от величины скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$ . Молярный расход газовой смеси  $v_i = 500 \cdot 10^{-6} \text{ моль} \cdot \text{с}^{-1}$ ; площадь поверхности листа  $s = 50 \cdot 10^{-4} \text{ м}^2$

не обращается в ноль при нулевой разности концентраций (или при  $a = 0$ ).

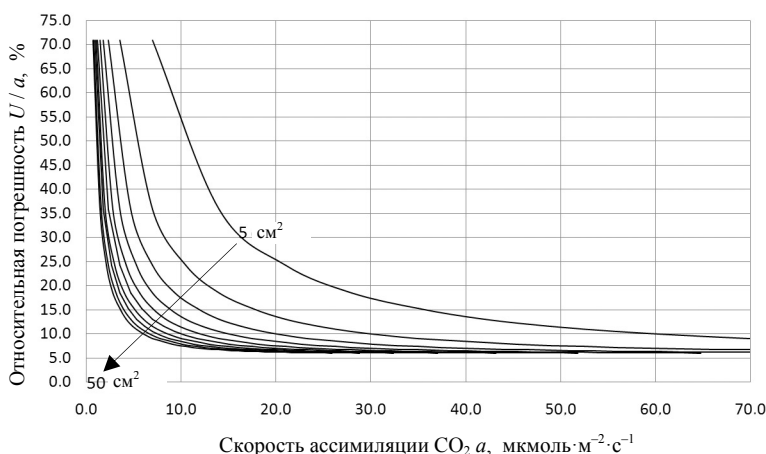
Относительная погрешность характеризует качество измерений более наглядно на рис. 8, 9, где представлены графики зависимости относительной погрешности результата измерений  $a$  от величины скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$  при различных значениях площади листа и скорости прокачки.

Как показано на графиках (рис. 8, 9), относительная погрешность результата измерения интенсивности ассимиляции  $\text{CO}_2$  минимальна при больших значениях скорости ассимиляции (в области больших значений разности концентраций) и растет обратно пропорционально  $a$ , изменяясь по закону гиперболы при уменьшении скорости ассимиляции. При значениях скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$ , близких к нулю (в области малых значений разности концентраций), относительная погрешность достигает максимума.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

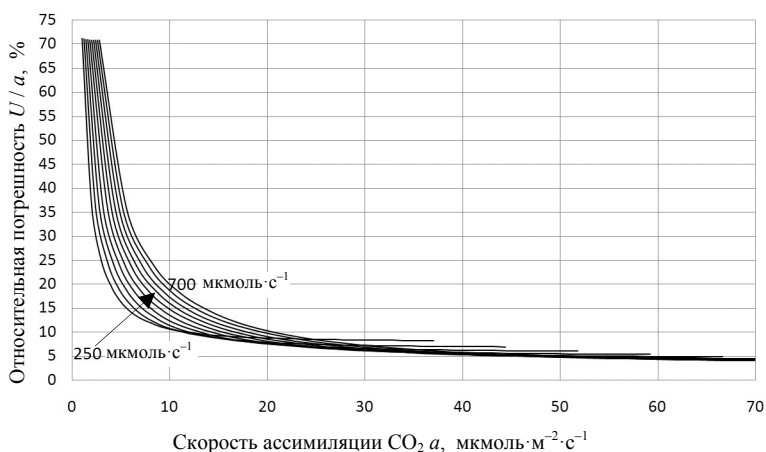
Подводя итог, можно отметить следующие основные моменты.

Второй член в правой части уравнения (12) является искусственной систематической ошибкой, порождаемой неверными предпосылками



**Рис. 8.** Зависимость относительной погрешности результата измерения скорости ассимиляции CO<sub>2</sub> от величины скорости ассимиляции CO<sub>2</sub> при изменении площади поверхности листа.

Молярный расход газовой смеси  $v_i = 350 \cdot 10^{-6}$  моль·с<sup>-1</sup>; площадь поверхности листа  $s$  изменяется от  $5 \cdot 10^{-4}$  м<sup>2</sup> до  $50 \cdot 10^{-4}$  м<sup>2</sup> по закону арифметической прогрессии с шагом  $5 \cdot 10^{-4}$  м<sup>2</sup>.



**Рис. 9.** Зависимость относительной погрешности результата измерения скорости ассимиляции CO<sub>2</sub> от величины скорости ассимиляции CO<sub>2</sub> при изменении молярного расхода смеси газов.

Площадь поверхности листа  $s$  равна  $25 \cdot 10^{-4}$  м<sup>2</sup>; молярный расход газовой смеси  $v_i$  изменяется от  $250 \cdot 10^{-6}$  моль·с<sup>-1</sup> до  $700 \cdot 10^{-6}$  моль·с<sup>-1</sup> по закону арифметической прогрессии с шагом  $50 \cdot 10^{-4}$  моль·с<sup>-1</sup>.

при составлении системы балансных уравнений. Исправленное уравнение для оценки скорости ассимиляции имеет вид (41). Вывод уравнения (41) основан на ряде предположений, которые приводят к появлению методологической ошибки и оказывают влияние на точность измерения скорости ассимиляции.

Как следует из (51), суммарная стандартная неопределенность результата измерения скорости ассимиляции CO<sub>2</sub> зависит от ошибки измерения слагаемых, входящих в данное уравнение. Однако абсолютная погрешность всех величин, входящих в (51), кроме площади поверхности растительного образца, постоянна и приводится в технической документации. Площадь поверхности растительного образца определяется исследователем, и погрешность ее оценки зависит от применяемых методов. Следовательно, абсолютная погрешность результата измерения площади поверхности растительного образца является одним из источников варибельности суммарной стандартной неопределенности результата измерения скорости ассимиляции CO<sub>2</sub>.

Другие значимые источники варибельности — это скорость прокачки газовой смеси и размер площади поверхности растительного образца, значения которых задаются или выбираются исследователем. При увеличении площади фотосинтезирующей поверхности растительного образца относительная погрешность результата измерения скорости ассимиляции CO<sub>2</sub> уменьшается (рис. 8). Увеличение скорости прокачки приводит к возрастанию относительной погрешности в области малых значений скорости ассимиляции и уменьшению относительной погрешности в области больших значений (рис. 9).

Максимальная скорость ассимиляции CO<sub>2</sub> у растений варьирует в широких пределах и может достигать  $70$  мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup> [21]. Таким образом, диапазон значений скорости ассимиляции CO<sub>2</sub> изменяется от 0 до  $70$  мкмоль·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>. Согласно полученным результатам, каждому значению ассимиляции будет соответствовать своя погрешность: в области максимальных значений она будет асимптотически приближаться к 5% и возрастет при малых значениях до 100 и более процентов.

Как указывается в [1], относительная погрешность в 10% и более соответствует грубым измерениям, относительная погрешность в 1 или 2% характеризует точные измерения. Фактически уже при значениях скорости ассимиляции, меньшей  $10 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ , относительная погрешность превышает значение погрешности, которое может считаться приемлемым в научных целях.

Таким образом, открытые системы газообмена на основе инфракрасных газоанализаторов могут обеспечить приемлемую относительную погрешность результата измерения скорости ассимиляции  $\text{CO}_2$  только в области больших значений параметра. Это является отличительной особенностью открытых систем газообмена и обусловлено методикой оценки скорости ассимиляции.

Еще одним значимым результатом проведенного исследования является выявленное отсутствие выделения газообразного  $\text{CO}_2$  растением в результате респираторных процессов на свету. По крайней мере для пихты сибирской данный факт имеет экспериментальное подтверждение, выражающееся в особенностях зависимости мольной доли  $\text{CO}_2$  от времени в аналитической камере измерительной системы.

*Работа выполнена в рамках темы НИР "Зональные закономерности динамики структуры и продуктивности первичных и антропогенно измененных фитоценозов лесных и болотных экосистем европейского Северо-Востока России" (122040100031-8).*

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Taylor J. An Introduction to Error Analysis. 2nd ed. University Science Books, Sausalito, CA, 1997. 327 p.
2. Rabinovich S.G. Evaluating Measurement Accuracy: A Practical Approach. Springer, 2017. 328 p. DOI: 10.1007/978-3-319-60125-0
3. Зайдель А.Н. Элементарные оценки ошибок измерения. Л.: "Наука", Ленинградское отделение, 1967. 88 с.
4. Long S.P., Bernacchi C.J. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error // Journal of Experimental Botany. 2003. Vol. 54, no. 392. P. 2393–2401. DOI: 10.1093/jxb/erg262
5. JCGM 100:2008. Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement. 2010. 120 p.
6. Using the LI-6400. Portable photosynthesis system. OPEN Software version 5.1. 1998–2003, LI-COR Inc. URL: <https://sites.middlebury.edu/biol323/files/2011/01/6400MAN.pdf>
7. CIRAS-2 Portable Photosynthesis System. Operator's Manual. Version 2.03. PP Systems Inc., 2007. URL: <https://www.manualslib.com/manual/1425117/PP-Systems-Ciras-2.html>
8. von Caemmerer S., Farquhar G.D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves // Planta. 1981. No. 153. P. 376–387. DOI: 10.1007/BF00384257
9. Graham D. Effects of light on "dark" respiration // Biochemistry of plants. New York: Academic Press, 1980. Vol. 2. 525–579 p. URL: <http://hdl.handle.net/102.100.100/294477?index=1>
10. Long S.P., Farage P.K., Garcia R.L. Measurement of leaf and canopy photosynthetic  $\text{CO}_2$  exchange in the field // Journal of Experimental Botany. 1996. Vol. 47, no. 304. P. 1629–1642. DOI: 10.1093/jxb/47.11.1629
11. Cunningham R.E., Williams R.J.J. Diffusion in gases and porous media. New York: Plenum Press, 1980. 287 p. DOI: 10.1007/978-1-4757-4983-0
12. Mikleš J., Fikar M. Process Modelling, Identification, and Control. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2007. 480 p.
13. Bird R.B., Stewart W.E., Lightfoot E.N. Transport phenomena. 2nd ed. 2002. 898 p. URL: <https://nitsri.ac.in/Department/Chemical%20Engineering/TP2.pdf>
14. Slattery J.C. Advanced transport phenomena. Cambridge: University Press, 1999. 709 p. Slattery J.C. Advanced transport phenomena. Cambridge: University Press, 1999. 709 p. DOI: 10.1017/CBO9780511800238
15. Benenson W., Harris J.W., Stocker H., Lu H. Handbook of physics. 2001. 1190 p. DOI: 10.1007/0-387-21632-4
16. Weiss I., Mizrahi Y., Raveh E. Chamber response time: a neglected issue in gas exchange measurements // Photosynthetica. 2009. Vol. 47, no. 1. P. 121–124. DOI: 10.1007/s11099-009-0018-3
17. LI-COR: Interfacing custom chambers to the LI-6400 sensor head. LI-6400 Application note 3. LI-COR, Lincoln, 2003. URL: [https://www.esalq.usp.br/lepse/imgs/conteudo\\_tumb/Interfacing-Custom-Chambers-to-the-LI-6400-Sensor-Head.pdf](https://www.esalq.usp.br/lepse/imgs/conteudo_tumb/Interfacing-Custom-Chambers-to-the-LI-6400-Sensor-Head.pdf)
18. LCI. Portable Photosynthesis System. Instruction manual. ADC BioScientific Ltd, Hoddesdon, Herts, 2004. URL: <https://studylib.net/doc/18839284/lci-portable-photosynthesis-system-instruction-manual>
19. LI-6400. Portable Photosynthesis System. Specifications. URL: <https://www.licor.com/env/products/photosynthesis/LI-6400XT/specs.html>
20. LI-COR. URL: <https://www.licor.com/>
21. Larcher W. Physiological plant ecology. Springer, New York, Berlin and Heidelberg, 1995. 506 p. DOI: 10.1007/978-3-642-87851-0

**Институт биологии Коми научного центра  
Уральского отделения РАН, г. Сыктывкар, Россия**

Контакты: Герлинг Наталья Владимировна,  
gerling@ib.komisc.ru

Материал поступил в редакцию 03.06.2022



## MEASUREMENT OF CO<sub>2</sub> AND H<sub>2</sub>O FLOWS BETWEEN MEDIUM AND PLANTS BY INFRARED GAS ANALYZER BASED ON OPEN GAS EXCHANGE SYSTEM TAKING INTO ACCOUNT INSTRUMENTAL ERROR

S. I. Tarasov, N. V. Gerling

*Institute of Biology of the Komi Scientific Center Ural Branch of the RAS, Syktyvkar, Russia*

Currently, the study of gas exchange in leaves and even entire plants is not difficult. Measurement of gas exchange parameters is, as a rule, carried out using infrared gas analyzers integrated with open gas exchange systems. The measured parameter values are used to evaluate and calculate the physiological processes of interest to the investigator, such as, for example, the rate of absorption of carbon dioxide by the plant during photosynthesis or the rate of release of water vapors during transpiration. In the scientific literature on plant physiology, the error of the result of measuring physiological parameters is given without taking into account the instrumental error, the contribution of which to the total error can be significant, since the physiological parameters of interest to the researcher are mostly indirectly measurable values. This work is devoted to the study of the influence of the error of measuring the parameters of gas exchange of plants obtained using open gas exchange systems on the error of the estimated physiological parameters. The work analyzes equations that are used to estimate the rate of absorption of carbon dioxide and the release of water vapors based on the gas exchange parameters of the plant and are actually standard for open gas exchange systems; issues related to the release of carbon dioxide from the plant in the form of gas during respiratory processes in the light are also considered. An evaluation of instrumental error of carbon dioxide absorption rate measurement during photosynthesis for open gas exchange systems is given.

*Keywords:* open gas exchange systems, infrared gas analyzer, instrument error, carbon dioxide absorption rate, mass balance equation

### INTRODUCTION

The quantitative description of phenomena is based on measurements; the results of any measurements contain errors [1, 2]. Neglecting errors or their incorrect assessment can lead to conclusions and recommendations that do not correspond to the results obtained. Therefore, it is extremely important to be able to calculate these errors and minimize them.

The necessary components of any measurement are the method of measurement and the means of measurement; In addition, measurements often involve human subjects. The contribution to the measurement error is determined by the imperfection of each measurement component [2]. In general, the measurement error can be expressed as

$$\zeta = \zeta_m + \zeta_d + \zeta_p, \quad (1)$$

where  $\zeta$  is measurement error,  $\zeta_m$  is methodological error,  $\zeta_d$  is instrumental error,  $\zeta_p$  is personal error.

Each component of measurement error, in turn, can be caused by several factors. Instrumental measurement errors are caused by the imperfection of measuring instruments.

The need to know the instrumental error is dictated by the following considerations. Firstly, measuring instruments can be used for their intended purpose only when their metrological properties are known. Secondly, the instrumental error, as an inseparable part of the measurement result error, plays a major role not only in single measurements. In the case of repeated measurements, it is advisable to choose the number of measurements so that the random error of the measurement result is less than the instrumental error in order for the latter to again determine the final error of the result [3].

A researcher, who uses measuring instruments in his scientific practice, can evaluate the instrumental error using the nominal metrological characteristics of the measuring instrument, which are given in the technical documentation.

For complex measuring systems that simultaneously measure several parameters, the final measurement result is usually the result of indirect measurements. In the technical documentation of such devices, metrological characteristics are given only for the components of the measuring system. In such a situation, the researcher himself is forced to evaluate the error of the measurement result. Such measuring systems include infrared gas analyzers (IRGA) based on open

gas exchange systems. The most famous and popular systems include such portable photosynthesis measurement systems as LI-6400, Li-Cor (Lincoln, Nebraska, USA); CIRAS-2, PPSystems (Hitchin, UK); LCA4, ADC-Biosciences (Hoddesdon, UK) [4].

The purpose of this study is to obtain an estimate of the instrumental error of the measurement result of the carbon dioxide assimilation rate using an infrared gas analyzer based on an open system of gas exchange.

## THE RATIONALE OF THE METHOD

### About the estimation of uncertainty in measurements

Terms and methodology recommended in [5], hereinafter referred to as Guidance, were used to estimate the error of the assimilation rate measurement result in order to provide a common basis for comparing measurement results, as well as to use a universal method for expressing and estimating measurement uncertainty, applicable to all types of measurements and data that are used in measurements.

Let us briefly outline the main points of the Guidance that are directly related to this work.

The measurement result is only valuable when its uncertainty interval, i.e. degree of reliability, can be estimated. Therefore, any measurement result must be accompanied by an indication of its error. In a narrow sense, "measurement uncertainty is a parameter associated with the measurement result that characterizes the spread of values that could reasonably be attributed to the measurand" [5].

The Guidance uses *standard uncertainty, combined uncertainty and expanded uncertainty* as this parameter. Estimates of the listed uncertainties are obtained on the basis of a number of experimental data (*uncertainty estimates of type A*) and on the basis of additional, including expert, information (*uncertainty estimates of type B*). A statistical approach is applied to the description of uncertainties, regardless of the method of their estimation (it is assumed that all corrections for systematic errors (effects) have already been introduced). The expanded uncertainty is usually taken as the measurement uncertainty, and for the intermediate values, on the basis of which the measurement result is obtained, the standard uncertainties are calculated.

In the case of indirect measurements, the true value of the measured quantity  $Y$  is associated with the true values of the arguments  $X_i$  ( $i = 1, \dots, N$ ) by the known function  $f$ . In general form, this ratio can be written as a *measurement equation*:

$$Y = f(X_1, \dots, X_N). \quad (2)$$

This function expresses not just a physical law, but a measurement process, and includes all values that

contribute to the assessment of the uncertainty of the measurement result [5].

The estimate of the measured value  $Y$  is denoted by  $y$  and is the result of substituting the values  $x_1, x_2, \dots, x_N$  into the measurement equation. These values are the estimates of the input values  $X_1, X_2, \dots, X_N$ . The measurement result is written as

$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_N). \quad (3)$$

The combined standard uncertainty of the measurement result  $y$  is denoted by  $u_c(y)$  and for independent  $x_1, x_2, \dots, x_N$  is calculated according to

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N \left( \frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 u^2(x_i), \quad (4)$$

where the partial derivatives (sensitivity coefficients)

$\frac{\partial f}{\partial x_i}$  are equal to  $\frac{\partial f}{\partial X_i}$  at the point  $X_i = x_i$ ,  $u(x_i)$  is the

type A or B estimated standard uncertainty  $x_i$ . Equation (4) is based on the first-order Taylor approximation of  $Y = f(X_1, \dots, X_N)$  and is called *the law of propagation of uncertainty*.

The combined variance  $u_c^2(y)$  can be thought of as the sum of the terms, each of which represents the estimated variance associated with an output estimate  $y$ , caused by the estimated variance associated with each input estimate  $x_i$ . Then equation (4) can be written in the general form as

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N [\beta_i u(x_i)]^2 \equiv \sum_{i=1}^N u_i^2(y), \quad (5)$$

where  $\beta_i \equiv \frac{\partial f}{\partial x_i}$ ,  $u_i(y) \equiv \beta_i u(x_i)$ .

### Estimates of type A and B uncertainties

Traditionally, the error is considered as the sum of random and systematic components. The uncertainty of a measurement result generally consists of several components, which can be grouped into two categories according to the method by which their numerical value is estimated. According to the Guidance, uncertainties that are estimated by statistical methods are of type A, while uncertainties that are estimated by other means are of type B. Accordingly, equation (5) can be written as

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N u_{A,i}^2(y) + \sum_{i=1}^N u_{B,i}^2(y), \quad (6)$$

where  $u_{A,i}(y)$  is the type A standard uncertainty of  $y$ ,  $u_{B,i}(y)$  is the type B standard uncertainty of  $y$ . If the type A standard uncertainty  $y$  is not available in a single measurement or when the type A estimate is

based on a small number of statistically independent observations, then

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N u_{B,i}^2(y) \quad (7)$$

and, correspondingly,

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left( \frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2} u_B^2(x_i). \quad (8)$$

If an estimate of  $x_i$  is taken from a manufacturer's specification, verification certificate, reference book, or other source, and its uncertainty is given as some multiple of the standard deviation, then the standard uncertainty  $u_B(x_i)$  can be taken to be the specified value divided by a factor.

In many cases, information on how the uncertainty was obtained is not available in the documentation. In such cases, the Guidance proposes to use the following approach to determine the standard uncertainty: assume that the normal distribution was used to calculate the combined uncertainty, and estimate the standard uncertainty  $x_i$ , by dividing the uncertainty given in the documentation by the appropriate factor for a normal distribution.

It is preferable to use 90, 95 or 99% confidence levels and their respective coefficients: 1.64, 1.96 and 2.5. In practice, when assessing the standard uncertainties of input values, two options were considered, corresponding to 95 and 99% confidence levels.

#### Evaluation of the measurement result

The expanded uncertainty of the result of measuring the value  $Y$ , according to [5], is expressed as

$$U(y) = k u_c(y), \quad (9)$$

where  $u_c(y)$  is the combined standard uncertainty of the measurement of  $Y$ ,  $k$  is the coverage factor.

According to the Guidance, for a normal probability distribution characterizing  $y$  and  $u_c(y)$ , and a significant number of effective degrees of freedom, taking  $k = 2$  gives an interval with a confidence level of 95.45%. Taking this into account, from a practical point of view, we can assume that at a confidence level of 95%

$$U(y) = 2u_c(y). \quad (10)$$

Accordingly, the expanded uncertainty of the result of measuring the rate of carbon dioxide assimilation was estimated according to equation (10).

According to the general rules for evaluating and expressing measurement uncertainty, the measurement result is presented in the form

$$Y = y \pm U, \quad (11)$$

where  $y$  is an estimate of the measured value  $Y$ ,  $U$  is the expanded uncertainty of the result of measuring the value  $Y$ .

### DERIVATION OF A FORMULA FOR ESTIMATING CARBON DIOXIDE ASSIMILATION AND TRANSPIRATION RATES

#### Critical analysis of existing formulas

The derivation of formulas for estimating the rate of carbon dioxide assimilation and the rate of transpiration, given in manuals for portable systems for measuring photosynthesis [6, 7], can be found in general form in [6, 8].

The CO<sub>2</sub> assimilation rate is an indirectly measured value in an infrared gas analyzer (IRGA) and is calculated by the formula [6]:

$$A = \frac{F(C_r - C_s)}{100S} - C_s E, \quad (12)$$

where  $A$  is CO<sub>2</sub> net assimilation rate,  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ;  $C_r$  is the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the IRGA reference chamber ( $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ );  $C_s$  is the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the IRGA sample chamber ( $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ );  $F$  is the molar flow rate of air entering the sample chamber ( $\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$ );  $S$  is the surface area of the leaf ( $\text{cm}^2$ );  $E$  is the rate of transpiration ( $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ). Here and below in equations (13–16.2) the notations of physical values given in [6, 8] are used.

The validity of the  $-C_s E$  term in equation (12) raises questions, so before going over to estimate the error in the result of measuring the rate of CO<sub>2</sub> assimilation, let us analyze the derivation of this equation.

For open measuring systems such as the LI-6400, the molar balance of water vapor is given by the equation:

$$sE = u_o w_o - u_i w_i, \quad (13)$$

where  $s$  is the leaf surface area, ( $\text{m}^2$ );  $E$  is the rate of transpiration per unit of leaf area, ( $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ );  $u_i$ ,  $u_o$  are the molar flows of air entering and leaving the chamber, ( $\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$ );  $w_i$ ,  $w_o$  are the molar fractions of water vapor in the incoming and outgoing air flows, ( $\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$ ), respectively.

Equation (13) in this form is given in [8], namely: as equation (B1) in Appendix 2 on p. 384; and in the same form is given in [6] as equation (1-1) on p. 1-7. Note that, in accordance with [6], the basic units of physical quantities are used in equation (13) and further in contrast to equation (12). Further in [8, Appendix 2, p. 384] equation (B3) is given as:

$$u_o = u_i + (u_o w_o - u_i w_i). \quad (13.1)$$

Therefore, taking (13) into account, the following equation takes place:

$$u_o = u_i + sE. \quad (14)$$

Equation (14) is given in this form in [6] on p. 1-7 as equation (1-2). Equation (14) can be rewritten as:

$$sE = u_o - u_i. \quad (15)$$

A comparison of (13) and (15) shows that equation (13) clearly contradicts equation (15). The equation follows from (13) and (15)

$$u_o - u_i = u_o w_o - u_i w_i, \quad (16)$$

turning into an identity only if  $w_o = w_i = 1$ , which is inconsistent with the meaning of the measurement problem.

The inconsistency of the equations is a consequence of the incorrect writing of the balance equation (13.1) [8], which should include the term  $sa = u_i c_i - u_o c_o$ , because equation (13.1) is essentially a gas mixture balance equation and should be written as:

$$u_o = u_i + (u_o w_o - u_i w_i) + (u_i c_i - u_o c_o), \quad (16.1)$$

or

$$u_o = u_i + sE + sa, \quad (16.2)$$

where  $a$  is the rate of  $\text{CO}_2$  assimilation ( $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ );  $c_i$  is the molar fraction of  $\text{CO}_2$  in the IRGA reference chamber ( $\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ );  $c_o$  is the molar fraction of  $\text{CO}_2$  in the IRGA sample chamber ( $\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ );  $s$  is the surface area of the leaf ( $\text{m}^2$ ). Note that the equation  $sa = u_i c_i - u_o c_o$  is the  $\text{CO}_2$  molar balance equation.

Erroneous assumptions (equation (13.1)) lead to the appearance of the  $-C_s E$  term in equation (12), as well as the factor  $1/(1 - w_o)$  in the equation for estimating the rate of transpiration. From a practical point of view, the presence of this term in the equation leads to a shift in the measured values of the  $\text{CO}_2$  assimilation rate and, accordingly, the appearance of negative  $\text{CO}_2$  assimilation rates when the plant is in the light. The presence of this term in the equation also leads to an ambiguous assessment of the contribution to the rate of  $\text{CO}_2$  assimilation due to photorespiration and dark respiration in the light [9], which makes the determination of the light compensation point problematic.

#### Derivation of equations for exchange rates

Consider the derivation of an equation for estimating the rate of  $\text{CO}_2$  assimilation, taking into account the identified inconsistencies.

The elements of any open gas exchange system IRGA that provide measurement of the gas flow rate, are a reference chamber, a sample chamber, an analytical chamber, two independent emitters, two independent receivers of infrared emission, and a source of photosynthetically active emission (Fig. 1) [10].

**Fig. 1.** Schematic physical model of the measuring system (IRGA).

1 — reference chamber; 2 — sample chamber; 3 — analytical chamber; IRS — sources of infrared emission; IRD — infrared emission detectors; PAR — a source of photosynthetically active radiation. The dotted line marks the control volume

A mixture of gases (dry air, carbon dioxide and water vapor) moves at a certain speed, causing the flow of a mixture of gases through each chamber of the measuring system.

Note that the exchange of oxygen between the plant sample and the environment is not considered in [8], we also do not take into account oxygen when deriving balance equations, the rationale for this will be given below.

The reference and analytical chambers have equal cross-sectional areas. The molar flow rate of the inlet flow of the gas mixture into the reference chamber is equal to the molar flow rate of the inlet flow of the gas mixture into the sample chamber and is equal to  $u_i$ . The molar flow rate of the outflow of the gas mixture from the sample chamber is equal to the molar flow rate of the inlet flow of the gas mixture into the analytical chamber and is equal to  $u_o$ .

A plant leaf in the sample chamber, when irradiated with photosynthetically active radiation (PAR), simultaneously absorbs carbon dioxide and releases water vapor, which leads to the occurrence of diffuse flows of these gases and changes in the concentrations of these gases in the sample chamber and the analytical chamber. If the surface area of the leaf is  $s$  and the molar flow velocity of  $\text{CO}_2$  absorbed by the leaf is  $a$ , then the molar rate of  $\text{CO}_2$  due to photosynthesis is  $sa$ . Accordingly, if the molar flow velocity of  $\text{H}_2\text{O}$  vapor emitted by a leaf is  $E$ , then the molar rate of water vapor due to transpiration is  $sE$ . Under given external conditions, the flow rates are constant.

The estimate of the carbon dioxide absorption rate  $a$  by a plant object (or the estimate of the water vapor release rate  $E$ ) is the result of an indirect measurement and is calculated by estimates of the molar fractions of gases in the mixture in the reference and analytical chambers.

Physical values measured during the measurement experiment (system parameters):  $u_i$  is the molar rate of the gas mixture passing through the reference chamber and entering the chamber with the sample;  $c_i$ ,  $w_i$  are the molar fractions of carbon dioxide and water vapor, respectively, in the gas mixture flow passing through the reference chamber and entering the chamber with the sample;  $u_o$  is the molar rate of the gas mixture leaving the chamber with the sample and entering the analytical chamber;  $c_o$ ,  $w_o$  are the molar fractions of carbon dioxide and water vapor, respectively, in the gas mixture flow leaving the chamber

with the sample and passing through the analytical chamber.

Physical values to be evaluated (process parameters):  $a$  is the molar flow rate of carbon dioxide being absorbed in the process of photosynthesis by a leaf with a surface area equal to  $s$ ;  $E$  is the rate of the molar flow of water vapor being evaporated during transpiration by a leaf having a surface area equal to  $s$ .

For further presentation, we change the designation of physical units used in [6, 8] to the standard (generally accepted) form [11] for further presentation and introduce additional notation. The components of the mixture will be denoted by numbers: 1 — carbon dioxide, 2 — water vapor, 3 — air, respectively, the index  $j$  ( $j = 1, 2, 3$ ) denotes belonging to the  $j$ -th component of the gas mixture; the index  $i$  denotes values entering the system, index  $o$  — values leaving the system, index  $l$  is the values associated with plant object. The molar fraction will be denoted by  $x$ , then  $c_i \equiv x_{1i}$ ,  $c_o \equiv x_{1o}$ ,  $w_i \equiv x_{2i}$ ,  $w_o \equiv x_{2o}$ . The molar flow rate will be denoted by the symbol  $Q$ , then  $u_i \equiv Q_{\Sigma i}$ ,  $u_o \equiv Q_{\Sigma o}$ .

In order for the measured values of physical quantities to have informational meaning, the molar fractions of the gas mixture components in the chambers must be determined at the time when the measuring system is in a stationary state. The time limits of the measurement process are set by the interval, the beginning of which coincides with the moment when the mixture of gases in the chambers comes to a stationary state (the concentration of gases in the chambers stops changing), the end of which coincides with the moment when the concentration of gases in the chambers begins to change as a result of changes in external conditions [6].

When modeling gas exchange between the external environment and a plant sample, it is assumed that the leaf surface is impermeable to air. Accounting for gas exchange through the cuticle (release and absorption of carbon dioxide and water vapor) occurs implicitly and manifests itself in a change in the rates of assimilation and transpiration. However, no air flow into the sample chamber from the leaf (and from the sample chamber to the leaf) occurs during photosynthesis and transpiration; the molar volume concentration of dry air in the sample chamber does not change. Note that when deriving equations for estimating the rate of assimilation and the rate of transpiration, the issue of cuticular exchange is not raised in [6, 8]. On the contrary, the molar fraction of air changes because the molar concentrations of carbon dioxide and water vapor change due to the flow of the mixture of gases through the stomata (and cuticle). A detailed consideration of the diffusion of gases in the presence of impermeable surfaces can be found in [11]. In a situation where one of the structural elements of the system has selective properties, it is more convenient to model gas exchange not as the inlet (or outlet) of the

gas in the system, but as gas exchange of the system with the external environment through a selective membrane of a certain area. Then the plant sample placed in chamber 2 (Fig. 1) can be considered as a selective membrane with area  $s$ , which ensures the transport of water vapor into the system and carbon dioxide from the system.

Using a qualitative description of the process of measuring the rate of gas flow absorbed (released) by a plant sample and a physical model of the measuring system, we constructed a theoretical model that describes gas exchange in the measuring system (Fig. 2). In the context of the problem of measuring the rate of absorption of carbon dioxide (release of water vapor), as the system (control volume of the system), we mean the volume of the gas mixture enclosed in the reference, analytical and sample chambers, i.e. that part of the measuring system, the parameters of which determine the estimate of the desired value. The cross-sectional areas through which the inlet and outlet flows of the gas mixture enter the control volume are assumed to be equal.

**Fig. 2.** Model of gas exchange in the measuring system.  
1 — control volume; 2 — inlet; 3 — outlet; 4 — selective membrane

The variables  $Q_{\Sigma i}$ ,  $Q_{\Sigma o}$ ,  $x_{1i}$ ,  $x_{1o}$ ,  $x_{2i}$ ,  $x_{2o}$ ,  $x_{3i}$ ,  $x_{3o}$ , expressing the quantitative behavior of the gas exchange process, are state variables. Changes in state variables are set by state balance equations [12].

In general, the mass balance equation for an open system of volume  $V$  has the following form [13]:

$$\sum_j \frac{dm_j}{dt} = \sum_j \dot{m}_{j_i} - \sum_j \dot{m}_{j_o} \pm \sum_j \dot{m}_{j_l}, \quad (17)$$

where  $dm/dt$  is the change in the mass of the  $j$ -th component in the system,  $\dot{m}_{j_i}$  is the intensity of the mass flow of the  $j$ -th component entering the system;  $\dot{m}_{j_o}$  is the intensity of the mass flow of the  $j$ -th component leaving the system;  $\dot{m}_{j_l}$  is the intensity of production (loss) of the mass of the  $j$ -th component in system.

The mass balance equation for the  $j$ -th component of the gas mixture for an open system can be written as:

$$\frac{dm_j}{dt} = \dot{m}_{j_i} - \dot{m}_{j_o} \pm \dot{m}_{j_l}, \quad (18)$$

where  $\dot{m}_{j_l}$  is positive when mass is added to the system and negative when mass is removed from the system.

Since, according to the measurement conditions,

the system is in a stationary state, then  $dm_j/dt = 0$  and hence

$$\dot{m}_{j_i} - \dot{m}_{j_o} \pm \dot{m}_j = 0. \quad (19)$$

The intensity of the  $j$ -th component' input (output) mass flow can be defined as  $\dot{m}_j = \rho_j \sigma_j v_j$ , where  $\rho$  is density of the  $j$ -th component of the gas mixture,  $v_j$  is the velocity of the  $j$ -th component of the gas mixture relative to the fixed frame of reference,  $\sigma_j$  is the cross-sectional area of the flow of the  $j$ -th component of the gas mixture (since the areas of the inlet and outlet sections of the system are equal for all components of the gas mixture, then further  $\sigma_j \equiv \sigma$ ) [14]. The simulation of the intensity of production (or loss) of the  $j$ -th component of the gas mixture in the system by the mass flow of the  $j$ -th component through a selective membrane with area  $s$  gives  $\dot{m}_{j_i} = \rho_j s v_{j_i}$ . Equation (19) can then be written as:

$$\rho_j v_{j_i} \sigma - \rho_j v_{j_o} \sigma \pm \rho_j v_{j_i} s = 0. \quad (20)$$

Equation (20) can be transformed into the following equation

$$c_{j_i} v_{j_i} \sigma - c_{j_o} v_{j_o} \sigma \pm c_{j_i} v_{j_i} s = 0, \quad (21)$$

where  $c_j \equiv \rho_j / M_j$  is the molar density of the  $j$ -th component of the gas mixture,  $M_j$  is the molecular weight of the  $j$ -th component of the gas mixture [14]. The substitution  $H_j = c_j v_j$ , where  $H_j$  is the molar flow velocity of the  $j$ -th component of the gas mixture, gives

$$H_{j_i} \sigma - H_{j_o} \sigma \pm H_{j_i} s = 0, \quad (22)$$

or

$$Q_{j_i} - Q_{j_o} \pm H_{j_i} s = 0, \quad (23)$$

where  $Q_j = H_j \sigma$  is the molar rate of the  $j$ -th component.

When modeling metabolic processes in multicomponent mixtures, some simplifying assumptions are made. A multicomponent body is defined as a collection whose elements are mass-average material particles. The mass-average (average molar) material particle of a multicomponent mixture ( $N$  component) is an artificial particle that moves at the mass-average velocity of the mixture  $v \equiv \sum_{j=1}^N \omega_j v_j$  or the average molar rate of the mixture  $v^* \equiv \sum_{j=1}^N x_j v_j$  [14]. Then  $H_j = c_j v^*$ , or, taking into account  $x_j = c_j / c$ , where  $c$  is the molar density of the gas mixture, we obtain  $H_j = x_j c v^* = x_j H_\Sigma$ , where  $H_\Sigma = \sum_{j=1}^N H_j = c v^*$  is the sum of the molar flows of all components [14]. Multiplying the left and right parts of the expression by  $\sigma$ , we

obtain the expression for the molar rate of the  $j$ -th component  $Q_j = x_j Q_\Sigma$ .

Taking into account the above, the equation for the preservation of the molar balance of the  $j$ -th component is to be written as:

$$x_{j_i} Q_{\Sigma i} - x_{j_o} Q_{\Sigma o} \pm H_{j_i} s = 0. \quad (24)$$

Having written the molar balance equation for each component of the mixture, we obtain a system of equations describing the change in the mass of the substance in the system:

$$\begin{cases} x_{1_i} Q_{\Sigma i} - x_{1_o} Q_{\Sigma o} - H_{1_i} s = 0, \\ x_{2_i} Q_{\Sigma i} - x_{2_o} Q_{\Sigma o} - H_{2_i} s = 0, \\ x_{3_i} Q_{\Sigma i} - x_{3_o} Q_{\Sigma o} = 0. \end{cases} \quad (25)$$

Summing up these equations, we obtain the equation for the molar balance of a mixture of gases:

$$Q_{\Sigma i} - Q_{\Sigma o} - H_{1_i} s + H_{2_i} s = 0. \quad (26)$$

The value  $Q_{\Sigma i}$  is known and set by the researcher, the values  $x_{1_i}$ ,  $x_{1_o}$ ,  $x_{2_i}$  и  $x_{2_o}$  are measured during the experiment. The unknown quantity is  $Q_{\Sigma o}$ , which can be estimated based on the molar balance equation for air.

The molar fraction of air in the mixture of gases entering chamber 1 and leaving chamber 1 is not estimated during the measurement process, however, since the sum of the molar fractions of all gases in the mixture is, by definition, equal to 1, the molar fractions  $x_{3_i}$  and  $x_{3_o}$  can be determined based on the following equations:

$$x_{3_i} = 1 - x_{1_i} - x_{2_i}, \quad (27)$$

$$x_{3_o} = 1 - x_{1_o} - x_{2_o}. \quad (28)$$

Then, taking (25) into account, we have

$$Q_{\Sigma o} = \frac{x_{3_i}}{x_{3_o}} Q_{\Sigma i} = \frac{1 - x_{1_i} - x_{2_i}}{1 - x_{1_o} - x_{2_o}} Q_{\Sigma i}. \quad (29)$$

Let us estimate the ratio  $x_{3_i}/x_{3_o}$ , using the typical values of the molar fractions of the gas mixture encountered in the measurement experiment. The typical partial pressure of water vapor  $p_2$  in the analytical chamber is from 20 up to 30 mbar; thus, at a total pressure  $P$  of 1 bar, the typical molar fraction of water vapor in a mixture of gases in the analytical chamber is  $x_{2_o} = p_2/P$  from  $20 \cdot 10^{-3}$  to  $30 \cdot 10^{-3}$  mol·mol<sup>-1</sup> [8].

The typical CO<sub>2</sub> molar fractions:  $x_{1_i} = 370 \cdot 10^{-6}$  mol·mol<sup>-1</sup>,  $x_{1_o} = 0$ – $370 \cdot 10^{-6}$  mol·mol<sup>-1</sup>. Let  $x_{1_o} = 0$  mol·mol<sup>-1</sup> and  $x_{2_i} = 0$  mol·mol<sup>-1</sup>.

Value substitution gives

$$\frac{1 - x_{1i} - x_{2i}}{1 - x_{1o} - x_{2o}} = \frac{1 - 370 \cdot 10^{-6} - 0}{1 - 0 - 30 \cdot 10^{-3}} = \frac{1.0}{0.97} = 1.03,$$

i.e. the molar fractions of air in the reference and analytical chambers differ by 3%. Practically, under real conditions, the difference between  $x_{2i}$  and  $x_{2o}$  ranges from  $2 \cdot 10^{-3}$  to  $5 \cdot 10^{-3}$  mol·mol<sup>-1</sup>, which gives a value of 1.005 (0.5%).

Taking the obtained estimates  $x_{3i}/x_{3o}$  into account we can write

$$Q_{\Sigma o} \approx Q_{\Sigma i}. \quad (30)$$

The same result can be justified in another way. The movement of the flow of a mixture of gases and its rate are due to the pressure drop at the inlet to the system and at the outlet from it. The pressure at the outlet of the system is equal to atmospheric pressure, the inlet pressure is created by the compressor, which is part of the device, and exceeds atmospheric pressure. During the measurement experiment, the pressure generated by the compressor is constant and is set by the researcher choosing the rate of the inlet flow of the gas mixture. Atmospheric pressure, at least during the experiment, is also constant. Consequently, the pressure difference, which causes the movement of a mixture of gases, is also constant. Changes in the partial pressures of the gases included in the mixture are negligible compared to atmospheric pressure and compressor pressure and may be ignored. The areas of the inlet and outlet sections of the gas mixture flow are equal and located at the same level. Then the equality of the molar flow rates at the input into the system and at the exit from the system follows from the Bernoulli equation for the stationary motion of an ideal fluid [15]. Or even simpler: a flow meter installed at the outlet of the system will show exactly the same molar flow rate as at the inlet to the system, since the molar flow rate in the flow meter is estimated based on the average density of the gas mixture.

Substituting (30) into (25) we get

$$H_{11} = \frac{Q_{\Sigma i} (x_{1i} - x_{1o})}{s}, \quad (31)$$

or in the notation adopted in [6, 8],

$$a = \frac{u_i (c_i - c_o)}{s}. \quad (32)$$

Also, substituting (30) into (25) we get

$$H_{21} = \frac{Q_{\Sigma i} (x_{2o} - x_{2i})}{s} \quad (33)$$

or

$$E = \frac{u_i (w_o - w_i)}{s}. \quad (34)$$

Estimating (12) and taking into account the following expressions [6]:

$$u_i = F / 10^6, \quad (35)$$

$$w_i = W_r / 10^3, \quad (36)$$

$$w_o = W_s / 10^3, \quad (37)$$

$$c_i = C_r / 10^3, \quad (38)$$

$$c_o = C_s / 10^3, \quad (39)$$

$$s = S / 10^4, \quad (40)$$

Equations (32) and (34) for the LI-6400 portable photosynthesis measurement system (in Guidance notations) are converted to equations

$$A = \frac{F(C_r - C_s)}{100 \cdot S} \quad (41)$$

and

$$E = \frac{F(W_s - W_r)}{100 \cdot S}. \quad (42)$$

The values  $F$ ,  $C_r$ ,  $C_s$ ,  $W_r$ ,  $W_s$  and  $S$  are estimated in the process of measurement; substituting them into equations (41) and (42) we obtain the desired values of the assimilation rate and transpiration rates.

#### RELEASE OF CARBON DIOXIDE AND ABSORPTION OF OXYGEN BY THE PLANT IN THE LIGHT. THEORY AND EXPERIMENT

Since the release of carbon dioxide and the absorption of oxygen by a plant in the light have a direct impact on the system of balance equations describing mass transfer in open gas exchange systems, we will present the arguments on the basis of which the system of equations was formed.

When deriving Eq. (41), we, as in [8], assumed that the input (relative to the system) flow of carbon dioxide from a plant sample due to photorespiration and dark respiration in the light [9], was absent and did not take into account the flow of oxygen consumed by the plant sample.

The absence of carbon dioxide emission during breathing into the sample chamber in the light can be argued as follows. In order for the flow of carbon dioxide into the system from a plant sample to be possible, at least two assumptions must be made: 1) carbon dioxide in the substomatal chamber is at two different concentrations; 2) since, at any intensity of photosynthetically active radiation (PAR), a constant CO<sub>2</sub> flux is assumed due to respiratory processes in the light,

and the CO<sub>2</sub> concentration in the sample chamber varies depending on the PAR value, then the plant must somehow "measure" the concentration of CO<sub>2</sub> in the chamber in order to control and regulate the intensity of the output CO<sub>2</sub> flow. The first postulate contradicts the phenomenon of diffusion; this contradiction can be resolved by separating the input and output CO<sub>2</sub> flows in space or time (for example, consider that photosynthesis and respiration are carried out through different stomata). However, such a hypothetical division is in clear contradiction with plant physiology, as well as the second postulate, which assumes that a plant has an organ that measures the concentration of carbon dioxide in the external environment. Therefore, it remains to be recognized that during photosynthesis, the release of CO<sub>2</sub> into the environment, caused by respiratory processes in the light, does not occur in the form of a gas.

Regarding the flow of oxygen, the following can be said. IRGA does not measure the molar fraction of oxygen in the sample chamber, so nothing can be said about the oxygen flow based on the instrument readings. In [8], oxygen is not included in the system of balance equations, because [8, Appendix 2, p. 384] states: "the absorption of CO<sub>2</sub> in the chamber is balanced by the flow of oxygen." However, if there is an oxygen flow due to respiratory processes in the light, then the system of balance equations (25) should be supplemented by the oxygen molar balance equation

$$x_{4i}Q_{\Sigma i} - x_{4o}Q_{\Sigma o} - H_{4i}s = 0, \quad (43)$$

where index 4 corresponds to oxygen (respectively, index  $j$  varies from 1 to 4);  $H_{4i}$  is the oxygen molar flow velocity.

But in this case, there are 4 equations and 6 unknowns, i.e. the system of equations has no solution. In addition, the molar fractions  $x_4$  and  $x_{4o}$  cannot be determined without additional measurements. The way out of the situation is either to refuse considering the oxygen flow (see [8]), or to assume that  $x_{4i}$  and  $x_{4o}$  do not change relation (30) or change insignificantly. Only in this case the system has a solution.

On the other hand, the presence or absence of a flow of carbon dioxide into the sample chamber should be reflected in the readings of the measuring system. Let us examine the light curve obtained for a shoot of Siberian fir (*Abies sibirica* Ledeb.) in its second year of life at an air temperature of 18 °C, a molar fraction of CO<sub>2</sub> in the inlet gas mixture of 400 μmol·mol<sup>-1</sup> and a change in PAR from 0 to 45 μmol quanta · m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> and vice versa to 0 μmol quanta · m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> with variable step of 5 μmol quanta · m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>. The plant object was kept in the dark prior to PAR irradiation. The required CO<sub>2</sub> content in the incoming gas mixture was supplied from a cylinder with liquid CO<sub>2</sub> and a type 6400-01 mixer. The measurement was carried out using a LI-6400XT portable photosynthe-

sis measurement system and a 6400-22 opaque chamber for conifer.

Fig. 3 shows graphs of the change in the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the inlet and outlet flows of the gas analyzer as a function of time and PAR. Note that, in general, the shape of the curves is strongly affected by the instability of the molar fraction in the inlet flow.

**Fig. 3.** Dependence of CO<sub>2</sub> molar fraction of in the inlet and outlet flows of the gas analyzer on time and PAR.

1 — the mole fraction of CO<sub>2</sub> in the reference chamber; 2 — the mole fraction of CO<sub>2</sub> in the analytical chamber; 3 — PAR intensity

Consider a fragment of the graph in Fig. 3 marked with a circle (Fig. 4).

In Fig. 4 points, making up curve 1, are the values of the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the outlet gas mixture flow obtained during the experiment with a change in the PAR, points, making up curve 2, are the values of the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the inlet flow of the gas mixture. Note that all curves are exponential (see, for example, [16, 17]).

**Fig. 4.** A fragment of the dependence of CO<sub>2</sub> molar fraction in the inlet and outlet flows of the gas mixture on time when the PAR changes from 0 to 15 μmol quanta · m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>.

1 — experimental CO<sub>2</sub> molar fraction values in the analytical chamber; 2 — experimental CO<sub>2</sub> molar fraction values in the reference chamber; 3 — theoretical CO<sub>2</sub> molar fraction values in the analytical chamber; 4 — theoretical CO<sub>2</sub> molar fraction values in the analytical chamber, due to dark respiration; 5 — theoretical values of the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the analytical chamber, due to photosynthesis

Curve 1 is well approximated by curve 3 (average approximation error is 0.008), which is the result of a superposition of two independent processes occurring in the analytical chamber: 1) the process of reducing the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the outlet gas flow from the value corresponding to breathing in the dark to the value of the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the inlet flow (curve 4) and 2) the process of changing the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the outflow, due to photosynthetic activity of the plant sample (curve 5). Obviously, the simultaneous development of these processes leads to a shift in the values of the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the outlet flow at low PAR values.

As a result, the mole fraction of CO<sub>2</sub> in the outflow exceeds the value of the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the inlet gas flow, which in practice manifests itself as negative values of the assimilation rate in the presence of PAR.



If we follow the hypothesis of the release of gaseous CO<sub>2</sub> from a plant sample during dark respiration in the light, then a third process should be added — an increase in the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the output flow from the reference value of the molar fraction of CO<sub>2</sub> to the value of the molar fraction of CO<sub>2</sub> corresponding to dark respiration in the light (curve 6, Fig. 5).

Curve 3 in Fig. 5, which is the result of a superposition of the above three processes, does not match the experimental values. This gives grounds to assert that respiratory processes in the light do not lead to the release of CO<sub>2</sub> into the atmosphere.

In addition to justifying the refusal to consider gas flows caused by the release of carbon dioxide and the absorption of oxygen by the plant as a result of respiratory processes in the light, the analysis carried out allows us to draw a conclusion about the so-called "point of light compensation". In our opinion, the point of light compensation is an artifact caused, firstly, by an incorrect calculation equation for the assimilation rate (see equation (12)); secondly, by the inertia of the measuring system, which manifests itself in the impossibility of an instant return to the initial (reference) state of the ratio of gases in the gas mixture in the analytical chamber during the transition from darkness to light; and thirdly, by the calibration error of zero in the measuring system makes its contribution.

**Fig. 5.** Fragment of the dependence of the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the inlet and outlet flows of the gas mixture on time when the PAR changes from 0 to 15 μmol quanta · m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, taking into account the release of gaseous CO<sub>2</sub> as a result of dark respiration in the light.

1 — experimental values for the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the outlet flow; 2 — experimental values for the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the inlet flow; 3 — theoretical values for the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the outlet flow; 4 — theoretical values for the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the outlet flow, due to dark respiration; 5 — theoretical values for the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the outlet flow due to photosynthesis; 6 — theoretical values for the molar fraction of CO<sub>2</sub> in the outlet flow, due to respiration in the light

#### EVALUATION OF UNCERTAINTY OF THE RESULTS OF THE MEASUREMENT OF NET CARBON DIOXIDE ASSIMILATION RATE

The assessment of the uncertainty of the result of measuring the net assimilation rate of carbon dioxide was carried out using a portable photosynthesis measurement system LI-6400, however, all of the follow-

ing applies to other photosynthesis measurement systems with open gas exchange.

[6, pp. 16-58] presents a method for reducing the error in measuring the difference in CO<sub>2</sub> concentrations to a 2%. However, the technique is illusory, since, in fact, it indicates what the net assimilation rate of carbon dioxide, the inlet air flow rate, and the leaf surface area should be in order for the concentration difference in the reference chamber and the sample chamber to be 10 ppm.

To assess the uncertainty of the result of measuring the net assimilation rate of carbon dioxide, we used the technique summarized in the section RATIONALE OF THE METHOD.

As shown above, in the new edition, the rate of net assimilation of carbon dioxide is determined according to expression (41):  $A = \frac{F(C_r - C_s)}{100 \cdot S}$ .

The corresponding measurement equation has the form:

$$A = f(F, C_r, C_s, S). \quad (44)$$

The use of derived units of physical quantities is not very practical, it is more convenient when in equations (41, 44) the main units of measurement are used, therefore, instead of (41, 44), we will consider the equations:

$$a = \frac{u_i(c_i - c_o)}{s} \quad (45)$$

and

$$a = f(u_i, c_i, c_o, s). \quad (46)$$

To avoid misunderstandings, we denote the molar flow rate of the gas mixture  $u_i$  as  $v_i$  ( $u_i \equiv v_i$ ), then equation (45) will be written as

$$a = \frac{v_i(c_i - c_o)}{s}. \quad (47)$$

According to the above methodology, the combined standard uncertainty of the measurement result  $a$  was estimated in accordance with equation (8):

$$u_c(a) = \left( \left( \frac{\partial f}{\partial v_i} \right)^2 u^2(v_i) + \left( \frac{\partial f}{\partial c_i} \right)^2 u^2(c_i) + \left( \frac{\partial f}{\partial c_o} \right)^2 u^2(c_o) + \left( \frac{\partial f}{\partial s} \right)^2 u^2(s) \right)^{1/2}, \quad (48)$$

where the sensitivity coefficients have the form:

$$\frac{\partial f}{\partial v_i} = \frac{(c_i - c_o)}{s}, \quad \frac{\partial f}{\partial c_i} = \frac{v_i}{s}, \quad \frac{\partial f}{\partial c_o} = -\frac{v_i}{s},$$

$$\frac{\partial f}{\partial s} = \frac{v_i \cdot (c_i - c_o)}{s^2}.$$

The coefficients are obtained by differentiating the function (47). Substituting the sensitivity coefficients explicitly into expression (48), we obtain:

$$u_c(a) = \left( \left[ \frac{(c_i - c_o)}{s} \right]^2 u^2(v_i) + \left[ \frac{v_i}{s} \right]^2 u^2(c_i) + \left[ -\frac{v_i}{s} \right]^2 u^2(c_o) + \left[ \frac{v_i \cdot (c_i - c_o)}{s^2} \right]^2 u^2(s) \right)^{1/2}. \quad (49)$$

Taking  $u^2(c_i) = u^2(c_o)$  into account, we obtain:

$$u_c(a) = \left( \left[ \frac{(c_i - c_o)}{s} \right]^2 \cdot u^2(v_i) + 2 \cdot \left[ \frac{v_i}{s} \right]^2 \cdot u^2(c_i) + \left[ \frac{v_i \cdot (c_i - c_o)}{s^2} \right]^2 \cdot u^2(s) \right)^{1/2}. \quad (50)$$

Accordingly, the expanded standard uncertainty of the measurement result  $a$ , according to (10), is equal to:

$$U(a) = 2u_c(a) =$$

$$= 2 \cdot \left( \left[ \frac{(c_i - c_o)}{s} \right]^2 \cdot u^2(v_i) + 2 \cdot \left[ \frac{v_i}{s} \right]^2 \cdot u^2(c_i) + \left[ \frac{v_i \cdot (c_i - c_o)}{s^2} \right]^2 \cdot u^2(s) \right)^{1/2}. \quad (51)$$

#### EVALUATION OF EXTENDED STANDARD UNCERTAINTY OF THE CARBON DIOXIDE ASSIMILATION RATE MEASUREMENT RESULT

From a practical point of view, the quantitative characteristics of the extended standard uncertainty of the measurement result are of interest; to obtain them, we estimate the values  $u^2(v_i)$ ,  $u^2(c_i)$  and  $u^2(s)$ .

If the estimate  $x_i$  is taken from a manufacturer's specification, verification certificate, reference book or other source and its uncertainty is given as some multiple of the standard deviation, then the standard uncertainty  $u(x_i)$  can be taken equal to the indicated value divided by a factor [5]. Unless otherwise stated, it can be assumed that a normal distribution has been used to calculate the said uncertainty, and the standard uncertainty for  $x_i$  is obtained by dividing the given uncertainty by the appropriate factor for the normal distribution. The coefficients corresponding to the above three confidence levels are as follows: 1.64;

1.96 and 2.58. In the LI-6400 documentation, the uncertainty of the values included in equation (41) is given in the form  $x_i \pm \theta(x_i)$ , while the confidence level is not specified [19]. The documentation for CI-RAS-2 [7] and LCA4 [18] does not indicate not only the confidence level, but also the uncertainty of the values included in equation (51). We will assume that the normal distribution was used to calculate the uncertainty at a confidence level of 95% (the coefficient is 1.96). Guided by [19], we find the standard uncertainties for  $v_i$ ,  $c_i$ ,  $c_o$  for the LI-6400 gas analyzer.

The absolute error in measuring the molar flow rate  $\theta(F)$  in the range of 0–750  $\mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$  is  $\pm 20 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$ , then  $u(F) = \theta(F) / 1.96 = 10.2 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$ ; respectively  $u(v_i) = 10.2 \cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{s}^{-1}$ ;  $u^2(v_i) = 104.4 \cdot 10^{-12} \text{ mol}^2\cdot\text{s}^{-2}$ . It should be noted that on the website of the company manufacturing infrared analyzers [20], the absolute error of measuring the flow rate is not given, in contrast to the absolute error of measuring other parameters.

Absolute error in measuring the molar fraction of  $\text{CO}_2$ ,  $\theta(C_r)$ ,  $\theta(C_s)$  in the range 0–1500  $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$  is equal to  $\pm 5 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ , then  $u(C_r) = \theta(C_r) / 1.96 = 2.55 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$ ; respectively  $u(c_i) = 2.55 \cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,  $u^2(c_i) = 6.5 \cdot 10^{-12} \text{ mol}^2\cdot\text{mol}^{-2}$ . Similarly,  $u(C_s) = \theta(C_s) / 1.96 = 2.55 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ ; respectively  $u(c_o) = 2.55 \cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,  $u^2(c_o) = 6.5 \cdot 10^{-12} \text{ mol}^2\cdot\text{mol}^{-2}$ .

The standard uncertainty of the results of measuring the leaf surface area  $s$  is determined by the researcher in each specific case independently. Let us set the range of change in the leaf surface area from 30  $\text{cm}^2$  to 100  $\text{cm}^2$ , bearing in mind that, as follows from (51), the smaller the area, the greater the error in measuring the assimilation rate. We accept the relative error in measuring the surface area of the leaf independent of the size of the area and equal to  $\pm 5\%$ . Then, for a leaf area of 30  $\text{cm}^2$ , the absolute error in measuring the leaf surface area  $\theta(s)$  is 1.5  $\text{cm}^2$ ,  $u(s) = \theta(s) / 1.96 = 0.77 \text{ cm}^2 = 0.77 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$ ,  $u^2(s) = 0.59 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2$ . For a leaf area of 100  $\text{cm}^2$ , the absolute error in measuring the leaf surface area  $\theta(s)$  is

5 cm<sup>2</sup>,  $u(s) = \theta(s) / 1.96 = 2.55 \text{ cm}^2 = 2.55 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$ ,  $u^2(s) = 6.5 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2$ . Accordingly, the absolute error in measuring the area of the leaf surface for a leaf of any area can be calculated.

Using the obtained estimates  $u^2(v_i)$ ,  $u^2(c_i)$  and  $u^2(s)$ , we study the behavior of the errors in the result of measuring the rate of CO<sub>2</sub> assimilation  $U(a)$  in the range of operating values of the parameters:  $v_i = (100-700) \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{s}^{-1}$ ;  $(w_o - w_i) = 0-2 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ ;  $c_i = 370 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ ;  $c_o = 0-370 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ ;  $s = (30-100) \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$ .

An analysis of equation (51) shows that when the concentration difference changes from 0 to the CO<sub>2</sub> concentration in the atmospheric air, the equation components behave differently. In graphical form, the dependence of the terms of the radical expression of equation (51) is shown in Fig. 6.

**Fig. 6.** Dependence of the components of the combined standard uncertainty of the measurement result of the CO<sub>2</sub> assimilation rate on the difference in molar fractions of CO<sub>2</sub> in the reference and analytical chambers  $\Delta C$ .

Molar flow rate of the gas mixture  $v_i = 500 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{s}^{-1}$ ; leaf surface area  $s = 50 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$ ; 1 — the first term of the radicand (51); 2 — the second term of the radicand (51); 3 — the third term of the radicand (51)

It follows from the graphs that the contribution of the third term is insignificant, and the combined standard uncertainty of the result of measuring the CO<sub>2</sub> assimilation rate is determined by the first and second terms. The dependence of the first term on the concentration difference is described by a parabola, the second term does not depend on the concentration difference; as follows from equation (51) both terms will decrease with increasing surface area of the plant sample and increase with increasing molar flow. The revealed features of the change in the components determine the behavior of the combined standard uncertainty and, accordingly, the extended standard uncertainty of the result of measuring the CO<sub>2</sub> assimilation rate. For the recommended in [6] the molar flow rate of the gas mixture  $v_i = 500 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{s}^{-1}$  and leaf surface area  $s = 50 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$  the dependence of the extended standard uncertainty of the result of measuring the CO<sub>2</sub> assimilation rate on the value of the CO<sub>2</sub> assimilation rate has the form shown in Fig. 7.

**Fig. 7.** Dependence of the expanded standard uncertainty of the measurement result of the CO<sub>2</sub> assimilation rate on the value of the CO<sub>2</sub> assimilation rate.

Molar flow rate of the gas mixture —  $v_i = 500 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{s}^{-1}$ ; leaf surface area  $s = 50 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$

A characteristic feature of the expanded standard uncertainty of the CO<sub>2</sub> assimilation rate measurement is that it does not vanish at zero concentration difference (or at  $a = 0$ ).

The relative error characterizes the quality of measurements more clearly in Figs. 8, 9, which show graphs of the dependence of the relative error of the measurement result  $a$  on the rate of CO<sub>2</sub> assimilation at various values of leaf area and pumping speed.

**Fig. 8.** Dependence of the relative error of the measurement result of the CO<sub>2</sub> assimilation rate on the value of the CO<sub>2</sub> assimilation rate in terms of a change in the leaf surface area.

Molar flow rate of the gas mixture  $v_i = 350 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{s}^{-1}$ ; leaf surface area  $s$  varies from  $5 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$  to  $50 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$  in the arithmetic progression with a step of  $5 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$

**Fig. 9.** Dependence of the relative error of the measurement result of the CO<sub>2</sub> assimilation rate on the value of the CO<sub>2</sub> assimilation rate with a change in the molar flow rate of the gas mixture.

The leaf surface area  $s$  is  $25 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2$ ; the molar flow rate of the gas mixture  $v_i$  varies from  $250 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{s}^{-1}$  to  $700 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{s}^{-1}$  in the arithmetic progression with a step of  $50 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{s}^{-1}$

As shown in the graphs (Figs. 8, 9), the relative error of the result of measuring the intensity of CO<sub>2</sub> assimilation is minimal at high values of the assimilation rate (in the region of large values of the concentration difference) and grows inversely proportional to  $a$ , changing in the hyperbolic form with a decrease in the assimilation rate. The relative error is greatest when the CO<sub>2</sub> assimilation rate is close to zero (in the region of small values of the concentration difference).

## CONCLUSION

Summing up, the following main points can be noted.

The second term on the right side of equation (12) is an artificial systematic error generated by incorrect assumptions during the compilation of a system of balance equations. The corrected equation for estimating the assimilation rate has the form (41). The derivation of equation (41) is based on a number of assumptions, which lead to the appearance of a methodological error and affect the accuracy of the assimilation rate measurement.

As follows from (51), the combined standard uncertainty of the result of measuring the rate of CO<sub>2</sub>

assimilation depends on the measurement error of the terms included in this equation. However, the absolute error of all values included in (51), except for the surface area of the plant sample, is constant and is given in the technical documentation. The surface area of a plant sample is determined by the researcher, and the error in its estimation depends on the methods used. Therefore, the absolute error of the result of measuring the surface area of a plant sample is one of the sources of variability in the combined standard uncertainty of the result of measuring the rate of CO<sub>2</sub> assimilation.

Other significant sources of variability are the pumping speed of the gas mixture and the size of the surface area of the plant sample, the values of which are set or selected by the researcher. With an increase in the area of the photosynthesizing surface of a plant sample, the relative error in the result of measuring the rate of CO<sub>2</sub> assimilation decreases (Fig. 8). An increase in the pumping speed leads to an increase in the relative error in the region of small values of the assimilation rate and a decrease in the relative error in the region of large values (Fig. 9).

The maximum CO<sub>2</sub> assimilation rate in plants varies widely and can reach 70 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> [21]. Thus, the range of CO<sub>2</sub> assimilation rates varies from 0 to 70 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>. According to the results obtained, each assimilation value corresponds to its own error: in the region of maximum values, it will asymptotically approach 5% and increase at small values up to 100 percent or more. As noted in [1], a relative error of 10% or more corresponds to rough measurements, a relative error of 1 or 2% refers to accurate measurements. In fact, even at assimilation rates lower than 10 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, the relative error exceeds the error value that can be considered acceptable for scientific purposes.

Thus, open gas exchange systems based on infrared gas analyzers can secure an acceptable relative error in the result of measuring the CO<sub>2</sub> assimilation rate only in the region of large values of the parameter. This is a distinctive feature of open gas exchange systems and is due to the method of assessing the rate of assimilation.

Another significant result of the study is the revealed absence of gaseous CO<sub>2</sub> emission by the plant as a result of respiratory processes in the light. At least for Siberian fir, this fact has experimental confirmation, expressed in the features of the dependence of the molar fraction of CO<sub>2</sub> on duration in the analytical chamber of the measuring system.

## REFERENCES

1. Taylor J.R. *An Introduction to Error Analysis*. 2nd ed. CA, University Science Books, Sausalito, 1997. 327 p.
2. Rabinovich S.G. *Evaluating Measurement Accuracy: A Practical Approach*. Springer, 2017. 328 p. DOI: 10.1007/978-3-319-60125-0
3. Zaidel' A.N. *Ehlementarnye otsenki oshibok izmereniya* [Elementary estimates of measurement errors]. Leningrad: Nauka Publ., 1967. 88 p. (In Russ.).
4. Long S.P., Bernacchi C.J. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany*, 2003, vol. 54, no. 392, pp. 2393–2401. DOI: 10.1093/jxb/erg262
5. JCGM 100:2008. *Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement*. 2010. 120 p. URL: [https://www.bipm.org/documents/20126/2071204/JCGM\\_100\\_2008\\_E.pdf/cb0ef43f-baa5-11cf-3f85-4dcd86f77bd6](https://www.bipm.org/documents/20126/2071204/JCGM_100_2008_E.pdf/cb0ef43f-baa5-11cf-3f85-4dcd86f77bd6)
6. LI-COR, Inc. *Using the LI-6400. Portable photosynthesis system. OPEN Software version 5.1. 1998–2003*. 846 p. URL: <https://sites.middlebury.edu/biol323/files/2011/01/6400MAN.pdf>
7. PP Systems, Inc. *CIRAS-2 Portable Photosynthesis System. Operator's Manual. Version 2.03*. 2007. URL: <https://www.manualslib.com/manual/1425117/Pp-Systems-Ciras-2.html>
8. von Caemmerer S., Farquhar G.D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta*, 1981, no. 153, pp. 376–387. DOI: 10.1007/BF00384257
9. Graham D. Effects of light on "dark" respiration. *Biochemistry of plants*, New York, Academic Press, 1980, vol. 2, pp. 525–579. URL: <http://hdl.handle.net/102.100.100/294477?index=1>
10. Long S.P., Farage P.K., Garcia R.L. Measurement of leaf and canopy photosynthetic CO<sub>2</sub> exchange in the field. *Journal of Experimental Botany*, 1996, vol. 47, no. 304, pp. 1629–1642. DOI: 10.1093/jxb/47.11.1629
11. Cunningham R.E., Williams R.J.J. *Diffusion in gases and porous media*. New York, Plenum Press, 1980. 287 p. DOI: 10.1007/978-1-4757-4983-0
12. Mikleš J., Fikar M. *Process Modelling, Identification, and Control*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2007. 480 p.
13. Bird R.B., Stewart W.E., Lightfoot E.N. *Transport phenomena*. 2nd ed. New York, John Wiley & Sons, 2002. 898 p. URL: <https://nitsri.ac.in/Department/Chemical%20Engineering/TP2.pdf>
14. Slattery J.C. *Advanced transport phenomena*. Cambridge, University Press, 1999. 709 p. DOI: 10.1017/CBO9780511800238
15. Benenson W., Harris J.W., Stocker H., Lu H. *Handbook of physics*. New York, Springer, 2001. 1190 p. DOI: 10.1007/0-387-21632-4
16. Weiss I., Mizrahi Y., Raveh E. Chamber response time: a neglected issue in gas exchange measurements. *Photosynthetica*, 2009, vol. 47, no. 1, pp. 121–124. DOI: 10.1007/s11099-009-0018-3
17. LI-COR: *Interfacing custom chambers to the LI-6400 sensor head. LI-6400 Application note 3*. LI-COR, Lincoln, 2003. URL:

- [https://www.esalq.usp.br/lepse/imgs/conteudo\\_thumb/Interfacing-Custom-Chambers-to-the-LI-6400-Sensor-Head.pdf](https://www.esalq.usp.br/lepse/imgs/conteudo_thumb/Interfacing-Custom-Chambers-to-the-LI-6400-Sensor-Head.pdf)
18. *LCi. Portable Photosynthesis System. Instruction manual.* ADC BioScientific Ltd, Hoddesdon, Herts, 2004. 58 p. URL: <https://studylib.net/doc/18839284/lci-portable-photosynthesis-system-instruction-manual>
  19. LI-COR, Inc. *LI-6400. Portable Photosynthesis System. Specifications.* URL: <https://www.licor.com/env/products/photosynthesis/LI-6400XT/specs.html>
  20. *LI-COR.* URL: <https://www.licor.com/>
  21. Larcher W. *Physiological plant ecology.* New York: Springer, Berlin and Heidelberg, 1995. 506 p. DOI: 10.1007/978-3-642-87851-0

Contacts: Gerling Natal'ya Vladimirovna,  
[gerling@ib.komisc.ru](mailto:gerling@ib.komisc.ru)

Article received by the editorial office on 03.06.2022