

ANALISADOR DE GASES (CO₂) POR ESPECTROSCOPIA INFRAVERMELHA PARA MONITORAMENTO "IN VIVO" E "IN SITU" DA FOTOSÍNTESE

Luciano Gonçalves de Oliveira

Aluno do Instituto Tecnológico de Aeronáutica- Bolsa PIBIC /CNPq
Orientador: Dr.Marcos Dias da Silva,Tecnologista Sênior,LAS/INPE

O monitoramento da fotossíntese¹, baseado nas medidas de consumo de CO₂, é de fundamental importância para os fisiologistas e geneticistas de vegetais. É a partir do estudo da atividade fotossintética em resposta à absorção de nutrientes e poluentes, intensidade luminosa e condições do ar e temperatura que novas variedades, fertilizantes e pesticidas são avaliados. Neste trabalho, apresentamos um sistema compacto para medidas do consumo de CO₂ durante a fotossíntese. O analisador² de CO₂ se baseia na absorção do infravermelho (4,26 μ m) e consiste de uma fonte de radiação infravermelha, um modulador mecânico de feixe luminoso (chopper), uma câmara de gás de referência e uma câmara ativa, onde circula a mistura Ar + CO₂, a ser consumida pela folha vegetal em estudo durante a fotossíntese. Ambas as câmaras são seladas por janelas ópticas de safira. A câmara ativa tem um orifício em sua parte superior, o qual é selado pela folha vegetal em estudo. A radiação infravermelha que atravessa a câmara de gás é detectada por sensores de radiação após passar por filtros de interferência no comprimento de onda de absorção do CO₂ (4,26 μ m). Dessa maneira, durante a fotossíntese, a quantidade de CO₂ consumida da câmara ativa é medida pela variação na absorção da radiação infravermelha. Neste tipo de aplicação, os valores das potências de radiação envolvidas são da ordem de dezenas de μ W, na faixa de 1 a 1000 vpm de CO₂ no ar, em câmaras medindo alguns centímetros de comprimento. Os detetores de radiação infra-vermelha, fotocondutivos (PbSe) ou piroelétricos (PVDF; de nossa fabricação), possuem NEP (noise equivalent power) menor que 10^{-8} W/Hz^{1/2}, o que implica numa resolução melhor que 2% para uma frequência de modulação da ordem de 100 Hz. Considerando que se deseja medir variações de 1 vpm de CO₂ no ar, utilizando-se a lei de Beer², pode-se estimar o comprimento da câmara em 1,14 cm. Finalmente, considerando que um vegetal, em condições ambientes normais de iluminação e temperatura, consome tipicamente cerca de 1 mm³ de CO₂ por minuto e por cm² de folha no processo de fotossíntese, e que a concentração padrão de CO₂ no ar é 342 vpm, resulta que, para uma câmara com uma abertura de 1 cm² e um volume de 1 cm³, o fluxo necessário para suprir o CO₂ consumido da câmara é de 3cm³ de ar por minuto, à pressão ambiente. Esses parâmetros mostram a viabilidade de um sistema compacto para monitoramento "in vivo" e "in situ" da fotossíntese.

BIBLIOGRAFIA:

1. E.D.Bickford, S.Dunn; "Lighting for Plant Growth" (The Kent State University Press, 1972)
2. D.N.Kendall, Ed.; "Applied Infrared Spectroscopy" (Reinhold Publishing Corporation, New York, 1966)

PIBIC / CNPq

Analizador de Gases (CO₂) por
Espectroscopia
Infravermelha
para Monitoramento “in vivo”
e “in situ” da Fotossíntese

Relatório Final

1996
LAS/INPE

PIBIC/CNPq

Analizador de Gases (CO₂) por Espectroscopia
Infravermelha para Monitoramento “in vivo” e
“in situ” da Fotossíntese

Relatório Final

Bolsista : Luciano Gonçalves de Oliveira

Aluno de Graduação em Engenharia Mecânica-Aeronáutica
do Instituto Tecnológico de Aeronáutica

Orientador : Dr. Marcos Dias da Silva

Tecnologista Sênior do Laboratório Associado de
Sensores e Materiais do Instituto Nacional de Pesquisas
Espaciais

Laboratório Associado de Sensores e Materiais
Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
São José dos Campos / SP

Julho de 1996

Sumário

(1) Introdução.....	4
(2) Aspectos Teóricos.....	5
(2.1) A Fotossíntese.....	6
(2.2) Modos de Vibração do CO ₂	16
(2.3) A Lei de Beer.....	20
(3) Projeto.....	25
(3.1) Especificação.....	25
(3.2) Consecução.....	27
(4) Resultados Experimentais.....	29
(4.1) Os Experimentos Iniciais.....	29
(4.2) Calibração.....	30
(4.3) Teste da Fotossíntese "In Vivo".....	32
(4.4) Teste de Aquecimento.....	34
(5) Comentários e Considerações Finais.....	36
(6) Referências Bibliográficas.....	38
(7) Apêndices.....	40

(1) Introdução

Nesta pesquisa, pretende-se construir e calibrar um aparelho que seja capaz de realizar medidas simultaneamente "in situ" e "in vivo" da evolução da concentração de CO₂ durante a realização da fotossíntese em uma planta.

O aparelho, um analisador de CO₂, funciona por absorção de radiação infravermelha na faixa de 4,26µm. Compõe-se basicamente de uma fonte de radiação infravermelha e um par de detetores, instalados após duas câmaras de gases: uma câmara de referência, onde circula ar atmosférico padrão e outra câmara onde circula o ar em contato com a planta, que sofre uma diminuição da concentração de CO₂, devido à absorção no processo da fotossíntese, o que resultará num aumento do sinal do detetor, já que a absorção da radiação durante o caminho óptico será menor. Um chopper e um fotoacoplador são instalados para modulação do sinal e controle da frequência, visando a eliminação de sinais espúrios que possam eventualmente ser captados pelos detetores. O sinal do detetor da câmara ativa é normalizado pelo sinal de referência, e é então analisado; possibilitando, mediante conexão com um microcomputador, que se levante a curva característica da fotossíntese.

O monitoramento da fotossíntese, baseado nas medidas de consumo de CO₂, é de fundamental importância para os fisiologistas e geneticistas de vegetais. É a partir do estudo da atividade fotossintética em resposta à absorção de nutrientes e poluentes, à intensidade luminosa e às condições do ar e temperatura que novas variedades, fertilizantes e pesticidas são avaliados.

No presente relatório, será discutido inicialmente o embasamento teórico necessário à consecução do projeto. A seguir, passamos ao projeto propriamente dito e às conclusões experimentais obtidas. Algumas medições e gráficos realizados com o protótipo do aparelho encontram-se documentadas no item "Resultados Experimentais". Finalizando, temos alguns apêndices que podem auxiliar na compreensão do trabalho.

(2) Aspectos Teóricos

Na consecução deste trabalho, vários conceitos novos foram envolvidos, o que fez com que alguma bibliografia tivesse de ser consultada. Alguns temas mais importantes foram selecionados para fazer parte deste relatório e constam nos itens 2.1, 2.2 e 2.3, que estão apresentados a seguir e que propiciam um maior entendimento do tipo de trabalho que tem sido desenvolvido. A seguir, serão discutidos alguns tópicos de teoria relevantes para o projeto.

Primeiramente, foi necessário um embasamento teórico sobre a natureza e as propriedades da radiação infravermelha, o que pôde ser feito durante o segundo semestre de 1995 com os cursos regulares da graduação no ITA (óptica, ondas, eletromagnetismo e eletricidade) e com a literatura auxiliar indicada pelo professor orientador. Alguns livros especialmente sobre técnicas e métodos envolvidos no desenvolvimento de dispositivos a infravermelho foram importantes, por darem um tratamento mais direcionado ao tema em questão e oferecerem um aprofundamento teórico sobre o assunto. Alguns manuais e catálogos também foram bastante consultados.

Outro conhecimento necessário foi o funcionamento dos detetores de infravermelho, essenciais para o funcionamento do aparelho. Alguns artigos e especificações técnicas foram relevantes na análise do assunto. Além disso, conhecimentos de análise de sinais modulados, a absorção dos gases segundo um espectro de comprimentos de onda característico e técnicas de medida em bancada foram bastante importantes na familiarização com o trabalho.

Complementando o trabalho de pesquisa bibliográfica, foi pesquisado também como se processa a fotossíntese nos vegetais. Esse conhecimento é importante à medida que o analisador de gases proposto servirá para monitorar a fotossíntese de vegetais que estejam sendo pesquisados, possibilitando a obtenção de dados úteis na especificação de variedades vegetais, solos e climas propícios, técnicas de plantio e adubagem, etc. O estudo dessas técnicas ambientais vem sendo desenvolvido com sucesso no INPE e este trabalho vem somar ainda mais uma tecnologia às outras já disponíveis.

(2.1) A Fotossíntese

As plantas respondem à luz de várias maneiras. A luz pode causar ou regular a fotossíntese, a síntese de clorofila, a formação dos cloroplastos, a síntese de antocianina, a germinação e formação das sementes, o crescimento do vegetal, a floração, o fototropismo, a viscosidade protoplasmática, o fotoperiodismo e modificações ao relógio biológico. Um processo primário inicia os vários efeitos da luz nesses sistemas : uma molécula específica absorve a luz, provendo energia suficiente para iniciar e alterar a taxa de reações químicas. Na fotossíntese, essa molécula é a clorofila, o pigmento verde das plantas. A energia luminosa absorvida pela clorofila causa fosforização, i.e., a união de um radical fosfato com um composto orgânico. Essa energia adquirida da luz solar é usada então para quebrar as fortes ligações entre o oxigênio e outros elementos. Os átomos de oxigênio se reagrupam então em pares, formando o gás oxigênio (O₂). Compostos como açúcares são finalmente sintetizados a partir do dióxido de carbono e água, suas matérias-primas.

A fotossíntese é um importantíssimo processo químico. É ela que supre a planta com compostos e energia para o crescimento. Os principais produtos da fotossíntese são a glicose (hexose), um açúcar de seis carbonos, e o oxigênio. A equação que explica a síntese desses produtos a partir de suas matérias-primas pode ser escrita como segue abaixo :



Essa reação geral é acompanhada de um armazenamento de energia igual ao conseguido no processo inverso, a respiração, quando o carboidrato é oxidado. Deve-se notar que a equação como dada acima é simplificada e não é estritamente correta, já que todo O₂ produzido na fotossíntese vem da água. Para mostrar isso, a equação tem de ser como segue:



Entretanto, para propósitos sumários, a versão simplificada explica perfeitamente o processo.

Dois detalhes dessa equação são dignos de ênfase : Primeiro, a equação expressa meramente uma troca de ligações em notação química, não dando qualquer noção das etapas intermediárias da reação, que são muitas, bem como são muitos os mecanismos complexos que tornam possível o processo.

Segundo, enquanto muitas etapas do processo são bastante conhecidas, existem outras que fogem ao nosso conhecimento. O detalhamento dessas etapas e processos é objeto de estudo no campo da Biologia e Fisiologia vegetal.

Existem vários métodos diferentes para demonstrar qualitativamente a ocorrência da fotossíntese e para medir quantitativamente a taxa ou intensidade em que ela ocorre. A maior parte desses métodos são baseados em alguma parte da equação dada acima; i.e., o uso ou desaparecimento de CO_2 , a evolução de O_2 e a produção de carboidratos. Teoricamente, a água usada nessa reação poderia ser medida, mas isso não é conveniente em procedimentos ordinários porque as reações ocorrem em meio aquoso. Instruções para a maioria desses métodos podem ser encontradas em muitos manuais de laboratório e livros-texto para fisiologia vegetal e bioquímica¹. Para esse trabalho serão de interesse os métodos baseados no consumo de CO_2 e produção de O_2 . Alguns métodos utilizados são:

(i) Métodos baseados na evolução de O_2

1. Método da contagem das bolhas. Bolhas de O_2 são produzidas na água por uma planta aquática como a *Elodea (Egeria densa)* sob condições apropriadas. Essas bolhas podem ser contadas e uma taxa determinada.

2. Teste de Winkler para o oxigênio, também com uma planta aquática sob a água. 3. Método da corrente contínua. A planta é

¹ Vide Bibliografia.

colocada em uma câmara transparente de gases e a corrente de gases que entra ou sai é testada ou analisada. Esse método também pode ser usado para medidas de gás carbônico.

4. Métodos manométricos comuns, que medem a pressão parcial de um gás.

5. Métodos polarográficos.

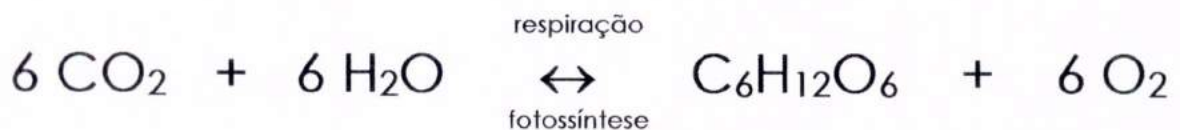
(ii) Métodos baseados no consumo de CO₂

1. Mudança de pH (CO₂ usado) da água que circunda a planta aquática.

2. Método da corrente contínua para troca de gases, como mencionado acima.

3. Absorção de infravermelho. Utiliza-se o fato de o CO₂ absorver radiação infravermelha para medir variações em sua concentração.

Usualmente se assume que a equação geral para a fotossíntese e respiração é :



Com isso, há uma complicação comum a todos esse métodos, que é a influência da respiração. Sabe-se que a respiração é contínua em todas as células vivas, apesar de ela não se processar rápido o suficiente para consumir mais que uma fração do carboidrato armazenado na fotossíntese sob condições normais. A quantidade aparente de fotossíntese é alguma coisa menor do que a quantidade real e, para determinar a última, é necessário corrigi-la com a respiração. Isto é feito determinando-se o CO₂ produzido ou o O₂ consumido pela planta no escuro sob condições ambientais idênticas àquelas em que se processou a fotossíntese. Obviamente, há sempre a possibilidade de uma outra fonte de erro na utilização dos assimilados na formação de proteínas, gorduras ou outros.

Outro fator a ser considerado na correção dos níveis de fotossíntese é a fotorrespiração. É muito provável que quando a fotossíntese e a respiração ocorrem simultaneamente, elas compartilhem compostos intermediários em comum, especialmente nas células primitivas, onde os cloroplastos e a mitocôndria são fracamente distinguidas. A interação entre os dois processos foi comprovada com o uso de técnicas de espectrometria de massa, usando-se isótopos estáveis de oxigênio e carbono, por Brown e Weis (1959), que mostraram que, em células de algas, a luz fez decrescer a evolução de CO_2 devido à respiração. O consumo de O_2 sob a luz não foi afetado com baixa intensidade luminosa, mas foi alterado com altas intensidades.

Com baixa intensidade luminosa, a taxa de fotossíntese pode se igualar à taxa de respiração em um organismo fotossintético. Isto produz uma condição em que a taxa fotossintética aparente é zero. Sob essas circunstâncias, o volume de CO_2 sendo produzido na respiração é exatamente igual àquele consumido na fotossíntese, ocorrendo o oposto com relação ao O_2 . Quando tais condições existem, isto é chamado "ponto de compensação". Este ponto é usado no trabalho experimental como uma correção para a respiração e um ponto inicial para determinar o efeito dos fatores ambientais na fotossíntese. Esses fatores, a saber, são :

(i) Luz - As plantas reagem diferentemente à intensidade luminosa e ao comprimento de onda da luz incidente. Em geral, aumentando-se a intensidade luminosa, aumenta-se a atividade fotossintética, até atingir-se um patamar em que um acréscimo na intensidade não tem mais um efeito mensurável na fotossíntese. O efeito dos diferentes comprimentos de onda é um pouco mais complicado e só pode ser compreendido através do estudo dos gráficos de absorção de CO_2 .

(ii) Temperatura - As taxas de respiração e atividade fotossintética variam com a temperatura. Dentro de uma certa faixa de temperaturas própria ao habitat em que a planta pode viver, as atividades respiratória e fotossintética aumentam com a temperatura.

(iii) Concentração de CO_2 - Variações nas concentrações locais de gás carbônico têm efeito sobre a fotossíntese. Em geral, aumentando-se a concentração do gás, os níveis de fotossíntese se elevam.

Além desses fatores, há de se considerar o princípio dos fatores limitantes, que em suma quer dizer que, se, por exemplo, a

concentração de CO_2 está muito baixa, não adianta otimizar os outros fatores, pois a fotossíntese não se desenvolverá melhor. Assim, a concentração de CO_2 é o 'fator limitante'. De qualquer forma, os fatores aqui considerados são provavelmente os mais importantes. Alguns outros fatores, internos ou externos, podem desempenhar alguma influência. Entre esses, poderíamos citar o suprimento de água, o suprimento de elementos nutrientes e a quantidade de clorofila. Qualquer desses fatores ou mais de um podem se tornar limitantes em algumas ocasiões.

Há muitas teorias desenvolvidas para explicar o modo como a fotossíntese ocorre. Como já foi dito, há muitas etapas e mecanismos envolvidos nesse processo, que está longe de ser uma mera união de CO_2 com água dando carboidratos e O_2 , como faz supor a formulação da equação química. As teorias mais antigas eram relativamente simples e, frequentemente, eram designadas pelos nomes das pessoas que a propuseram. Atualmente, o avanço no conhecimento deste e dos processos correlatos se processa em diferentes frentes. Muitos grupos de pesquisadores estão adicionando suas contribuições no sentido de esclarecer como as coisas funcionam. Aqui segue apenas uma breve compilação das últimas evidências, que pode ser bem substanciada no mecanismo a ser apresentado através das figuras. Uma visão geral do processo como um todo pode ser obtida através da Fig.6-21 : A energia luminosa absorvida pela clorofila é convertida em potencial químico. Este potencial químico fica na forma de compostos de alta energia e agentes redutores de alto nível que realizam a redução do CO_2 representado como B no diagrama. Estas reações levam à produção de O_2 a partir da água. Simultaneamente, elas ajudam na geração de agentes redutores de alto nível que, junto com outros compostos colaboradores, realizam a redução do CO_2 . O hidrogênio proveniente da quebra das moléculas de água participa nisso. As partes X, Y e Z representam uma longa e complexa série de reações e compostos no caminho que o CO_2 percorre até se transformar em carboidrato. Assim, a luz é de importância primordial na ativação do processo.

Como consideração final, seria importante se levantar uma estimativa dos aspectos quantitativos envolvidos na fotossíntese. Assim, consideremos primeiramente que a concentração padrão de CO_2 na atmosfera é de 342ppm (partes por milhão). Consideremos agora um exemplo que certamente não fugirá (quanto à ordem de grandeza) das condições em que pretendemos trabalhar : tomemos a *Gigartina*, a uma temperatura de 12°C , em condições normais de iluminação e outros parâmetros ambientais. Para esta planta, temos uma taxa de fotossíntese (produção de O_2) de 60 mm^3 por hora e por centímetro quadrado de folha da amostra (Emerson e Green, 1934). Levemos ainda em conta que

Esquema Geral da Fotossíntese

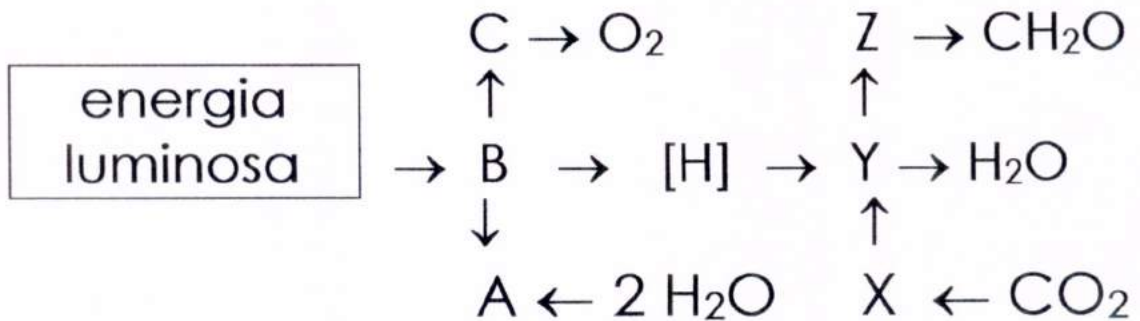


Fig. 1 - Esquema Elementar da Fotossíntese

Relações entre os Fatores Ambientais e a Fotossíntese

Comprimento de Onda da Luz

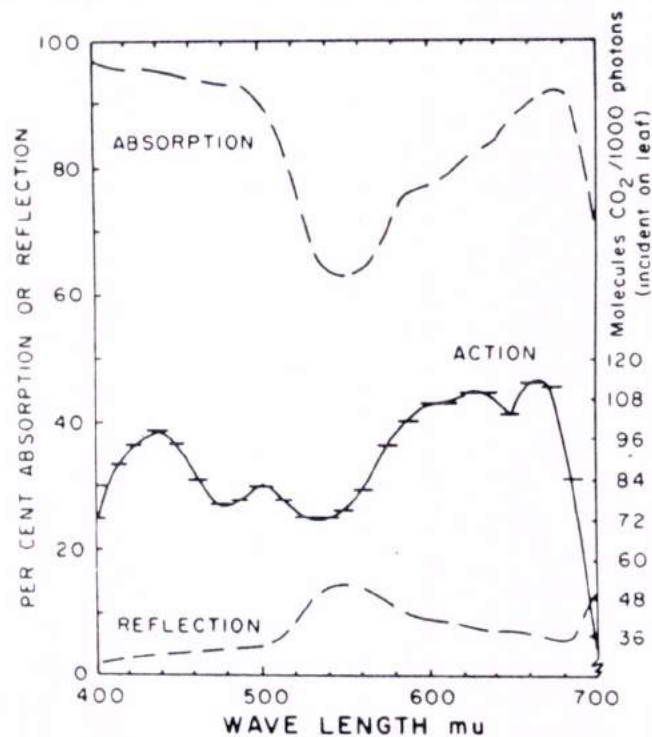


Fig. 6-6b. The detailed photosynthetic action spectrum of the bean leaf, together with the absorption and reflection spectra as determined by Moss and Loomis (1952). (Balegh and Biddulph, 1970)

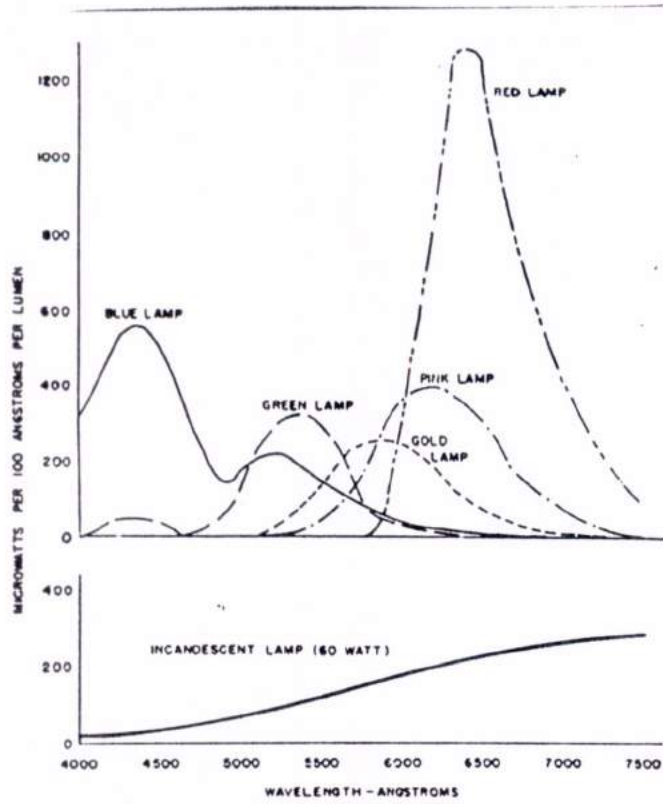


Fig. 6-4. Spectral emission of lamps in microwatts per 10 nm per lumen; *top*, fluorescent lamps; *bottom*, incandescent. (Dunn and Went, 1959)

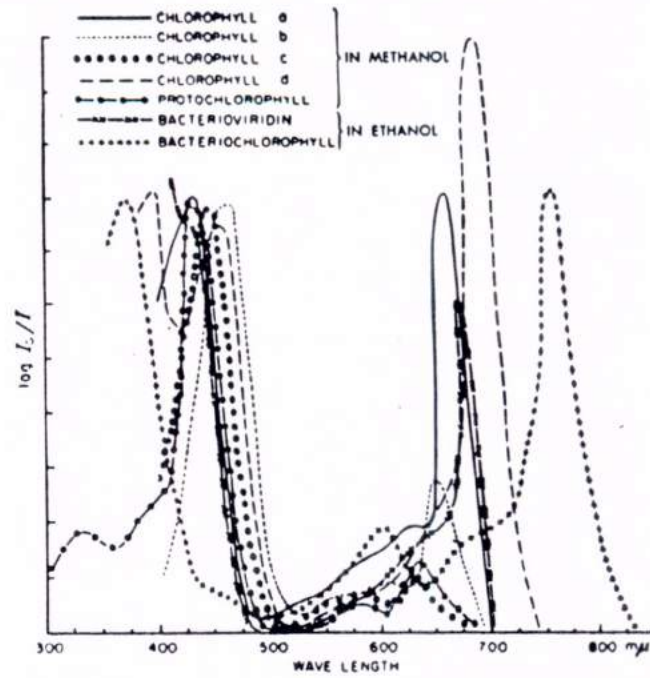


Fig. 6-13. Absorption spectra of various chlorophylls in solution (From Radiation Biology, Vol. III: Visible and near-visible light, by A. Hollaender. Copyright 1956. Used with permission of McGraw-Hill Book Company).

Intensidade Luminosa

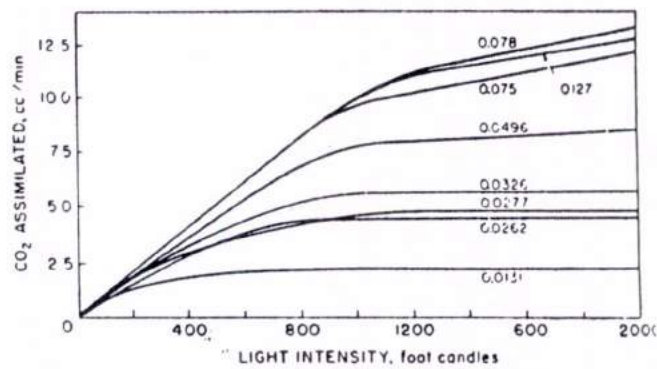


Fig. 6-1. Light-assimilation curves with young wheat plants at 19°C. Parameters: volume percentage of CO₂ (Hoover, Johnston, and Brackett, 1933).

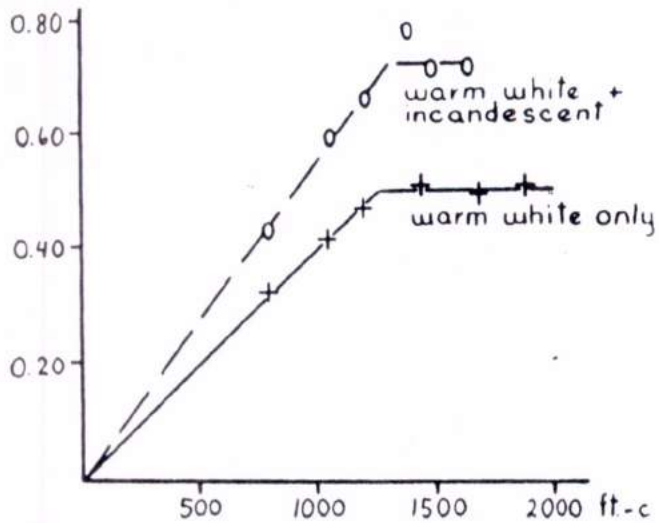


Fig. 6-2. Relationship between light intensity in footcandles (abscissa) and dry weight production of young tomato plants (ordinate: mg formed per fc per 6 days of 16 hour photoperiods per 15 plants). Lower curve for warm white fluorescent lamps only, upper curve when 10% of the light is derived from incandescent lamps, the rest from warm white fluorescents. Data of S. Dunn. (Frits W. Went —THE EXPERIMENTAL CONTROL OF PLANT GROWTH, Copyright 1957, The Ronald Press Company, New York.)

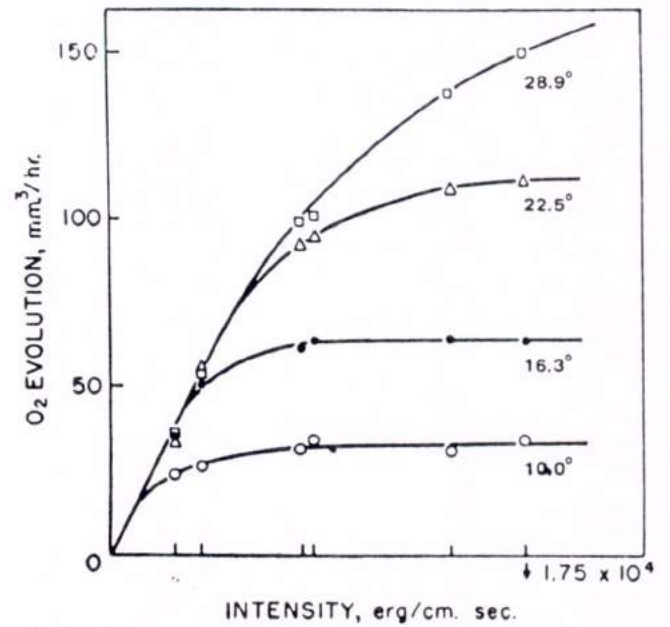


Fig. 6-8. Photosynthesis-light intensity curves of *Chlorella* at different temperatures in degrees centigrade. (Wassink, Vermeulen, Reman, and Katz, 1938).

Temperatura

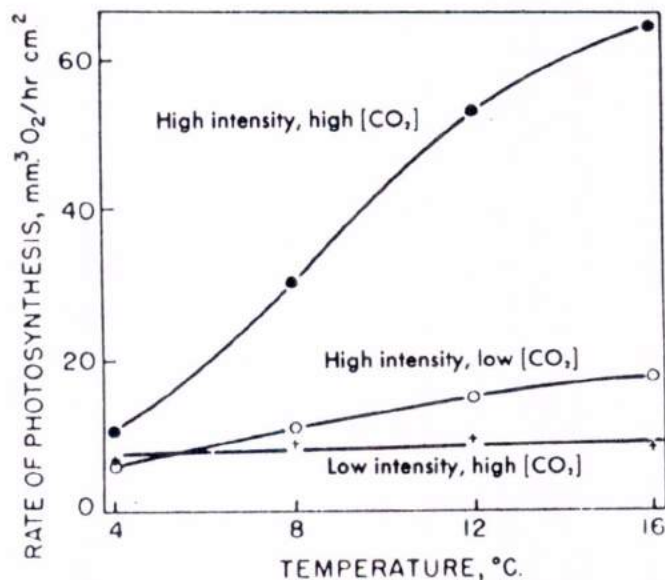


Fig. 6-7. Rate of *Gigartina* photosynthesis plotted against temperature in degrees Centigrade. Solid circles are for high light intensity and high CO₂ concentration, open circles for high intensity and low CO₂ concentration, and crosses for low intensity and high CO₂ concentration. Photosynthesis is in mm³ O₂ per hour per cm² of material (Emerson and Green, 1934).

Concentração de CO₂

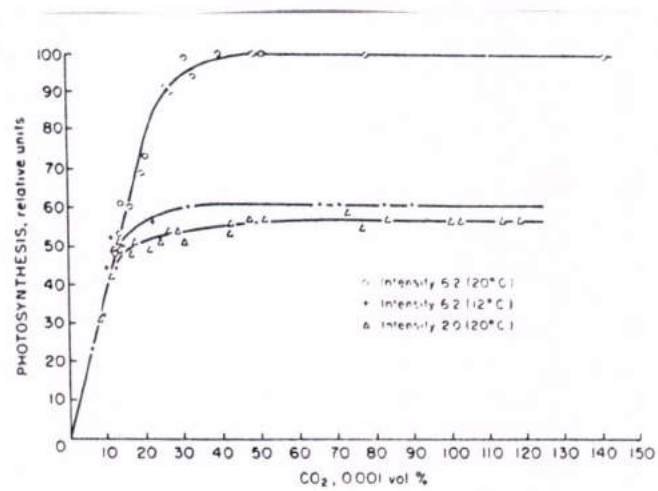


Fig. 6-3. Relative photosynthesis (CO₂ use) by *Hormidium flaccidum* as a function of free CO₂ concentration and two temperatures. 0.01 volume percent CO₂ corresponds at 20°C to 3.37×10^{-4} mole/l. (van den Honert, 1930)

(2.2) Modos de Vibração

As transições vibracionais ou modos fundamentais de vibração são classificados como modos de tensão e de deformação. Os modos de tensão são as alterações na distância das ligações moleculares e os modos de deformação são as alterações nos ângulos das ligações moleculares. Para uma primeira aproximação, uma molécula biatômica pode ser imaginada como um simples oscilador harmônico, ou seja, como duas bolas ligadas entre si através de uma mola. Assim, é possível calcular a posição espectral devido à vibração de tensão desse par usando a relação seguinte :

$$\nu \text{ (cm}^{-1}\text{)} = (1/2\pi c)\sqrt{k/\mu}$$

onde : ν (cm⁻¹) - posição espectral em número de ondas (1/ λ)
k - constante de força (em dynas/cm)
 μ - massa reduzida do par atômico (em gramas)
c - velocidade da luz (em cm/s)

A constante de força - equivalente à constante de uma mola - é uma medida da energia da ligação do par atômico e pode ser calculada empiricamente ou obtida através de consulta a tabelas. As constantes de força são geralmente da ordem de 10⁵dynas/cm. A massa reduzida do par atômico é calculada pela expressão :

$$\mu = \frac{m_1 \cdot m_2}{(m_1 + m_2)N}$$

onde : m_1 e m_2 são as massas atômicas dos dois átomos envolvidos na vibração e N é o número de Avogadro (6,023 . 10²³ átomos/mol).

A massa reduzida é sempre menor do que a soma das massas dos átomos envolvidos na vibração. O grupo carbonila (C=O) pode ser usado como exemplo de cálculo da posição espectral devido à vibração tensional. A massa reduzida desse par atômico é :

$$\mu = 1,14 \times 10^{-23} \text{ g}$$

A constante de força para a vibração tensional da carbonila é aproximadamente $k = 12 \times 10^5$ dynas/cm. A partir desse valor e da massa reduzida, podemos usar a equação dada acima e calcular a posição espectral para essa vibração tensional. Assim, obtemos $\nu_{C=O} = 1,7 \times 10^3 \text{ cm}^{-1}$. A posição espectral real para a vibração tensional da maioria dos grupos carbonila está na faixa espectral entre 1850 e 1650 cm^{-1} .

Tendo-se obtido a posição espectral dessa vibração, é possível calcular a frequência de vibração pela seguinte expressão :

$$f = c\nu$$

onde f é a frequência da vibração em Hz. Assim, $f_{C=O} = 5,2 \times 10^{13} \text{ Hz}$.

Algumas outras considerações teóricas são pertinentes, além da frequência de vibração das moléculas. Quando uma molécula heteronuclear vibra, a distância interatômica muda, assim como seu momento de dipolo. A vibração das moléculas cria um dipolo que produz um campo elétrico alternado. A grandeza desse campo varia periodicamente com o tempo com uma frequência igual à frequência da vibração. É esse campo devido ao dipolo elétrico que interage com a componente elétrica da radiação eletromagnética dando origem a uma absorção de energia. Esta absorção de energia eletromagnética é o que se observa quando se registra um espectro infravermelho.

Se a molécula diatômica é homonuclear, não há variação no momento de dipolo com a vibração e nenhum campo elétrico alternado devido a dipolo é produzido. Assim, a molécula não absorve ou interage com a radiação infravermelha. Em moléculas com alto grau de simetria, muitas das vibrações podem ocorrer entre grupos de átomos com a mesma massa reduzida e a mesma constante de força. Essas vibrações terão a mesma frequência e irão se superpor no espectro. Quando isso ocorre, diz-se que as vibrações se degeneram.

Os três modos normais de vibração do CO_2 estão mostrados na Fig.1. Uma banda de absorção infravermelha é associada a cada modo normal de vibração. O CO_2 é uma molécula linear e simétrica; dos três modos normais de vibração mostrados na Fig.1, o modo fundamental ν_1 não absorve no infravermelho, já que nesta vibração o momento de dipolo elétrico da molécula não varia. A forte banda de absorção em $15\mu\text{m}$ é associada ao modo de vibração ν_2 , enquanto a banda em $4,26\mu\text{m}$ é associada ao modo de vibração ν_3 . Vale ressaltar que, dos modos de vibração do CO_2 , dois são devidos à tensão e apenas um

devido à deformação, dada a linearidade e simetria da molécula. Observe-se ainda que por esses mesmos motivos, temos um modo de tensão que é inativo, como já foi rexplicado acima.

BIBLIOGRAFIA

1. Jamieson, J.A., McFee, R.H., Plass, G.N., Grube, R.H. e Richards, R.G., *Infrared Physics And Engineering*, McGraw-Hill, 1963, New York.
2. Eisberg / Resnick, *Física Quântica*, 4ª Edição, Ed. Campus, 1979, Rio de Janeiro.
3. Purcell, E.M., *Curso de Física de Berkeley*, vol.2, Ed. Edgar Blucher, 1973, São Paulo.
4. Kendall, D.N., *Applied Infrared Spectroscopy*, Reinhold Publishing Co., New York, 1966.
5. Hudson Jr., R.D., *Infrared System Engineering*, John Wiley & Sons, New York, 1969.

Modos Normais de Vibração do CO₂

Vibration Designation	ν_3	$\sim \nu_1$	ν_2
Equilibrium Position Dipole Moment (DM)			
One Vibration Extreme			
Other Vibration Extreme			
Infrared Activity	Active	Inactive	Active
Frequency of Vibration	2349 cm ⁻¹	1338 cm ⁻¹	667 cm ⁻¹

*Obs. O modo de vibração de interesse para o nosso trabalho é o ν_3 (2349 cm⁻¹), com absorção em 4,26 μ m.

(2.3) A Lei de Beer

(2.3.1) A Lei de Absorção

Para se partir de uma análise qualitativa para uma abordagem quantitativa no caso da absorção de radiação por um gás, necessita-se de uma relação numérica entre as características do espectro observado e o número de moléculas que origina a absorção. Assim, as alterações na radiação usada para se medir a quantidade de substância investigada devem ser registradas e descritas em relação à quantidade e à qualidade da substância investigada. A interação da radiação com a matéria pode levar a três tipos de alteração da energia radiante:

- (i) Reflexão
- (ii) Espalhamento
- (iii) Absorção

A porção de energia transformada, expressa como uma fração da energia radiante incidente é conhecida como poder de absorção. Os três efeitos acima dependem de maneira característica do comprimento de onda e da radiação, além das propriedades específicas da substância investigada. Para pesquisas quantitativas na região do infravermelho, com poucas exceções, apenas o último efeito de absorção é importante.

A energia radiante de um comprimento de onda definido λ ou número de onda ν chegando a um corpo é denotado por J_0 e a mesma quantidade após passar por uma porção da substância entre dois planos paralelos de espessura d é denotado por J . A relação entre estas quantidades segue de considerações experimentais e teóricas (Sippel & Strong) :

$$J = J_0 \cdot e^{-\alpha d}$$

Esta relação é conhecida como a lei da absorção e é usualmente chamada de *Lei de Lambert-Bouguer*, devido aos estudiosos que

primeiro a formularam. O índice αd é chamado de densidade óptica ou absorvância. A quantidade α é chamada de coeficiente de extinção de Bunsen. A densidade óptica é o índice de uma potência e deve ser adimensional, assim, o coeficiente de extinção é expresso em cm^{-1} . O coeficiente de extinção pode ser entendido como um valor inverso da espessura de substância absorvente por que a radiação deve passar para se ter uma absorção como descrita na equação acima.

O coeficiente de extinção é uma quantidade característica da substância em estudo e é independente das dimensões da amostra. Por outro lado, a densidade óptica e, conseqüentemente, a energia radiante transmitida J dependem da espessura da amostra. Todas estas quantidades, entretanto, dependem do comprimento de onda da radiação.

Uma representação gráfica da densidade óptica ou da energia radiante transmitida J , para uma espessura de amostra definida d , ou o coeficiente de extinção α em função do comprimento de onda podem fornecer o espectro da substância investigada. Entretanto, outras quantidades são usualmente usadas na representação do espectro, como a transmitância D ou a absorvância A , ambas dadas como uma porcentagem da radiação incidente. A transmitância é definida como a razão entre a energia radiante transmitida e a incidente :

$$D = (J/J_0) = e^{-\alpha \cdot d}$$

A absorvância A é definida como $A = 1 - D = 1 - e^{-\alpha \cdot d}$. Com isso, a extinção é dada por :

$$E = -\ln D = \ln(1/D) = \ln(J_0/J)$$

O coeficiente de extinção é então dado por :

$$\alpha = E/d = (1/d)\ln(1/D) = (1/d)\ln(J_0/J)$$

(2.3.2) A Lei de Beer

A lei de absorção nos dá uma primeira aproximação quantitativa para medidas de absorção espectral. Obviamente, a absorção de um

corpo (amostra de uma substância) é tanto maior quanto maior é a sua espessura d e maior seu coeficiente de extinção α para o comprimento de onda em questão. Em última análise, o número de moléculas absorvendo no volume da amostra é responsável pela quantidade de absorção. Assim, o coeficiente de extinção é completamente suficiente para a descrição do poder de absorção de uma substância, desde que o número de moléculas no volume em que se está realizando a medida permaneça constante. Isto se aplica a substâncias puras líquidas e sólidas, mas não a misturas e soluções em que natureza de suas composições é variável. Além disso, também não se aplica a gases para os quais o número de moléculas por unidade de volume é dependente da pressão aplicada sobre o gás. Entretanto, são exatamente estes os mais importantes casos na espectroscopia experimental. Assim, necessita-se de uma relação entre a concentração de uma substância e a absorção que ela causa.

Já que o número de moléculas responsável pela absorção depende diretamente da concentração da substância (para gases sob pressão), é lógico que se escreva a absorbância como uma função linear da concentração ou da pressão c :

$$E = \epsilon \cdot c \cdot d$$

Esta lei é nomeada em homenagem a seu descobridor, Beer. Usualmente, esta lei é escrita juntamente com a lei da absorção de Lambert-Bouguer, por substituição dos termos comuns às duas equações e a relação combinada é conhecida como Lei de Lambert-Beer. O fator de proporcionalidade ϵ é outra característica da substância que depende do comprimento de onda ou do número de onda e é chamado de coeficiente de extinção, da mesma forma que foi chamado o α anteriormente. As dimensões de ϵ dependem das unidades selecionadas para a concentração c .

A equação vista acima é a base de toda a análise espectral no infravermelho e torna-se necessário, pois, que se discutam as condições em que ela vale. A relação linear da densidade óptica com a concentração é lógica e corresponde ao efeito predominante encontrado nas ciências naturais de que estas relações devem ser tão simplificadas quanto possível. De fato, pode-se demonstrar empiricamente que isto é válido para certas faixas de concentrações, mas certamente não é válido para todos os casos. De modo geral, a lei de Beer é sempre obedecida para concentrações ou pressões suficientemente pequenas, mas para concentrações e pressões acima

de um certo limite - que depende da substância e do comprimento de onda envolvido - começam a aparecer desvios dessa idealidade.

Existem dois motivos para o aparecimento de tais desvios da Lei de Beer. O primeiro é devido à substância pesquisada e aparece quando a absorção medida não pode mais ser considerada como uma simples soma das absorções para cada molécula individualmente, i.e., existe uma interação entre as moléculas e a absorção não é mais proporcional ao seu número. Isto se deve à formação de agregados moleculares, que podem ser agregados formados pela associação de moléculas da própria substância em estudo umas com as outras ou por interações dessas moléculas com um tipo em especial de moléculas do ambiente, i.e., o solvente (moléculas do ar, para o caso do CO_2). Para pressões e concentrações suficientemente pequenas, estes agregados não aparecem e a lei de Beer é prontamente obedecida. Os desvios da lei de Beer aparecem quando se aumenta muito as concentrações e pressões e agregados começam a se formar, o que é utilizado como um meio de se estudar as interações intermoleculares.

O outro motivo pelo qual aparecem tais desvios da lei de Beer é a natureza fundamentalmente insatisfatória dos instrumentos de medida utilizados. A Lei de Beer é válida somente para radiação realmente monocromática (um único comprimento de onda) e esta condição não é realizável na prática, pois os filtros de interferência e outros artefatos disponíveis deixam passar sempre uma banda finita de comprimentos de onda, o que é necessário por razões de instrumentação e também porque interferências ópticas como radiação do ambiente nunca podem ser completamente eliminadas. Segue-se então que o efeito medido é dependente da largura da banda de comprimentos de onda. A magnitude do desvio depende também da posição na banda em que a lei de Beer é testada, i.e., se a região em teste é a de máxima absorção ou se trata de uma posição às margens da banda.

Obviamente, desvios experimentais da Lei de Beer, que são frequentes, aparecem devido aos dois fatores enumerados acima. Dessa forma, o uso da Lei de Beer é possível dado que algumas precauções sejam tomadas. Entretanto, nada impede uma determinação empírica da real relação entre a densidade óptica e a concentração para cada caso em particular, mantendo-se os fatores instrumentais constantes. Tal curva de calibração, empiricamente obtida, é uma base suficiente para uma análise espectral quantitativa da radiação infravermelha, desde que as condições de análise uma vez selecionadas, sejam mantidas constantes. Em geral, a validade ou não da Lei de Beer para um dado caso genérico só pode ser decidida pela experimentação, quando se

descobre o quão próximo da realidade é a representação da densidade óptica como uma função linear da concentração.

Bibliografia

1. Brugel, Werner, *An Introduction To Infrared Spectroscopy*, John Wiley & Sons Inc., New York, 1969.
2. Kendall, D.N., *Applied Infrared Spectroscopy*, Reinhold Publishing Co., New York, 1966.
3. Hudson Jr., R.D., *Infrared System Engineering*, John Wiley & Sons, New York, 1969.

(3) O Projeto

(3.1) Especificação

Uma das grandes dificuldades com que os biólogos e agrônomos se deparam frequentemente é a baixa disponibilidade de dispositivos confiáveis e de simples manuseio para medidas da fotossíntese "in vivo" e "in situ". A disponibilidade de tais equipamentos para medidas em campo em muito aceleraria, por exemplo, os trabalhos de desenvolvimento de híbridos, apontando as variedades com maior atividade fotossintética.

No presente projeto, o que se propõe é realizar a medida do consumo de CO_2 "in vivo" e "in situ". Este consumo será monitorado por meio de um analisador de gases a infravermelho.

O analisador de CO_2 consiste de uma fonte de radiação infravermelha, um modulador mecânico de feixe luminoso (chopper), uma câmara de gás de referência e uma câmara ativa, onde circulará a mistura $\text{Ar} + \text{CO}_2$, a ser consumida pela folha vegetal em estudo durante a fotossíntese. Ambas as câmaras são seladas por janelas ópticas de safira. A câmara ativa tem um orifício em sua parte superior, o qual será selado pela folha vegetal em estudo. A radiação infravermelha que atravessa as câmaras de gás será detectada por sensores de PbSe após passar por filtros de interferência no comprimento de onda de absorção do CO_2 ($4,26 \mu\text{m}$). Dessa maneira, durante a fotossíntese, a quantidade de CO_2 consumida da câmara ativa será medida pela variação na absorção da radiação infravermelha. O sistema será projetado para uma resolução de 1 vpm de CO_2 no ar, na faixa de trabalho de 1 a 1000 vpm.

Considerando uma câmara de gás com 1 cm^2 de seção transversal e comprimento l , a quantidade de moléculas de um gás ideal em seu interior é expressa por $n \times l$, onde $n = 2,687 \times 10^{19} \text{ cm}^{-3}$ é o número de moléculas por cm^3 de um gás nas condições normais de temperatura e pressão. Supondo que o gás em análise seja ar, com n_0 moléculas de CO_2 e que a câmara esteja sendo irradiada por um feixe de radiação infra-vermelha com uma potência incidente P_0 no pico de absorção do CO_2 , após atravessar a câmara, o feixe de radiação terá sua potência atenuada para:

$$P_i = P_0 \times \exp(-n_0 \sigma l)$$

onde $\sigma = 6,54 \times 10^{-16} \text{ cm}^2$ é o coeficiente de extinção para o CO_2 . Se a quantidade de moléculas de CO_2 diminuir de Δn , sua potência final subirá para:

$$P_f = P_0 \times \exp(-(n_0 - \Delta n) \sigma l)$$

ou seja :

$$P_f = P_i \times \exp(\Delta n \sigma l)$$

Neste tipo de aplicação, os valores das potências de radiação envolvidas são da ordem de dezenas de μW , na faixa de 1 a 1000 vpm de CO_2 no ar, em câmaras medindo alguns centímetros de comprimento. Nesta faixa, os detetores piroelétricos utilizados possuem resolução melhor que 2%. Considerando que queremos medir variações de 1 vpm de CO_2 no ar, o que corresponde a $\Delta n = 2,687 \times 10^{13} \text{ cm}^{-3}$, da última expressão podemos estimar o comprimento da câmara, l :

$$l = \ln(P_f / P_i) / (\Delta n \sigma)$$

Considerando uma resolução de 2%, ou seja, $(P_f / P_i) = 1,02$, o comprimento mínimo da câmara resulta em $l = 1,14 \text{ cm}$, o que torna possível a construção de um analisador de CO_2 compacto.

Num segundo estágio será desenvolvida a eletrônica específica para o sistema; módulo com amplificadores sincronizados dedicados às frequências de modulação utilizadas, fontes dos iluminadores e moduladores, microprocessador e interface para microcomputador.

pos, 12 de Julho de 1996

ntos Travelho
omité PIBIC / INPE

Parecer sobre Relatório Final de Bolsista

Projeto: "Analisador de Gases (CO₂) por Espectroscopia Infravermelha"

Bolsista: Luciano Gonçalves de Oliveira

Orientador: Marcos Dias da Silva

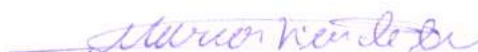
O relatório final apresentado sumariza o trabalho do bolsista quanto às atividades realizadas, bibliografia estudada e resultados obtidos. Entretanto, apesar do nosso alerta e orientação (vide avaliações do relatório parcial, nossa e deste Comitê), a forma de apresentação fugiu novamente aos padrões convencionais quanto às citações bibliográficas e quanto ao referenciamento e legendas de figuras no texto. O capítulo 4 - Resultados Experimentais, deveria ser mais detalhado, e as figuras apresentadas no capítulo 7 - Apêndices, poderiam ser inseridas nos capítulos 3 e 4 ou então contemplar uma legenda explicativa. O projeto atingiu os objetivos esperados, com a construção do primeiro protótipo do Analisador de Gases proposto e com a obtenção dos primeiros dados experimentais, oriundos da aplicação no monitoramento da fotossíntese de uma folha de "violeta", ao que não foi dada a ênfase devida no capítulo de Resultados.

Foi solicitado ao bolsista corrigir estas falhas, porem o mesmo não se prontificou a fazer em tempo hábil, alegando ter outros compromissos de caráter particular. Outrossim, este trabalho foi inscrito, pela vontade manifesta do bolsista, na 3ª JNIC da 48ª Reunião anual da SBPC, e deveria ter sido apresentado na quarta-feira, 10/07/96, sendo que o bolsista não compareceu alegando os mesmos motivos.

Embora o trabalho do bolsista tenha sido satisfatório em termos qualitativos, a falta de tempo para uma dedicação mais perene e profissional ao trabalho, notada nos últimos meses, é que nos motivou à não pedir a renovação da bolsa.

Apesar dessas críticas e comentários, as quais não poderíamos deixar de fazer, consideramos que o relatório contém elementos suficientes para ser considerado aprovado.

Atenciosamente



Marcos Dias da Silva
(orientador)

(3.2) Consecução

Na consecução desse projeto, foi seguida uma ordem de prioridades na realização dos experimentos. O primeiro problema a ser atacado foi o desenvolvimento do analisador de gases, que se baseou em um protótipo já desenvolvido por este laboratório para o Instituto Politécnico Nacional do México. A principal preocupação foi desenvolver um sistema que fosse ao mesmo tempo compacto e confiável. Para isso, houve de se pensar em um tipo adequado de fonte infravermelha, que pudesse fornecer uma radiação ótima com uma demanda pequena de energia. Tipos diferentes de fontes foram testados. Inicialmente, se considerou a hipótese de construir dois tipos de fonte : uma tipo glow-bar (barra de grafite) e outra constituída de uma resistência revestida de um material cerâmico. O material cerâmico tem de ser resistente a altas temperaturas e ter boa emissividade no comprimento de onda desejado. Para o CO_2 , isto quer dizer emissão máxima em $4,26\mu\text{m}$ e temperatura estabilizada em torno dos 680K. Os detectores piroelétricos (PVDF) foram inicialmente os utilizados, tendo-se optado pelos de PbSe durante a consecução do projeto. O chopper constituiu-se de um motor capaz de girar a baixas frequencias, em torno dos 25Hz. Mais tarde, optou-se por trabalhar com frequencias um pouco maiores, em torno dos 150 Hz. A escolha do motor, por motivos de praticidade e custos, recaiu sobre um modelo comercial que pudesse ser facilmente adquirido e se encaixasse nas características desejadas. As câmaras de gases assim como o corpo do analisador de gases foram usinados em alumínio, o que pôde ser implementado no próprio LAS/INPE. Além disso, as janelas das câmaras de gases foram tais que permitiram a passagem de radiação no comprimento de onda em que se trabalhou (janelas de safira foram utilizadas). Filtros de interferência que deixassem passar apenas o comprimento de onda desejado também foram instalados.

A calibração do aparelho, a regulagem do fluxo de gases, o controle eletrônico da frequência do chopper e a análise do sinal de saída dos detectores tomou bastante tempo e constituiu uma das fases mais trabalhosas do projeto.

O monitoramento do O_2 constitui uma etapa avançada no desenvolvimento do sistema e deve ser implementada como um

aperfeiçoamento ao analisador de gases. Pretende-se seguir o esquema já proposto em *OPC Technique for in vivo studies in plant photosynthesis research*², que constitui-se do acoplamento de uma célula fotoacústica aberta e de cabos de iluminação AC(modulada, para gerar o sinal) e DC (para estimular a fotossíntese). Esta fase do desenvolvimento do sistema constitui uma etapa mais avançada e foge ao escopo do trabalho em questão, não devendo ser abordada neste relatório.

Como finalização do projeto, numa etapa mais avançada, esses dispositivos seriam integrados a um sistema eletrônico de análise dos sinais gerados pelos detectores infravermelhos, dando origem a um sistema que permitiria a leitura direta do parâmetro de interesse, i.e., evolução das concentrações CO₂. Isto poderia ser feito via instalação de um visor embutido no aparelho, possivelmente de cristal líquido, que forneceria as concentrações em cada instante; ou de uma saída para um cabo que pudesse levar os dados a um microprocessador (PC, laptop ou similar), onde um software adequado transformasse os dados de entrada em uma resposta analisável e interpretável.

²Pereira,A.C.; Zerbetto,M.; Silva,G.C.; Vargas,H.; Silva,W.J.; Neto,G.O.; Cella, N. e Miranda,L.C.M.,1992,Technique for in vivo studies in plant photosynthesis research, Meas.Sci.Technol.3(1992)931-934

(4) Resultados Experimentais

(4.1) Os Experimentos Iniciais

O primeiro experimento realizado de interesse para o projeto foi uma pesquisa com vários materiais que visava determinar suas emissividades. Esta fase foi relevante por permitir contato com aparelhagem e métodos de medição. A aparelhagem utilizada para esse experimento foi :

- Controlador de Processos NOVUS N8000;
- Datalogger ECD;
- Chopper e Radiômetro Piroelétrico LASER PRECISION CORP.;
- Resistência 100W/220V FAME.

Foram testados 4 tipos de cerâmica : Ω_1 , Ω_2 , U e G ; cujas composições podem ser observadas abaixo :

Tipo	Omega Cement (g)	Cerâmica Usinável (g)	Grafite (g)	Liquid Binder (g)
Ω_1	1,50	-----	-----	0,50
Ω_2	1,50	-----	-----	0,50
U	-----	1,50	-----	1,50
G	-----	1,00	0,50	1,50

*Omega CC High Temperature Cement (Omega Engineering , Inc.)

As amostras das cerâmicas foram aquecidas até a temperatura de 680K, tendo esta temperatura estabilizada pela ação do controlador. Um chopper e um filtro foram colocados entre as amostras e o sensor piroelétrico. Comparando-se as emissões recebidas pelo radiômetro, pôde-se chegar à conclusão de que a cerâmica em teste que mais emitiu no comprimento de onda desejado foi a cerâmica tipo U. Para esta cerâmica, pôde-se calcular, observando-se as emissões recebidas

com o filtro e sem o filtro, que aproximadamente 3,1% da radiação emitida estava na faixa dos 4,26 μ m. Mais tarde, quando da construção do protótipo, abandonou-se as fontes cerâmicas e passamos a utilizar uma glow-bar como fonte emissora de radiação infravermelha. Alguns testes foram realizados também com o motor escolhido (Mabuchi) para determinar a relação entre tensão fornecida e frequência. Verificou-se que a 0,30V, obtinha-se 25Hz de frequência e que, abaixo disso, o motor não tinha torque suficiente para girar. A frequência de giro do motor variou linearmente com a tensão fornecida, sendo obtida a equação da reta para calibração preliminar da frequência :

$$f \text{ (Hz)} = 95 \text{ (Hz} \cdot \text{V}^{-1}) \cdot U \text{ (V)}$$

Outros testes foram realizados, como o teste de varredura da Fonte Infravermelha, cujo gráfico foi útil na determinação das dimensões laterais das câmaras de gases. Com alguns testes, pôde-se estimar também a transparência das janelas de safira à radiação infravermelha, chegando-se à seguinte conclusão experimental:

"Do teste, podemos concluir que um dispositivo com duas janelas de safira, dentro das especificações do projeto proposto, absorveria 13,2% da radiação emitida pela fonte em questão a 680K. Assim, 86,8% da radiação total emitida chegaria até o detetor. Entretanto, utilizando-se um filtro para CO₂, que deixa passar radiação apenas no comprimento de 4,26 μ m, não foi percebida qualquer diferença na potência recebida pelo detetor, utilizando-se ou não a janela, o que nos leva a concluir que, para este comprimento de onda, as janelas de safira são praticamente perfeitamente transparentes (100% de transmitância) à radiação."

Os primeiros testes com o protótipo indicaram que devido ao fato de ser o dispositivo extremamente compacto, as vibrações mecânicas produzidas pelo motor do modulador óptico interferirão no sinal do detetor que, além de piroelétrico, também é piezoelétrico, i.e., responde às vibrações mecânicas bem como à radiação, gerando um ruído inaceitável para a sensibilidade pretendida para o aparelho. Optou-se então pela adoção dos detetores de PbSe no lugar do piroelétrico (PVDF).

(4.2) Calibração

A calibração do aparelho foi feita utilizando 4 misturas padronizadas de CO₂ em N₂ :

10 ppm
 100 ppm
 1000 ppm
 10000 ppm

As misturas foram adquiridas da Air Liquide e têm pureza garantida maior que 99,999%. Durante a experiência de calibração, foram observadas as seguintes condições :

- $V_{GB} = 24 \text{ V (DC)}$;
- $f_{\text{chopper}} = 150 \text{ Hz}$;
- $V_{\text{detetor}} = 15 \text{ V (DC)}$;
- Fluxo de N_2 ultra puro na câmara de referência : $P_r = 0,2 \text{ kgf/cm}^2$;
- Fluxo de $\text{N}_2 + \text{CO}_2$ na câmara ativa : $P_A = 0,5 \text{ bar}$; $\phi_A = 200 \text{ ml/min}$.

A aquisição de dados foi feita de 20 em 20 segundos com um LOCK IN que repassou os dados para um microcomputador, onde se fez a estatística dos dados. O que se obteve em 4 tomadas (dias diferentes) de 20 pontos, foram os resultados médios expostos abaixo:

Calibração do Analisador de CO_2

CO_2 (ppm)	$\langle x \rangle$	σ_x	$\ln(x)$	f (Hz)
10	0,7528	0,0014	-0,2839556	149,9/150,2
100	0,7512	0,0018	-0,2860833	149,5/149,9
1000	0,7333	0,0004	-0,3102003	149,5/149,9
10000	0,6245	0,0009	-0,4708039	149,9/150,2

Na tabela acima, x é o valor do sinal normalizado dos detetores de referência e da câmara ativa. A dedução da expressão que relaciona o sinal (x) com as concentrações é obtida a partir da lei de Beer e é mostrada de forma simplificada abaixo :

$$I_s = I_{OS} \cdot e^{-BS} ; I_R = I_{OR} \cdot e^{-BR}$$

$$(I_s/I_R) = (I_{OS}/I_{OR}) \cdot e^{-BS + BR}$$

$$\ln(I_s/I_R) = \ln(I_{OS}/I_{OR}) - Bs + Br$$

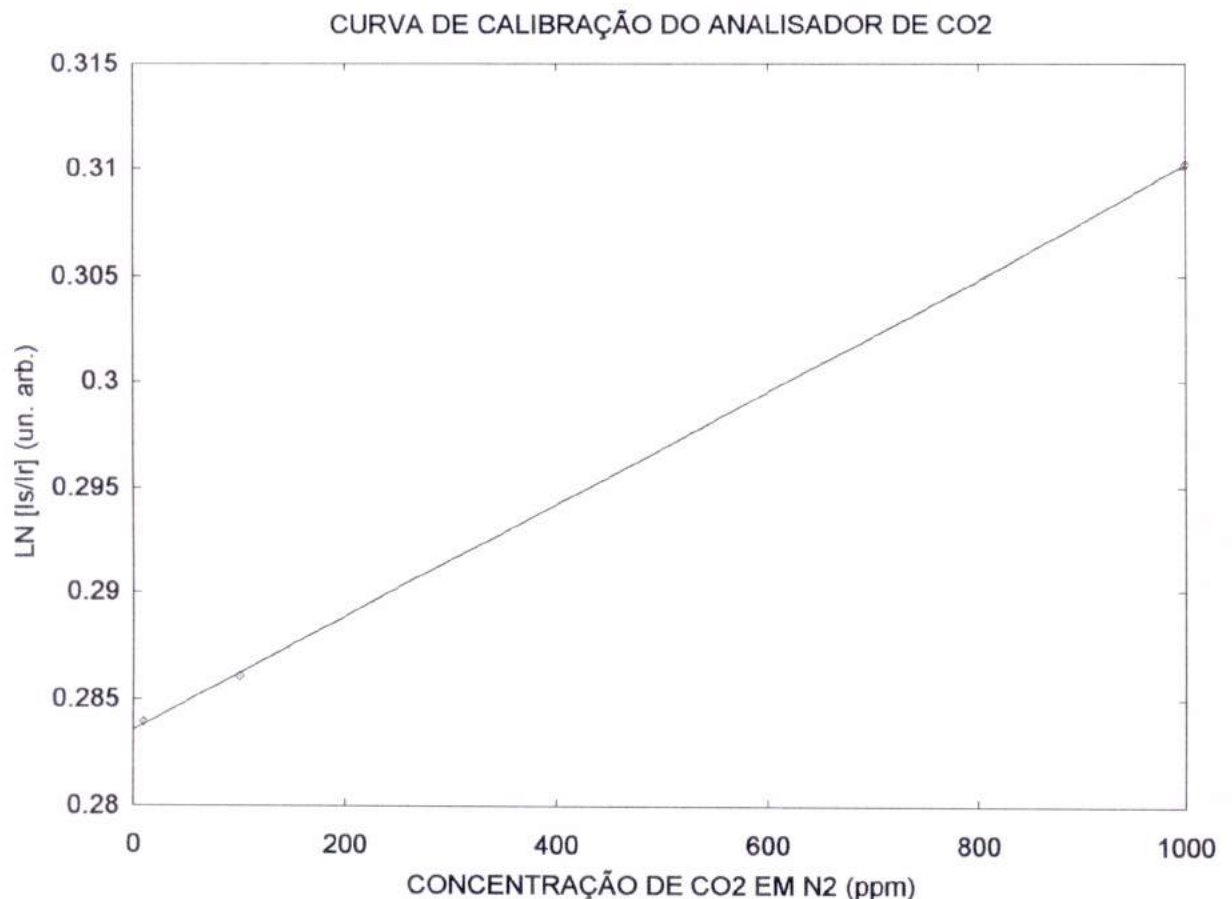
Isolando as constantes, obtemos :

$$\ln(I_s/I_R) = C - Bs$$

Ajustando a reta com os dados obtidos na tabela acima, obtemos a seguinte equação de calibração :

- $\ln(I_s/I_R) = 0,28356 + 0,000026625X$, com X em ppm e erro = 0,04% no ajuste.

O gráfico da calibração pode ser observado abaixo :



(4.3) Teste da Fotossíntese "In Vivo"

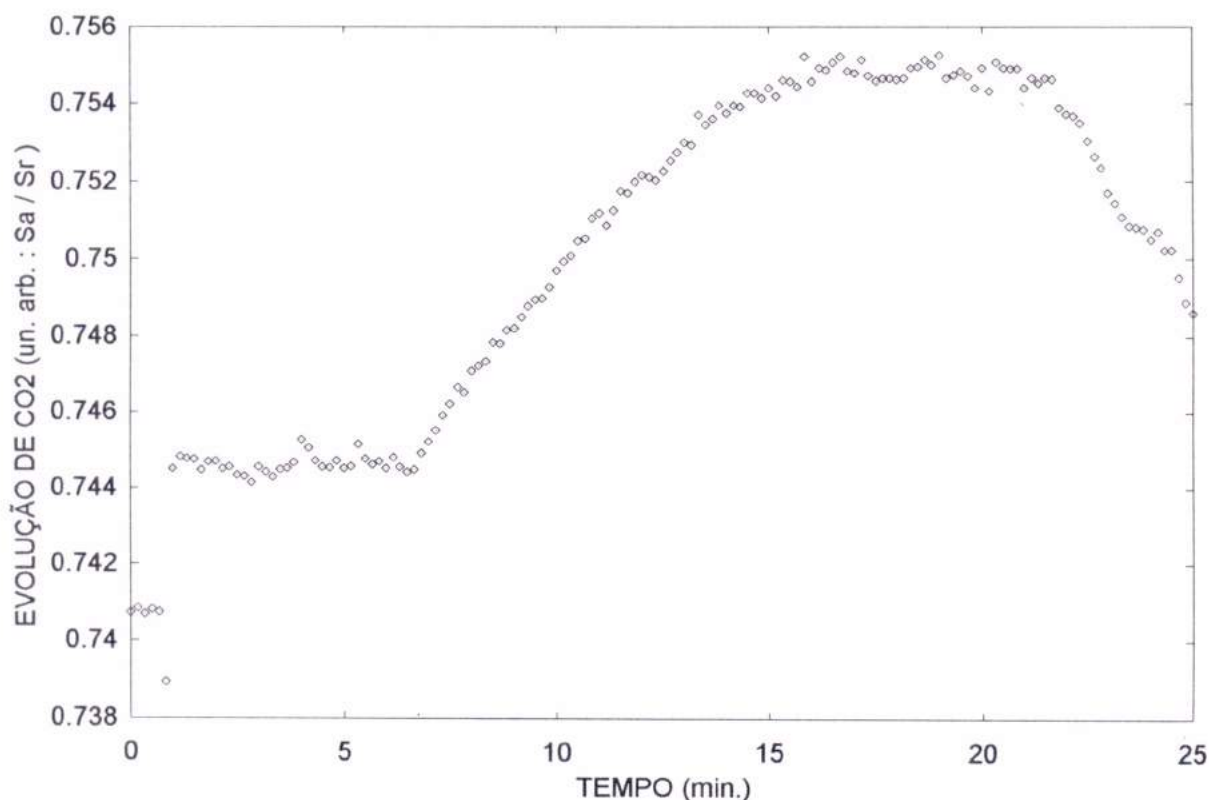
Nesta experiência, procurou-se repetir os mesmos parâmetros da experiência de calibração. Alguns cuidados foram cuidados, visando o sucesso da experiência :

- A folha em teste foi acondicionada em um envoltório plástico, de modo que a única via para troca de gases com o ambiente externo era a câmara ativa, de onde esta retirava o CO₂ ;

- A planta ficou no escuro por 2 horas antes do início dos testes, evitando interferências devidas à saturação de seu metabolismo;
- As câmaras sofreram fluxação de N_2 para eliminar resíduos gasosos, depois deixadas abertas por 30 min e então seladas para o início dos testes;
- Para iluminação da planta durante a fotossíntese, optou-se por uma iluminação artificial, com parâmetros reprodutíveis a qualquer hora do dia, todos os dias. O iluminador utilizado foi o "Fiber-Lite High Intensity Illuminator, series 180", que emitia uma potência de $2805W/m^2$ sem filtro de calor e $1929W/m^2$ com o filtro de calor. Esses valores se referem à potência em que o aparelho foi utilizado.

Os resultados obtidos podem ser bem visualizados no gráfico apresentado a seguir :

EVOLUÇÃO DO CO₂ DURANTE A FOTOSSÍNTESE DE UMA FOLHA DE ' VIOLETA '



(4.4) Teste de Aquecimento do Protótipo

Um dos problema inicialmente enfrentados foi o aquecimento demasiado dos detetores, cujo sinal de saída é variável com a temperatura, o que ocasionou problemas nas medições então realizadas. O problema foi em parte solucionado com a adoção de um separador de teflon entre a glow-bar e as câmaras que antecedem os detetores, além de uma caixa com aletas sobre a própria glow-bar, para auxiliar a refrigeração. Outro ponto questionado era a temperatura que estava sendo atingida na glow-bar com a tensão utilizada, que deveria estar em torno dos 407°C, que é o ponto de máximo da emissão infravermelha para a faixa dos 4,26µm. Assim, foram realizados testes como descritos a seguir .

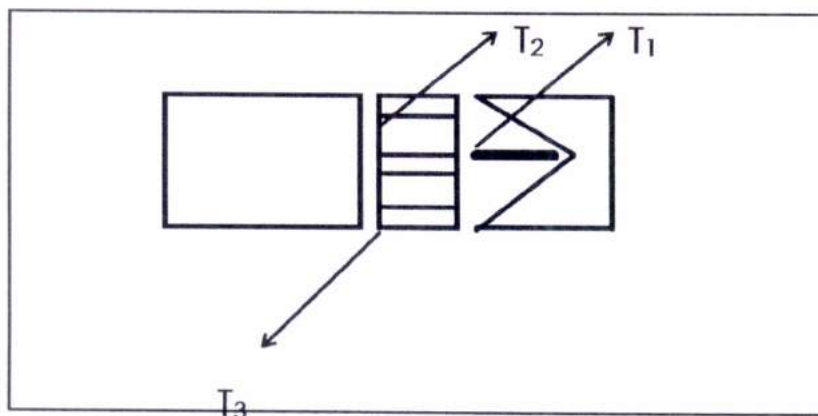
Aparelhagem utilizada :

- Fonte Tectrol estabilizada TCA-120-05, tensão DC;
- Glow-bar Brumark, tensão nominal 20V;
- Termopares tipo T e datalogger.

T_1 = temperatura na ponta da glow-bar;

T_2 = temperatura na janela do detetor;

T_3 = temperatura ao lado do detetor.



Esquema da Experiência

$V_{\text{glowbar}} \text{ (V)}$	$V_{\text{detetor}} \text{ (V)}$	$T_1 \text{ (}^\circ\text{C)}$	$T_2 \text{ (}^\circ\text{C)}$	$T_3 \text{ (}^\circ\text{C)}$
20,6	20,25	269,8	27,5	27,4
22,9	22,48	312,4	29,7	29,6
24,7	24,22	345,6	31,2	31,0
26,3	25,80	375,2	32,8	32,7
26,8	26,35	385,4	34,1	33,9

Como podemos ver acima, com a tensão utilizada para a glowbar (24V), a temperatura alcançada ainda está um pouco abaixo do esperado. Algum aquecimento residual ainda foi detectado nos detetores, apesar do isolamento de teflon.

(5) Comentários e Conclusões Finais

Durante as medições realizadas com o protótipo desenvolvido, algumas dificuldades foram aparecendo, o que fez com que um contínuo trabalho de aperfeiçoamento tivesse de ser desenvolvido.

Uma das primeiras dificuldades foi o alto nível de ruído dos detetores inicialmente utilizados, de PVDF, devido à sua sensibilidade a vibrações mecânicas. Isso foi resolvido substituindo-os por outros de PbSe, que não sofrem esse tipo de interferência, aumentando a resolução do aparelho. Outra dificuldade foi a questão do isolamento térmico, já discutida no item 4.4, que levou a modificações no corpo do aparelho, com a introdução de um separador isolante de teflon e aletas refrigeradoras, melhorando a resposta dos detetores.

Um dos mais intrigantes problemas enfrentados foi relativo à blindagem dos cabos de tensão e sinais do dispositivo. Grandes interferências, flutuações de sinal, baixa reprodutibilidade e resultados duvidosos marcaram as primeiras tentativas de calibração do aparelho. Tudo isso resolveu-se evitando as induções eletromagnéticas, envolvendo-se os cabos com uma malha de aço e fazendo-se o aterramento de todo o sistema. Mais tarde, optou-se pela substituição de todos os cabos em paralelo por outros tipo coaxial, o que evitou ainda mais as interferências externas e/ou autoinduições.

A vedação das câmaras de gases também constituiu importante etapa no andamento final do projeto. Verificou-se que as plantas em teste têm de estar de forma tal que a única janela para trocas gasosas com o ambiente seja o orifício da câmara ativa do detetor.

Com todo esse desenvolvimento, ainda se observa alguma flutuação nos valores medidos com o protótipo, o que compromete sua reprodutibilidade e confiabilidade para uso continuado fora de laboratório. Seria desejável que se prosseguisse os estudos sobre o aparelho, inclusive em situações de uso diferentes das até então testadas.

Uma próxima etapa de aperfeiçoamento do sistema envolverá o desenvolvimento de uma eletrônica específica para processamento dos sinais, alimentação dos componentes eletrônicos (fonte de tensão) e integração de todos esses subsistemas em um módulo único compacto.

Um desenvolvimento posterior, já previsto desde o início do trabalho, é a acoplagem de um detetor capaz de monitorar concentrações também de O₂, por meio de técnica fotoacústica. Já

existe todo um estudo da viabilidade dessa implantação e isso deve constituir uma etapa mais avançada deste projeto.

com o filtro e sem o filtro, que aproximadamente 3,1% da radiação emitida estava na faixa dos 4,26 μ m. Mais tarde, quando da construção do protótipo, abandonou-se as fontes cerâmicas e passamos a utilizar uma glow-bar como fonte emissora de radiação infravermelha. Alguns testes foram realizados também com o motor escolhido (Mabuchi) para determinar a relação entre tensão fornecida e frequência. Verificou-se que a 0,30V, obtinha-se 25Hz de frequência e que, abaixo disso, o motor não tinha torque suficiente para girar. A frequência de giro do motor variou linearmente com a tensão fornecida, sendo obtida a equação da reta para calibração preliminar da frequência :

$$f \text{ (Hz)} = 95 \text{ (Hz} \cdot \text{V}^{-1}) \cdot U \text{ (V)}$$

Outros testes foram realizados, como o teste de varredura da Fonte Infravermelha, cujo gráfico foi útil na determinação das dimensões laterais das câmaras de gases. Com alguns testes, pôde-se estimar também a transparência das janelas de safira à radiação infravermelha, chegando-se à seguinte conclusão experimental:

"Do teste, podemos concluir que um dispositivo com duas janelas de safira, dentro das especificações do projeto proposto, absorveria 13,2% da radiação emitida pela fonte em questão a 680K. Assim, 86,8% da radiação total emitida chegaria até o detetor. Entretanto, utilizando-se um filtro para CO₂, que deixa passar radiação apenas no comprimento de 4,26 μ m, não foi percebida qualquer diferença na potência recebida pelo detetor, utilizando-se ou não a janela, o que nos leva a concluir que, para este comprimento de onda, as janelas de safira são praticamente perfeitamente transparentes (100% de transmitância) à radiação."

Os primeiros testes com o protótipo indicaram que devido ao fato de ser o dispositivo extremamente compacto, as vibrações mecânicas produzidas pelo motor do modulador óptico interferirão no sinal do detetor que, além de piroelétrico, também é piezoelétrico, i.e., responde às vibrações mecânicas bem como à radiação, gerando um ruído inaceitável para a sensibilidade pretendida para o aparelho. Optou-se então pela adoção dos detetores de PbSe no lugar do piroelétrico (PVDF).

(4.2) Calibração

A calibração do aparelho foi feita utilizando 4 misturas padronizadas de CO₂ em N₂ :

14. Prioli,L.M., Pereira,A.C., Silva,W.J. Vargas, H., Cella,N. e Alvarado-Gil,J., *In vivo and in situ measurements of spectroscopic and photosynthetic properties of undetached maize leaves using the open photoacoustic cell technique*, Plant Science 96 (1994) 203-209.
15. Meyer,B.S., Anderson, D.B., Bohning, R.H., *Introduction to Plant Physiology*, D.Van Nostrand Company, Inc., New York, 1960.
16. Awad,M. e Castro,P.R.C., *Introdução à Fisiologia Vegetal*, Livraria Nobel, 1983.
17. Eisberg / Resnick, *Física Quântica*, 4a Edição, Ed.Campus, 1979, Rio de Janeiro.
18. Purcell,E.M., *Curso de Física de Berkeley*,vol.2, Ed. Edgar Blucher, 1973, São Paulo.
- 19.Kendall,D.N., *Applied Infrared Spectroscopy*, Reinhold Publishing Co.,New York, 1966.
- 20.Hudson Jr.,R.D., *Infrared System Engineering*, John Wiley & Sons, New York, 1969.
21. Brugel, Werner, *An Introduction To Infrared Spectroscopy*, John Wiley & Sons Inc.,New York, 1969.

(7) Apêndices

Alguns esquemas e desenhos foram importantes no desenvolvimento do projeto e podem ser extremamente úteis para a compreensão do trabalho realizado. A seguir, estão listados os documentos apresentados :

- (7.1) Esquema Geral do Analisador de CO₂
- (7.2) Desenho das Peças do Primeiro Protótipo/
Gráfico de Varredura da Fonte Infravermelha
(glow-bar)
- (7.3) Gráfico de Varredura do Filtro para CO₂
- (7.4) Gráfico das Temperaturas da Glow-bar e do
Detetor em Função da Tensão Aplicada
- (7.5) Outros Gráficos de Fotossínteses Realizadas
- (7.6) Fotos do Dispositivo em Funcionamento

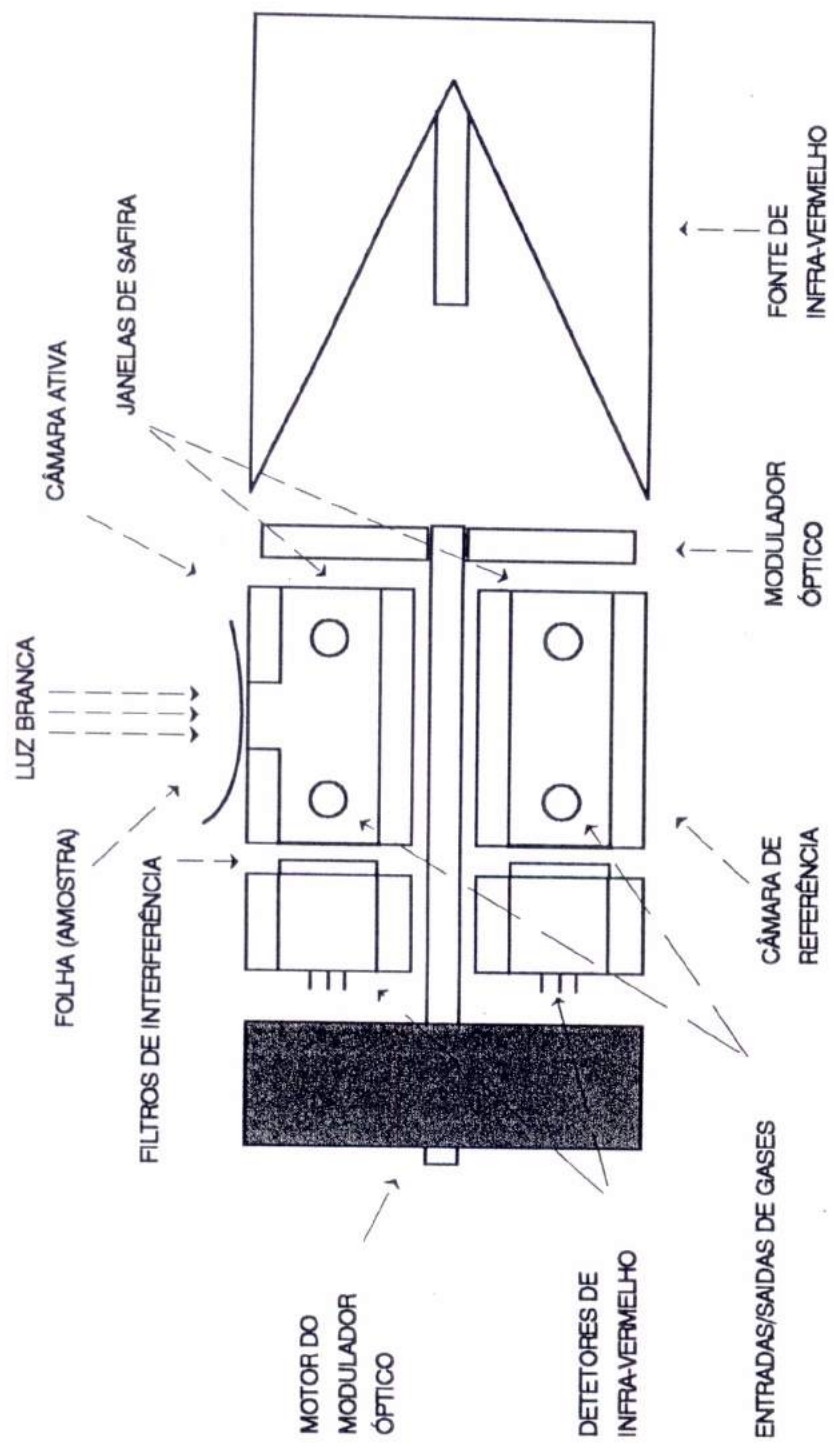
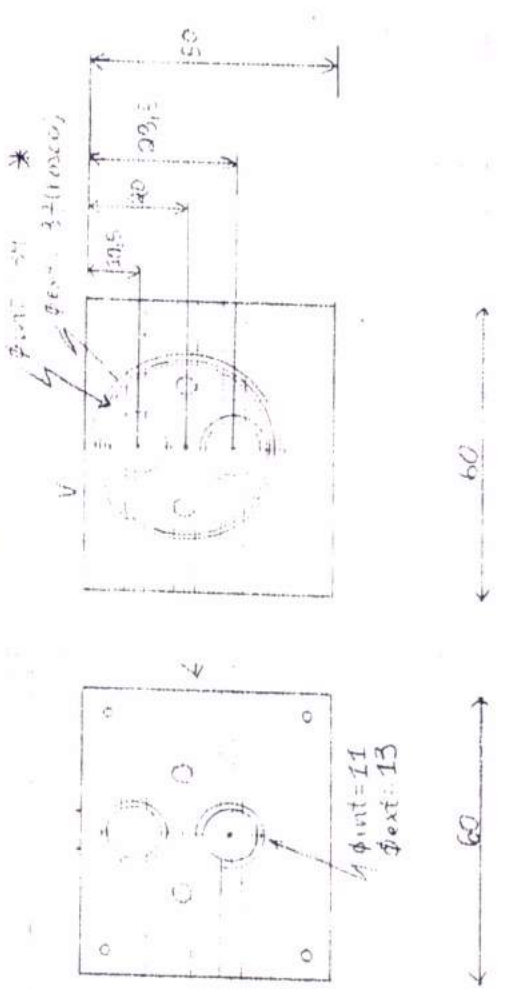
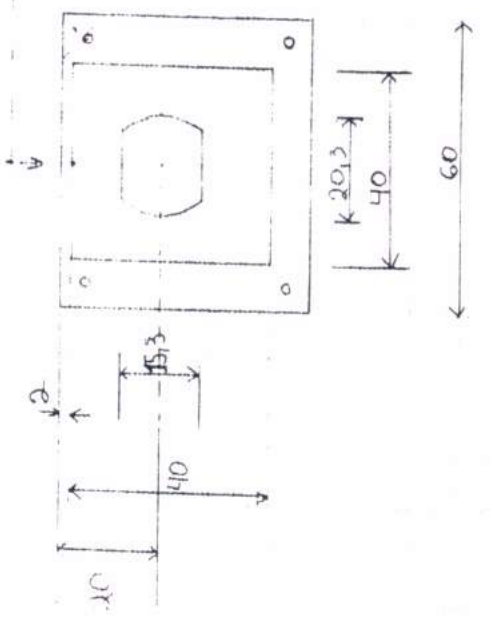
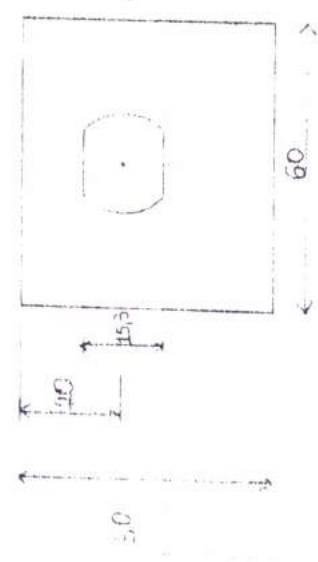
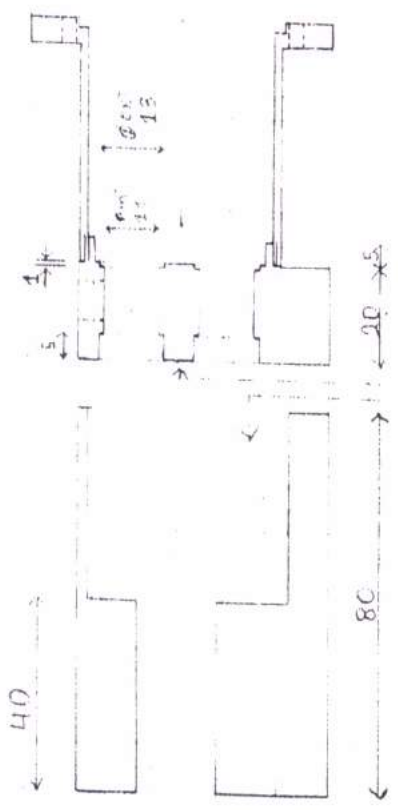
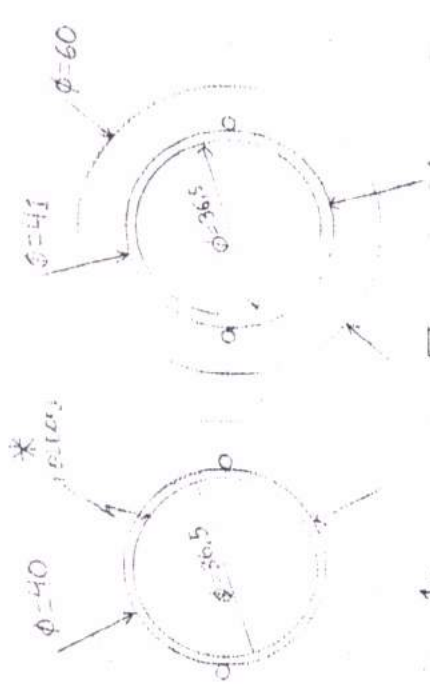
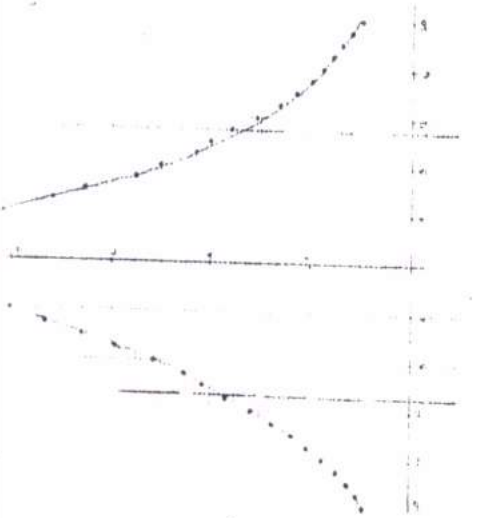
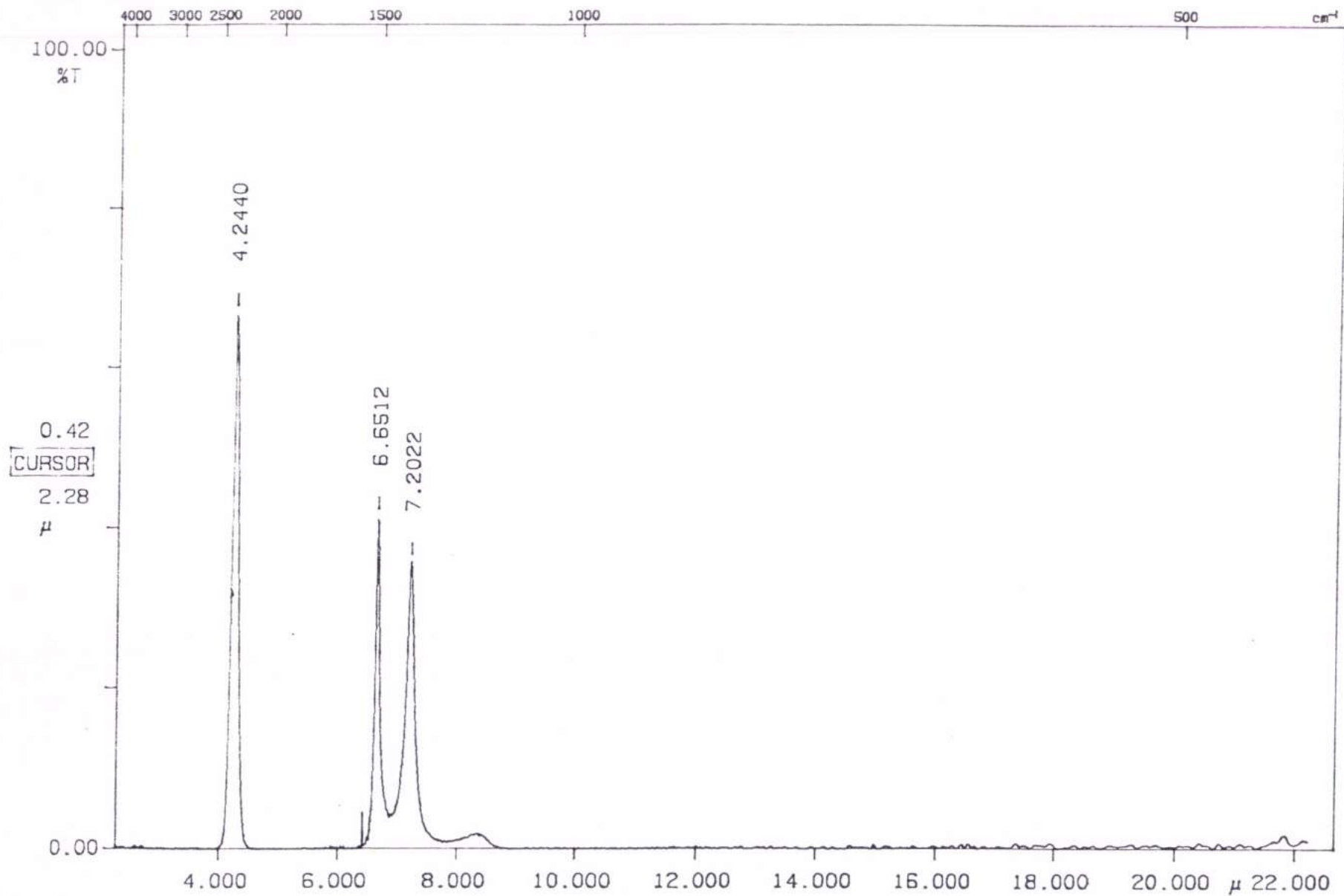


Fig.1: ANALISADOR DE CO₂ PARA MONITORAMENTO DA FOTOSÍNTESE

1.0m (1000mm)



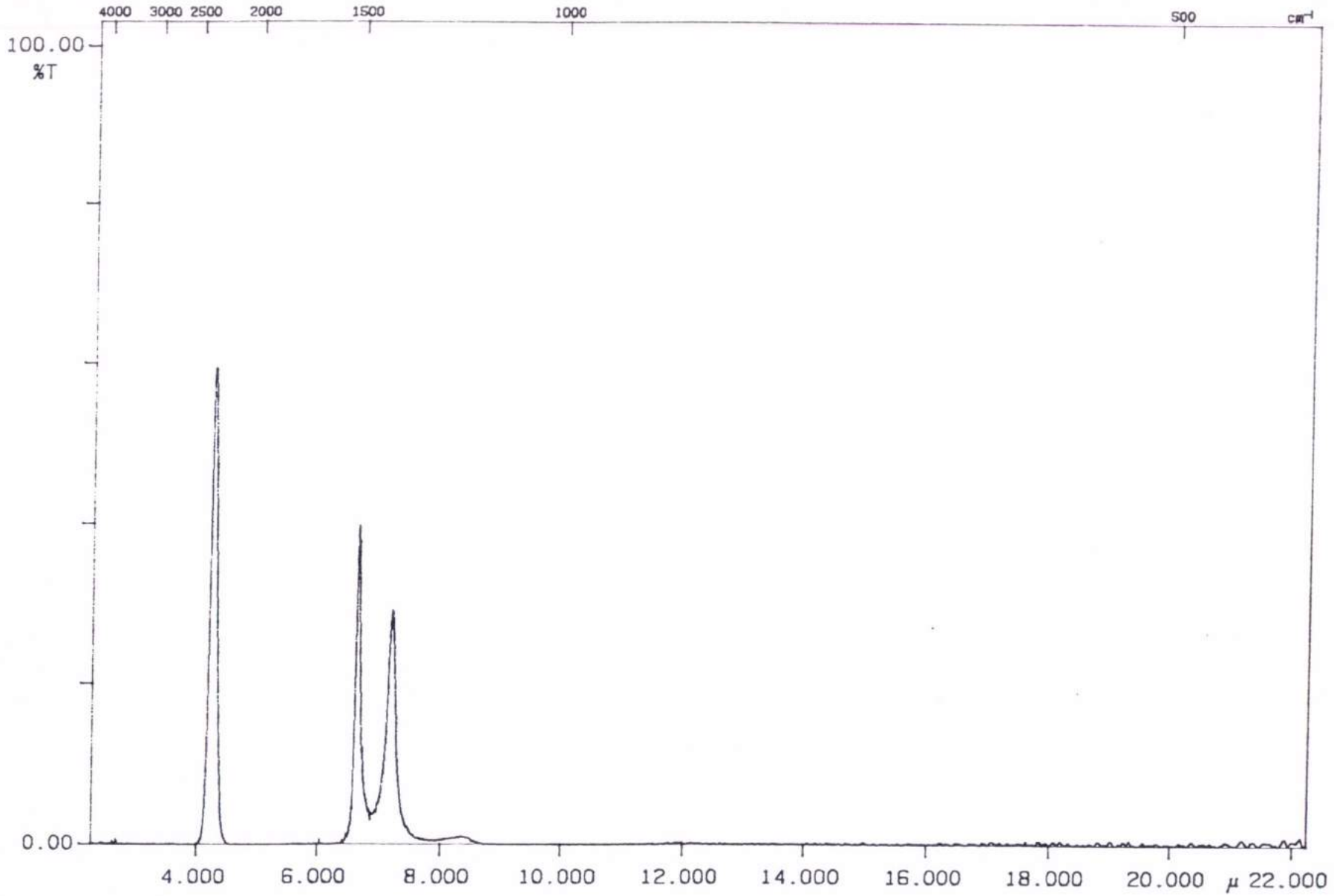
PERKIN ELMER



95/08/24 17:40 LAS/INPE

X: 4 scans, 4.0 cm^{-1} , apod none

PERKIN ELMER



95/08/24 17:57 LAS/INPE
X: 16 scans, 2.0cm⁻¹, apod none
Filtro CO2 : 4.26 um

~~300~~ Temperatura da Glow Bar e do Detetor em Função da Tensão da Fonte DC.

500

oC

400

300

200

100

4

30

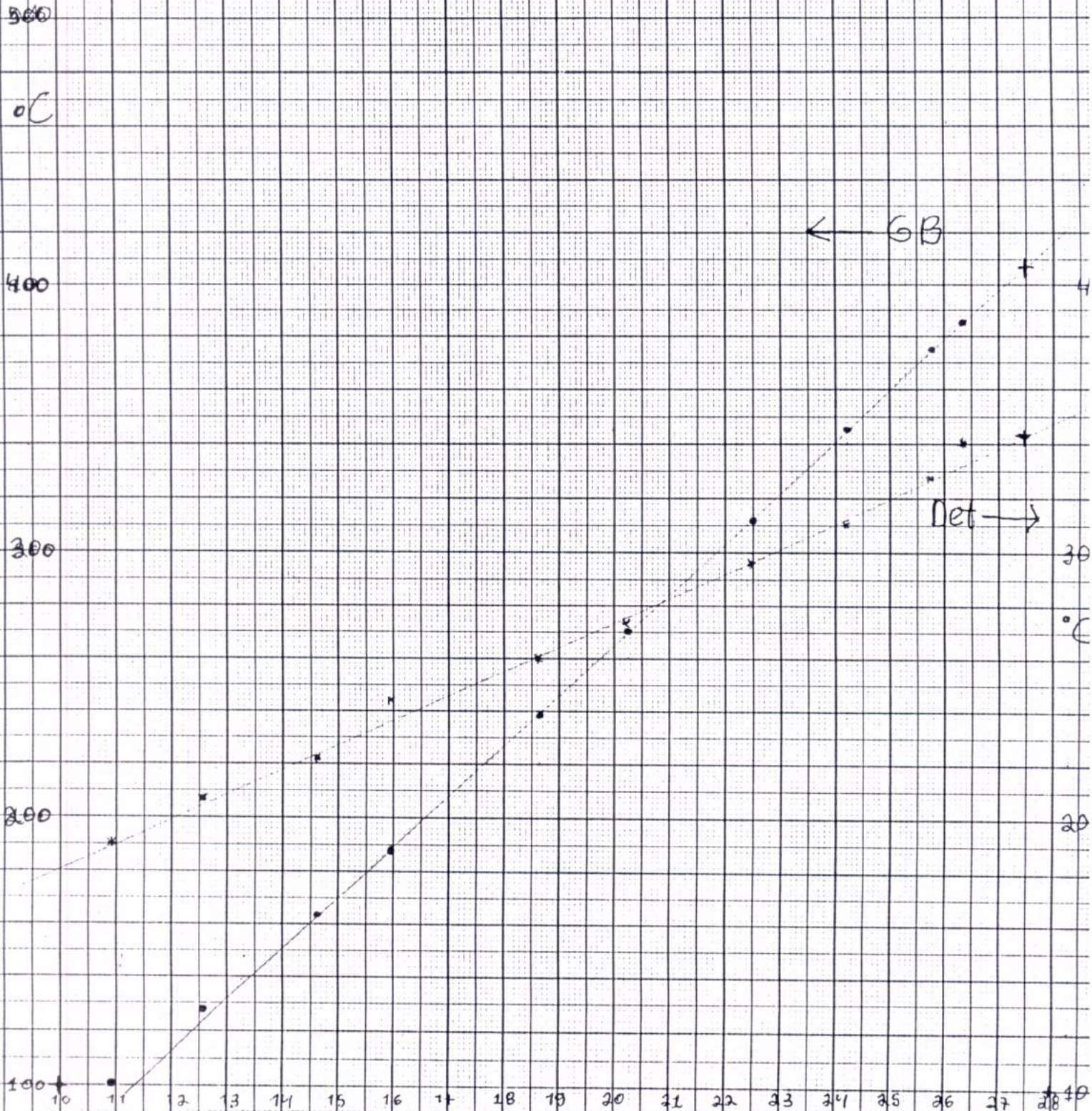
20

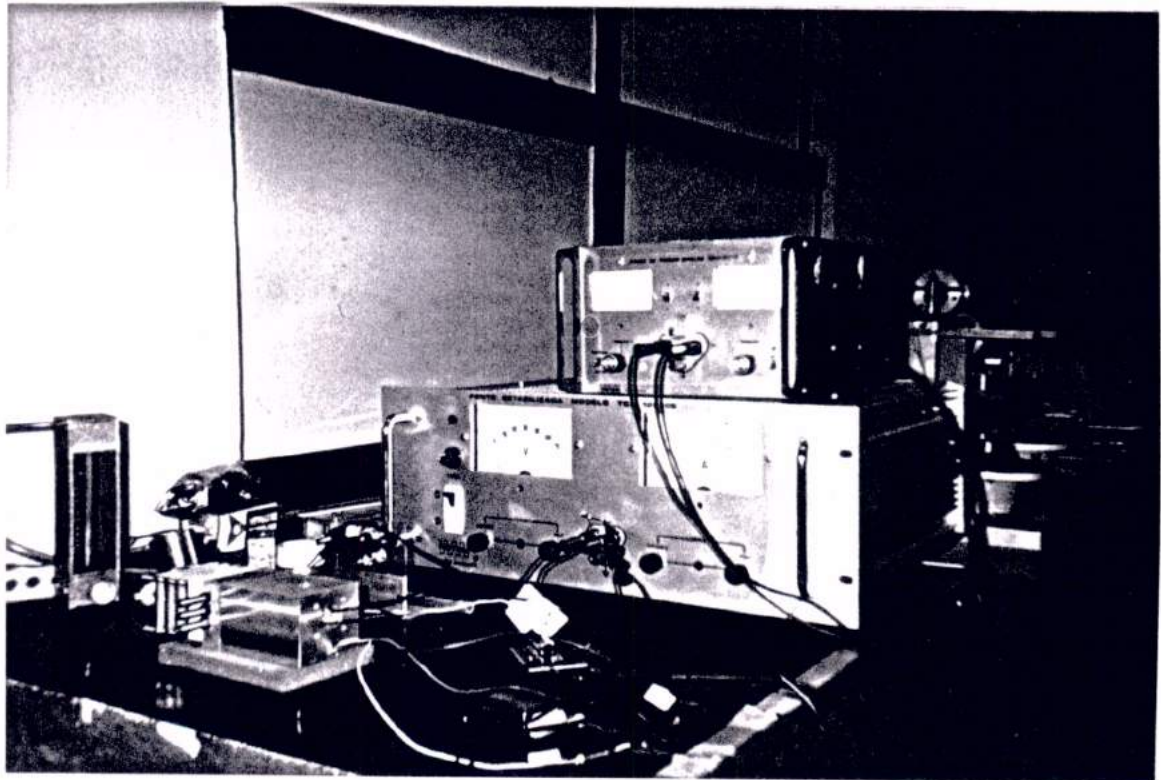
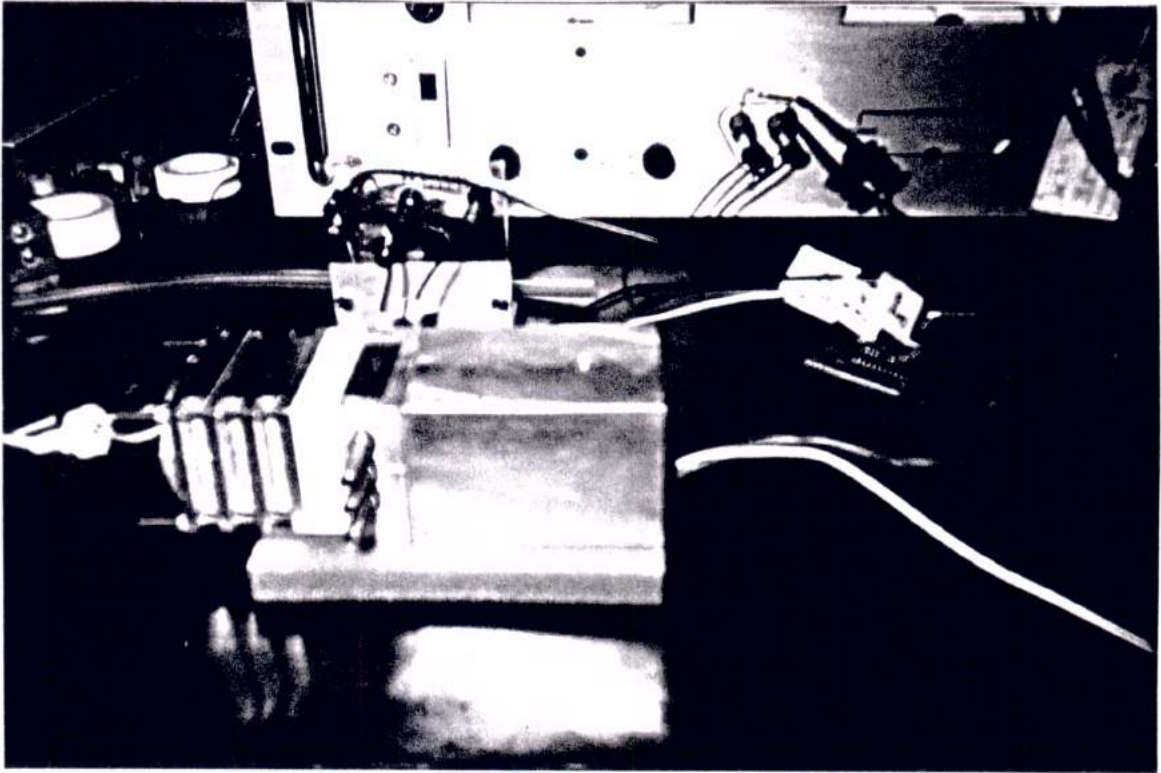
10

← GB

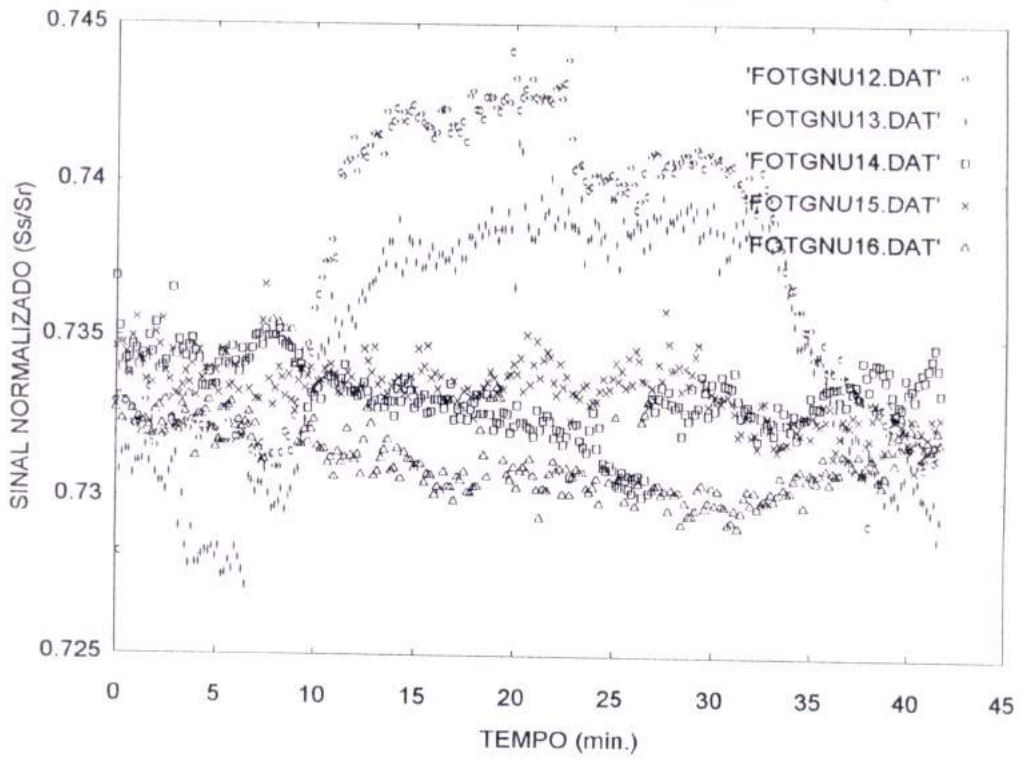
Det →

10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28

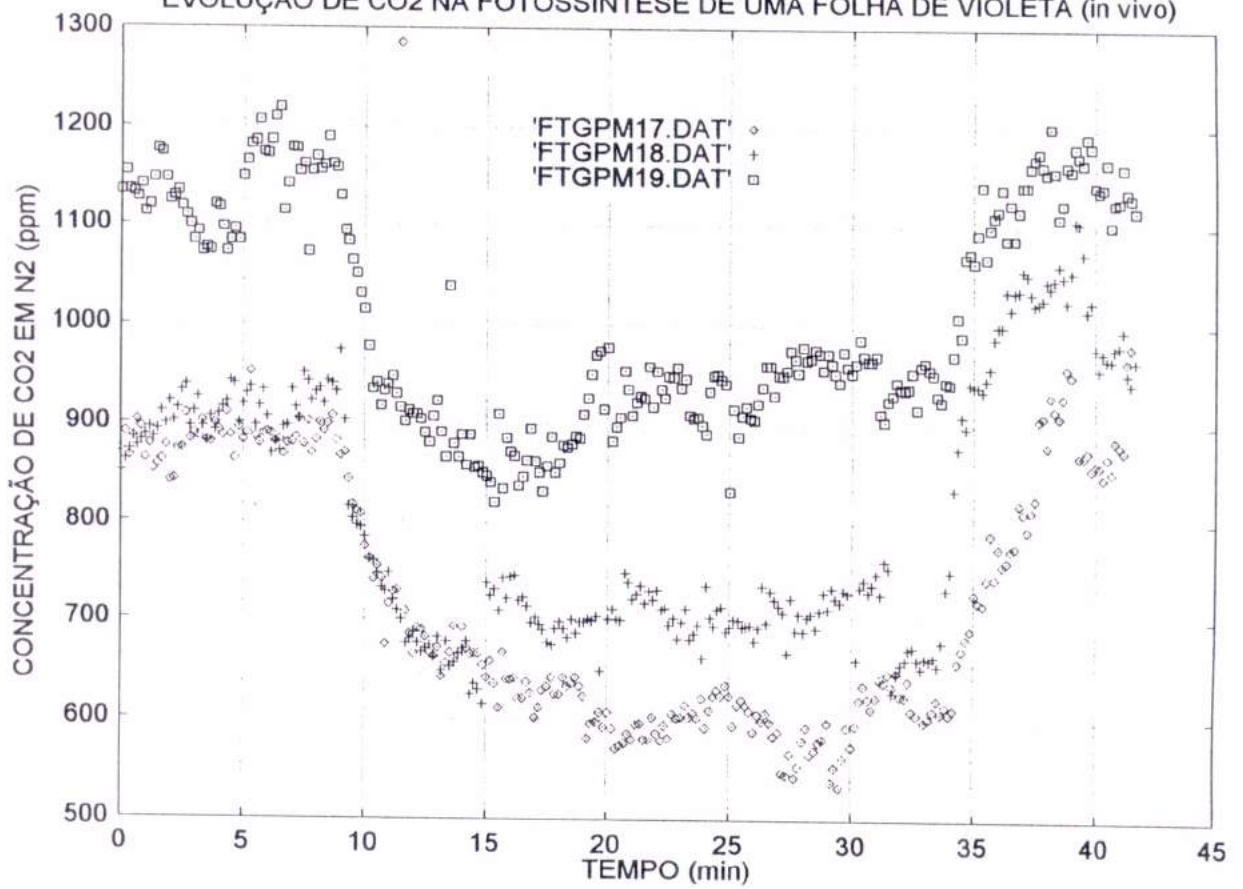




FOTOSSÍNTESE EM FOLHA DE VIOLETA (in vivo e sêca)



EVOLUÇÃO DE CO2 NA FOTOSSÍNTESE DE UMA FOLHA DE VIOLETA (in vivo)



o volume de O₂ produzido é o mesmo do que o do CO₂ consumido (mesmas condições de temperatura e pressão), como pode ser comprovado pela equação química da fotossíntese. Assim, para uma câmara com uma abertura de 1cm² e um volume de 1cm³, temos que todo o CO₂ da câmara seria consumido num espaço de tempo de 20 segundos, o que nos faz prever que o fluxo necessário na câmara, para repor o CO₂ consumido, seria de 3cm³ de gás por minuto, à pressão ambiente. Logo, o fluxo ideal para se trabalhar será dessa ordem de grandeza.

BIBLIOGRAFIA

1. Bickford, E. D. e Dunn, S., 1972. *Lighting for Plant Growth*, The Kent State University Press, 62-80.
2. Prioli, L.M., Pereira, A.C., Silva, W.J. Vargas, H., Cella, N. e Alvarado-Gil, J., *In vivo and in situ measurements of spectroscopic and photosynthetic properties of undetached maize leaves using the open photoacoustic cell technique*, Plant Science 96 (1994) 203-209.
3. Meyer, B.S., Anderson, D.B., Bohning, R.H., *Introduction to Plant Physiology*, D. Van Nostrand Company, Inc., New York, 1960.
4. Awad, M. e Castro, P.R.C., *Introdução à Fisiologia Vegetal*, Livraria Nobel, 1983.