

UTILIZAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA NO
MONITORAMENTO DAS TAXAS DE EMISSÃO DE AMÔNIA A PARTIR
DE UREIA ENCAPSULADA COM ALGINATO

DANIEL ALVARENGA VIANA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO
CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ

ABRIL DE 2018

DANIEL ALVARENGA VIANA

UTILIZAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA NO
MONITORAMENTO DAS TAXAS DE EMISSÃO DE AMÔNIA A PARTIR
DE UREIA ENCAPSULADA COM ALGINATO

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais do Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências Naturais, na área de Ciência e Tecnologia de Materiais.

CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ

ABRIL DE 2018

UTILIZAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA NO MONITORAMENTO DAS TAXAS DE EMISSÃO DE AMÔNIA A PARTIR DE UREIA ENCAPSULADA COM ALGINATO

Daniel Alvarenga Viana

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais do Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências Naturais, na área de Ciência e Tecnologia de Materiais.

Banca examinadora:

Marcelo Gomes da Silva (D.Sc.) - (UENF)
(Orientador)

Israel Andrade Esquef (D.Sc.) - (UENF)

Marcelo Silva Sthel (D.Sc.) - (UENF)

Guilherme Rodrigues Lima (D.Sc.) - (UFES)

CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ

ABRIL DE 2018

Agradecimentos

Não existe exercício melhor e mais recompensador do que a gratidão. Gratidão, inclusive, deveria ser a palavra chave número um desta tese. Assim sendo, agradeço:

Ao prof. Helion Vargas, por abrir as portas do laboratório na minha chegada a UENF e por seu apoio todos esses anos. Agradeço também por seu eterno otimismo, visão e acessibilidade.

Ao prof. André Guimarães pela orientação ao longo do meu mestrado e pela oportunidade ímpar de permitir que eu pudesse seguir os meus próprios passos em outra linha, no doutorado.

Ao prof. Edson Corrêa, por suas imprescindíveis contribuições, tanto no meu período de mestrado quanto no meu doutorado.

À prof^a Maria Priscila, por suas contribuições ao longo desses anos, por seu comprometimento, bom humor, entusiasmo e alto astral inerentes.

À prof^a Maria Cristina Canela, por sua paciência, apoio, exigência e empenho na tarefa de oferecer o melhor na minha formação e na dos demais colegas.

Ao prof. Sérgio Luís Cardoso pelo apoio e incentivo na reta final do meu doutorado.

Aos professores do LCFIS: Delson Ubiratan, Denise Ribeiro, Juraci Sampaio, Max Soffner, Roberto Faria Júnior e Roberto Franco, professores esses que tive o privilégio de conhecer ou, simplesmente, tive o prazer de cruzar diariamente pelos corredores e cumprimentar, ao longo de todos esses anos de UENF.

À Isabel, pelo carinho, cordialidade e pela presteza.

À Jailse, pela presteza e atenção.

À dona Celi, pelas palavras de carinho todas as manhãs, tardes e noites em que estávamos pelo laboratório ou pelos corredores do LCFIS.

Ao Luiz Antônio, pela disponibilidade, presteza e contribuições significativas ao longo de todos esses anos de LCFIS.

Ao prof. Marcelo Sthel, pelo carinho, apoio incondicional, paciência e palavras de incentivo, pelas colaborações significativas no meu trabalho e também na revisão desta tese.

Ao prof. Israel Esquef, por sua parceria, orientação, colaboração, presença constante e apoio incondicional. Obrigado por todas as vezes em que foi até a minha bancada buscar saber, auxiliar, dividir conhecimento e colaborar da melhor forma possível com o meu trabalho.

Ao prof. Guilherme Lima, antigo colega e hoje, colaborador e revisor desta tese. Obrigado pelo incentivo e por todas as vezes em que dividiu comigo o seu conhecimento, colaborando com o meu trabalho.

Ao prof. Leonardo Mota, também antigo colega e hoje em dia colaborador e revisor desta tese. Obrigado pela acessibilidade e pelas contribuições que colaboraram com o meu trabalho.

Ao prof. Rubén Sánchez por abrir o seu laboratório, disponibilizando recursos indispensáveis para a realização do meu trabalho. *¡Muchísimas gracias!*

À Mayara, pela boa vontade e disposição em me ajudar na preparação das minhas amostras.

Aos amigos e colegas do laboratório: Marcenilda, Geysa, Elaine, Fernanda, Clô, Sâmylla, Elen, Paulo Sérgio, Kariza e Camila. Obrigado pelas conversas, idas a cantina e contribuições específicas ou gerais no meu trabalho.

Ao Thallis, amigo da pós-graduação e que hoje é também meu amigo na vida fora das paredes cinzas e de concreto da UENF.

À amiga Arlem Lara, que mesmo das tão distantes terras Astecas, me apoia, incentiva e envia as suas *Buenas vibras*.

Aos meus eternos amigos da graduação: Bruno, Marcus, Ramon e Wladimir.

Aos meus amigos da vida: Filipe Santiago, Rodrigo Corrêa e Héric Viana

À Larissa, pelo companheirismo e paciência ao longo de grande parte desses anos de pós-graduação.

À Renata, pela parceria, companheirismo e paciência ao longo da reta final desse processo.

À Aline, minha amiga, parceira, companheira e namorada. Agradeço pela paciência, pelo apoio incondicional e por emanar uma energia tão positiva na minha vida.

À minha orientadora da graduação, Cristine Nunes. Obrigado pelo eterno entusiasmo e pelo apoio incondicional, apesar da minha migração da Física Teórica para a Física Aplicada.

Ao PPGCN, por todo o suporte e oportunidade ímpar de estar num excelente ambiente acadêmico, com pessoas tão boas e competentes.

À CAPES, pelo financiamento ao longo de todos esses anos de pós-graduação.

Aos meus pais, por todo o suporte e por não terem medido esforços para me dar uma excelente educação.

Ao meu orientador, prof. Marcelo Gomes. Obrigado por me acolher tão bem no seu grupo de trabalho, por me orientar tanto academicamente quanto pessoalmente. Obrigado pela paciência, acessibilidade, seriedade, profissionalismo, competência e exigência. Obrigado por me incentivar a não desistir e a seguir, obrigado por ter sido luz onde eu não enxergava mais o caminho. Obrigado pelo exemplo de ser humano e comprometimento com o trabalho, sendo indubitavelmente o maior e mais significativo exemplo da minha vida.

”Sua vontade determina os seus limites”

Jordan, H.

Resumo

As análises qualitativas e quantitativas das perdas de nitrogênio provenientes dos fertilizantes aplicados em um sistema é uma potencial ferramenta para a melhoria das práticas de manejo, uma vez que um dos pontos chave do estabelecimento de uma cultura em um determinado local é operar com o mínimo de perdas e a máxima utilização dos nutrientes disponibilizados, que por sua vez representam um grande custo nessa produção. Uma maneira de melhorar a eficiência da ureia na nutrição das plantas é associá-la a compostos que permitam manter por mais tempo o nitrogênio no solo e ofereçam maior tempo de liberação deste elemento. Nesse contexto, um material de destaque que pode ser associado a ureia é o alginato, um polímero biodegradável. A espectroscopia fotoacústica é uma técnica amplamente reconhecida, difundida e estabelecida quanto a sua capacidade de medir gases em partes por milhão (ppm), partes por bilhão (ppb) e até parte por trilhão (ppt), utilizando fontes laser com base em semicondutores e operando na faixa de infravermelho próximo. Essa técnica é baseada na geração e detecção de uma onda acústica no interior de um ressonador, a partir da incidência e absorção de radiação modulada e num comprimento de onda correspondente a uma linha de absorção da molécula de interesse. Nas últimas décadas, vários sensores foram desenvolvidos e aplicados aos mais diversos campos da ciência, tendo aplicações médicas, industriais, e claro, no campo da pesquisa científica. Propôs-se por meio desse trabalho, montar um espectrômetro fotoacústico utilizando um laser semiconductor do tipo *distributed feedback* (DFB) que opera na faixa do infravermelho acoplado a uma célula fotoacústica compacta, para a aplicação na detecção de amônia. O sistema foi montado e otimizado, sendo seu o limite de detecção determinado como 300 ppb. Amostras de ureia pura e ureia incorporada ao alginato foram preparadas e as suas emissões de amônia foram medidas por meio do espectrômetro. Os resultados para as amostras investigadas mostraram que a incorporação da ureia a matriz polimérica reduziram em mais de 90% a taxa de emissão de amônia desse material, quando comparados ao resultado da ureia pura.

Abstract

Qualitative and quantitative analyzes of nitrogen losses from fertilizers applied in a system is a potential tool for improving management practices, since one of the key points of establishing a crop in a given location is to operate with a minimum of losses and the maximum utilization of the available nutrients, which in turn represent a great cost in this production. One way to improve the efficiency of urea in plant nutrition is to associate it with compounds that allow the nitrogen to be maintained in the soil longer and offer a longer release time for this element. In this context, a topical material which may be associated with urea is alginate, a biodegradable polymer. Photoacoustic spectroscopy is a widely recognized, widespread and established technique for measuring gases in parts per million (ppm), parts per billion (ppb) and even part per trillion (ppt), using semiconductor based laser sources and operating in the near infrared range. This technique is based on the generation and detection of an acoustic wave within a resonator, from the incidence and absorption of modulated radiation and at a wavelength corresponding to an absorption line of the molecule of interest. In the last decades, several sensors have been developed and applied to the most diverse fields of science, having medical applications, industrial, and of course, in the field of scientific research. It was proposed to mount a photoacoustic spectrometer using a distributed feedback type (DFB) semiconductor laser that operates in the infrared range coupled to a compact photoacoustic cell, for the application in the detection of ammonia. The system was assembled and optimized, its detection limit being determined as 300 ppb.

Samples of pure urea and urea incorporated into the alginate were prepared and their ammonia emissions were measured by means of the spectrometer. The results for the investigated samples showed that the incorporation of urea into the polymer matrix reduced the ammonia emission rate of this material by more than 90% when compared to the pure urea result.

Conteúdo

Lista de Figuras	x
Lista de Tabelas	xiii
1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	17
3 REVISÃO DE LITERATURA	18
3.1 O Ciclo do nitrogênio	18
3.1.1 Fixação biológica do nitrogênio	18
3.1.2 Amonificação	20
3.1.3 Nitrificação	22
3.1.4 Desnitrificação	24
3.1.5 Influência antrópica no ciclo do nitrogênio	25
3.2 O nitrogênio e sua relação com a agricultura	27
3.2.1 Perda do Nitrogênio no processo de fertilização	27
3.2.2 Lixiviação do nitrato	29
3.2.3 Volatilização da amônia	31
3.3 O nitrogênio e potenciais problemas a saúde e ao ambiente	32
3.4 Polímeros: Conceitos básicos	35
3.4.1 Alginatos	35
3.5 Espectroscopia Fotoacústica	38
3.5.1 Geração do sinal fotoacústico	39
3.5.2 Absorção molecular	39
3.5.3 Produção do calor e geração das ondas de pressão no interior da célula fotoacústica	42
3.5.4 Fontes de radiação e espectroscopia fotoacústica	48
3.5.5 Modulação em amplitude (MA)	50
3.5.6 Modulação em comprimento de onda (MCO)	51
3.5.7 Célula fotoacústica diferencial	52

4	MATERIAIS E MÉTODOS	54
4.1	Montagem experimental	54
4.2	Amostras	57
4.2.1	Preparação das cápsulas de alginato com ureia	58
5	RESULTADOS	60
5.1	Medida e determinação da corrente de operação do <i>laser</i>	60
5.2	Determinação da frequência de ressonância da célula fotoacústica	63
5.2.1	Amônia (NH ₃)	64
5.2.2	Dióxido de carbono (CO ₂)	65
5.2.3	Outras espécies gasosas	66
5.2.4	Modulações	67
5.3	Limite de detecção	70
5.3.1	Possível influência do CO ₂	72
5.4	Emissão de amônia das amostras investigadas	75
5.4.1	Ureia	76
5.4.2	ALG09116	78
5.4.3	ALG0666	80
5.4.4	Comparativo entre as taxas de emissão das amostras	82
6	CONCLUSÃO	84
	Bibliografia	85
A	Elaboração dos programas para o controle do sistema de detecção utilizando o <i>Labview</i>	105
A	Resultados das medidas utilizando a configuração com o diodo <i>laser</i> NEC NX8562LB de 20 mW e 1531,95 nm	109

Lista de Figuras

1	Ciclo do nitrogênio no solo	18
2	Fixação global do nitrogênio no solo por fontes naturais e antrópicas em 2010 .	26
3	Emissão global de NH_3	28
4	Fluxo de água e de nitrato entre agregados no solo	30
5	Composição do alginato	36
6	Monômeros arranjados em blocos homopoliméricos	36
7	Monômeros arranjados em blocos heteropoliméricos	36
8	Geleificação do alginato e Estrutura <i>egg Box</i>	37
9	Esquema simplificado dos processos que ocorrem na geração do sinal fotoacústico	38
10	Representação ilustrativa da lei de Beer-Lambert	40
11	Esquema dos modos ressonantes longitudinal, azimutal e radial para um resso- nador cilíndrico de comprimento L e raio R	46
12	Exemplo de modulação em amplitude	50
13	Exemplo de modulação em comprimento de onda	52
14	Célula fotoacústica diferencial compacta e sua representação esquemática . . .	53
15	Esquema ilustrativo da montagem experimental	54
16	<i>Laser</i> acoplado a base e <i>Driver</i>	55
17	Colimador e Amplificador <i>Lock-in</i>	56
18	Fluômetro, Porta Amostras e B.O.D utilizados nas medidas	56
19	<i>Cold Trap</i>	57
20	Preparação das amostras por emulsificação	58
21	Cápsulas de alginato+ureia	59
22	Curva potência vs corrente do diodo <i>laser</i>	61
23	Espectro teórico de absorvância (HITRAN) e espectro correspondente ao sinal fotoacústico para o NH_3 em função da temperatura	62
24	Ajuste da função Comprimento de onda x Temperatura do <i>laser</i> EM4	63
25	Ressonância da célula fotoacústica para o NH_3	64
26	Ressonâncias da célula fotoacústica para diferentes concentrações de CO_2 . . .	65
27	Ressonância da célula fotoacústica para o nitrogênio, óxido nitroso e hélio . . .	66
28	<i>Scans</i> em comprimento de onda para o N_2 , N_2O e para o He	67
29	Modulações em comprimento de onda e amplitude	68

30	Relação entre o <i>background</i> e as amplitudes das modulações escolhidas	69
31	Relação entre o SSR e as modulações escolhidas	70
32	Dependência do sinal fotoacústico com a concentração, para o NH ₃	72
33	Espectros do CO ₂ e do NH ₃ sobrepostos	73
34	Dependência do sinal fotoacústico com a concentração para o CO ₂	74
35	<i>Scans</i> de comprimento de onda para diferentes concentrações de CO ₂	75
36	Monitoramento do tempo de emissão da amônia em função do sinal fotoacústico para 1,26 g de ureia	76
37	Taxas de emissão de amônia para 1,26 g de ureia em uma solução 50% v/v de urease em água	77
38	Taxa de emissão de amônia para 1,26 g de ureia em uma solução 50% v/v de urease em água	77
39	Monitoramento do tempo de emissão da amônia em função do sinal fotoacústico para 1,22 g de ureia incorporada	78
40	Taxas de emissão de amônia para 1,22 g de ureia em uma solução 50% v/v de urease em água	79
41	Taxa de emissão de amônia para 1,22 g de ureia em uma solução 50% v/v de urease em água	79
42	Monitoramento do tempo de emissão da amônia em função do sinal fotoacústico para 1,18 g de ureia incorporada	80
43	Taxas de emissão de amônia para 1,18 g de ureia em uma solução 50% v/v de urease em água	81
44	Taxa de emissão de amônia para 1,18 g de ureia em uma solução 50% v/v de urease em água	81
45	Comparativo entre as taxas de emissão de amônia da ureia e das amostras de ureia contendo alginato	83
46	Interface do programa desenvolvido para o <i>scan</i> de frequência	106
47	Interface do programa desenvolvido para o <i>scan</i> de temperatura	107
48	Interface do programa desenvolvido para a medida da intensidade do sinal com o tempo	108
49	Curva potência vs corrente do diodo <i>laser</i>	110
50	Varreduras para diferentes modulações em comprimento de onda e amplitude	111

51	Background vs modulação	112
52	Relação sinal ruído para diferentes modulações	112
53	Dependência do sinal fotoacústico com a concentração de amônia (<i>laser</i> NEC)	113
54	Sinal fotoacústico referente a medida da amostra ALG10115	114
55	Sinal fotoacústico referente as medidas das amostras ALG04116 e ALG04516	115
56	Sinal fotoacústico referente a medida da amostra ALG06716	116

Lista de Tabelas

1	Concentração de NH_3 e os respectivos problemas associados a sua exposição .	34
2	Características das cápsulas de alginato com ureia incorporada	59
3	Relação entre o comprimento de onda e temperatura do <i>laser</i> EM4	62
4	Valores dos fluxos utilizados na diluição da amônia e suas respectivas concentrações resultantes	71

1 INTRODUÇÃO

O nitrogênio é um elemento essencial na nutrição das plantas, sendo um importante constituinte dos aminoácidos, ácidos nucleicos e da clorofila, componentes essenciais da estrutura e manutenção de todas as suas atividades. Seu ciclo corresponde a um dos ciclos de nutrientes mais importantes da natureza, uma vez que o nitrogênio é um elemento que atua diretamente na dinâmica de funcionamento de muitos ecossistemas terrestres e marinhos [1]. Com isso, esse elemento torna-se um dos elementos mais absorvidos, uma vez que muitas das principais reações bioquímicas que ocorrem no interior dessas plantas envolvem a sua presença, sendo cerca de 1/4 do gasto energético da planta relacionado com a absorção do nitrogênio nas formas minerais: NH_4^+ (íon amônio) ou NO_3^- (nitrato) [2, 3].

A maior parte do nitrogênio do planeta encontra-se na litosfera ($1,6 \cdot 10^{11}$ Tg) como constituinte das rochas ígneas da crosta, do manto e do núcleo terrestre, enquanto que a atmosfera pode ser considerada um grande reservatório desse elemento pelo fato dele constituir 78% da sua composição gasosa, o que quantitativamente corresponde a cerca de $3,9 \cdot 10^9$ Tg. Na hidrosfera o nitrogênio aparece essencialmente na forma de N_2 , em especial nos oceanos corresponde a $2,3 \cdot 10^7$ Tg, ou seja, 95% do total. O restante de nitrogênio da hidrosfera está distribuído na forma de íon amônio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-) e nitrito (NO_2^-). O último e mais importante reservatório é o solo, onde o nitrogênio encontra-se na forma de matéria orgânica e NH_4^+ . Esta reserva corresponde a apenas $2,4 \cdot 10^5$ Tg [2, 4–6] que é um valor pequeno comparado aos demais reservatórios. Apesar do nitrogênio constituir uma grande porção da atmosfera e estar presente no solo, há escassez desse elemento como nutriente disponível para as plantas [2, 7]. Com relação ao N_2 atmosférico, a impossibilidade das plantas assimilarem esse nitrogênio é devido a grande estabilidade da molécula, que diferente de outras moléculas tais como CO (monóxido de carbono), NO (monóxido de nitrogênio) ou O_2 (dioxigênio), praticamente não é passível a reações químicas em condições naturais, uma vez que devido a ligação tripla entre os átomos de N, a sua energia de dissociação é alta, aproximadamente 225 kcal [2, 4, 5, 8]. Já com relação ao nitrogênio presente nos solos, o mesmo encontra-se imobilizado na matéria orgânica, estando assim não disponível para assimilação imediata pelas plantas e dependendo da ação de microrganismos, que por sua vez dependem de uma série de fatores e condições para que a sua atividade sobre esse material seja realizada [2, 3, 9].

O ciclo do nitrogênio é controlado por fatores físicos, químicos e biológicos, sendo afetado por condições climáticas que são difíceis de serem previstas ou controladas [2, 3, 6, 7, 9]. Em

se tratando de solos, devido ao alto grau de heterogeneidade entre os diferentes ambientes ou mesmo dentro de um próprio ambiente em específico no que diz respeito a dinâmica de nutrientes e composição, o ciclo do nitrogênio no sistema solo-planta é considerado muito complexo [2, 3, 8].

Neste sistema, o nitrogênio pode ingressar nesse sistema por fixação biológica¹ ou adubações, ao mesmo tempo que em contrapartida, pode sair por meio de mecanismos de perdas que incluem a volatilização e a lixiviação [2, 10–12]. Dentre esses processos de entrada do nitrogênio no sistema solo-planta, o mais importante a ser considerado é o da fixação biológica, pois a maior parte do nitrogênio disponível nos solos para a nutrição das plantas é obtida por meio desse processo [2, 3, 7, 13–15]. No entanto, quando necessário devido a problemas e deficiências relacionadas com a fixação biológica, o nitrogênio é empregado em grandes quantidades na forma de fertilizantes nitrogenados na agricultura, onde para a maior parte das culturas, representa o nutriente mais caro [2, 3]. Porém quando o fertilizante é utilizado em quantidades excessivas ou condições desfavoráveis, o nitrogênio fornecido é perdido ao ser transferido para outros ecossistemas, tornando-se então um poluente [9].

A agricultura é uma atividade de grande impacto ambiental que consome uma grande quantidade de água, polui fontes subterrâneas, libera amônia (NH_3) e gases de efeito estufa (óxido nítrico (NO), óxido nitroso (N_2O)) para a atmosfera. A principal fonte desses gases poluentes na agricultura é o fertilizante nitrogenado que tem, na maioria dos casos, a ureia ($(\text{NH}_2)_2\text{CO}$) na sua composição. A ureia, que se destaca por apresentar alto teor de nitrogênio (46%), é produzida em larga escala mundial, sendo mais de 90% de sua produção utilizada como fertilizante. Entretanto, o consumo efetivo da ureia pela planta é afetado pela perda de nitrogênio (N) devido à volatilização de amônia (NH_3), podendo atingir valores extremos de até 78% do N aplicado [2, 16]. Com isso, é plausível considerar que, para reduzir tais perdas de nitrogênio, melhores práticas de manejo e novas formulações de fertilizantes são necessárias.

Uma maneira de melhorar a eficiência da ureia na nutrição das plantas é associá-la a compostos que permitam manter por mais tempo o nitrogênio no solo e ofereçam maior tempo de liberação do NH_4^+ para o solo [17], garantindo vantagens econômicas, relacionadas à otimização do uso de fertilizante e com a redução da quantidade necessária de fertilizante em plantações e ambientais, uma vez que esses materiais podem reduzir a quantidade de amônia volatilizada para a atmosfera, quando oferece o nutriente de forma gradual a medida em que a planta o ab-

¹A fixação biológica do nitrogênio (FBN) é um processo que transforma o N_2 para outras formas reativas em sistemas biológicos. Será melhor explicada na seção 3.1.1.

surve. Nesse contexto, um material de destaque que pode ser associado a ureia é o polímero biodegradável. Os polímeros biodegradáveis são materiais que sofrem degradação pela ação biológica de microrganismos [18], sendo a biodegradação um processo de ocorrência natural no qual produtos orgânicos são convertidos em compostos mais simples, que por sua vez são redistribuídos no ambiente [19, 20]. A escolha desse tipo de polímero é estratégica, uma vez que quando comparados com os polímeros sintéticos, os polímeros biodegradáveis oferecem a vantagem de não terem que ser removidos do solo depois de serem usados [21], ou seja, não só não geram resíduos que elevam o custo da produção, como também evitam possíveis problemas relacionados com a poluição ambiental.

Com isso, o monitoramento das perdas de nitrogênio por volatilização da amônia é necessário para se estimar a eficiência de novos materiais no processo de retenção do nutriente, uma vez que diferentes matrizes podem oferecer diferentes formas de passagem ou retenção desse gás.

O desenvolvimento de tecnologias visando monitorar a emissão de gases em diversos níveis de traço (parte por bilhão, partes por milhão, partes por trilhão) é de grande destaque no cenário científico e, dentre as técnicas que podem ser utilizadas para monitorar a perda de nitrogênio do fertilizante por volatilização da amônia, destaca-se a espectroscopia fotoacústica (EFA). A espectroscopia fotoacústica está incluída nesta gama de desenvolvimento devido ao fato de ser uma técnica bastante precisa e sensível na identificação e quantificação da concentração gasosa para diversas moléculas de interesse. Com isso, vem sendo largamente utilizada na detecção de traços de gases [22–24], com inúmeros trabalhos de investigação aplicados à biologia e à agronomia no mundo [25–29] e, em particular, no Brasil [30–38].

2 OBJETIVOS

Como objetivo geral, pretendeu-se, por meio desse trabalho, aplicar a EFA na detecção de amônia e monitoramento do nitrogênio perdido pela volatilização da amônia oriunda da ureia. Para esse fim, um espectrômetro fotoacústico compacto foi montado. Para aumentar a eficiência de retenção de nitrogênio, a ureia foi incorporada a uma matriz polimérica biodegradável de alginato. Como objetivos específicos, houve a montagem e otimização de um espectrômetro fotoacústico compacto usando como fonte de radiação um diodo *laser*, bem como a elaboração, criação e execução de um programa de comunicação/automatização dos instrumentos (o amplificador *Lock-in* e o controlador de temperatura e corrente do laser) por meio da plataforma de controle *LabView*. Os métodos de modulação em amplitude e em comprimento de onda foram empregados. E por fim, a obtenção do menor limite de detecção possível de NH_3 (partes por bilhão).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 O Ciclo do nitrogênio

3.1.1 Fixação biológica do nitrogênio

A fixação biológica do nitrogênio (FBN) é um processo que transforma o nitrogênio atmosférico (N_2), uma molécula estável e abundante na atmosfera e que não pode ser utilizada pela maioria dos microrganismos e pelas plantas, na forma inorgânica NH_3 , que por sua vez sofre novas transformações para outras formas reativas, vitais para esses sistemas biológicos [2, 14, 39]. A FBN é um dos mais importantes processos conhecidos na natureza, sendo realizado por microrganismos procariontes conhecidos como fixadores ou diazotróficos, dos quais consistem em uma grande variedade de bactérias² que operam em simbiose, associadas a fungos e mais de 20 mil espécies de plantas, com destaque para a família *leguminosae* [2, 3]. Dentre essas diversas relações existentes na natureza, a simbiose entre *Rhizobium* e a leguminosa é a mais importante dentre os microrganismos e plantas, graças a elevada eficiência no processo de fixação e devido a grande distribuição geográfica de hospedeiros³, mostrando que elas apresentam uma ampla adaptação em diferentes condições ambientais sugerindo assim que essas bactérias tiveram e ainda tem um papel fundamental no ciclo vital da Terra [2, 3, 7, 13]. A figura 1 abaixo representa o caminho e as transformações que ocorrem com o nitrogênio no solo:

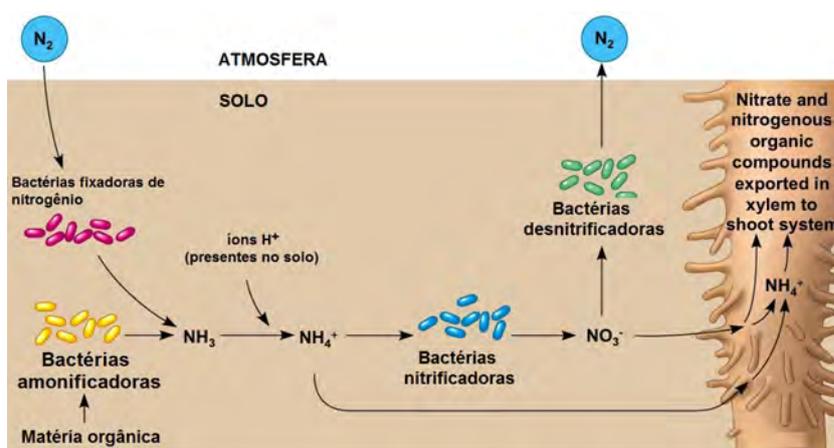


Figura 1: Ciclo do nitrogênio no solo [9]

No esquema acima são apresentadas duas fontes de nitrogênio na produção do NH_3 , nitrogênio atmosférico e material orgânico (húmus). A primeira corresponde ao nitrogênio atmosférico

²*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Frankia*, *Nostoc*.

³Leguminosas do tipo: soja, feijão, lentilha, ervilha, amendoim, etc.

capturado naturalmente pelas bactérias (fixação biológica), enquanto que a segunda corresponde ao nitrogênio oriundo do processo de amonificação (decomposição da matéria orgânica).

Os microrganismos fixadores de nitrogênio estão distribuídos entre os reinos *Archaea* e *Eurobacteria*, e todos eles possuem o complexo *nitrogenase*, um complexo enzimático redox-ativo que para fixar uma molécula de N₂ hidrolisa 16 moléculas de adenosina trifosfato (ATP) e transfere oito elétrons, promovendo a sua redução [8, 14, 15, 39]:

A FBN sendo essa reação de redução do N₂ para o NH₃



A fixação biológica do nitrogênio no solo é, energeticamente, um dos processos metabólicos mais dispendiosos para a célula [7, 39, 40], uma vez que é um processo fisiológico que requer grande quantidade de energia na forma de ATP fornecida pela planta através da fotossíntese. Tem como produtos a formação de ADP e Pi (fosfato inorgânico), que são reabsorvidos pela planta e reintegrados ao seu ciclo de síntese de compostos internos. Outro produto da reação é o NH₃, que reagirá com os íons H⁺ presentes no solo transformando-se em amônio (NH₄⁺), que pode vir a ser absorvido pela planta como nutriente [2, 3, 41]:



Como a produção de ATP depende da fotossíntese, a luz é considerada um fator chave para a ocorrência do processo de fixação biológica, juntamente aos fatores abióticos locais tais como: umidade, pH e temperatura [2, 3, 42]. Apesar de existirem regiões onde a fixação do nitrogênio pode funcionar em temperaturas abaixo de zero ou acima dos 40°C, essa reação ocorre de forma otimizada em uma faixa média de 20 a 30°C. Com relação a umidade, ela é um fator limitante nesse processo, pois a fixação ocorre em taxas muito baixas em solos secos [2, 4, 5]. No entanto, a faixa de ocorrência varia entre 6 e 80% de umidade relativa, podendo inclusive, atingir valores maiores que 100%. Já com relação ao pH, o mínimo para a atividade da *nitrogenase* é 4, sendo a reação ocorrendo de forma ótima em meios básicos cujo pH encontra-se na faixa entre 7 e 10 [41, 42]. Ao mesmo tempo que esses fatores abióticos afetam o processo de fixação do nitrogênio, outros fatores, de caráter fisiológico também são fundamentais, tais

como: disponibilidade energética da célula⁴, idade fisiológica⁵, concentração de O₂⁶ [2, 3]. Esses fatores atuam inibindo ou limitando a atividade da *nitrogenase*.

Quando bem aplicado/utilizado em sistemas agrícolas, o processo de fixação biológica do nitrogênio desempenha um papel de grande importância, contribuindo de forma significativa na nutrição das culturas em áreas cultivadas [2, 3, 7, 43]. Por ser a incorporação de nitrogênio por meio da FBN muito elevada, chegando a níveis de 65% de nitrogênio em uma cultura, pode-se gerar grande economia com fertilizantes para atender a crescente demanda por alimentos no mundo [7].

3.1.2 Amonificação

O processo de amonificação corresponde a transformação do N da forma orgânica para inorgânica (NH₃ e posteriormente NH₄⁺), sendo esse processo realizado por um grupo muito variado de microrganismos do solo que utilizam os compostos orgânicos (biomassa morta) como substrato e fonte de energia para a realização das suas funções metabólicas [44, 45]. Como pode ocorrer de forma natural, a amonificação é um processo de grande interesse agrônomo, uma vez que a matéria orgânica no solo é um reservatório natural de nitrogênio utilizável pelas plantas ou possíveis culturas [2–4]. Nesse processo, inúmeras enzimas (dentre as quais se destacam: a *protease*, *peptidase* e *aminoácido desidrogenase*) agem como catalizadoras em diferentes fases do processo para quebrar as ligações das proteínas, peptídeos, amidas, aminas e aminoácidos [44, 46]. As reações abaixo demonstram a mineralização do nitrogênio orgânico, parte inicial da sequência do processo de amonificação:



Na sequência acima, que pode ser dividida em duas etapas, as macromoléculas constituintes das proteínas provenientes da biomassa morta são primeiramente transformadas em moléculas

⁴Energia essa produzida nas mitocôndrias, oriunda da oxidação dos compostos orgânicos no processo de respiração celular.

⁵É um fator não trivial, uma vez que a capacidade de metabolizar os compostos orgânicos e a consequente produção de energia vão, ao longo do tempo de vida da célula, perdendo eficiência.

⁶A respiração celular nesses casos é aeróbica e, na ausência do oxigênio, a célula para a respiração aeróbica e começa a realizar catabolismo anaeróbico.

mais simples de aminoácidos pela ação da enzima *protease*, tendo também como produtos o dióxido de carbono (CO₂) e energia [2, 4]. Em seguida, as moléculas de aminoácido produzidas na primeira etapa são quebradas pela enzima *aminoácido desidrogenase*, liberando energia para o ambiente, produzindo um radical orgânico R que depende da natureza do substrato orgânico utilizado pelos microrganismos e, finalmente o NH₃.

Na terceira etapa do processo de amonificação, a amônia oriunda da quebra dos aminoácidos reage com os íons H⁺ presentes no solo formando NH₄⁺ (tal como descrito na equação na seção 3.1.1)⁷, tornando assim o nitrogênio disponível para a absorção das plantas [39, 45]. Os íons amônio formados nessa reação poderão ser absorvidos diretamente pelas plantas, ou passarão pelos processos de nitrificação onde serão transformados em nitritos e nitratos, com esse último podendo ser também absorvido pelas plantas, ou transformados em N₂ por desnitrificação [10, 47].

Como consequência do consumo de íons H⁺ do solo, o processo de amonificação tem como resultado um aumento do pH do meio, ou seja, tornando-o menos ácido e conseqüentemente mais básico. Graças à grande variedade de organismos envolvidos, essas reações ocorrem em uma ampla gama de condições de acidez, temperaturas e umidade [2, 45]. No entanto, como é um processo 100% dependente desses microrganismos, as condições ideais para a amonificação são aquelas que favorecem a sua atividade: condições aeróbicas, pH entre 6 e 7, umidade em torno de 50 a 70% da capacidade total de retenção de água pelo solo em questão e temperatura entre 40 e 60°C [2, 45]. Tais condições são também favoráveis ao crescimento das plantas, o que é sugestivo pensar, uma vez que esse é um processo responsável pela nutrição das plantas em ambientes naturais como por exemplo: florestas e solos recém abertos a culturas agrícolas, sem adição de fertilizantes [2–4].

Ainda com relação a temperatura, umidade e disponibilidade de O₂, a amonificação é um processo bastante sensível [2, 4, 5, 45]. A taxa de amonificação pode aumentar de duas a três vezes a cada 10°C de elevação da temperatura, num intervalo de 10 a 40°C, o que pode ser observado em condições tropicais onde o solo encontra-se sob efeito de variações na temperatura ao longo de todo o ano, fazendo com que a taxa de amonificação e conseqüente queda no estoque do nitrogênio orgânico presente no solo sejam maiores [2].

O aumento e a redução da umidade também influencia e limita o processo de amonificação, podendo ele continuar ocorrendo mesmo quando o solo encontra-se seco, levando a um acú-

⁷Esse processo depende do pH do solo.

mulo de N inorgânico durante esses períodos [4, 5]. No entanto, o molhamento do solo seco parece estimular a amonificação e provocar picos de liberação do nitrogênio disponível, o que é explicado pelo estímulo e crescimento das plantas após chuvas que ocorrem depois de um período seco [2]. Em contrapartida, a amonificação também tende a decrescer a medida que a umidade do solo aumenta e se aproxima do ponto de saturação, podendo continuar a ocorrer por meio de microrganismos aeróbios facultativos ou por alguns anaeróbicos, que passam a atuar [2, 5]. Cabe ressaltar que apesar de continuar ocorrendo nessas condições, o processo fica bastante limitado, assim como ocorre em condições de baixa disponibilidade ou ausência de O₂, onde a decomposição da matéria orgânica passa a ser incompleta e o rendimento energético é menor, resultando em taxas de amonificação mais baixas do que as que ocorrem em condições aeróbicas [2, 4].

3.1.3 Nitrificação

O nitrogênio na forma mineral fixado ao solo, tanto pelo processo natural de amonificação quanto pela inserção de fertilizantes nitrogenados e que se encontra no solo na forma de NH₄⁺, pode ser rapidamente absorvido pelas plantas e/ou microrganismos como nutriente, caso haja carbono disponível no meio [2, 3]. Entretanto, é muito comum que nos solos utilizados por culturas agrícolas haja limitação de carbono, levando o NH₄⁺ a ser consumido rapidamente pelos microrganismos nitrificadores que transformam esse amônio disponível para nutrição vegetal em outras formas minerais [3].

A nitrificação [48, 49] pode ser considerada uma sequência do processo de amonificação e corresponde a oxidação do nitrogênio na forma amoniacal (NH₄⁺) para nitritos (NO₂⁻) e posteriormente para nitratos (NO₃⁻), sendo realizado no solo por bactérias quimioautotróficas conhecidas como bactérias nitrificadoras (*Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosococcus* e *Nitrobacter*) que obtém energia necessária no processo para sintetizar os seus constituintes celulares e manutenção das suas atividades a partir da disponibilidade adequada de carbono no solo [2]. As reações que ocorrem no processo de nitrificação são catalizadas pelas enzimas *monoxigenase* e *oxidoreductase* [14, 50, 51].

A nitrificação ocorre em duas etapas. Na primeira, o amônio (NH₄⁺) é oxidado e convertido em nitrito (NO₂⁻):



Nessa primeira etapa do processo de nitrificação, as bactérias do gênero *Nitrosomonas* são consideradas mais importantes por serem mais ativas [52], principalmente quando o sistema se trata de solos em ambientes naturais. Em contrapartida, as bactérias do gênero *Nitrospira* são mais numerosas quando se trata de solos onde há produção agrícola [53], fazendo com que nessas condições ocorra uma maior contribuição para a produção de nitrito.

Um ponto importante dessa etapa a ser considerado devido as potenciais alterações a nível de qualidade do solo, é o fato de que para cada mol de NH_4^+ há a liberação de dois moles de H^+ . Assim sendo, pode-se dizer que essa reação representa uma importante contribuição para a acidificação de solos agrícolas, especialmente aqueles adubados com fertilizantes nitrogenados [2, 4], onde a nitrificação pode ocorrer de forma mais intensificada devido ao manejo inadequado desses fertilizantes.

Na segunda etapa, o (NO_2^-) produzido é oxidado a nitrato (NO_3^-) por meio das bactérias do gênero *Nitrobacter* através da reação [2, 14, 50, 51]:



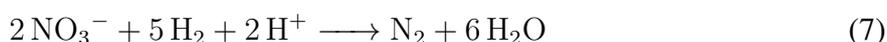
Nessa segunda etapa, o nitrato é o produto final da reação de nitrificação, sendo essa também uma das formas minerais do nitrogênio que pode ser absorvida pelas plantas [3].

Graças a adaptação dos organismos nitrificadores a diversas condições de ambiente, eles se encontram vastamente distribuídos pelos solos, e assim, a nitrificação pode ocorrer em condições bastante variadas [54]. No entanto, por se tratar de um processo ocorrente em um sistema complexo que é o solo, a nitrificação pode ser afetada por diversos fatores, tais como: a disponibilidade de nitrogênio na forma amoniacal e O_2 , o pH, a umidade e a temperatura [2, 54]. A nitrificação trabalha em uma faixa ótima com um pH entre 4,7 e 6,5. Ambientes com pHs abaixo de 4,0 e acima de 7,0 promovem a inibição da atividade dos microrganismos nitrificadores e as respectivas enzimas catalizadoras, tendo como consequência a inibição do processo [2, 4, 54]. Com relação a temperatura, a nitrificação ocorre de forma maximizada em uma faixa que vai de 25 a 40°C, praticamente não ocorrendo a temperaturas abaixo de 4°C e acima de 60°C, devido a efeitos que vão desde a alteração na solubilidade do O_2 disponível no solo até a redução ou interrupção da atividade dos microrganismos nitrificadores. Assim como a temperatura, a umidade tem um efeito direto sobre a atividade dos microrganismos nitrificadores. A nitrificação acontece de forma otimizada quando o solo apresenta umidade de 50 a 70% da capacidade de retenção de água [2, 54], percentual esse correspondente não só ao essencial para

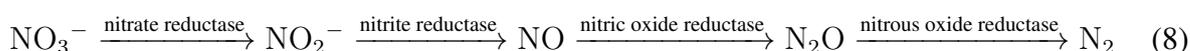
o desenvolvimento desses microrganismos no solo, mas também para promover espaço poroso o suficiente para a difusão do O₂ necessário no processo, uma vez que ocorre em condições aeróbicas [54, 55].

3.1.4 Desnitrificação

Em contrapartida ao processo de nitrificação, a desnitrificação [48, 52, 56, 57] consiste na conversão do nitrato (NO₃⁻) em nitrogênio (N₂), por meio de bactérias desnitrificadoras anaeróbicas [14, 58] que utilizam o NO₃⁻ como substrato na sua respiração celular. Existem mais de 125 espécies de bactérias capazes de realizar o processo de desnitrificação, incluindo fototróficas, litotróficas e organotróficas, que utilizam, luz, compostos inorgânicos e carbono orgânico, respectivamente. Dentre esses três grupos, o mais significativo na realização desse processo é o das organotróficas [2, 59]. A desnitrificação é considerado um processo significativo na perda de nitrogênio do solo para a atmosfera [60–62] e corresponde a redução completa do NO₃⁻ para o N₂, podendo a reação química que representa o processo ser demonstrada da seguinte forma [14, 39, 61]:



Na reação acima, é possível verificar que a desnitrificação consome íons H⁺, o que leva a uma alcalinização do solo, revertendo parte da acidez produzida durante a nitrificação [2]. No entanto, a disponibilidade de material orgânico no solo aliada a altas concentrações de NO₃⁻ podem favorecer a produção de produtos intermediários, dentre os quais se destaca o N₂O, importante gás estufa e intermediário nas reações que resultam na destruição do ozônio na estratosfera [63, 64]. O esquema abaixo é referente ao processo de desnitrificação dividido em etapas, correspondentes as reduções sucessivas do nitrogênio na forma de diferentes substratos [2, 59]:



O esquema acima corresponde a um conjunto de reações na qual os substratos são reduzidos pelas bactérias desnitrificantes aliadas as suas enzimas específicas *nitrate reductase*, *nitrite reductase*, *nitric oxide reductase*, e *nitrous oxide reductase*, começando pelo nitrato (NO₃⁻) até

o N_2 . Desse conjunto, os principais gases resultantes são o N_2O e o N_2 [2, 47, 52, 65], cujas proporções são variáveis de acordo com as condições do meio. Apesar disso, ainda há controvérsia se o óxido nítrico (NO) é um intermediário obrigatório ou um subproduto, mas sabe-se que não é produzido em quantidades significativas no processo [2, 4]. Assim, como a desnitrificação pode ser realizada por uma grande variedade de microrganismos, o processo pode ocorrer em uma ampla gama de condições. Em termos de umidade, a desnitrificação ocorre em solos inundados e bolsões de solos saturados com água, criando assim condições anaeróbicas devido a baixa difusão do O_2 no solo nessas condições e em contrapartida a alta difusão do NO_3^- . Com relação ao pH, o processo ocorre de forma otimizada em uma faixa que varia de 6 a 8, sendo inibida em ambientes cujo pH está abaixo de 4. Já com relação a temperatura, a desnitrificação ocorre de forma ótima a $30^\circ C$, não ocorrendo a temperaturas abaixo de 5 e maiores que $75^\circ C$ [2, 52, 55, 61].

A desnitrificação é o principal processo biológico pelo qual o nitrogênio reativo presente no solo retorna à atmosfera na forma de N_2 , podendo gerar produtos intermediários. Do ponto de vista agrícola, a desnitrificação representa a perda de um nutriente importante, mas esse processo é parte crucial do ciclo global do nitrogênio, especialmente porque representa uma das maneiras de despoluir sistemas com excesso de NO_3^- [57, 59], um potencial nutriente para as plantas ao mesmo tempo em que é muito tóxico para outros seres vivos, principalmente quando presente na água.

3.1.5 Influência antrópica no ciclo do nitrogênio

Muitas atividades humanas têm realizado um impacto significativamente no ciclo do nitrogênio. A queima de combustíveis fósseis, a pecuária e a aplicação de fertilizantes nitrogenados tem contribuído drasticamente no aumento da quantidade de nitrogênio disponível nos ecossistemas terrestres [66]. Desde o século passado, o desenvolvimento de novas práticas agrícolas para otimizar a produtividade das culturas e satisfazer a crescente demanda mundial por alimentos tem desequilibrado o ciclo do nitrogênio na Terra, que vem evoluindo e auto equilibrando-se há aproximadamente 2,5 milhões de anos [67]. Esses processos têm causado aumento nas taxas de desnitrificação e lixiviação de nitratos para os lençóis freáticos, que ocasionalmente fluem para córregos, rios, lagos e estuários. Nesse mesmo contexto, a pecuária libera uma grande quantidade de amônia no ambiente, e assim como na fertilização agrícola, esse nitrogênio em excesso também é volatilizado, desnitrificado e lixiviado, contaminando os lençóis e liberando

gases na atmosfera [68–70].

Nas últimas décadas as fontes antropogênicas contribuíram com o dobro da taxa natural de fixação de nitrogênio terrestre, fornecendo cerca de 50% do nitrogênio total fixado por ano na Terra [69]. Como a desnitrificação também pode produzir N_2O como produto intermediário, a utilização de fertilizantes nitrogenados pela agricultura corresponde a uma potencial fonte de N_2O para a atmosfera, o que representa cerca de um terço das emissões de N_2O globais [2, 6, 39, 53, 67] e uma grande ameaça, devido ao alto potencial estufa desse gás⁸.

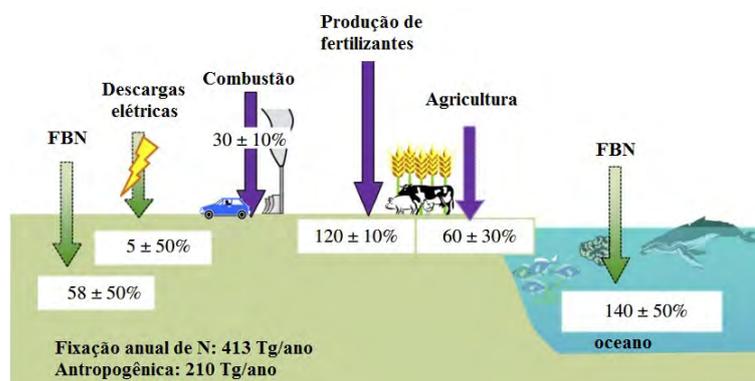


Figura 2: Fixação global do nitrogênio no solo por fontes naturais e antrópicas em 2010 [69]

A figura 2 representa, esquematicamente, a produção de nitrogênio tanto pelos processos naturais quanto os antropogênicos e suas respectivas e proporcionais contribuições. Além do já descrito (na seção 3.1.1) processo de fixação biológica, há também um processo natural no qual o nitrogênio torna-se disponível para os organismos vivos presentes no solo por meio de descargas elétricas na atmosfera, denominado fixação atmosférica. Nele, a alta energia fornecida pelas descargas elétricas dos raios quebra a ligação tripla existente entre as moléculas de nitrogênio, permitindo que elas reajam com o oxigênio e formem óxidos de nitrogênio. Esses óxidos se dissolvem na água da chuva, caem no solo e formam nitrato, que então pode ser absorvido pelas plantas [71, 72]. No entanto, é um processo cuja contribuição varia entre 5 e 8% da taxa de produção anual, apenas [69].

A fig. 2 demonstra também que as atividades antrópicas são responsáveis por praticamente metade da fixação de nitrogênio global (413 Tg/ano) para os ecossistemas terrestres e marinhos. Também é possível notar que com relação a fixação do nitrogênio no solo por meio das atividades antrópicas, a produção de fertilizantes nitrogenados contribui de forma mais significativa, com 120 teragramas por ano [69, 70], o que representa um aumento relativo ao período

⁸Será melhor explicado na seção 3.3.

considerado na figura e o dobro da fixação biológica oriunda das práticas agrícolas⁹. Esse aumento é algo esperado, uma vez que as tendências de aumento na população e o consequente aumento na demanda por alimentos exigem mais da agricultura, que por sua vez vai exigir cada vez mais fertilizantes a base de nitrogênio [66]. Assim sendo, espera-se que o aumento no fluxo de nitrogênio devido a intervenções antrópicas esteja fadado a aumentar com os anos [58, 70], acompanhando esses crescimentos e demandas da humanidade por alimentos e lucro.

3.2 O nitrogênio e sua relação com a agricultura

O nitrogênio é o elemento exigido em maiores quantidades pelos vegetais na execução e manutenção dos processos envolvendo o seu metabolismo, que vão desde a síntese de aminoácidos úteis na produção de enzimas e de proteínas envolvidas na construção da estrutura e forma da planta, até os componentes fotossintéticos necessários para sustentar seu crescimento, desenvolvimento e produção [73, 74].

Como o nitrogênio atmosférico não está disponível para a absorção direta por parte da planta, ela depende de fontes inorgânicas de nitrogênio como o NO_3^- e NH_4^+ para sua nutrição. Em solos degradados, a baixa disponibilidade desse elemento é uma das principais limitações na produtividade agrícola [75, 76], tornando-se assim indispensável para a nutrição e desenvolvimento das culturas o uso intensivo de fertilizantes. No entanto, quando feito a partir do manejo inadequado (aplicado em excesso ou de forma irregular), os fertilizantes nitrogenados podem ocasionar perdas econômicas e problemas ambientais por meio da volatilização de NH_3 e lixiviação de nitratos (NO_3^-), além do lançamento de gases estufa como o N_2O na atmosfera, produtos resultantes da sua reação com os microrganismos presentes no solo e na água [13, 14, 39, 77–80].

3.2.1 Perda do Nitrogênio no processo de fertilização

O fertilizante é o insumo vital para o desenvolvimento da produção agrícola e está diretamente associado à indústria de produção de alimentos, essencial para toda a população de um país ou região [81]. A ureia é o fertilizante nitrogenado mais utilizado na produtividade das culturas, uma vez que apresenta na sua composição 46% de nitrogênio [82]. A hidrólise da ureia é uma reação catalizada pela enzima *urease*, presente em diversos grupos de bactérias e

⁹Que nesse caso específico, engloba tanto atividades de cultivo de culturas quanto a pecuária.

fungos ¹⁰, ocorrendo da seguinte forma [12, 82, 83]:



A reação de hidrólise da ureia consome íons H^+ do solo, o que provoca elevação do pH ao redor da zona de aplicação, e tem como produtos o íon amônio (NH_4^+) e o ácido carbônico, sendo a eficiência ou mesmo a ocorrência dessa reação dependente de fatores como: pH, temperatura e umidade [2, 12]. Apesar da ampla diversidade de microrganismos associados a *urease*, essa enzima não tolera ambientes com pHs e temperaturas extremos, tendo a faixa de atividade restrita a pHs entre 7 e 9 e temperaturas entre 25 e 35°C [2, 3, 12]. Com relação a umidade, essa reação ocorre de forma otimizada para valores de umidade acima de 20%, devido ao aumento da atividade da enzima [10, 82–88]. Conforme já discutido anteriormente, o NH_4^+ oriundo dessa reação é a fonte de nitrogênio da planta e nutriente essencial no seu desenvolvimento e constituição. No entanto, quando aplicado de forma inadequada, grande parte desse nutriente pode ser volatilizada. Como consequência, o nitrogênio não será aproveitado pela planta e somado a essa perda, uma quantidade significativa de gases é lançada para a atmosfera [48, 70, 79, 89, 90]. Assim sendo, devido a sua larga utilização ao redor do mundo, pode-se dizer que os fertilizantes nitrogenados contribuem de forma significativa com a emissão de amônia.

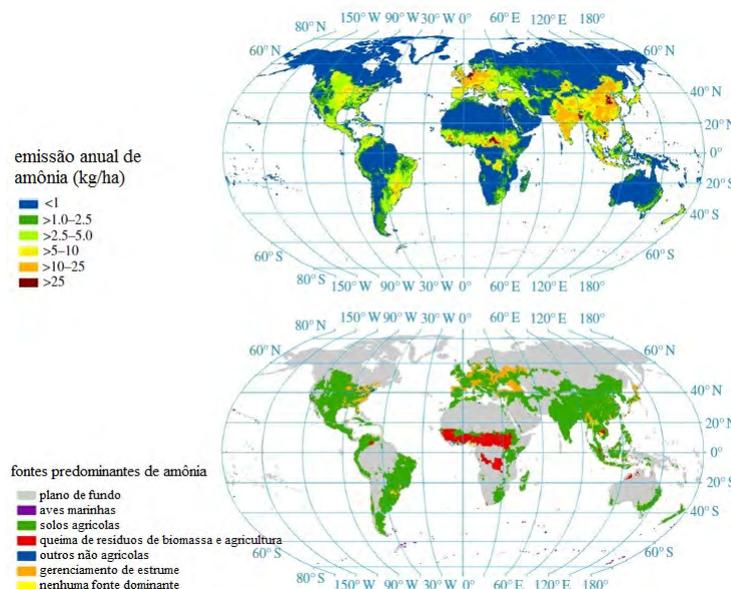


Figura 3: Emissão global de NH_3 [70]

¹⁰*Sarcina urea, Bacillus lentus, B. pasteurii, B. sphaericus, B. subtilis, Lactobacillus reuteri, L. animalis, L. fermentum, Streptococcus salivarius, S. minor, S. thermophilus, Staphylococcus epidermidis, Aspergillus, Coprinus, Neurospora, Penicillium, Ustilago, A. flavus, A. fumigatus, A. niger, Fusarium nivale, Humicola grisea, Paecilomyces silvatica, Penicillium brevicompactum, P. notatum, Sepedonium chrysospermum*[82, 83]

A figura 3 permite concluir que as maiores taxas de emissão de amônia estão diretamente relacionadas com a agricultura, que por sua vez, está diretamente associada ao consumo de fertilizantes nitrogenados. As emissões de amônia e de óxidos de nitrogênio aumentaram consideravelmente desde os tempos pré industriais [79], quando os fertilizantes nitrogenados passaram a estar disponíveis. A emissão de amônia e gases estufa por meio de fertilizantes nitrogenados corresponde a segunda maior taxa, perdendo apenas para a pecuária [11], e estima-se que 40% desse fertilizante volta para a atmosfera por desnitrificação [91]. De 1990 a 2000 a emissão de amônia para a atmosfera saltou de 6,4 Tg para 12,6 Tg [70] enquanto em 2010, 60 Tg de amônia junto com 13 Tg de N_2O e 5 Tg de NO foram lançados na atmosfera [69], o que corresponde a um aumento de aproximadamente 5 vezes na emissão de NH_3 em relação a 10 anos atrás e praticamente 50% do valor total fixado no solo como fertilizante. Dos 60 Tg de NH_3 lançados na atmosfera ao ano, estima-se que 75% correspondem a ação antrópica, sendo que a pecuária ainda é a principal fonte desse gás emitido, contribuindo com 22 Tg ao ano. Assim, nesse mesmo contexto as contribuições oriundas da fertilização também são relevantes, já que correspondem a cerca de 13 Tg anuais [69].

A perda desse nitrogênio tanto por volatilização da amônia quanto pela desnitrificação e lixiviação de nitratos é ambientalmente um fator preocupante, já que o gás amônia e os produtos da suas reações tem um enorme potencial em desencadear transformações no ar, na água e no solo dos ecossistemas ao redor [2, 3, 92]. Além da amônia ser um gás tóxico e prejudicial para a respiração humana, os nitratos formados pela oxidação dessa amônia movem-se pelo solo carreando íons (Ca^{2+} , por exemplo), empobrecendo-o. Posteriormente, chegam até os lençóis freáticos, lagos e oceanos, onde aumentam a acidez, levam a instabilidade na produção, diversidade das espécies e favorecem a produção de N_2O por desnitrificação [1, 39, 68, 93].

3.2.2 Lixiviação do nitrato

De forma geral, a lixiviação é um processo no qual nutrientes são carregados através do solo devido a sua solubilidade em água, quando o sistema está inundado por chuvas ou por irrigação excessiva [94]. O nitrato (NO_3^-), nutriente produzido pelo processo de nitrificação a partir da amônia oriunda da matéria orgânica do solo ou pela adição de fertilizantes nitrogenados, possui baixa interação química com os minerais do solo [2]. Isso, aliado a predominância de cargas negativas nas camadas superficiais do solo fazem com que esse NO_3^- esteja sujeito a ser lixiviado para as camadas mais profundas, podendo assim atingir tanto águas superficiais

quanto o próprio lençol freático [94, 95]. O esquema abaixo serve para representar o que ocorre com o nitrato carregado pela água ao longo do solo, através dos seus agregados:

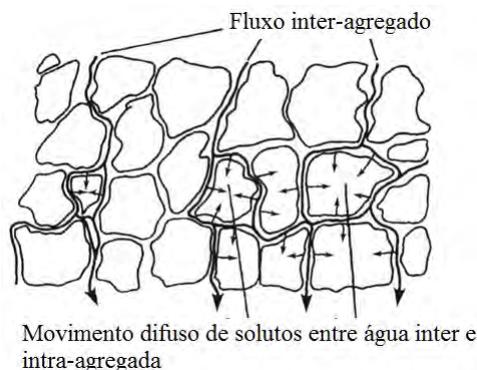


Figura 4: Fluxo de água e de nitrato entre agregados no solo [2]

A lixiviação do NO_3^- é fortemente dependente da quantidade de água que percola no solo [2, 94, 95]. Assim, irrigação e chuvas são dois grandes contribuidores nesse processo, que aliados a textura do solo, sua permeabilidade e capacidade de retenção, rachaduras e tamanho de poros, podem promover a rápida lixiviação desse nitrato ao longo da seção do solo devido a rápida difusão da água [2, 3]. Solos de regiões mais secas não sofrem perdas por lixiviação devido ao fato da água não penetrar além da profundidade do solo. Em solos agrícolas, a lixiviação ocorre geralmente no início do ciclo da cultura, quando as plantas têm poucas raízes para absorver o nitrogênio na forma mineral [3, 5].

No solo, há uma intensa competição pelo nitrogênio mineral entre as plantas e os microrganismos, o que pode reduzir as perdas por lixiviação, pelo fato das bactérias nitrificadoras levarem desvantagem na disputa com as plantas e com outros microrganismos pelo NH_4^+ [2, 96]. Com isso, solos que recebem nitrogênio em excesso acima das necessidades das plantas e dos microrganismos, tais como solos utilizados por culturas agrícolas, são considerados fontes de NO_3^- lixiviáveis para o ambiente [2, 5, 94, 95].

Quando ocorre de forma periódica, a lixiviação remove a maioria do nitrogênio mineral na forma de nitrato dos solos permeáveis em regiões úmidas [2, 94, 95]. No entanto, o nitrato pode ser movido para partes mais baixas do solo, ao alcance somente de plantas mais desenvolvidas, enquanto plantas mais jovens que dependem mais desse nitrogênio e cujo sistema radicular não está completamente desenvolvido, não alcançam essa fonte de nitrato [5]. Assim sendo a lixiviação é um processo que tem o potencial não só de contaminar águas, mas também de contribuir para perdas em uma cultura agrícola, envolvendo desperdício de material e baixo desenvolvimento das plantas, uma vez que carregado através do solo para regiões mais baixas,

esse nutriente deixa de estar disponível [53].

3.2.3 Volatilização da amônia

A principal desvantagem da ureia é a possibilidade de perdas por volatilização do NH_3 , quando o fertilizante é aplicado no solo [2, 10, 12, 92]. Devido ao fato de ser demorada e muitas vezes custosa quando comparada a aplicação superficial, muitos produtores descartam a incorporação mecânica dessa ureia no solo e optam pela aplicação superficial, mesmo sabido que grandes perdas podem ocorrer se as doses de fertilizantes forem altas [5, 10, 16].

A magnitude das perdas de NH_3 depende de uma complexa combinação de fatores ambientais tais como: temperatura, umidade e vento, que afetam diretamente o processo, ora aumentando, ora diminuindo as perdas. A precipitação ou a irrigação são fatores chave, uma vez que a volatilização do NH_3 está diretamente relacionada com a reação de hidrólise da ureia, com picos de perda podendo ocorrer no primeiro dia de aplicação, quando as condições são favoráveis a essa reação [10, 12, 97]. As perdas por volatilização de amônia em solos dependem do pH, pois solos alcalinos ($\text{pH} > 7$), os fertilizantes nitrogenados amoniacais estão sujeitos a maiores perdas, devido a otimização da atividade da enzima *urease* [2, 3, 5, 10, 82]. Similar ao que foi demonstrado na subseção 3.1.2, a amônia oriunda da aplicação do fertilizante absorve os íons H^+ presentes no solo e forma íons NH_4^+ , tornando-o mais alcalino e favorecendo ainda mais a reação de hidrólise, o que se intensifica cada vez mais, caso a dose de fertilizante seja mais alta que a necessária para aquela porção do solo [2, 3].

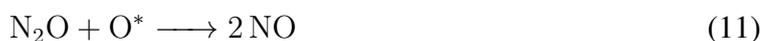
A temperatura do solo afeta a taxa de hidrólise e a evaporação água, fazendo com que o aumento da temperatura esteja diretamente relacionado ao aumento das perdas de NH_3 por volatilização [2, 10, 12]. No entanto, se houver um secamento rápido do solo, as perdas por volatilização caem, acompanhando a redução ou interrupção da hidrólise da ureia [98, 99]. Ainda com relação a isso, as perdas por volatilização do NH_3 são reduzidas a temperaturas baixas, entre 8 e 16°C e aumentam drasticamente a temperaturas próximas a 40 °C, o que explica o fato do potencial de volatilização do NH_3 ser muito maior em regiões tropicais ou cultivos de verão, do que em regiões de clima temperado ou culturas de outono-inverno [2, 3, 5, 92].

Ainda que a concentração de NH_3 na atmosfera seja baixa e que esse gás tende a se dispersar rapidamente, as perdas econômicas inerentes a essa volatilização, bem como potenciais problemas de saúde relacionados a sua inalação pelos seres vivos tornam essa questão de alguma forma pertinente.

3.3 O nitrogênio e potenciais problemas a saúde e ao ambiente

Ao mesmo tempo em que o nitrogênio em suas formas minerais é um nutriente de enorme valor para praticamente todos os ecossistemas, ele pode se tornar um poluente nos processos de transformação que sofre no solo bem como quando transferido de um ecossistema para o outro [96]. Em sistemas agrícolas, o transporte do nitrogênio na forma amoniacal (NH_4^+) ocorre primeiramente na superfície do solo, o dos óxidos nítrico (NO) e nitroso (N_2O) por meio da atmosfera, enquanto que o NO_3^- se movimenta por meio das águas superficiais e pela lixiviação através do solo [2, 96].

Conforme citado nas seções anteriores, processos biológicos relacionados a ecossistemas naturais ou de cultivo de culturas originam uma parte considerável do NH_3 e de óxidos de nitrogênio tais como o NO e o N_2O , sendo esse último o mais abundante na atmosfera e que representa uma grande ameaça a nível ambiental [39, 67] principalmente por ser o quarto mais importante gás do efeito estufa, depois do vapor d'água, do CO_2 e do CH_4 , estando diretamente relacionado a destruição do ozônio [53, 61, 63, 100]. O N_2O constitui uma pequena parte da atmosfera e estratosfera, porém apresenta potencial de aquecimento global equivalente a 300 vezes ao do CO_2 , correspondendo a 6% do efeito estufa de origem antropogênica [101]. O N_2O é muito estável no ar e a sua decomposição ocorre pela sua interação com a radiação U.V, somente na estratosfera [64, 102]. No entanto, parte desse N_2O reage com o oxigênio reativo oriundo da fotólise do ozônio (O_3), formando NO e posteriormente NO_2 :



Onde o produto $h\nu$ representa a energia radiação ultravioleta que interage com a molécula de ozônio e O^* o oxigênio reativo, produto da reação. Os termos h (J.s) e ν (s^{-1}) correspondem a constante de Plank¹¹ e a frequência da radiação ultravioleta, respectivamente. Como produtos relativamente instáveis, o NO e o NO_2 possuem um tempo de residência na atmosfera de poucos dias, diferente do do N_2O que possui um período de 70 a 120 anos [2, 6]. Assim sendo, o N_2O

¹¹De valor $6,62 \cdot 10^{-34}$ J.s, aproximadamente.

possui um papel de grande relevância no processo de destruição da camada de ozônio, e ainda que as fontes fósseis representem a maior parte da emissão desse gás na atmosfera, estima-se que a contribuição da agricultura como fonte global de N₂O seja da ordem de 35% [2, 6, 53], o que realmente torna pertinente a consideração da sua emissão para a atmosfera.

Problemas associados ao excesso de NO₃⁻ no ambiente tem levado a regulamentação e ao controle de práticas agrícolas em países como Estados Unidos e até no continente europeu, com o estabelecimento de limitações nas dosagens de adubos nitrogenados orgânicos e minerais em áreas sensíveis [2, 5] já que o NO₃⁻ é um potencial contaminante do ambiente, devido o fato de apresentar grande mobilidade no solo e assim chegar a águas tanto superficiais quanto no próprio lençol freático [53].

Para o NO₃⁻, a organização mundial de saúde recomenda que a sua concentração máxima seja de 50 mg/L [103], sendo esse limite adotado por diversos países que utilizam esse dado como referência para o estabelecimento de políticas para controlar a concentração de NO₃⁻ nas suas águas, o que leva os produtores a terem que adequar as suas práticas de manejo quando utilizam os fertilizantes nitrogenados. Essa preocupação é pertinente, uma vez que altas concentrações de NO₃⁻ na água potável representa um sério risco a saúde humana [104]. Quando os níveis são altos, os microrganismos no estômago podem converter esse nitrato em nitrito (NO₂⁻), que além de um potencial causador do câncer de estômago e hipertensão, quando na corrente sanguínea converte a hemoglobina em metemoglobina, que por sua vez é ineficaz no transporte de oxigênio através do sangue [104–106].

Além dos problemas de saúde associados ao consumo direto das águas contaminadas, o NO₃⁻ também contribui na eutrofização das águas superficiais, um fenômeno caracterizado pela excessiva produção de algas e plantas aquáticas, devido a elevada oferta de nutrientes no meio [2, 107]. Ainda que a princípio esse efeito pareça benéfico devido o fato de possivelmente desencadear um aumento na produtividade de peixes, conseqüente da maior oferta de alimento, níveis elevados de eutrofização trazem consigo efeitos prejudiciais como a alteração na distribuição de espécies, o possível surgimento de algas tóxicas, e o decréscimo na concentração de O₂, dissolvido em virtude do aumento na decomposição da matéria orgânica produzida [101, 108], tornando-o indisponível para o consumo da flora aeróbica.

O NH₃ volatilizado no processo de fertilização tem como destino natural a atmosfera, onde possui tempo de vida baixo, variando de uma a duas semanas [109, 110]. No entanto, ainda que as emissões causadas por agentes antrópicos sejam de certa forma preocupantes, somente

cerca de 10% de todos os óxidos de nitrogênio produzidos na atmosfera tem relação com essas emissões de NH_3 [92, 111], tornando a saúde o fator mais preocupante nesse contexto, uma vez que a exposição a esse gás tem o potencial de gerar e desencadear diversos problemas, pois efeitos biológicos da amônia sobre o corpo após exposição pelos seres humanos são intimamente relacionados com a sua concentração no momento da exposição [112, 113].

O NH_3 inalado difunde-se rapidamente pelo corpo e pode reagir com a água formando NH_4^+ , um produto que no interior do corpo atua como corrosivo causando graves danos internos, e que devido a sua baixa difusão concentra-se em locais específicos, normalmente onde ele é gerado [91, 112–114]. A amônia inalada ou ingerida é transportada para o fígado, único órgão capaz de metabolizar a amônia por meio do seu processo de conversão em ureia, e opera desintoxicando o organismo da amônia oriunda da degradação das proteínas nos rins, estômago e no próprio fígado. Assim, quando o corpo está exposto a concentrações extremamente altas desse gás, é acumulado no organismo e produz estresse no sistema digestivo [113, 115], alterando as atividades enzimáticas renais, causando alterações patológicas em diversos órgãos e deficiências na função pulmonar, bem como efeitos no sistema nervoso.

De forma mais detalhada, a relação da concentração de NH_3 com os problemas de saúde associados variam gradualmente a medida que a concentração inalada ou ingerida aumenta [92]. A tabela abaixo mostra a relação entre a concentração de NH_3 e os respectivos problemas associados a sua exposição:

CONCENTRAÇÃO DE NH_3	EFEITOS
Entre 5 e 50 ppm	Limiar para a percepção do odor
Entre 100 e 400 ppm	Levemente irritante para os olhos e garganta
500 ppm	Máxima concentração de exposição para o qual não há riscos de efeitos irreversíveis
A partir de 1000 ppm	Irritação nos olhos e nas vias aéreas, juntamente com desconforto muscular
Entre 1700 e 2500 ppm	Tosse, dores no peito, irritação ocular grave e lacrimejamento
Entre 2500 e 5000 ppm	Espasmos, dores no peito, obstrução das vias aéreas, aumento de líquido nos pulmões
De 5000 a 10000 ppm	Queimaduras químicas na pele, bronquite e danos permanentes nos pulmões

Tabela 1: Concentração de NH_3 e os respectivos problemas associados a sua exposição

Com isso, a relevância da volatilização de NH_3 na agricultura é um ponto pertinente não só do ponto de vista econômico e ambiental, pois em muitos ambientes de produção agrícola as concentrações de NH_3 podem ultrapassar os 3000 ppm dependendo da quantidade e área de aplicação [2].

3.4 Polímeros: Conceitos básicos

De uma forma geral, polímeros são macromoléculas formadas por cadeias de unidades repetidas ligadas covalentemente chamadas de meros¹², com suas propriedades relacionadas aos agrupamentos atômicos destas unidades e às forças intermoleculares entre as moléculas do polímero [116–119]. São sistemas onde as macromoléculas apresentam propriedades que estão diretamente relacionadas com a composição, estrutura química, tamanho da cadeia e com a dispersão das massas molares [120], bem como com as suas interações intermoleculares (ligações secundárias) [117, 118].

Os polímeros podem ser classificados de muitas formas, podendo ser divididos em dois grandes grupos, com relação a suas origens: polímeros naturais (sintetizados pela natureza) e polímeros sintéticos (sintetizados pelo homem). As demais classificações são baseadas na estrutura do polímero, no mecanismo de polimerização, nas técnicas preparativas, no comportamento mecânico ou térmico [119]. Polímeros nos quais as cadeias são constituídas por apenas um tipo de monômero (ou mero) são classificados como homopolímeros, enquanto os que são constituídos por mais de um tipo são denominados copolímeros [117].

A variação da massa molar do mesmo polímero, seja homopolímero ou copolímero reflete nas propriedades do material e muitas propriedades físicas e químicas dos polímeros dependem do comprimento da molécula, isto é, sua massa molar [118, 120]. Como polímeros envolvem uma ampla faixa de valores de massas molares, é coerente considerar a possibilidade de uma grande variação em suas propriedades. Assim, com o aumento da massa molar, observa-se o aumento das suas propriedades mecânicas (tração, impacto), o aumento da resistência ao desgaste por atrito, a redução da solubilidade, da fluidez e da tendência a volatilização, bem como o aumento do seu ponto de ebulição, uma vez que moléculas maiores apresentam forças intermoleculares de atração maiores [116–120].

Tanto na Ciência aplicada quanto na indústria e pesquisa acadêmica, essa variabilidade é algo muito vantajoso, pois possibilita a produção de vários tipos de polímeros, cada qual para atender às necessidades particulares de uma dada aplicação [118].

3.4.1 Alginatos

Alginatos são copolímeros formados por monômeros de ácidos β -D-manurônicos e α -L-gulurônicos (figura 5), sendo componentes estruturais das algas marrons [120–123].

¹²Macromoléculas, unidades de repetição na cadeia polimérica.

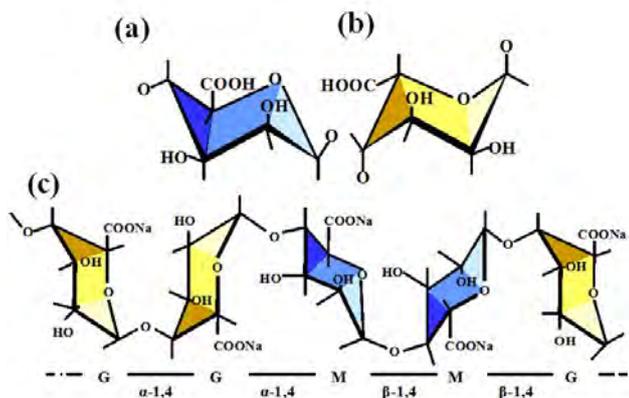


Figura 5: Composição do alginato (a) Ácido β -D-Manurônico (b) Ácido α -L-gulurônico (c) Estrutura da molécula de alginato de sódio [124]

Estruturalmente, o alginato consiste em cadeias lineares de ácido β -D-manurônico unidas por meio de ligações glicosídicas ao seu epímero ¹³, o ácido α -L-gulurônico em diversas proporções [120, 122]. Estes monômeros estão normalmente arranjados na forma de blocos homopoliméricos de ácido manurônico (M) ou gulurônico (G), ligados de forma que a sequência destes monômeros na molécula seja alternada [125], da seguinte forma:

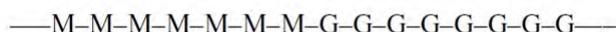


Figura 6: Monômeros arranjados em blocos homopoliméricos

Contudo, a molécula deste polímero pode apresentar regiões na sua cadeia onde se encontram blocos heteropoliméricos com os monômeros M e G dispostos de forma alternada [117, 120, 126]:

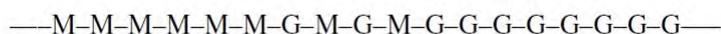


Figura 7: Monômeros arranjados em blocos heteropoliméricos

Os alginatos se tornam insolúveis na presença de cátions como o Ca^{2+} devido à interação entre esses íons com os blocos da cadeia polimérica, formando géis cuja estrutura molecular é denominada *egg box* (caixa de ovos) [127].

Como qualquer polímero, os alginatos tem as suas propriedades determinadas pela composição química, pela sequência da cadeia polimérica, pelo grau de polimerização e pelo peso molecular, que por sua vez refletirão em propriedades de interesse tecnológico, como: a porosi-

¹³Pares com configuração distinta em torno de um átomo de carbono

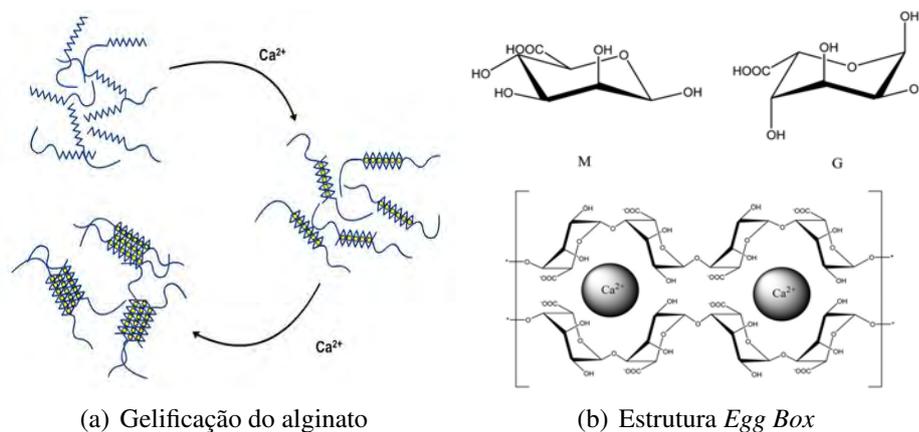


Figura 8: (a) Geleificação do alginato por adição de íons de cálcio e formação da estrutura *egg Box* (b) Detalhe da estrutura *egg Box* [128]

dade e o coeficiente de transporte ¹⁴ [126, 129]. No entanto, as características funcionais de uma preparação (microcápsulas de alginato, por exemplo) não dependem apenas das propriedades da matriz polimérica, mas também das características do material a ser encapsulado e do meio onde serão utilizadas [130].

Devido ao seu grupo carboxílico, o alginato é classificado como um polímero aniônico¹⁵ e assim sendo, micropartículas constituídas desse polímero apresentam essa propriedade, o que torna de grande interesse a formulação de ativos encapsulados com essa matriz, uma vez que pode ser um fator determinante na liberação ou aprisionamento de íons ou moléculas portadoras de carga elétrica [123, 129]. Quando comparado aos demais polímeros de uso comercial, apresentam uma biodegradação relativamente rápida¹⁶ e boa resistência a temperatura, decompondo-se a uma temperatura média de 700 °C [131]

Por apresentar uma boa compatibilidade com sistemas biológicos [117, 120, 123], esses biopolímeros tem sido utilizados nas mais diversas áreas, como por exemplo, na indústria farmacêutica e de alimentos. O alginato de sódio, quando na forma de gel, degrada vagarosamente em ambientes com pH próximos a neutralidade e rapidamente em ambientes com pH extremos (muito baixos ou muito altos) [132, 133]. Assim sendo, é conveniente considerar que os alginatos possuem um grande potencial em aplicações biotecnológicas, podendo inclusive, quando na forma de géis, servir para o encapsulamento de fertilizantes de liberação lenta [19, 120, 126, 134–136].

¹⁴Aqui, coeficiente de transporte refere-se a capacidade de um soluto ou solvente mover-se ou percolar ao longo dos poros de um corpo constituído de certo material.

¹⁵Um polímero aniônico é aquele que devido a alta densidade de cargas negativas em sua cadeia, atrai e se liga predominantemente a moléculas de cargas positivas

¹⁶Esse fator varia de acordo com a sua massa molar.

3.5 Espectroscopia Fotoacústica

Desde a sua consolidação como técnica em meados dos anos 1970, a espectroscopia fotoacústica vem sendo utilizada nas mais diversas áreas devido a sua grande versatilidade e caráter não destrutivo, pois possibilita a análise e caracterização de uma grande variedade de materiais em diferentes estados (materiais sólidos, líquidos ou gasosos) [137, 138]. A técnica destaca-se também pelo seu relativo baixo custo, sensibilidade e seletividade altas, graças aos avanços e desenvolvimento de fontes de *laser*, células ressonantes, microfones e amplificadores síncronos, avanços que tornaram a espectroscopia fotoacústica uma técnica muito eficiente para a realização de medidas extremamente sensíveis, com limites de detecção que alcançam valores abaixo do nível ppb [139–142].

A espectroscopia fotoacústica é uma técnica baseada no efeito fotoacústico¹⁷, que de forma bem simplificada pode ser descrito como um efeito no qual a geração de ondas acústicas oriundas da variação de pressão no interior de uma célula fechada surgem como consequência da absorção de radiação modulada ou pulsada por uma amostra (de gás, por exemplo) no interior dessa célula [138, 139, 144–148]. Essa absorção resulta na excitação dessas moléculas de gás e sua elevação para um nível mais energético dos estados vibracional, rotacional e eletrônico [149, 150]. A liberação da energia térmica por parte da amostra devido o decaimento do estado excitado para o estado fundamental, que por sua vez envolve processos radiativos e não radiativos.

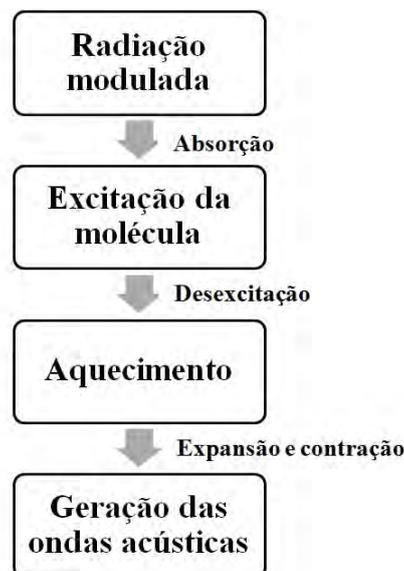


Figura 9: Esquema simplificado dos processos que ocorrem na geração do sinal fotoacústico [139]

¹⁷Descoberto e documentado pela primeira vez em 1880 pelo cientista escocês Alexander Graham Bell[143]

3.5.1 Geração do sinal fotoacústico

A figura 9 apresenta uma descrição simples do efeito fotoacústico, podendo este ocorrer, por exemplo, no interior de um tubo cilíndrico preenchido com um gás a ser analisado e ser separado em duas grandes etapas: A absorção da radiação por parte das moléculas desse gás ao longo do tubo, que produz uma alteração nos seus estados vibratórios e rotacionais [149, 150] e a produção e detecção do sinal acústico oriundo da variação da pressão no interior dessa célula.

A desexcitação subsequente a absorção da radiação pode ser dada por dois caminhos: enquanto um é através do processo de colisão entre as moléculas excitadas (processo não-radiativo), o outro é por meio do processo radiativo¹⁸. Quando comparados os tempos de decaimento referentes a esses processos, os não radiativos ocorrem numa faixa de 10^{-6} a 10^{-9} segundos, enquanto os radiativos entre 10^{-1} e 10^{-3} segundos [147]. Assim, na prática, a contribuição dos processos radiativos não é considerada¹⁹, sendo então a energia na forma de radiação absorvida pelas moléculas liberada como calor e convertida em energia cinética translacional, provocando um aquecimento local, colisões entre essas moléculas e, subsequentemente, uma expansão térmica e aumento de pressão no meio. Se a intensidade da radiação é modulada numa dada frequência, a expansão térmica periódica induzida dá origem a um sinal acústico com essa mesma frequência de modulação [139, 144–148, 151].

3.5.2 Absorção molecular

Quando uma determinada molécula interage com uma radiação de frequência ν , absorve a energia dos fótons incidentes e passa de um estado de energia E_n para um estado de energia mais elevado E_m , de acordo com a seguinte relação:

$$\nu_{nm} = \tilde{\nu}_{nm}c = \frac{E_m - E_n}{h} \quad (13)$$

onde $\tilde{\nu}$ é o número de onda²⁰ (m^{-1}), h é a constante de Planck ($6,62 \cdot 10^{-34}$ J.s) e c a velocidade de luz no vácuo ($\approx 3 \cdot 10^8$ m/s).

¹⁸Processo no qual um fóton com comprimento de onda e frequência correspondentes ao da transição do estado de maior energia para o estado de menor energia é emitido

¹⁹Uma vez, que como é possível notar por meio das suas respectivas ordens de grandeza, os processos radiativos ocorrem em um tempo consideravelmente maior quando comparado aos processos não radiativos.

²⁰Frequência espacial de uma onda, medido em ciclos por unidade de distância e definido matematicamente como o inverso do comprimento de onda através da relação: $\tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda}$ [151]

Há um número discreto de níveis de energia permitidos para uma dada molécula, sendo esses relacionados com as transições entre esses níveis de energia permitidos. Assim sendo, a radiação é absorvida pela molécula somente quando sua frequência corresponde a uma diferença entre dois níveis de energia, dando origem a uma linha de absorção no comprimento de onda relacionado, sendo o conjunto de linhas de absorção o constituinte do espectro de absorção da molécula [151].

Na figura 9, o primeiro passo diz respeito à absorção de radiação modulada, sendo essa absorção da radiação incidente por um meio dada pela lei de Beer-Lambert [152, 153]:

$$I(\tilde{\nu}) = I_0 e^{-\alpha(\tilde{\nu})L} \quad (14)$$

A equação 14 representa matematicamente a lei de Beer-Lambert, enquanto a figura 10 apresenta de forma esquemática esse modelo, para o caso de um meio absorvendo radiação:

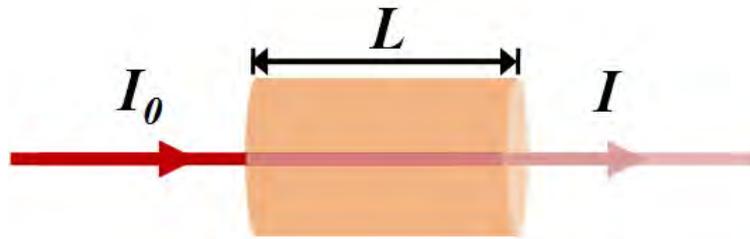


Figura 10: Representação ilustrativa da lei de Beer-Lambert

Tanto na equação 14 quanto na fig. 10, I_0 (W/cm^2) é a intensidade da radiação incidente e L (cm) o comprimento do meio de absorção. Na equação 14, o termo $\alpha(\tilde{\nu})$ é o coeficiente de absorção do gás (cm^{-1}), que quando em função da densidade N do gás (mol/cm^3) pode ser representado através da relação:

$$\alpha(\tilde{\nu}) = N\sigma(\tilde{\nu}) \quad (15)$$

Onde $\sigma(\tilde{\nu})$ é a seção de choque do meio (cm^2/mol), que expressa a probabilidade de uma molécula interagir e conseqüentemente absorver a radiação sobre ela incidida, sendo essa grandeza dada pelo produto entre a intensidade da linha S e uma função normalizada $g(\tilde{\nu})$ ²¹:

²¹Função que define as características de absorção inerente as linhas, sendo dependente não só da sua inten-

$$\sigma(\tilde{\nu}) = Sg(\tilde{\nu}) \quad (16)$$

As equações (15) e (16) mostram que o coeficiente de absorção $\alpha(\tilde{\nu})$ de um gás em um determinado número de onda é diretamente proporcional a intensidade da linha espectral S da transição correspondente. A intensidade da linha, por sua vez, é determinada levando-se em conta a diferença de população ($N_n - N_m$) entre os níveis E_n e E_m , e o coeficiente de Einstein B_{nm} ²², através da relação:

$$S = \frac{1}{N} \frac{h\tilde{\nu}_{nm}}{c} B_{nm} (N_n - N_m) \quad (17)$$

Onde a diferença entre a população ($N_n - N_m$) dos dois níveis é dada pela distribuição de Boltzmann²³:

$$N_n - N_m = N_n \left[1 - \exp\left(-\frac{hc\tilde{\nu}_{nm}}{kT}\right) \right] \quad (18)$$

Na equação (18), k é a constante de Boltzmann ($1,38 \cdot 10^{-23}$ J/K) e T a temperatura (K), sendo a população do estado de energia mais baixo N_n dada pela relação:

$$N_n = \frac{Ng_n}{Z_{int}} \exp\left(-\frac{E_n}{kT}\right) \quad (19)$$

sendo g_n o fator de degeneração²⁴ do estado inferior e Z_{int} a função de partição interna total²⁵, definida como:

sidade, mas também da sua forma, largura e perfil, dado por diferentes processos que ocasionam o alargamento dessas linhas.

²²Função que dá a probabilidade de uma transição entre dois níveis

²³Distribuição que dá a probabilidade de que um sistema estará em um determinado estado em função da energia inerente a esse estado e da temperatura do sistema para o qual a distribuição é aplicada [154, 155]

²⁴Fator que corresponde ao número de estados degenerados num mesmo nível, igualmente prováveis de serem preenchidos

²⁵A soma de todos os estados internos de energia que compartilham o mesmo nível de energia, em função de g .

$$Z_{int} = \sum_{n=1} g_n \exp\left(-\frac{E_n}{kT}\right) \quad (20)$$

Combinando as equações (18) e (20) com a equação (17), obtém-se:

$$S(T) = \frac{h\tilde{\nu}_{nm}}{c} B_{nm} \frac{g_n}{Z_{int}(T)} \exp\left(-\frac{E_n}{kT}\right) \left[1 - \exp\left(-\frac{hc\tilde{\nu}_{nm}}{kT}\right)\right] \quad (21)$$

A equação (21) pode ser utilizada na determinação da intensidade de uma linha espectral em função da temperatura, para uma transição entre estados cuja função de partição Z_{int} seja conhecida.

3.5.3 Produção do calor e geração das ondas de pressão no interior da célula fotoacústica

A produção de calor em uma amostra devido a absorção de radiação pode ser descrita por meio da análise das densidades de população N_m e $N - N_m$, correspondentes aos estados de energia excitados e não excitados E_m e E_n [149, 150, 156]. Para um estado excitado, a equação da taxa de variação da densidade de população pode ser expressa da seguinte forma:

$$\frac{dN_m}{dt} = (N - N_m)\sigma\phi - N_m \left(\sigma\phi + \frac{1}{\tau_m}\right) \quad (22)$$

onde σ é a seção de choque, ϕ o fluxo de fótons incidentes e τ_m o tempo de decaimento do estado excitado, em função dos tempos de decaimento dos processos radiativo e não radiativo, combinados:

$$\tau_m = \frac{1}{(\tau_{m_r}^{-1} + \tau_{m_{nr}}^{-1})} \quad (23)$$

Conforme mostrado na seção 3.5.1, o tempo de decaimento radioativo τ_{m_r} é muito maior que o de não radiativo $\tau_{m_{nr}}$. Assim sendo, na equação (23), o termo τ_m pode simplesmente ser aproximado para a sua componente não radiativa, de modo que:

$$\tau_m \approx \tau_{m_{nr}} \quad (24)$$

Para pequenas absorções ou experimentos cuja concentração dos gases é baixa, a taxa de excitação incidente $\sigma\phi$ é pequena o suficiente para considerar que $N_m \ll N$. Assim sendo, a equação (22) se reduz a:

$$\frac{dN_m}{dt} = N\sigma\phi - N_m\frac{1}{\tau_m} \quad (25)$$

Onde, para uma fonte de radiação modulada, o fluxo de fótons incidentes é dado pela função

$$\phi = \phi_0(1 + e^{i\omega t}), \quad (26)$$

Com ω sendo a frequência angular da modulação. Na equação (26), ao considerar que o termo dependente do tempo é o único que contribui no processo de geração do sinal fotoacústico, a solução da equação (25) é:

$$N_m = \frac{N\phi_0\sigma\tau_m}{\sqrt{1 + (\omega\tau_m)^2}} e^{i(\omega t - \varphi)} \quad (27)$$

onde $\varphi = \arctan(\omega\tau_m)$ é o deslocamento da fase entre N_m e ϕ [147, 156–159]. A taxa de produção de calor H ($J/(cm^3.s)$) em função da população do estado excitado, do tempo de decaimento não radiativo e da energia correspondente a transição é definida como:

$$H = N_m \frac{hc\Delta\tilde{\nu}}{\tau_{m_{nr}}} \quad (28)$$

Considerando a transição entre dois níveis, no qual o estado inferior corresponde ao nível de energia mais baixo, $\Delta\tilde{\nu}$ pode ser considerado equivalente a frequência de modulação do *laser* $\tilde{\nu}_{laser}$ [147, 159, 160]. Levando em consideração a aproximação $\tau_m \approx \tau_{m_{nr}}$ descrita na relação (24), a taxa de produção de calor passa a ser:

$$H = N_m \frac{hc\tilde{\nu}_{laser}}{\tau_m} \quad (29)$$

Combinando as equações (27) e (29), obtém-se a taxa de produção de calor em função do tempo:

$$H = H_0 e^{i(\omega t - \varphi)} \quad (30)$$

onde a amplitude H_0 da função H é definida por:

$$H_0 = \frac{N\sigma I_0}{\sqrt{1 + (\omega\tau_m)^2}} \quad (31)$$

e a intensidade da radiação incidente I_0 :

$$I_0 = \phi_0 hc\tilde{\nu}_{laser} \quad (32)$$

Para frequências de modulação f^{26} na faixa de kHz , ($\omega\tau_m \ll 1$) [147, 159, 160]. Com isso, a equação (31) reduz-se a:

$$H_0 = N\sigma I_0 = \alpha I_0 \quad (33)$$

Assim sendo, a expressão final da taxa de calor produzido numa transição de estados devido a incidência e absorção da radiação modulada por uma amostra absorvendo essa radiação é dada por:

$$H = \alpha I_0 e^{i(\omega t)} \quad (34)$$

²⁶ $f = \frac{\omega}{2\pi}$

Uma vez que o aquecimento da amostra de gás é periódico devido a incidência e absorção da radiação modulada, uma onda de pressão também periódica e proporcional a quantidade de gás e a variação de volume consequente das expansões e contrações dos gás é gerada [137–139, 145–147], sendo representada pela relação:

$$\nabla^2 p - \frac{1}{v_s^2} \frac{\partial^2 p}{\partial t^2} = -\frac{\gamma - 1}{v_s^2} \frac{\partial H}{\partial t} \quad (35)$$

Onde v_s , γ e H correspondem a velocidade do som no gás²⁷, o seu coeficiente adiabático do gás²⁸ e a taxa de calor produzida pela amostra devido a absorção da radiação [137, 139, 144–148], definida pela equação (34).

No interior de um ressonador²⁹, o sinal acústico gerado pela variação de pressão devido a absorção e subsequente aquecimento periódico da amostra é dado através de soluções para a equação (35) [139, 144–147, 156–158, 161, 162]. Essas soluções levam em conta a contribuição de todos os modos ressonantes, de modo que, para uma cavidade cilíndrica³⁰ de tamanho L e raio R operando em modo ressonante, a frequência de ressonância³¹ é dada pela relação:

$$f_{kmn} = \frac{v_s}{2} \sqrt{\left(\frac{k}{L}\right)^2 + \left(\frac{\alpha_{mn}}{R}\right)^2} \quad (36)$$

Onde α_{mn} é a solução da equação de Bessel e os índices k , m e n correspondem aos três modos de ressonância para um ressonador cilíndrico: longitudinal, azimutal e radial, respectivamente [139, 157, 158].

²⁷Definida pela relação $\sqrt{\frac{\gamma RT}{M}}$, onde $R = 8,3144$ J/K e T a temperatura.

²⁸Definido como a razão entre a capacidade térmica a pressão constante e a capacidade térmica a volume constante, numa condição adiabática.

²⁹Consiste numa cavidade regular e geometricamente bem definida[139], de modo a amplificar sinais gerados no seu interior, cuja frequência coincidem com a(s) sua(s) frequência(s) e seus respectivos modos ressonantes.

³⁰Cavidades cilíndricas estão entre as mais utilizadas na construção de células para medidas com espectroscopia fotoacústica [139].

³¹Por definição, a frequência de ressonância é uma frequência específica na qual uma onda oscila com amplitude máxima. Aqui nesse contexto, mais especificamente, essa onda é uma onda acústica gerada no interior de um tubo ressonante e de comprimento L .

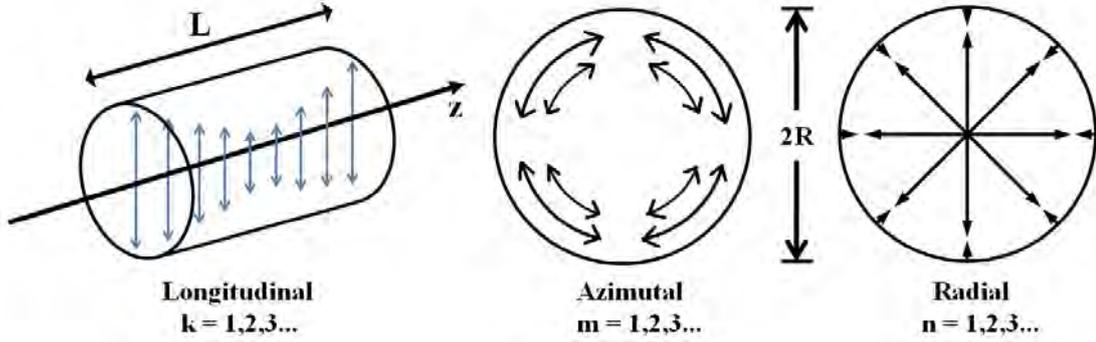


Figura 11: Esquema dos modos ressonantes longitudinal, azimutal e radial para um ressonador cilíndrico de comprimento L e raio R [139].

O sinal fotoacústico detectado pelo microfone no interior do ressonador em um determinado modo ressonante j^{32} é proporcional a pressão sobre a membrana do microfone, podendo, no caso dos ressonadores cilíndricos utilizados na espectroscopia fotoacústica, ser aproximado para valor dessa pressão [139, 145, 147, 156, 157, 159, 162]. Assim, para a amplitude do sinal fotoacústico, podemos escrever:

$$S_{FA} = p_j(r_M, \omega_j) \quad (37)$$

Este sinal também depende da posição r_M exata do microfone no interior do ressonador [139, 157], de maneira que, para uma cavidade operando num modo ressonante j cujo microfone está localizado na posição r_M , a pressão $p(r_M, \omega_j)$ nesse ponto pode ser escrita como:

$$p(r_M, \omega_j) = \left[(\gamma - 1) \frac{L}{V} \frac{Q_j}{\omega_j} I_j p_j(r_M, \omega_j) \alpha P_0 \right] \quad (38)$$

Onde γ é o coeficiente adiabático do gás, V é o volume do ressonador, Q_j e ω_j são, respectivamente o fator de qualidade e a frequência angular de ressonância correspondente ao modo ressonante, I_j uma integral que descreve o efeito da sobreposição espacial entre o feixe da radiação incidente e a distribuição de pressão no interior do ressonador num determinado modo de ressonância e $p_j(r_M, \omega_j)$ é um fator de normalização referente a pressão, sendo função tanto do modo ressonante em questão quanto a posição do microfone. Os termos α e P_0 são o coeficiente de absorção do gás e a potência da radiação incidente, respectivamente [139, 145, 157, 158].

³² $j = k, m, n$. Aqui, esse índice representa qualquer um dos três modos (Longitudinal, azimutal ou radial) ressonantes para um ressonador cilíndrico.

Conforme mencionado, o termo Q_j apresentado na equação (38) corresponde ao fator de qualidade da célula. Embora seja muitas vezes tratado e definido na literatura apenas matematicamente, o fator Q_j de qualidade da célula é, assim como a constante da célula ($C_j(\omega_j)$), fortemente dependente e relacionado não só com as dimensões e características físicas e eletrônicas da célula fotoacústica, mas também com as condições experimentais, no que diz respeito a espécie gasosa analisada, bem como o perfil e funcionamento da fonte de radiação *laser* utilizada nas medidas. Qualitativamente, pode-se dizer que esse fator é um termo que quantifica o efeito das perdas energéticas que ocorrem por dissipação no interior do ressonador, ao longo de um ciclo correspondente a absorção da radiação pelas moléculas do gás e a geração do sinal acústico [139, 157, 163, 164]. Matematicamente, o fator Q_j é definido como:

$$Q_j = \frac{f_j}{\Delta f}, \quad (39)$$

onde f_j e Δf são, respectivamente a frequência de ressonância para um modo j e o valor da largura do perfil de ressonância da célula entre os pontos em que a amplitude corresponde a um valor $\frac{1}{\sqrt{2}}$ do valor da amplitude máxima dessa curva de ressonância [139, 144, 157, 163, 164].

Considerando que o produto αP_0 da equação (38) pode ser considerado um termo dependente da intensidade e perfil da radiação que incide e é absorvida pelo gás, e que os termos restantes são parâmetros que caracterizam o ressonador e suas condições de operação, podemos formar uma relação que é definida como constante da célula³³ ($C_j(\omega_j)$):

$$C_j(\omega_j) = \left[(\gamma - 1) \frac{L}{V} \frac{Q_j}{\omega_j} I_j p_j(r_M, \omega_j) \right] \quad (40)$$

Com isso, a equação (38) passa a ser:

$$S_{FA} = C_j(\omega_j) \alpha P_0 \quad (41)$$

³³Embora o termo $C_j(\omega_j)$ seja definido como constante da célula e descreva a sensibilidade do ressonador para uma dada frequência de ressonância em função das suas dimensões, da posição e resposta do microfone e, do fator de qualidade Q_j da ressonância selecionada para a detecção de um sinal, esse fator depende também da sobreposição espacial do feixe *laser* e do padrão das ondas estacionárias geradas no seu interior, uma vez que depende da frequência ω_j , cujo valor varia para os diferentes modos ressonantes. Seu valor não é comumente determinado pela equação (40), mas sim por meio de medidas de calibração utilizando medidores de potência precisos e gases certificados, por exemplo [139].

Assumindo o coeficiente de absorção α definido na equação (15) como $N\sigma$, onde o N relaciona-se com a concentração do gás pela relação

$$c_{gas} = \frac{N}{N_{tot}}, \quad (42)$$

onde N_{tot} (número total de moléculas /cm³) é a densidade total de moléculas. Com isso, tem-se a relação que mostra que o sinal fotoacústico nessas condições é proporcional a potência do *laser* e a concentração das moléculas que absorvem essa radiação, podendo, por meio da relação entre as equações (15), (41) e (42) ser representado da seguinte forma [139, 157, 158, 163, 165]:

$$S_{FA}(\tilde{\nu}) = C_j(\omega_j) P_0 N_{tot} c_{gas} \sigma(\tilde{\nu}) \quad (43)$$

Uma vez gerado no interior do ressonador, o sinal acústico resultante dos processos acima descritos e representado na equação (43) é captado por um ou mais microfones e conduzido até um amplificador *lock-in* [139, 147, 156–158, 162, 163, 165–167].

3.5.4 Fontes de radiação e espectroscopia fotoacústica

O avanço da espectroscopia fotoacústica sempre caminhou ao lado do aprimoramento de sensores e do desenvolvimento de fontes de radiação. Em 1938, Viengerov introduziu pela primeira vez um sistema baseado em uma fonte de infravermelho para análise de misturas de gases [142]. No entanto, somente na década de 1960 houve o primeiro uso de uma fonte de *laser* na detecção de gás utilizando a espectroscopia fotoacústica. Em comparação com as fontes de luz convencionais, os *lasers* têm qualidade de feixe superior e pureza espectral, além de poderem fornecer radiação de alta potência [139, 140]. Com isso, as fontes de radiação *laser* são partes cruciais que determinam a sensibilidade, seletividade e a praticidade dessa técnica.

Como exemplo de fontes de radiação aplicadas na espectroscopia fotoacústica, tem-se: o *laser* de CO₂, o *laser* de Cascata Quântica (QCL) [168], o oscilador paramétrico óptico (OPO), e os *lasers* de diodo do tipo QW DFB (*Quantum Well Distributed Feedback*) [169].

O *laser* de CO₂ é um *laser* de gás que teve uma participação significativa no avanço da espectroscopia fotoacústica. Esse *laser* é bombeado por uma descarga elétrica numa mistura

de gás e pode ser operado com corrente contínua ou corrente alternada, apresentando uma boa eficiência nesse processo de conversão de energia. Emite linhas na região de 9 a 11 μm e graças a sua largura de linha estreita e altas potências oferecidas, levou a sensibilidade dos sistemas fotoacústicos a um novo nível [170, 171].

O *laser* de cascata quântica (LCQ ou *QCL*³⁴) é um *laser* do tipo semiconductor que desde a sua criação nos anos de 1990 mostrou-se promissor e versátil para aplicações em medidas na faixa do infravermelho, devido a sua estabilidade, possibilidade de operar de forma contínua ou pulsada e alta resolução espectral, podendo ser fabricados para operar em uma ampla faixa que está entre 3 μm e 24 μm [168, 172, 173].

O desenvolvimento do sistema OPO (oscilador paramétrico óptico) abriu a possibilidade de uma fonte de *laser* que consiste em um cristal inserido em uma cavidade óptica sobre a qual incide um intenso feixe de bombeio. A partir de um processo denominado conversão paramétrica³⁵, são gerados dois novos e intensos feixes de luz: sinal e complementar [174–176]. Possui larga faixa espectral, potência relativamente alta e com comprimentos de onda na faixa de 1,2 a 20 μm , tornando-a uma fonte promissora e viável.

Os QW DFB (*Quantum Well Distributed Feedback*) [169, 177] são *lasers* do tipo semiconductor amplamente utilizados em sistemas de telecomunicação. No entanto eles também representam excelentes fontes de radiação para a detecção de múltiplas espécies gasosas na região do infravermelho próximo, devido a largura de linha estreita, a possibilidade sintonizá-los em diversos comprimentos de onda, bem como a sua operação em temperatura ambiente [139, 163]. Além disso, os *lasers* QW DFB são compatíveis com fibras ópticas, facilitando muito o acoplamento e o alinhamento. A partir disso, vários trabalhos que exploram as potencialidades da espectroscopia fotoacústica para gases vêm sendo apresentados ao longo dos anos [142, 178], com destaque para os trabalhos envolvendo a detecção de traços de gases estufa liberados por veículos [179–182], de poluentes na atmosfera [140], na detecção das taxas de emissão de etileno em frutos revestidos por filmes [183] e na monitoração da taxa de emissão de amônia [38, 139, 163, 184].

Assim sendo, as potencialidades da técnica só puderam ser totalmente exploradas quando combinadas com uma fonte de *laser* adequada [163, 178]. Portanto, apesar da potência dos *lasers* QW DFB que operam na faixa do infravermelho e em temperatura ambiente ainda ser

³⁴Do inglês *Quantum Cascade Laser*.

³⁵O processo de conversão paramétrica pode ser entendido como um processo onde um fóton do feixe de bombeio, de frequência ω_0 é aniquilado e convertido em dois outros fótons (sinal e complementar), com frequências ω_S e ω_C , respectivamente [174].

baixa quando comparada com os de CO_2 e os demais *lasers* a gás (o que muitas vezes limita a sensibilidade desses sistemas a partes por milhão), os recentes avanços no desenvolvimento desses *lasers* tiveram e têm uma grande influência no aperfeiçoamento dos sistemas utilizados em medidas envolvendo a espectroscopia fotoacústica, uma vez que eles podem oferecer uma solução alternativa onde se faz necessário um sistema compacto, de baixo custo e vida longa útil. Além do mais, uma vantagem especial desses tipos de *lasers* é a possibilidade de modulá-los eletronicamente, permitindo trabalhar com modulações tanto em amplitude quanto em comprimento de onda [139, 140, 169, 178, 185, 185].

3.5.5 Modulação em amplitude (MA)

A modulação em amplitude [186–189] consiste basicamente na interrupção periódica da radiação incidente, podendo ser realizada mecanicamente por meio de um modulador mecânico (*chopper*), ou pela modulação da corrente de injeção do *laser*, ligando-a e desligando-a (por meio da saída TTL de um gerador de função, por exemplo). Esse processo de ligar e desligar a corrente de alimentação do *laser* de forma periódica gera, por sua vez, uma variação também periódica na sua potência, na mesma frequência.

A figura 12 representa um exemplo desse tipo de modulação, para uma forma de onda quadrada de amplitude arbitrária adicionada a uma baixa corrente DC de operação do *laser*:

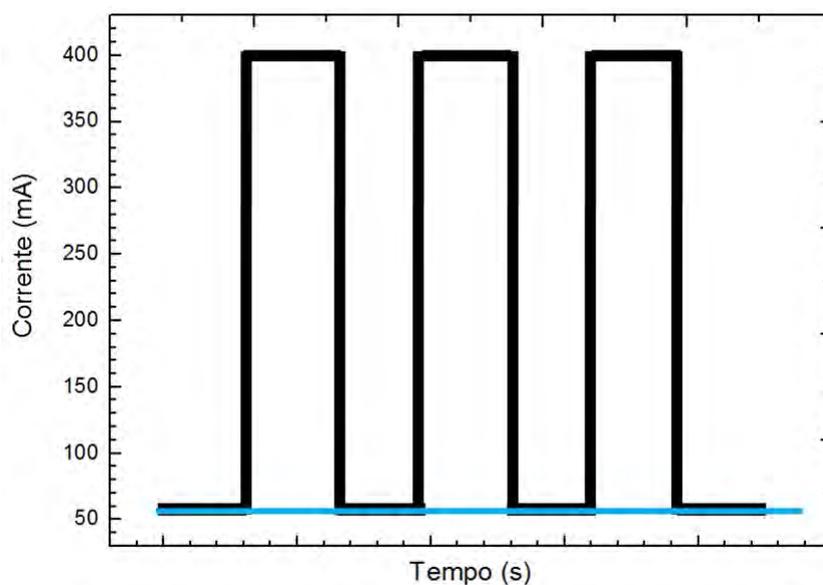


Figura 12: Exemplo de modulação em amplitude para uma forma de onda quadrada de amplitude arbitrária adicionada a uma baixa corrente DC de operação do *laser*.

Embora a modulação em amplitude ofereça um sinal intenso, que é obtido pela variação

da potência total do *laser*, o *background*³⁶ inerente a esse sinal, devido a absorção da janela e paredes da célula, pode limitar a sensibilidade do sistema [139, 163, 167, 185].

3.5.6 Modulação em comprimento de onda (MCO)

Uma forma eficaz de atenuar esse sinal de fundo é a utilização da modulação em comprimento de onda [163, 188–193]. A modulação em comprimento de onda é obtida adicionando uma corrente alternada (com mesma frequência de ressonância da célula) de forma senoidal ou quadrada à corrente contínua de alimentação do *laser*. Ou seja, fixa-se um determinado valor de corrente contínua de modo que a potência do *laser* seja próxima ao seu máximo e adiciona-se uma corrente alternada de baixa amplitude. Essa corrente de baixa amplitude, por sua vez, provoca uma variação de temperatura no *laser* e, conseqüentemente, no comprimento de onda da radiação. Como essa modulação ocorre na mesma frequência de ressonância da célula fotoacústica [139, 165–167, 185, 189, 194, 195], o sinal é amplificado. Para essa modulação, o comprimento de onda do *laser* é definido pela relação:

$$\lambda(t) = \begin{cases} \left\{ \begin{array}{l} \lambda_c + \frac{\lambda_0}{2} \quad (\text{onda quadrada no intervalo entre } 0 \text{ e } \pi) \\ \lambda_c - \frac{\lambda_0}{2} \quad (\text{onda quadrada no intervalo entre } \pi \text{ e } 2\pi) \end{array} \right. & (45a) \\ \left\{ \begin{array}{l} \lambda_c + \lambda_0 \cos(2\pi ft) \quad (\text{onda senoidal}) \end{array} \right. & (45b) \end{cases}$$

(45)

Onde $\lambda(t)$ e λ_c são respectivamente o comprimento de onda instantâneo e o comprimento de onda central do *laser*, e, λ_0 a amplitude de modulação [163, 188–193]. A figura 13 representa um exemplo para esse tipo de modulação, para uma forma de onda quadrada de baixa amplitude adicionada a uma corrente máxima DC de operação do *laser*:

No caso de *lasers* de diodo cuja corrente de injeção e a frequência de operação são ajustáveis, a modulação em comprimento de onda pode oferecer uma melhor sensibilidade quando comparada à modulação em amplitude, em função de uma melhor relação sinal-ruído [163, 166, 188–190]. Conforme mencionado, isso ocorre porque em medidas utilizando modulação

³⁶O *background* é aqui definido como um sinal coerente (cuja frequência f corresponde a mesma do sinal gerado devido a absorção da radiação modulada pela amostra), gerado devido a absorção da radiação pelas janelas da célula.

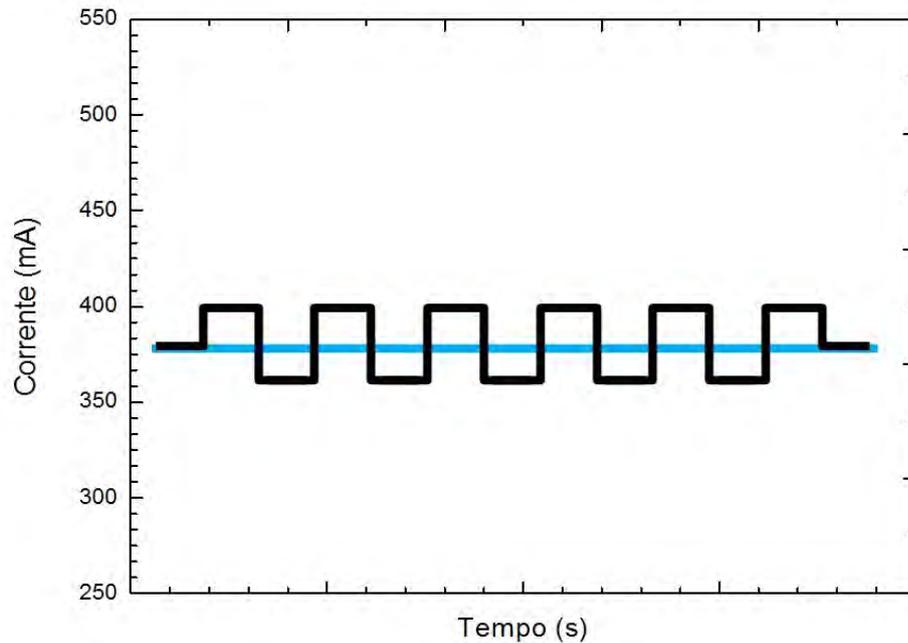


Figura 13: Exemplo de modulação em comprimento de onda para uma forma de onda quadrada de baixa amplitude adicionada a uma corrente máxima DC de operação do *laser*.

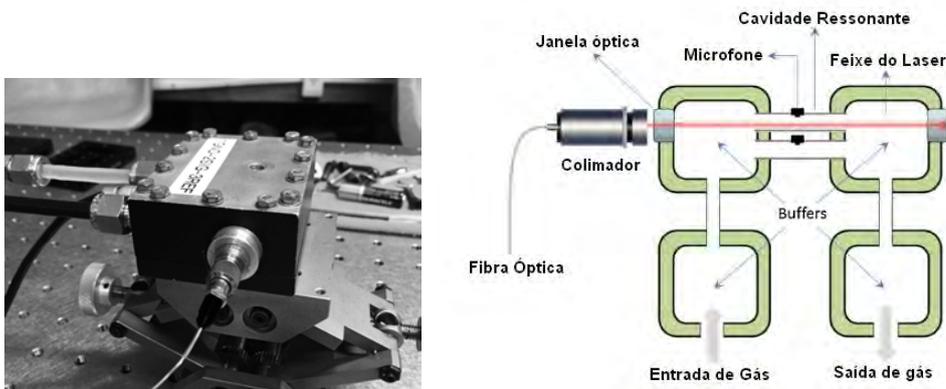
em amplitude, a absorção nas janelas contribui significativamente ao sinal de fundo. Em contrapartida, na modulação em comprimento de onda, a contribuição das janelas ao sinal fotoacústico é menor, uma vez que o sinal gerado é proporcional a primeira derivada do sinal em amplitude e as absorções nas janelas são de bandas largas que, quando derivadas, aproximam-se a zero. Para esse tipo de modulação, os sinais gerados no interior da célula são analisados na frequência $2f$, correspondente ao segundo harmônico da frequência natural do ressonador, fazendo com que o sinal acústico da absorção da janela e outros sinais de fundo sejam efetivamente reduzidos, podendo então, melhorar a relação sinal-ruído e conseqüentemente a sensibilidade do sistema. [139, 163, 165–167, 185, 189, 191–195].

3.5.7 Célula fotoacústica diferencial

A célula fotoacústica mostrada na figura 14 representa esquematicamente um modelo de célula fotoacústica diferencial, projetada para uma rápida resposta, baixo ruído³⁷ e *background*. Geometricamente, seu projeto é altamente simétrico e conta com uma entrada e uma saída de gás, duas janelas ópticas transparentes³⁸, dois tubos ressonantes cilíndricos e quatro filtros acústicos [139, 185, 189].

³⁷Definido como um sinal incoerente (cuja frequência não é definida ou correspondente a do sinal gerado no ressonador), gerado pelo fluxo de gás, vibrações ou, simplesmente de natureza eletrônica.

³⁸Deve ser óptica e termicamente transparente para o comprimento de onda λ da radiação incidente



(a) Célula fotoacústica diferencial compacta

(b) Esquema da célula fotoacústica diferencial compacta

Figura 14: Célula fotoacústica diferencial compacta utilizada e sua representação esquemática [163]

Cada um dos tubos ressonantes é equipado com um microfone posicionado simetricamente nos seus centros, sendo esses microfones selecionados de forma que as suas respostas estejam em torno da frequência de modulação da radiação e de ressonância desses tubos.

Os *buffers* ou filtros acústicos atenuam sinais gerados pelo aquecimento das janelas e pelo fluxo turbulento inerente a passagem do gás, enquanto as duas colunas que os ligam atuam como filtros rejeita-banda e geram interferências destrutivas entre as ondas externas ao tubo ressonante, sendo para isso, construídos com o comprimento $\lambda/4$ [139, 163, 167, 185].

Numa medida utilizando essa configuração, o fluxo de gás passa por ambos os tubos, produzindo aproximadamente o mesmo ruído de fluxo em ambos os ressonadores. No entanto, a radiação modulada que atravessa a janela passa apenas por um dos tubos. As moléculas do gás ali presentes absorvem essa radiação e geram o sinal fotoacústico, que é localmente medido através do seu microfone. Assim sendo, o sinal fotoacústico é gerado em apenas um tubo enquanto o segundo tubo mede apenas os ruídos e o *background*. Com a diferença entre esses sinais, produz-se um sinal resultante com um nível significativamente menor da contribuição do ruído e do *background* [139, 163, 167, 185].

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Montagem experimental

O sistema de detecção (figura 15) utilizado é composto basicamente por uma célula fotoacústica diferencial compacta, um diodo *laser* QW DFB (*Quantum Well distributed feedback*), uma fonte comercial (que controla as condições de operação do *laser*, temperatura, corrente e tensão), um gerador de função e um amplificador *lock-in*.

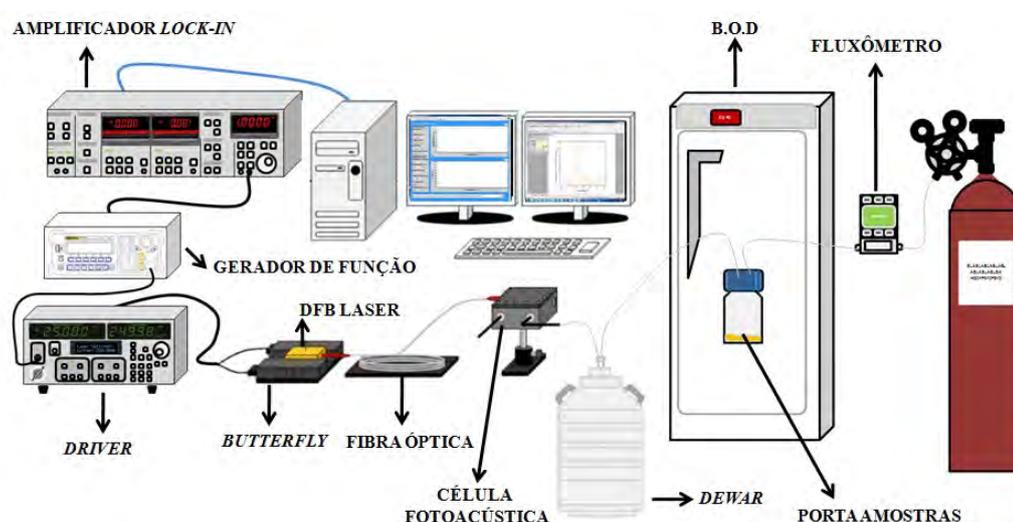


Figura 15: Esquema ilustrativo da Montagem Experimental [163]

Em todas as etapas foi utilizada uma célula fotoacústica diferencial compacta [139, 163, 185, 189] (figura 14a) de comprimento³⁹ 6,7 cm, largura 5,5 cm e altura 3,0 cm. Seus tubos ressonantes são cilíndricos e possuem 24 mm de comprimento e 4 mm diâmetro. No meio dos tubos estão instalados os microfones *Knowles TM 24547-C36*, de diretividade omnidirecional⁴⁰ e resposta não plana e polarizável com uma tensão DC de 1,3 V. É dotada de duas janelas ópticas de fluoreto de cálcio (CaF_2), uma entrada e uma saída de gás, cujo caminho possui filtros acústicos que atuam como atenuadores de ruídos e *background*. Em particular, essa célula fotoacústica apresenta ainda a vantagem de possuir uma camada de *Politetrafluoretileno* (PTFE)⁴¹ cobrindo a sua superfície interna, reduzindo a possibilidade de adsorção⁴² de moléculas polares,

³⁹Aqui, consideramos o comprimento como a linha paralela aos tubos ressonantes.

⁴⁰Os microfones omnidirecionais são capazes de captar o som de todas as direções, apresentando semelhante amplitude no nível do sinal de saída quando excitado em qualquer ângulo, cobrindo e captando o máximo de som em todo o ambiente.

⁴¹Conhecido comercialmente como Teflon, é um polímero cuja principal característica está no fato de ser uma substância praticamente inerte devido a interação dos átomos de flúor sobre a sua cadeia carbonada.

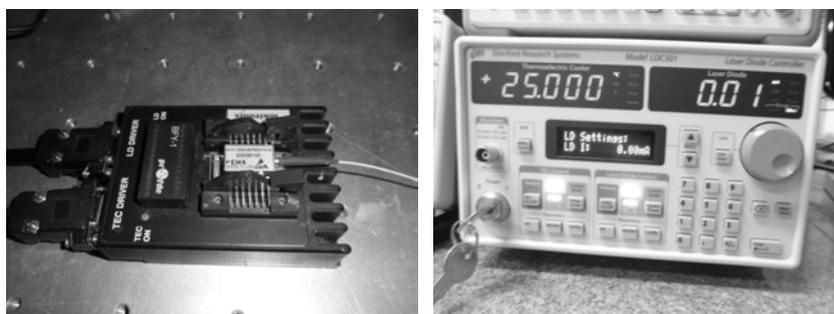
⁴²A adsorção é um fenômeno caracterizado pelo preenchimento total ou parcial da superfície de um dado material por outros átomos, cuja dinâmica depende dos detalhes das espécies envolvidas.

como a amônia (NH_3).

Para todas as medidas envolvendo a detecção de amônia, a célula foi usada em uma configuração ressonante que corresponde ao seu primeiro modo acústico longitudinal, cuja frequência determinada experimentalmente foi de $6,38 \text{ kHz}$.

Ao longo das etapas do trabalho, dois diferentes *lasers* de diodo do tipo QW DFB foram usados. Inicialmente, utilizou-se um QW DFB de 20 mW com comprimento de onda centrado em 1531,95 nm (NEC modelo NX8562LB) e, posteriormente, com o objetivo de otimizar o sistema por meio do aumento na sua sensibilidade, um outro QW DFB, com potência de 80 mW e comprimento de onda centrado em 1532,68 nm (EM4 modelo E0054271) foi adquirido e utilizado na configuração final do sistema.

Em ambas as configurações, os *lasers* foram acoplados a uma das extremidade de uma fibra óptica do tipo PM (com $125 \mu\text{m}$ e $8 \mu\text{m}$ de diâmetro externo e do núcleo, respectivamente) e montados sobre uma base do tipo borboleta (*Tektronix* modelo BFY-1), de 14 pinos (figura 16a). Essa base por sua vez é diretamente conectada a uma fonte comercial da *Stanford Research Systems* modelo LDC501 (figura 16b), que permite o controle da temperatura (por meio de um *Peltier*) e da corrente de operação do *laser*, bem como a sua modulação por meio de uma referência externa. Nas medidas, a corrente de alimentação do diodo *laser* foi eletronicamente modulada na frequência de ressonância da célula fotoacústica utilizando uma gerador de função *RIGOL* modelo DG1022, sendo que dois tipos de modulação foram utilizados por meio da saída *TTL*⁴³ do gerador de função: modulação em amplitude e modulação em comprimento de onda.



(a) *laser* acoplado a base

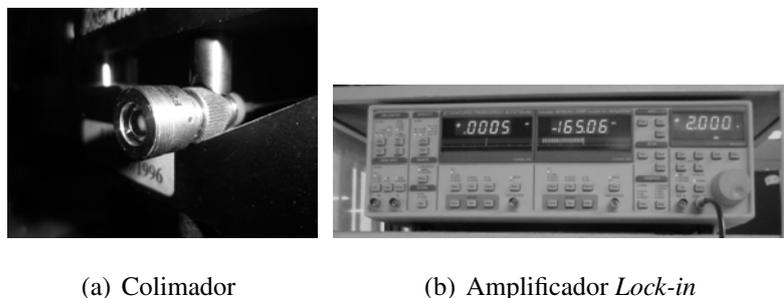
(b) Driver

Figura 16: (a) *Laser* acoplado a base (b) Driver

Na outra extremidade da fibra óptica está acoplado um colimador Thor Labs modelo F230FC-1550 (figura 17a), que por sua vez está ligado a uma das entradas ópticas da célula fotoacústica

⁴³*Transistor-Transistor-Logic*

de modo que o feixe do *laser* passe pelo centro ao longo do comprimento do tubo ressonador da célula. A oscilação de pressão no interior da célula detectada pelos microfones é amplificada por um *lock-in* modelo SR830, fabricado pela *Stanford Research Systems* (figura 17b).

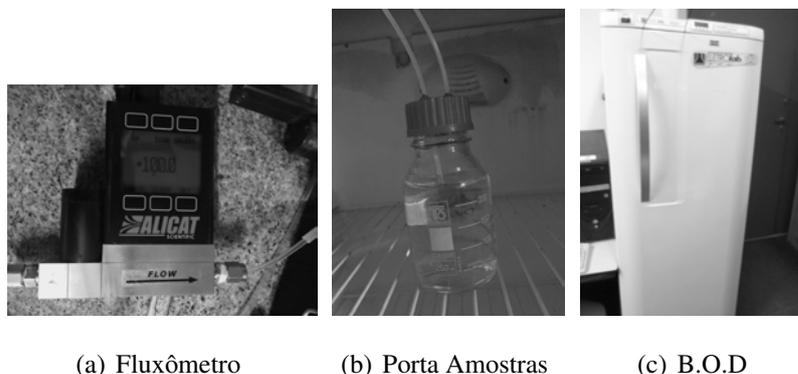


(a) Colimador

(b) Amplificador *Lock-in*

Figura 17: (a) Colimador (b) Amplificador *Lock-in*

Como porta amostras, foi utilizado um frasco de vidro (de volume 250 ml) com tampa rosqueada onde foram inseridas uma linha⁴⁴ de entrada e outra de saída (ambas de Teflon) para que fosse estabelecido um fluxo do gás de arraste e do emitido pelas amostras, no seu interior. O arraste e controle do fluxo dos gases foi realizado utilizando um fluxômetro (modelo *ALICAT - MC series*), sendo que, durante as medidas, esse porta amostras foi fechado e colocado dentro de uma B.O.D⁴⁵ (ELETROLAB - Modelo EL222) e mantido a uma temperatura constante.



(a) Fluxômetro

(b) Porta Amostras

(c) B.O.D

Figura 18: Fluxômetro, Porta Amostras e B.O.D utilizados nas medidas

Embora na faixa espectral utilizada não exista absorção significativa de água, sabe-se que ela disputa sítios de adsorção nas superfícies internas de todo o sistema (linhas e paredes dos porta amostras e da célula fotoacústica). Assim sendo, para garantir que não houvessem contribuições ou interferências da água no sinal, a amostra de gás foi arrastada até um *cold trap*⁴⁶, sendo esse

⁴⁴Aqui, nesse contexto, o termo linha é atribuído aos tubos utilizados como caminho para os gases ao longo de todo o sistema.

⁴⁵Biological Oxygen Demand

⁴⁶De forma simplificada, trata-se de um sistema utilizado para reter a água presente na amostra gasosa antes do fluxo ser conduzido até o interior da célula.

composto por um pequeno frasco em contato térmico com recipiente criogênico⁴⁷ preenchido com nitrogênio líquido.



Figura 19: *Cold Trap*

Para as medidas de calibração e os demais testes de caracterização e determinação de condições de operação, uma configuração similar porém simplificada foi utilizada (uma vez que não envolve reagentes, soluções ou controle de temperatura), sendo essa composta por dois fluxômetros (modelo *ALICAT - MC series*) ligados em paralelo, que controlam o fluxo (possibilitando medidas em diferentes concentrações a partir de diferentes proporções entre os fluxos individuais de cada fluxômetro) e levam os gases certificados até a célula.

4.2 Amostras

Para as medidas referentes a calibração e demais testes com o sistema, foram utilizados os seguintes gases certificados: nitrogênio gasoso (N_2), amônia (10 e 100 ppmv), dióxido de carbono (CO_2 - 20%⁴⁸), hélio (He), óxido nitroso (N_2O - 5 ppm) e etileno (C_2H_2 - 5 ppm), todos pela White Martins. Para a preparação das cápsulas de alginato, foram utilizados os seguintes reagentes:

- Alginato de Sódio (SIGMA-ALDRICH) - Massa molar (MW)=100.000 g/mol, com aproximadamente 61% de ácido manurônico e 39% de ácido gulurônico, uma relação M/G de 1,56.
- Ácido Acético \geq 99.70% (SIGMA-ALDRICH);
- Carbonato de Cálcio \geq 99.0% (SIGMA-ALDRICH);

⁴⁷Nesse caso em questão, foi utilizado um *Dewar* comercial

⁴⁸que corresponde a $2 \cdot 10^5$ ppm

- Cloreto de Cálcio $\geq 99\%$ (VETEC);
- Óleo Mineral (VETEC);
- Clorofórmio $\geq 99.5\%$ (SIGMA-ALDRICH);
- Solução tampão acetato de sódio+ácido acético pH 4 (FLUKA)
- Ureia comercial (SIGMA-ALDRICH)
- Urease comercial (SIGMA-ALDRICH)

4.2.1 Preparação das cápsulas de alginato com ureia

Para a formulação das microcápsulas de alginato contendo ureia, foi utilizado o método de emulsificação [196–198], baseado na metodologia de Silva *et al.* e Xiao *et al.* [199, 200] e representado esquematicamente na figura 20. As amostras foram preparadas em parceria com o Laboratório de Materiais Avançados (LAMAV) da UENF, que forneceu os equipamentos e pessoal para a realização desse processo de preparação.

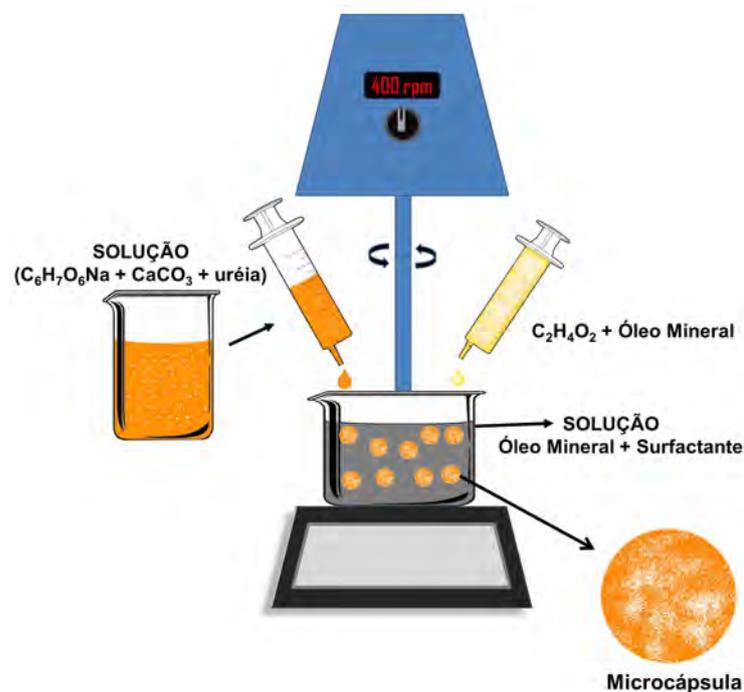


Figura 20: Preparação das amostras por emulsificação

A ureia foi dissolvida na solução de alginato de sódio 3% (m/v) contendo carbonato de cálcio (relação m/m Ca^{2+} /alginato igual a 7%). Após isso, essa solução resultante é gotejada

juntamente com uma solução de óleo mineral e ácido acético 10% v/v (para solubilização dos íons Ca^{2+}) sobre uma solução de óleo mineral contendo 1% m/m de surfactante (para não permitir que as micropartículas se agreguem), e sob rotação controlada de 400 rpm. Posteriormente, adicionou-se uma solução de CaCl_2 0,05 M (para completar a coagulação e manter a forma da gotícula). Após cerca de uma hora sob rotação, as microcápsulas foram separadas da solução utilizando uma micro-peneira, lavadas com solução tampão acetato pH 4 (para retirar o excesso de cálcio e óleo) e secas. As amostras devidamente secas podem ser vistas na figura 21.



Figura 21: Cápsulas de alginato+ureia

No total foram preparadas seis formulações, partindo-se da mesma concentração de alginato. As três primeiras traziam uma relação Ureia/Alginato correspondente a 25% (m/m) enquanto as três últimas 50% (m/m). Nas diferentes formulações, as esferas apresentaram tamanho médio muito próximo. Isso é esperado, uma vez que no procedimento foram utilizadas seringas com o mesmo diâmetro de abertura. A massa das micropartículas foram medidas utilizando uma balança analítica *SARTORIUS* modelo TE 2145 e os diâmetros utilizando uma micrômetro *Starrett* modelo V436. A tabela 2 apresenta esses dados:

Formulação	Massa (g)	Diâmetro (mm)	Ureia/ Alginato (%)
ALG10115	1,01 ± 0,02	1,02 ± 0,04	25
ALG04116	1,08 ± 0,02	1,01 ± 0,04	25
ALG04516	1,16 ± 0,02	1,07 ± 0,04	25
ALG06716	2,20 ± 0,02	1,02 ± 0,04	50
ALG09116	2,44 ± 0,02	1,08 ± 0,04	50
ALG0666	2,36 ± 0,02	1,10 ± 0,04	50

Tabela 2: Características das cápsulas de alginato com ureia incorporada

5 RESULTADOS

nicialmente, os componentes principais do sistema de detecção (o laser e a célula fotoacústica) foram caracterizados. A curva característica *potência vs corrente* do laser de diodo foi obtida e foram encontrados os valores de limiar de funcionamento do laser (início de emissão laser) e de máximo de tensão que não provocasse, assim, danos ao laser. Para a célula fotoacústica foram encontradas as frequências de ressonância para a amônia e as outras espécies gasosas.

Duas configurações foram utilizadas para compor o sistema de detecção, diferenciando-se uma da outra apenas pela fonte de radiação. Na primeira, o sistema contava com um diodo *laser* NEC NX8562LB de 20 mW, enquanto que na segunda configuração, um diodo *laser* EM4 E0054271 de 80 mW foi utilizado. Para ambos os *lasers*, foram realizados testes de modulação em amplitude e comprimento de onda, bem como testes para determinar a melhor relação sinal ruído do sistema fotoacústico.

Dada a necessidade de uma fonte de radiação com maior potência, a configuração com o *laser* EM4 acabou por tornar-se a configuração definitiva, sendo então utilizada para todas as medidas aqui nessa seção apresentadas. Assim, os resultados aqui nessa seção apresentados serão apenas os que foram realizados sob as mesmas condições experimentais.

Cabe aqui ressaltar que, devido a problemas com o amplificador *lock-in* e com os resultados referentes as primeiras quatro amostras de ureia incorporada ao alginato, as medidas com o espectrômetro utilizando o *laser* NEC NX8562LB foram desconsideradas no texto principal deste trabalho, a fim de garantir a idoneidade na análise dos resultados e nas suas respectivas conclusões. No entanto, os resultados dessas medidas estarão apresentados, ainda que de forma não tão detalhados e discutidos, no apêndice.

5.1 Medida e determinação da corrente de operação do *laser*

Primeiramente, foi obtida a curva de potência versus corrente do diodo *laser* a fim de otimizar a sua utilização dentro de uma margem de segurança para evitar danos.

Segundo os dados fornecidos pelo fabricante, o EM4 E0054271 pode operar a uma potência nominal de 80 mW quando aplicada sobre ele uma corrente de 350 mA. A figura 22 mostra a dependência da potência com a sua corrente de alimentação, medidas no laboratório:

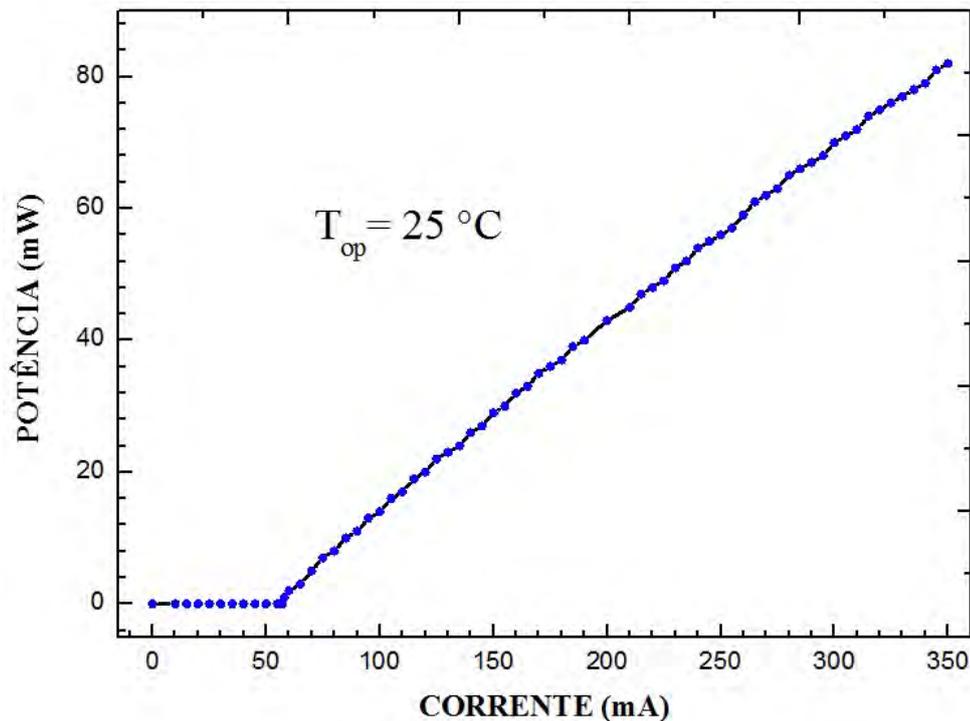


Figura 22: Curva potência versus corrente do diodo *laser*

Conforme poder ser visto na figura 22, a potência do *laser* apresenta um aumento linear com a corrente. Ao longo de todos os testes e medidas preliminares, o *laser* mostrou-se estável quando operando na corrente máxima estabelecida pelo fabricante. A partir disso, durante todos os experimentos a corrente máxima do *laser* foi de 350 mA que, conforme mencionado, corresponde a uma potência de aproximadamente 80 mW.

Para fins de calibração, o coeficiente de ajuste⁴⁹ da temperatura do *laser* também foi determinado. O fabricante indica que para esse *laser* o coeficiente é de $-12,5\text{ GHz}/^{\circ}\text{C}$, o que correspondente a $0,1\text{ nm}/^{\circ}\text{C}$. No entanto, uma relação entre o seu comprimento de onda e a sua temperatura foi estabelecida a partir da comparação entre os picos de absorção obtidos num espectro teórico de absorbância e um espectro experimental referente ao sinal fotoacústico gerado por uma amostra de 100 ppmv de amônia (figura 23).

⁴⁹Trata-se da taxa de variação do comprimento de onda λ emitido pelo *laser* com relação a temperatura T de operação, assim: $(d\lambda/dT)$

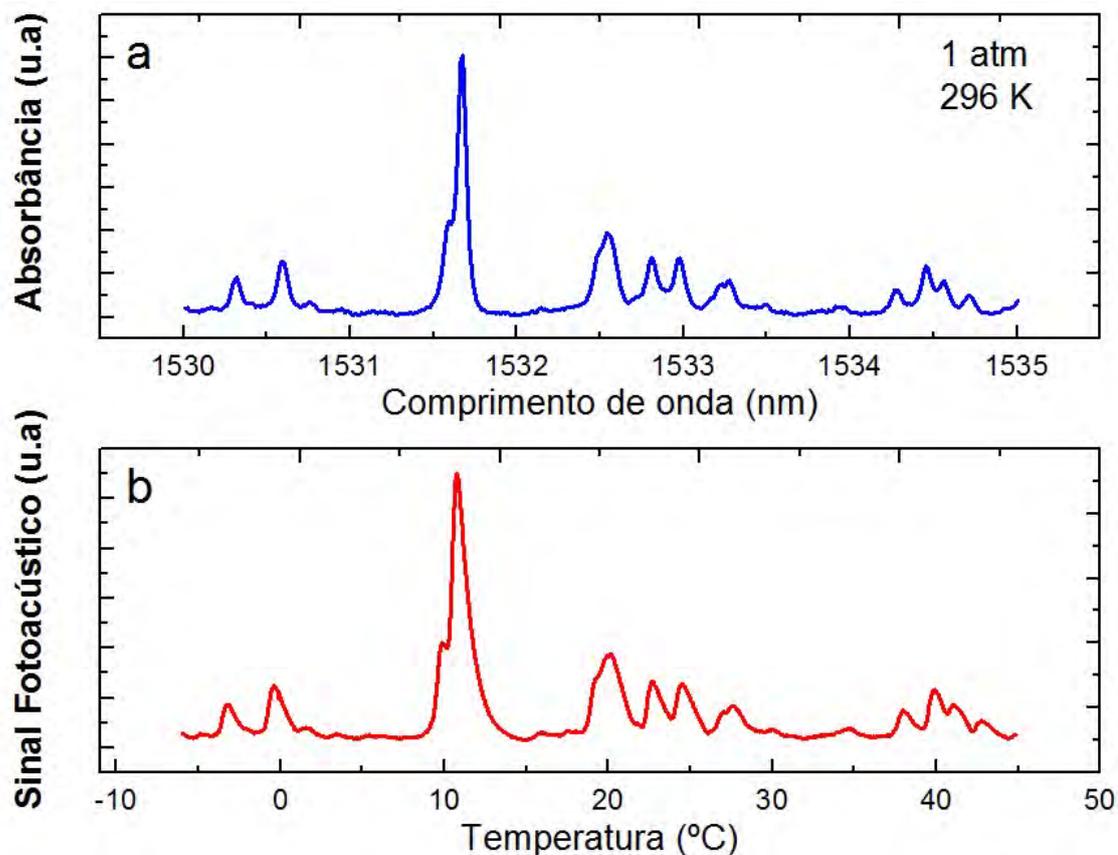


Figura 23: Espectro teórico de absorvância (HITRAN) (a) e espectro correspondente ao sinal fotoacústico em função da temperatura (b), para o NH_3

A partir da figura 23, foram obtidos os seguintes pontos:

λ (nm)	T (°C)
1530,59	-0,38
1531,68	10,77
1532,54	20,17
1532,80	22,67
1532,97	24,52
1533,28	27,57
1534,27	37,97
1534,45	39,92
1534,57	41,02
1535,12	46,87

Tabela 3: Relação entre o comprimento de onda e temperatura do *laser* EM4

A partir dos dados apresentados na tabela 3, foi possível verificar que há uma relação linear

entre o comprimento de onda emitido pelo *laser* e a sua temperatura de operação:

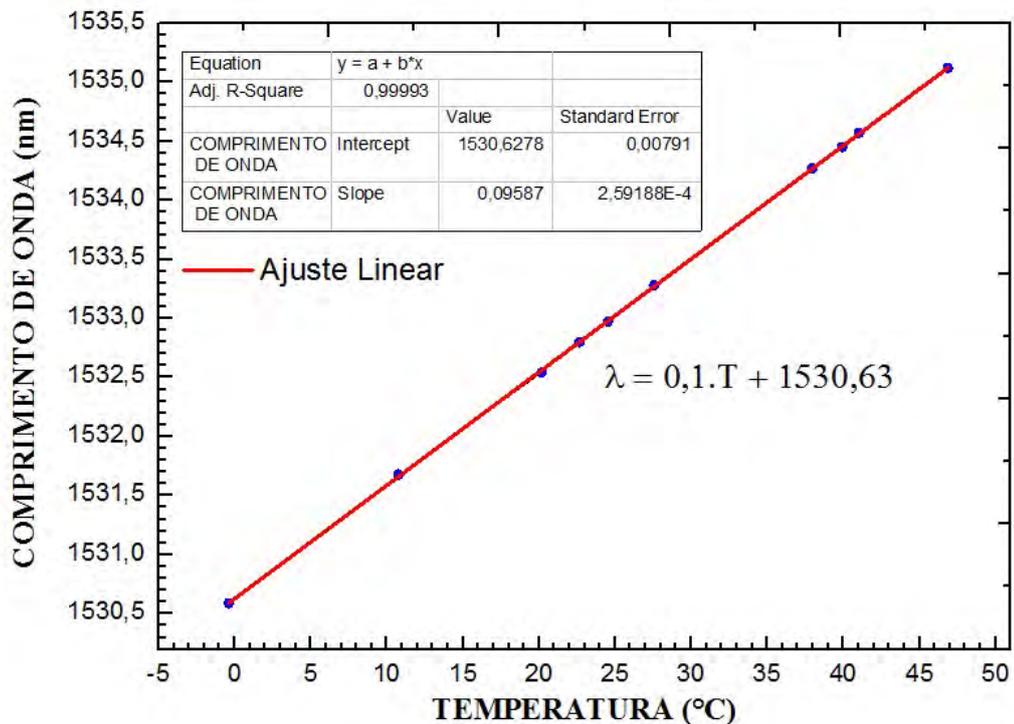


Figura 24: Ajuste da função Comprimento de onda x Temperatura do *laser* EM4

Por meio do ajuste linear da função estabelecida pelos pontos da tabela (3), obteve-se um coeficiente angular de valor $\approx (0,0958 \pm 0,0003) \text{ nm}/^\circ\text{C}$. Como a relação entre o comprimento de onda e a temperatura corresponde a uma função polinomial de primeiro grau⁵⁰, o seu coeficiente angular corresponde ao coeficiente de ajuste da temperatura. Assim sendo, o valor aproximado encontrado concorda com o dado fornecido pelo fabricante, podendo então, para efeitos de aproximação ser considerado $0,1 \text{ nm}/^\circ\text{C}$.

Uma vez estabelecida essa relação entre a temperatura e o comprimento de onda emitido pelo *laser*, é possível obter os espectros em função desses dois parâmetros. Com isso, foi possível calibrar o comprimento de onda do *laser* em função da sua temperatura de operação.

5.2 Determinação da frequência de ressonância da célula fotoacústica

Após a determinação da corrente de operação do *laser* (de forma a operar com a maior potência possível sem comprometer seu funcionamento e seletividade para a aplicação em questão), foi investigada a frequência de ressonância da célula fotoacústica. Uma vez que a frequência de ressonância não depende da forma ou como é modulado o sinal no seu interior,

⁵⁰Do tipo $y = ax + b$

uma modulação básica⁵¹ foi estabelecida e utilizada nessas medidas. Dessa forma, fez-se variar a frequência da radiação emitida pelo *laser* entre 5000 e 8000 *Hz* por meio da saída *sine out* do *lock-in* de modo que, com o objetivo de se obter o máximo de potência nessa medida, 10 V_{PP} foram aplicados sobre uma corrente DC de 150 mA, fornecendo uma potência de saída de aproximadamente 80 mW.

5.2.1 Amônia (NH₃)

A figura 25 mostra duas curvas de ressonância da célula fotoacústica para as concentrações de 10 ppmv e 100 ppmv de amônia em nitrogênio puro (99,999%), medidas separadamente e utilizando um fluxo de 100 sccm:

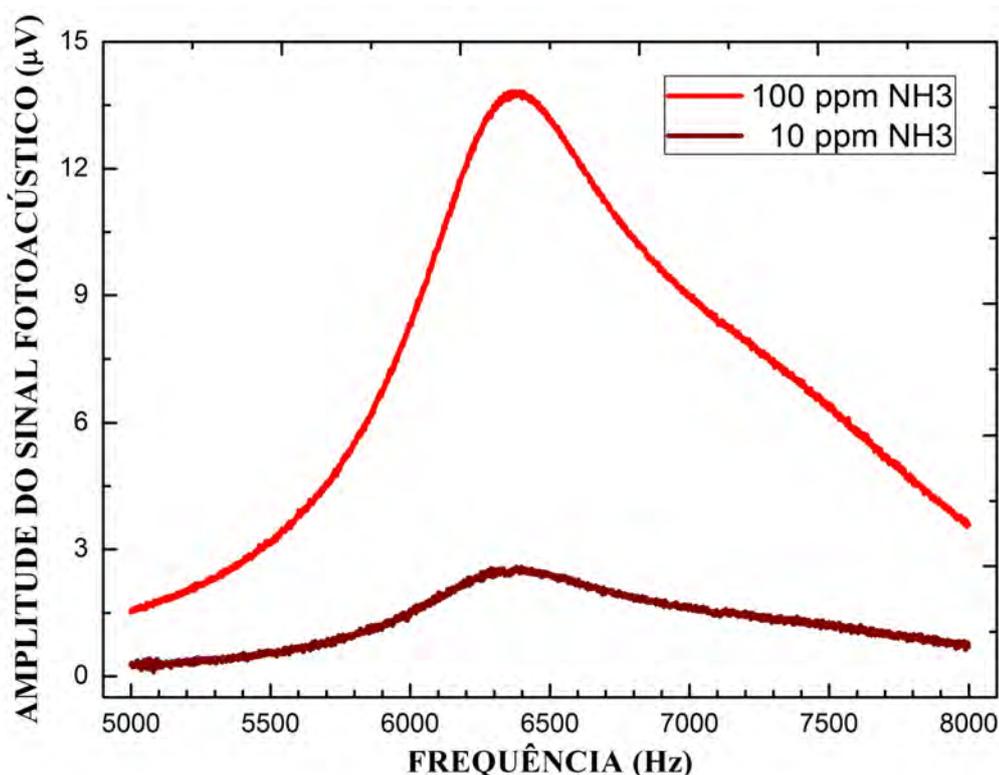


Figura 25: Curva de ressonância da célula fotoacústica para o NH₃

Para ambas as concentrações, uma ressonância de 6,38 kHz foi encontrada, gerando para os 10 ppmv um sinal fotoacústico de aproximadamente 2,3 μV e para os 100 ppmv, 13,8 μV . Isso mostra que apesar da frequência de ressonância depender da composição e da concentração da amostra gasosa, ela não variou significativamente entre 10 e 100 ppmv de amônia. Porém variações mais significativas ocorrem quando se tem mudanças de concentração da ordem de porcentagens.

⁵¹Aqui diz-se básica, pois ainda não havia sido estabelecida a forma de modulação do sistema.

5.2.2 Dióxido de carbono (CO₂)

A determinação das frequências de ressonância para diferentes concentrações de CO₂ foi realizada basicamente nas mesmas condições das medidas para a amônia, com a exceção do intervalo de frequência escolhido para a modulação do *laser*, que foi o de 5000 a 7000 Hz.

A figura 26 mostra duas curvas de ressonância da célula fotoacústica para as concentrações(em porcentagem) de 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10% e 20% de CO₂, medidas separadamente e utilizando um fluxo de 100 scem:

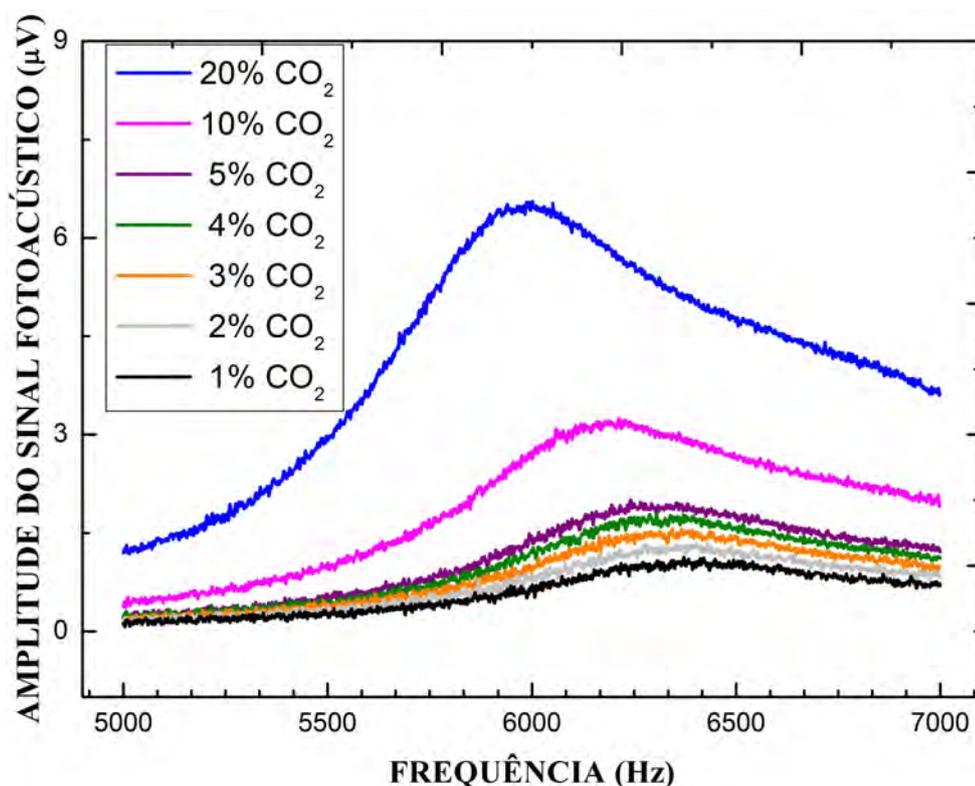


Figura 26: Ressonâncias da célula fotoacústica para diferentes concentrações de CO₂

O gráfico para as frequências de ressonância do CO₂ evidenciam um comportamento esperado: a variação da frequência de ressonância num ressonador, em função da concentração da espécie gasosa nele presente. Com isso, para uma concentração de 20%, a célula apresentou uma frequência de ressonância de 6,0 kHz, para 10% apresentou 6,21 kHz, para 5 e 3% 6,3kHz e para 2 e 1% apresentou aproximadamente 6,36 kHz.

O fato do dióxido de carbono absorver na mesma região que a amônia faz com que a análise do seu comportamento nessa região não seja desconsiderada. Então, a determinação dessas frequências é importante no sentido de avaliar a intensidade de uma absorção específica para

diferentes concentrações e avaliar uma possível influência na região da molécula de interesse. No entanto, isso será melhor explorado na seção 5.3.1.

5.2.3 Outras espécies gasosas

É sabido que o N_2 e o He não apresentam absorção na região correspondente a $1,53 \mu\text{m}$. Para o caso do N_2O , a investigação de algum tipo de absorção e possível influência sobre a linha ou a região de interesse torna-se pertinente, uma vez que essa espécie é, sob condições específicas, um dos possíveis produtos finais da reação da ureia aplicada no solo, conforme foi exposto na seção 3.1.4.

As medidas para a determinação dos valores correspondentes as ressonâncias da célula fotoacústica para o nitrogênio, o hélio e o óxido nitroso (10 ppmv) foram conduzidas fazendo-se variar a frequência de modulação da radiação emitida pelo *laser*. Os gráficos abaixo representam o perfil dessas ressonâncias:

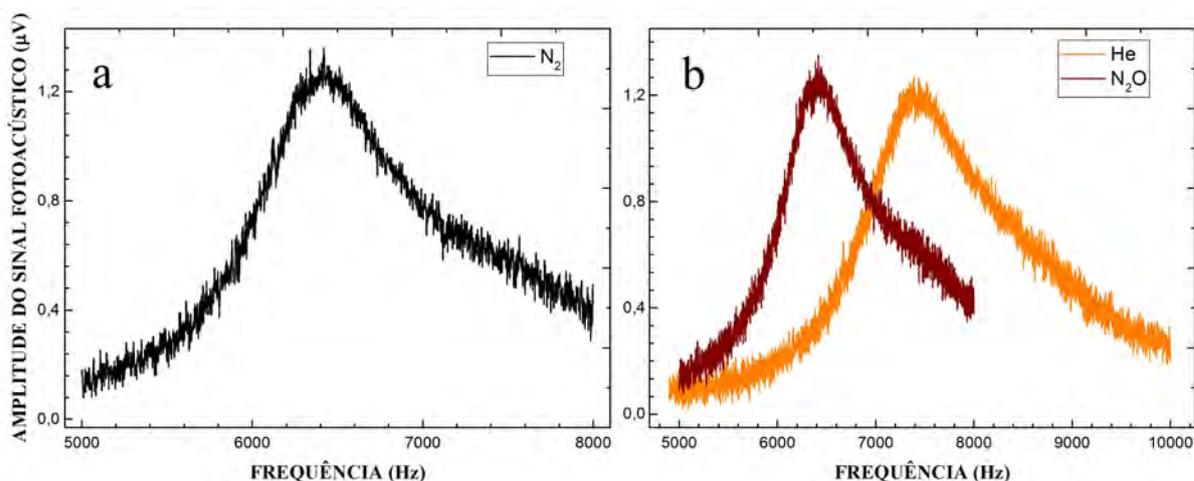


Figura 27: Ressonância da célula fotoacústica para o nitrogênio (a), óxido nitroso e hélio (b)

Para o N_2 e para o N_2O a frequência de ressonância da célula é de cerca de 6,4 kHz, enquanto que para o hélio, 7,4 kHz. Tanto a considerável diferença entre o hélio e os demais, quanto a equiparidade entre as ressonâncias para o N_2 e o N_2O podem ser explicadas pelo fato de que em relação as outras duas espécies, o hélio (puro) apresenta uma velocidade do som característica cerca de três vezes maior devido a sua baixa massa molar⁵², enquanto devido a baixa concentração (10 ppmv em nitrogênio), pode-se considerar que o N_2O possui a mesma velocidade do som que o N_2 e, assim sendo, não altera significativamente a atmosfera do meio.

⁵² $MM_{He} = 4 \text{ g/mol}$

Para essas espécies, também foram realizadas varreduras do sinal fotoacústico em função do comprimento de onda. A figura 28 mostra os resultados dessas medidas:

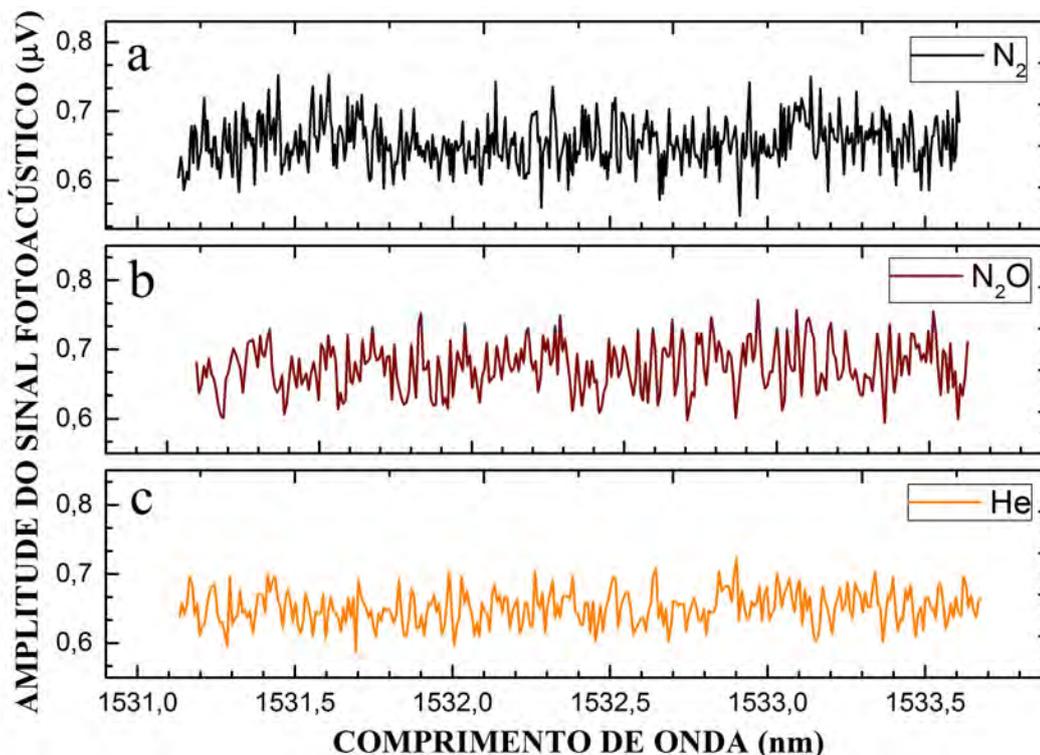


Figura 28: *Scans* em comprimento de onda para o N₂ (a), N₂O (b) e para o He (c).

Como esperado, as varreduras em comprimento de onda não identificaram nenhuma absorção para essas espécies em particular. Assim sendo, é razoável considerar que, em baixas concentrações e para esse sistema, essas moléculas não interferem na detecção do NH₃.

5.2.4 Modulações

Com o objetivo de encontrar uma condição de operação que proporcione a melhor relação sinal/ruído e consequentemente confira uma maior sensibilidade na detecção, testes com diferentes modulações foram realizados. Para isso, foram realizadas medidas com diferentes correntes de operação DC e modulada, de modo que a potência do *laser* fosse mantida constante para todas as modulações escolhidas, durante todas as medidas. Nessas medidas, as modulações utilizadas foram a modulação em comprimento de onda (MCO) e em amplitude (MA), todas demoduladas em $1f$.

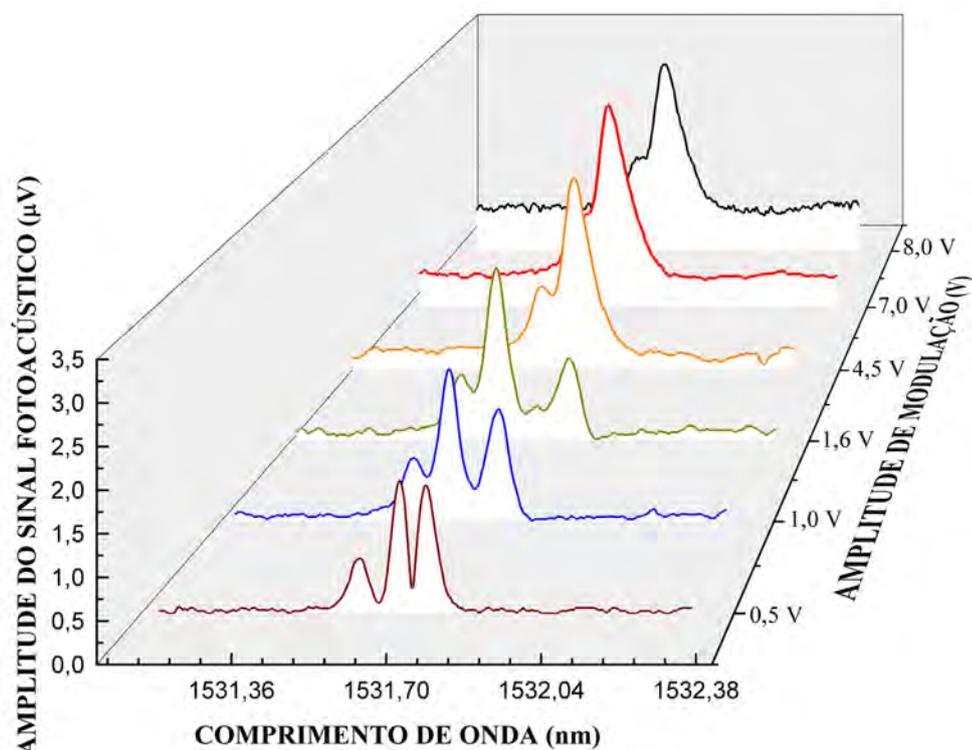


Figura 29: Modulações em comprimento de onda e amplitude

Conforme exposto nas seções 3.5.5 e 3.5.6, essas modulações consistiram em operar o laser através de uma combinação entre uma corrente contínua e outra não contínua modulada. Uma vez que o coeficiente que relaciona a tensão AC de entrada do *Driver* (figura 16b) é conhecida⁵³, foi possível estabelecer um conjunto de valores de diferentes tensões, o que possibilitou a aplicação de diferentes modulações tanto em amplitude quanto em comprimento de onda.

Para cada uma das modulações apresentadas na figura 29, foram realizadas medidas do sinal e do *background*. Essas medidas consistiram em manter o comprimento de onda do *laser* fixo no ponto correspondente ao máximo de absorção do NH_3 , para cada uma das modulações. Primeiramente, foi medido o *background*, fazendo-se passar pela célula um fluxo de 100 sccm de N_2 . Conforme já mencionado, esse gás foi escolhido como gás de arraste para as medidas devido a sua não absorção na faixa da amônia. A figura 30 apresenta a relação encontrada entre o *background* e sua respectiva modulação:

⁵³Para esse equipamento específico, a relação é de 50mA/V.

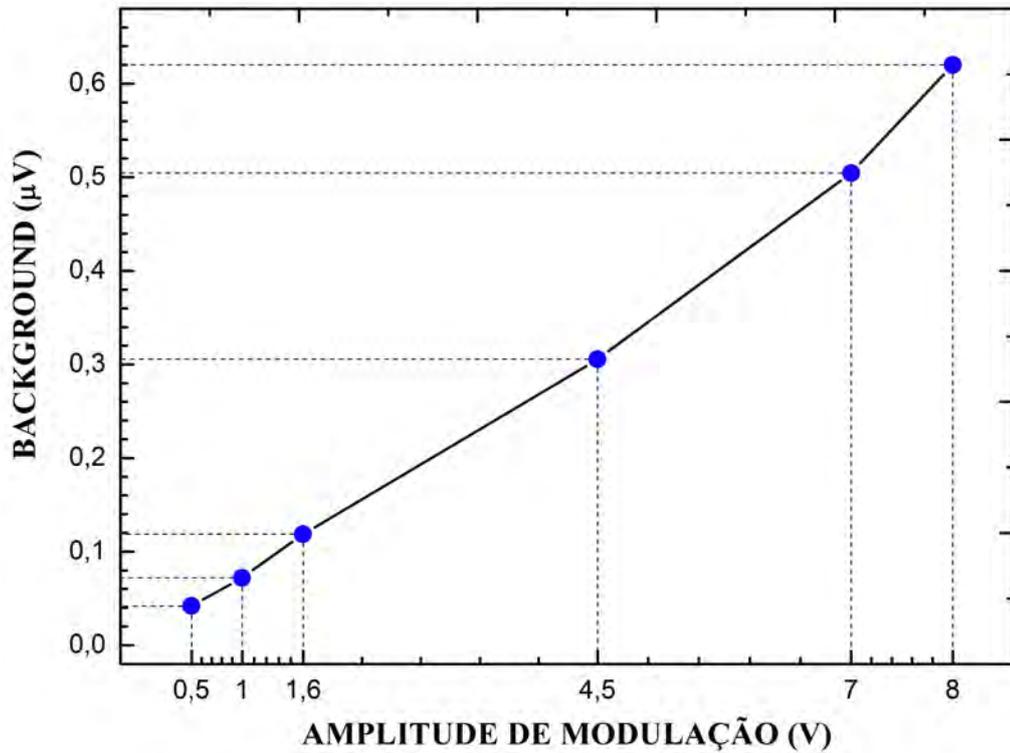


Figura 30: Relação entre o *background* e as amplitudes das modulações escolhidas

Observa-se com esse resultado que o *background* aumenta a medida em que se aumenta a amplitude da corrente modulada. Isso é esperado, haja vista que esse sinal é, na verdade, gerado pelo aquecimento das janelas, variando de acordo com a frequência e amplitude de modulação da radiação incidente.

Os valores médios dos sinais, do *background* e do seu desvio padrão σ_{Bg} foram calculados a partir da medida de 300 pontos e uma relação sinal ruído pode ser estabelecida para fins comparativos. Assim entre as diferentes modulações, o SSR ⁵⁴ foi calculado por meio da relação:

$$SSR = \frac{\bar{S}_{FA} - \bar{Bg}}{\sigma_{Bg}} \quad (46)$$

Os resultado dessa relação mostra que quanto maior o valor do SSR , melhor é a condição de operação, no que diz respeito a sensibilidade de detecção. O gráfico abaixo apresenta a magnitude do SSR , em função da sua respectiva modulação:

⁵⁴Signal to Standard Deviation Ratio

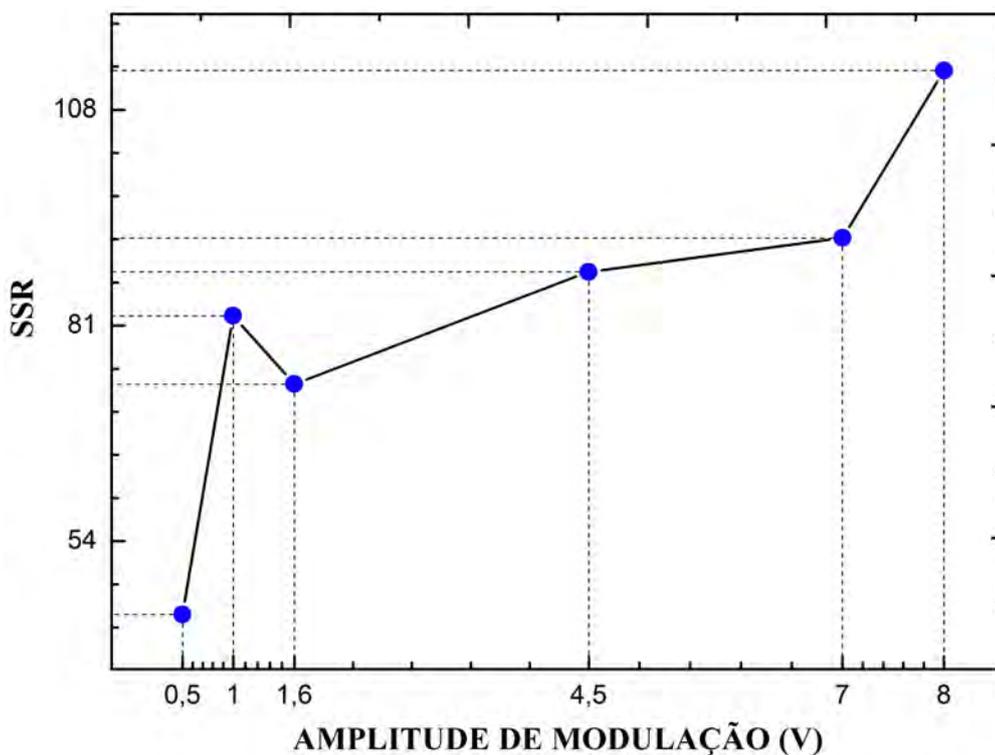


Figura 31: Relação entre o SSR e as modulações escolhidas

A partir da comparação entre os resultados obtidos, a modulação em amplitude correspondente a 58 mA DC e 8,0 V mostrou o melhor *SSR*, ainda que, com relação as demais modulações em amplitude, a diferença entre os *SSR* não seja tão grande, como mostra figura 31. Com isso, para todos os demais testes e medidas, o *laser* foi sintonizado em 1531,68 nm, fixando a temperatura em 10,7 °C e usando as condições de modulação acima citadas (58 mA DC e 8,0 V).

5.3 Limite de detecção

Para a calibração e avaliação da sensibilidade do sistema, foram realizadas medidas utilizando amostras de amônia (10 ppmv) em nitrogênio, certificada. Na medida, as amostras foram conduzidas até a célula através de linhas de teflon com diâmetro de 1/8 de polegada e a um fluxo constante de 100 sccm⁵⁵, por meio de dois fluxômetros eletrônicos ligados em paralelo. Essa configuração permitiu que a amostra de 10 ppmv fosse diluída em concentrações menores por meio do seu arraste junto a uma amostra de nitrogênio puro (99,9999%) em diferentes proporções de fluxo entre os gases, porém, mantendo-se constante o fluxo total de 100 sccm.

⁵⁵Que corresponde a 100 mL/min em condições normais de temperatura e pressão.

CONCENTRAÇÃO (ppm)	ϕ_{NH_3} (sccm)	ϕ_{N_2} (sccm)
6	60	40
5	50	50
4	40	60
3	30	70
2	20	80
1	10	90
0,5	5	95
0,3	3	97

Tabela 4: Valores dos fluxos utilizados na diluição da amônia e suas respectivas concentrações resultantes

A tabela 4 apresenta a relação de proporção entre os fluxos de amônia e nitrogênio utilizados. A concentração final referente a primeira coluna representa o valor determinado através da relação:

$$c_R = c_c \frac{\Phi_{NH_3}}{\Phi_{NH_3} + \Phi_{N_2}} \quad (47)$$

Onde Φ_{NH_3} e Φ_{N_2} correspondem, respectivamente aos fluxos da amônia e nitrogênio, c_c é a concentração do gás a ser diluído e c_R é a concentração resultante da diluição.

Para determinar os sinais correspondentes a cada concentração de amônia, o *laser* foi sintonizado para emitir no comprimento de onda de maior absorção na região (1531,68 nm), sendo essa emissão ocorrendo quando o *laser* está operando a temperatura de 10,7 °C. Para cada concentração foi realizada uma medida com 30 minutos de duração, até o ponto em que o sinal atingia um patamar máximo⁵⁶. Com esses dados foi possível estabelecer uma relação entre a concentração de amônia medida e o seu respectivo sinal.

⁵⁶Essa consideração faz-se necessária, uma vez que devido a sua natureza polar, a amônia ocupa sítios de adsorção no interior de todas as superfícies interiores das linhas e da célula fotoacústica, demandando certo tempo, sendo esse relacionado ao fluxo e a concentração desse gás [201–203]

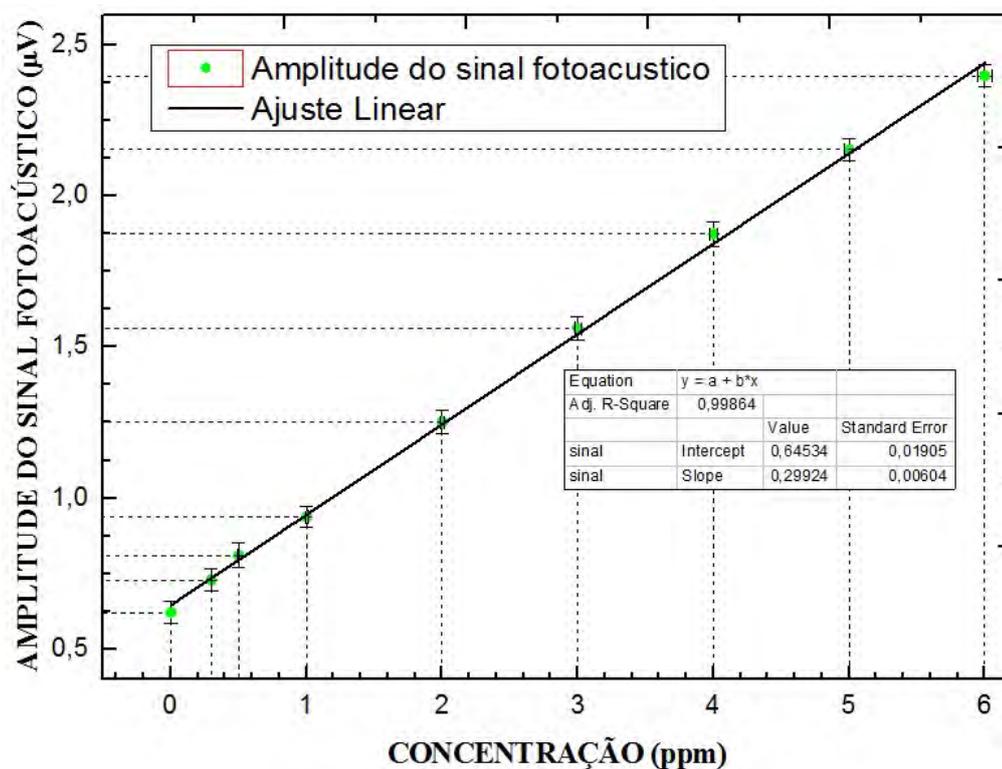


Figura 32: Dependência do sinal fotoacústico com a concentração, para o NH_3 .

A figura 32 mostra a relação linear do sinal fotoacústico com a concentração (conforme apresentado na seção 3.5.3) de NH_3 para uma variação de concentração de 0 a 6 ppmv. A barra vertical de erro de cada ponto experimental plotado corresponde ao desvio médio padrão de um total de 300 pontos (medidas) para uma determinada concentração de NH_3 , enquanto que a barra horizontal corresponde a incerteza na medida da concentração devido a incerteza inerente ao fluxômetro. Sobre o limite de detecção, considera-se que esse corresponde a menor concentração para a qual não ocorre superposição entre as barras de erro verticais das medidas com a do fundo (medida obtida fazendo-se passar somente N_2). Assim, o limite inferior detectável foi de 300 ppbv.

5.3.1 Possível influência do CO_2

A presença de moléculas que absorvem no mesmo comprimento de onda ou na mesma faixa da molécula de interesse pode vir a ser um fator limitante na eficiência e na seletividade de um sistema. O dióxido de carbono é uma molécula que pode vir a ser gerada no processo que envolve as múltiplas reações correspondentes a transformação da ureia em NH_3 . Assim sendo, é pertinente avaliar se há alguma influência dessa molécula na detecção de NH_3 .

Na seção 5.2 foi mostrado que o CO_2 possui linhas de absorção na região correspondente a

1,53 μm . Para analisar essa possível influência, primeiramente foram tirados espectros de 20% de CO_2 e de 100 ppmv de NH_3 . A figura 33 corresponde a sobreposição desses dois espectros para a região entre 1531 e 1535 nm, aproximadamente:

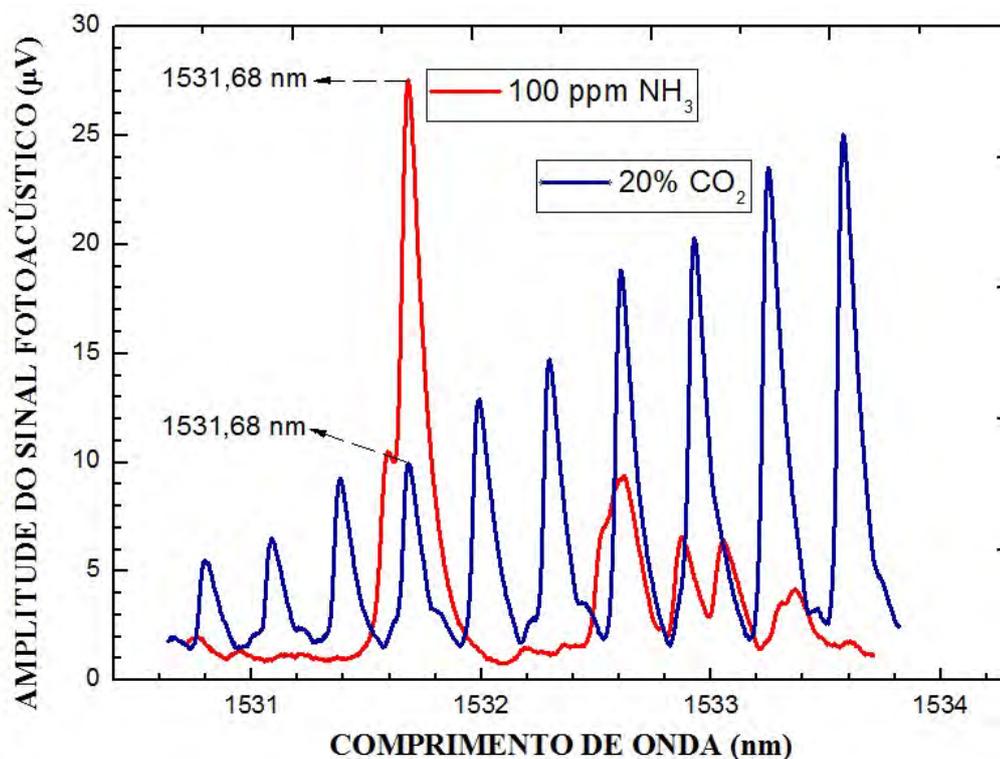


Figura 33: Espectros do CO_2 e do NH_3 sobrepostos.

A figura 33 mostra que há uma superposição entre alguns picos, incluindo o correspondente a 1531,68 nm, o que por sua vez pode vir a influenciar nas medidas de NH_3 utilizando a fonte de radiação emitindo nesse comprimento de onda específico. No entanto, deve-se considerar que a amostra de CO_2 em questão possui concentração referente a 20% (que corresponde a $2 \cdot 10^5$ ppmv), sendo uma concentração relativamente elevada, quando comparada a 100 ppmv de NH_3 . Deve-se considerar também que a absorção em 1531,68 nm corresponde a absorção máxima da amônia nessa região, enquanto que, para o CO_2 , é relativamente fraca quando comparada com as demais absorções que ele apresenta ao longo do seu espectro.

Para a determinação do limite de detecção do sistema para o CO_2 , o procedimento experimental aplicado foi similar ao adotado com a amônia: As amostras foram conduzidas até a célula através de linhas de teflon com diâmetro de 1/8 de polegada e a um fluxo constante de 100 sccm, por meio de dois fluxômetros eletrônicos ligados em paralelo, permitindo que a amostra de 20% fosse diluída em concentrações menores por meio do seu arraste junto a uma amostra de nitrogênio puro (99,9999%) em diferentes proporções de fluxo, porém, mantendo-se constante

o fluxo total de 100 sccm.

O *laser* foi sintonizado para emitir um comprimento de onda fixo (1531,68 nm), correspondente a maior absorção da amônia na região em questão, uma vez que o objetivo dessas medidas é avaliar uma possível influência do CO₂ nas medidas envolvendo a emissão de amônia. Assim como feito para o NH₃, para cada concentração foi realizada uma medida com 30 minutos de duração, até o ponto em que o sinal atingia um patamar máximo. Com esses dados foi possível estabelecer uma relação entre a concentração de CO₂ medida e o seu respectivo sinal:

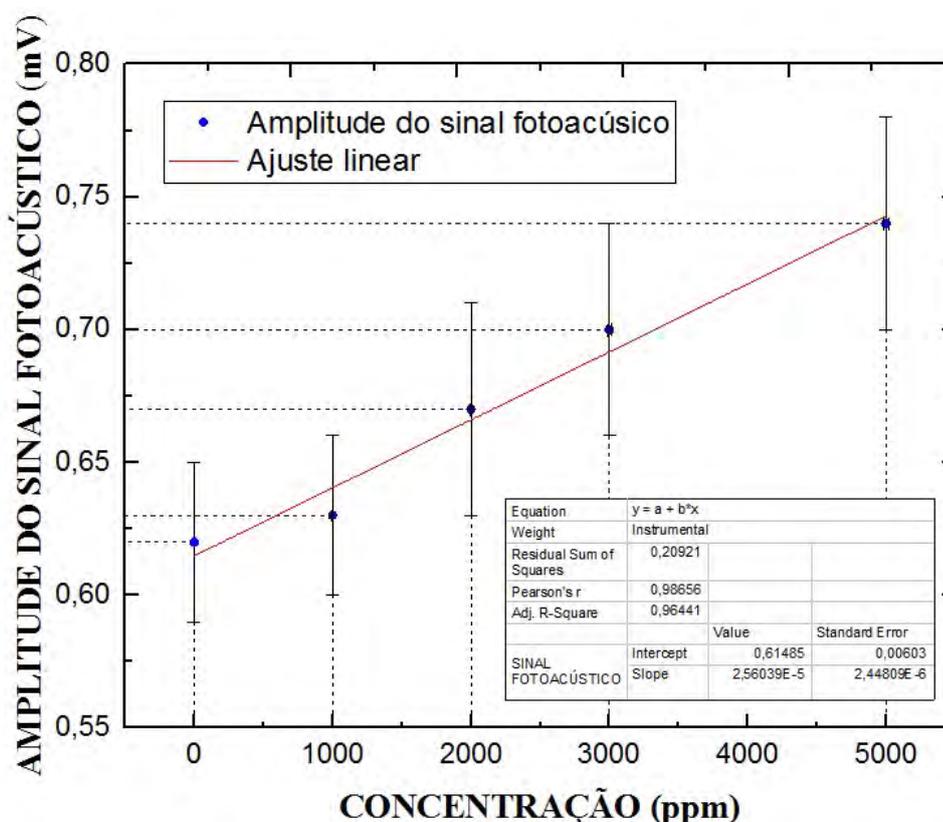


Figura 34: Dependência do sinal fotoacústico com a concentração para o CO₂.

A figura 34 mostra a relação linear esperada entre a variação do sinal fotoacústico e a variação da concentração do gás para uma variação de concentração de 0 a 5000 ppmv. A barra vertical de erro de cada ponto experimental plotado corresponde ao desvio médio padrão de um total de 300 pontos (medidas) para uma determinada concentração de CO₂, enquanto que a barra horizontal corresponde a incerteza na medida da concentração por parte do fluxômetro. Sobre o limite de detecção, considera-se que esse corresponde a menor concentração para a qual não ocorre superposição entre as barras de erro verticais das medidas com a do fundo (medida obtida fazendo-se passar somente N₂). Assim, para o CO₂, pode-se considerar que o limite inferior detectável foi de 3000 ppmv.

Assim como para as demais espécies gasosas (apresentado na seção 5.2.3), foram realizadas varreduras do sinal fotoacústico em função do comprimento de onda, para baixas concentrações de CO_2 . A figura 35 mostra os resultados dessas medidas.

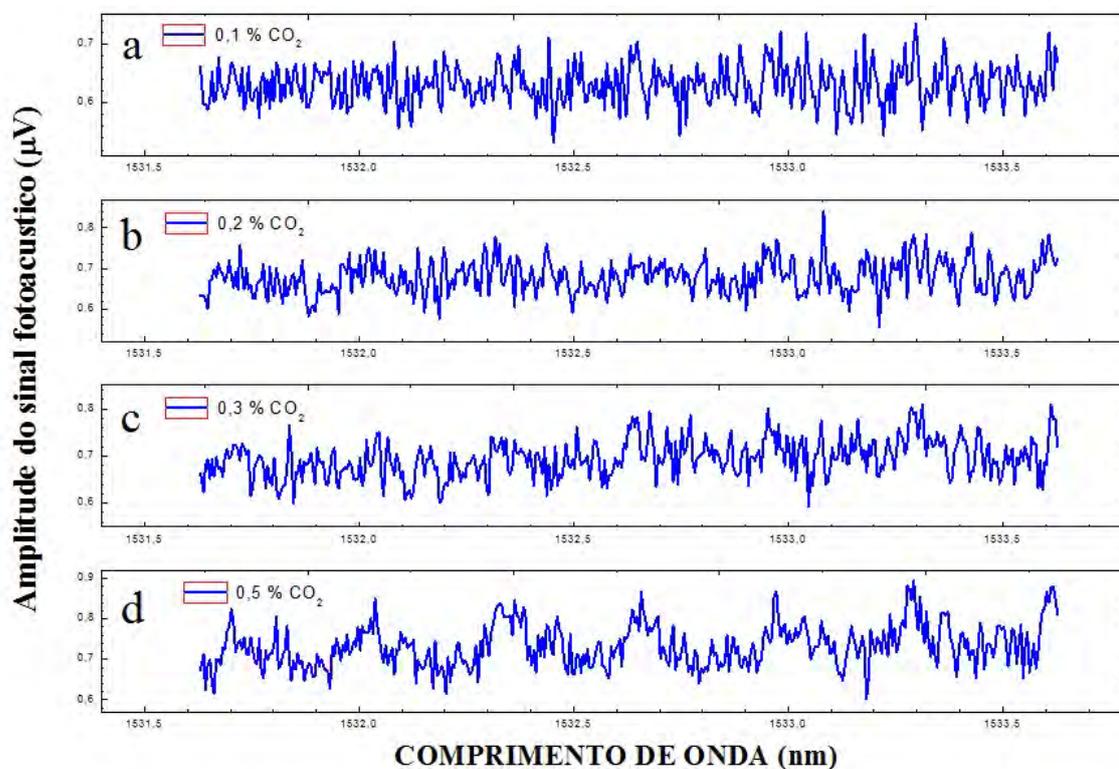


Figura 35: Scans de comprimento de onda para diferentes concentrações de CO_2 (a) 0,1% (b) 0,2% (c) 0,3% (d) 0,5%

Como esperado, as varreduras em comprimento de onda não identificaram nenhuma absorção para as concentrações correspondentes a 0,1 e 0,2 % de CO_2 . Para 0,3 e 0,5%, é possível observar que, timidamente, as estruturas correspondentes aos picos de absorção presentes na região começam a tornar-se visíveis, concordando com o resultado apresentado na figura 34.

Uma vez que as medidas referentes as amostras produzidas não envolvem concentrações da ordem de milhares de ppmv, tanto de amônia quanto de dióxido de carbono, podemos concluir que caso ocorra, a emissão desse gás não influenciará, de forma significativa, nas medidas.

5.4 Emissão de amônia das amostras investigadas

Primeiramente foi realizada uma medida com a ureia pura, com o objetivo de comparar e avaliar a emissão de amônia tanto na presença quanto na ausência da matriz polimérica. Em seguida, as amostras de ureia incorporada ao alginato foram medidas sob as mesmas condições. Conforme previamente descrito na seção 4 e esquematizado na figura 15, as amostras (tanto a

ureia pura quanto as microcápsulas de ureia incorporada ao alginato) foram colocadas em um porta amostras de vidro contendo uma solução 50% v/v de urease em água. Antes de chegar até a célula fotoacústica, o gás emitido pelas amostras foi arrastado por nitrogênio puro a um fluxo constante de 100 sccm até o *Cold Trap* (figura 19), com o objetivo de reter moléculas de água provenientes da solução aquosa. Durante todas as medidas, o *laser* operou a temperatura fixa de 10,7 °C, (conforme descrito na seção 5.2.4) correspondente ao comprimento de onda 1531,68 nm, para o qual a amônia apresenta, na faixa espectral coberta pelo *laser*, absorção máxima.

5.4.1 Ureia

Na figura 36, está apresentado o resultado referente ao sinal fotoacústico, e nas figuras 37 e 38 as taxas de emissão da amônia ao longo do tempo, para uma amostra de 1,26 g de ureia.

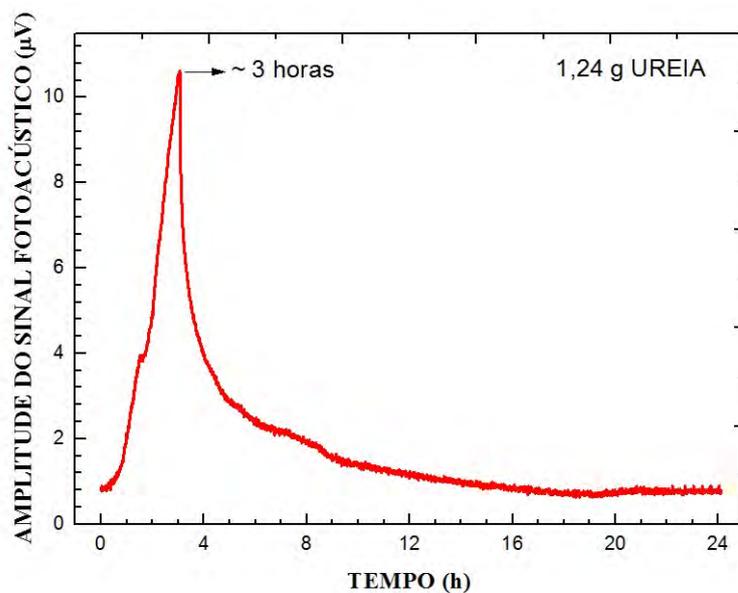


Figura 36: Monitoramento do tempo de emissão da amônia em função do sinal fotoacústico para 1,26 g de ureia em uma solução 50% v/v de urease em água

Por meio do produto entre o ajuste⁵⁷ dos parâmetros referentes a figura 32 com o sinal da amostra e o fluxo de gás (100 sccm)⁵⁸, foi possível estabelecer, respectivamente, duas relações de taxas de emissão com o tempo, apresentadas na figura 37: uma da massa e outra da concentração de NH₃, emitidas ao longo de um intervalo de 24 horas.

⁵⁷Aqui, isso deu-se por meio do ajuste da função *concentração x sinal fotoacústico*.

⁵⁸Aqui nesse caso, o fluxo foi convertido para cm³/h

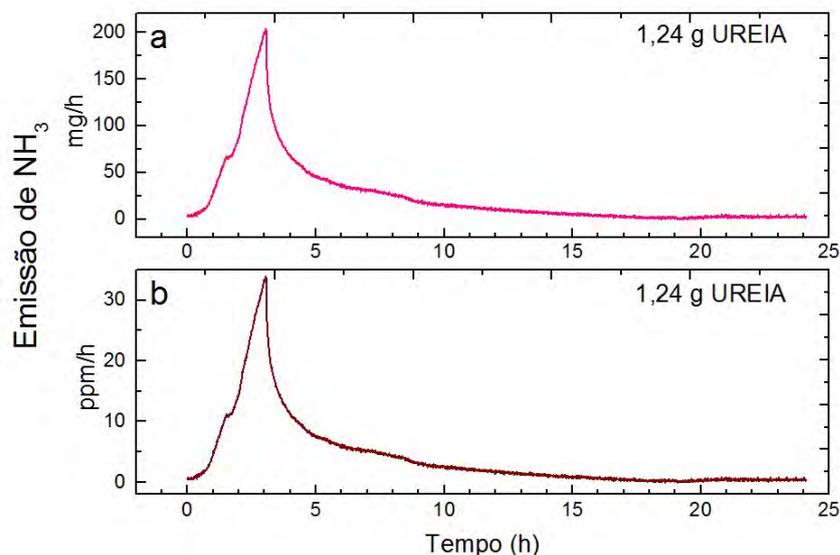


Figura 37: Taxas de emissão de amônia para 1,26 g de ureia em uma solução 50% v/v de urease em água, dadas em (a) mg/h (b) ppm/h

Como a variação da concentração e da massa do NH_3 são conhecidos, foi possível estabelecer uma nova relação, dessa vez multiplicando-se a taxa de emissão referente a figura 37(b) com a sua massa molar⁵⁹. Com isso, foi possível, converter essa taxa de emissão do NH_3 de miligramas por hora (mg/h) para micromoles por hora ($\mu\text{mol/h}$).

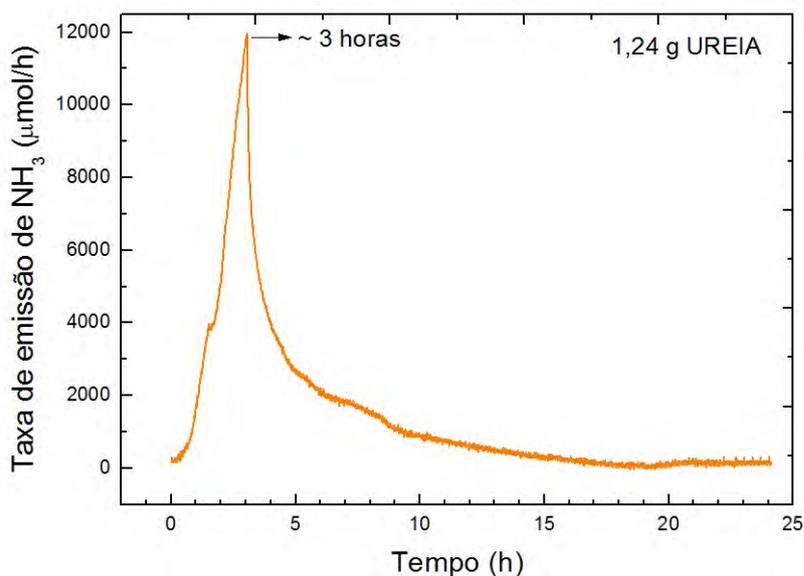


Figura 38: Taxa de emissão de amônia para 1,26 g de ureia em uma solução 50% v/v de urease em água, dada em $\mu\text{mol/h}$

Por meio das figuras 36, 37 e 38 é possível verificar que a emissão máxima ocorre após 3 horas do início da emissão e que após esse intervalo, tanto o sinal fotoacústico quanto as taxas

⁵⁹ $\text{MM}_{\text{NH}_3} = 17 \text{ g/mol}$.

de emissão decaem. Para essa amostra de 1,26 g de ureia, 0,58 g (580 mg) são de amônia, uma vez que 46% da ureia corresponde a NH_3 (conforme já mencionado na seção 1). Após 24 horas de experimento, podemos considerar que toda a amônia contida nessa amostra de ureia foi emitida, uma vez que integrando-se a área abaixo da curva taxa de emissão⁶⁰ obtém-se a massa de NH_3 emitida ao longo desse tempo, cujo valor encontrado foi de 0,58 g, que corresponde a aproximadamente 98 ppmv e 34637 μmol de NH_3 .

5.4.2 ALG09116

A figura 39, apresenta o resultado referente ao sinal fotoacústico e, as figuras 40 e 41, as taxas de emissão da amônia ao longo do tempo para uma amostra de 1,22 g de ureia incorporada na matriz polimérica de alginato.

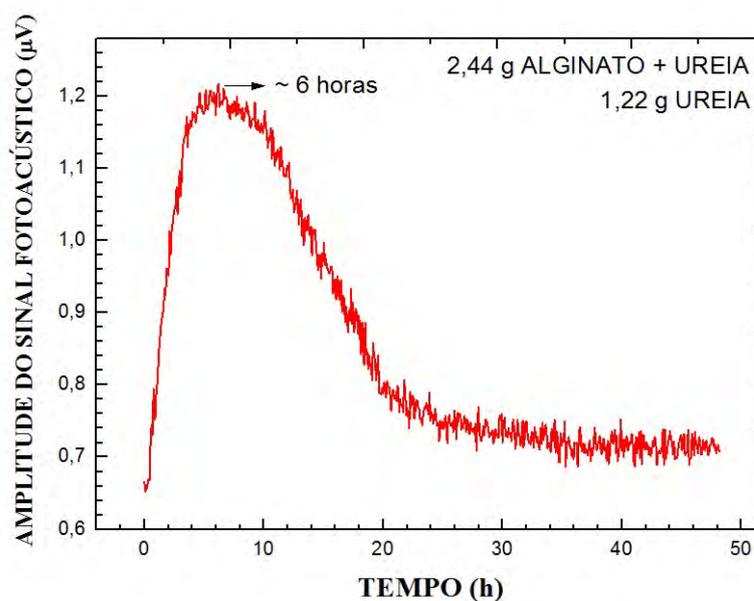


Figura 39: Monitoramento do tempo de emissão da amônia em função do sinal fotoacústico para 1,22 g de ureia incorporada na matriz polimérica de alginato, em uma solução 50% v/v de urease em água

A determinação das taxas de emissão para essa amostra foram realizadas por meio do ajuste da curva de calibração para a amônia, tal como foi feito para a ureia pura e apresentado na seção 5.4.1. Assim sendo, foi possível estabelecer para essa amostra, as respectivas relações referentes as taxas de variação da concentração e a taxas de variação da massa com o tempo, ao longo da emissão do NH_3 . A figura 40 apresenta essa relação.

⁶⁰Em se tratando da comparação entre a massa final e inicial, é conveniente integrar a curva referente a taxa de emissão em massa, representada na figura 37(b)

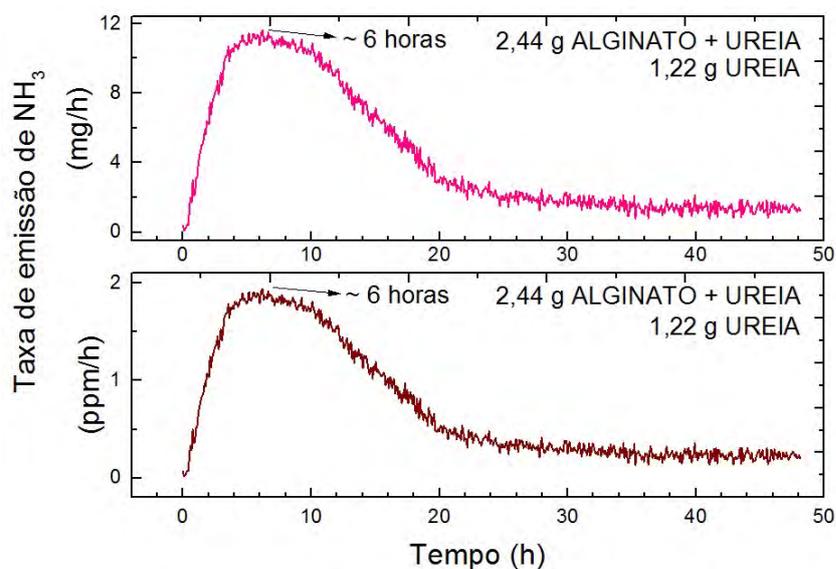


Figura 40: Taxas de emissão de amônia para 1,22 g de ureia incorporada na matriz polimérica de alginato, em uma solução 50% v/v de urease em água (a) mg/h (b) ppm/h

Assim como feito para as taxas de emissão de amônia da ureia sem a matriz polimérica, as taxas de emissão do NH₃ foram convertidas de miligramas por hora (mg/h) para micromoles por hora ($\mu\text{mol/h}$), com essa relação apresentada na figura 41.

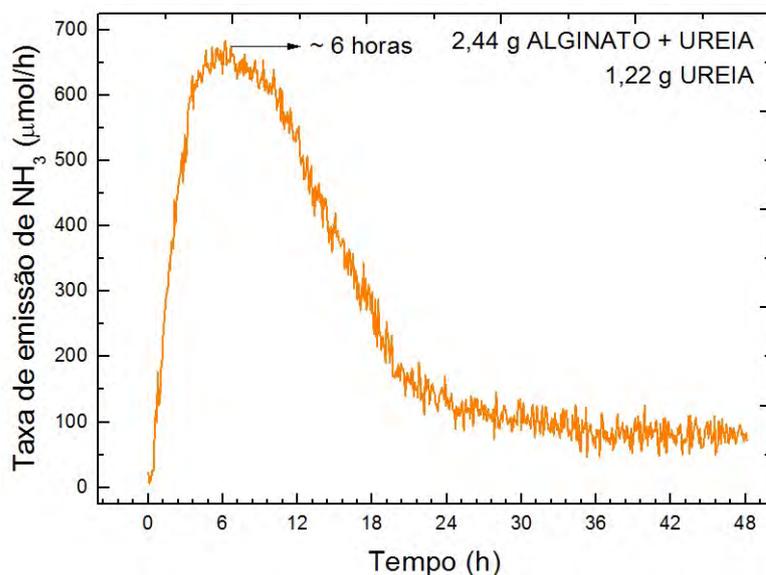


Figura 41: Taxa de emissão de amônia para 1,22 g de ureia incorporada na matriz polimérica de alginato, em uma solução 50% v/v de urease em água, dada em $\mu\text{mol/h}$

Para essa amostra, 1,22 g são de ureia e, por sua vez, 0,56 g (560 mg) são de NH₃. As figuras 39, 40 e 41 mostram que a taxa de emissão máxima ocorreu até 6 horas após o início da medida, o que já permite uma comparação com a ureia sem a matriz polimérica, haja visto que a quantidade de ureia envolvida é praticamente a mesma, que o experimento foi realizado

sob as mesmas condições e que no intervalo de 24 horas a partir do início da medida, apenas 9826 μmol (167 mg) de NH_3 haviam sido emitidos por essa amostra. Considerando todo o intervalo da medida (48 horas corridas), 12069,64 μmol (205 mg) de NH_3 foram emitidos. Isso corresponde a cerca de 37% da amônia presente nas microcápsulas, o que significa que cerca de 63% (aproximadamente 355 mg) de amônia ainda está encapsulada⁶¹. Com base na taxa de emissão ($80,76 \pm 15,02$) $\mu\text{mol/h}$ que se mantém constante a partir de 40 h do início da medida, podemos determinar que o tempo de liberação dessa amônia restante será de aproximadamente 258 horas, ou, aproximadamente 11 dias.

5.4.3 ALG0666

A figura 42 apresenta o resultado referente a variação do sinal fotoacústico ao longo do tempo para uma amostra de 1,18 g de ureia incorporada na matriz polimérica de alginato.

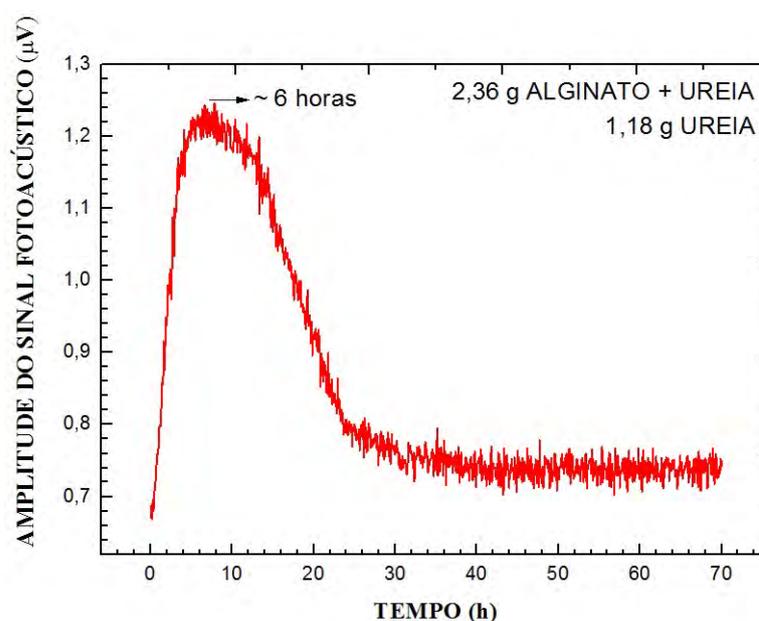


Figura 42: Monitoramento do tempo de emissão da amônia em função do sinal fotoacústico para 1,18 g de ureia incorporada na matriz polimérica de alginato, em uma solução 50% v/v de urease em água

De forma análoga ao procedido com a amostra ALG09116, as taxas de variação da concentração e a taxas de variação da massa com o tempo ao longo da emissão do NH_3 da amostra ALG0666 também foram determinadas por meio do ajuste da curva de calibração para a amônia (figura 32). A figura 40 apresenta essa relação.

⁶¹ Aqui, cabe ressaltar que essa amônia está na fase sólida, sob a forma de ureia.

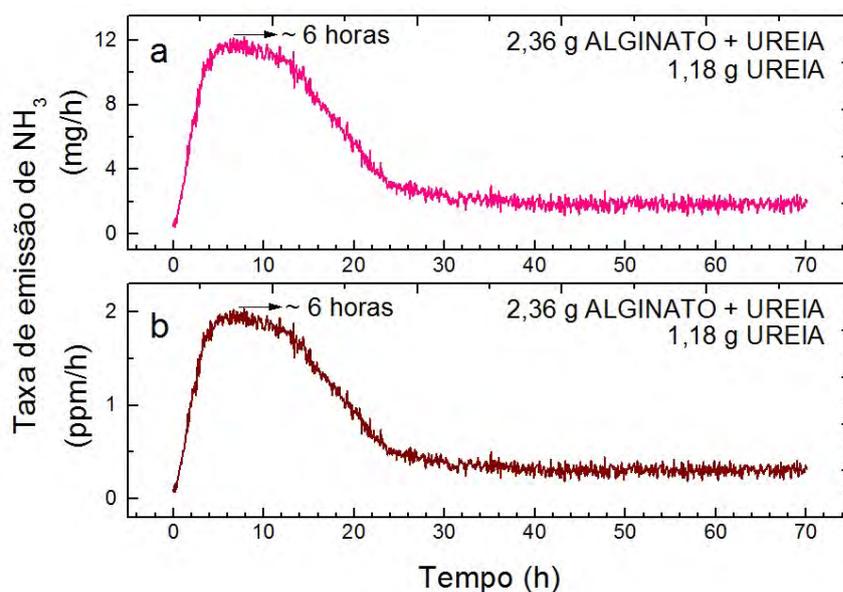


Figura 43: Taxas de emissão de amônia para 1,18 g de ureia incorporada na matriz polimérica de alginato, em uma solução 50% v/v de urease em água (a) mg/h (b) ppm/h

Novamente, de forma análoga ao procedido com a amostra ALG09116 as taxas de emissão do NH₃ para a amostra ALG0666 foi convertida para micromoles por hora ($\mu\text{mol/h}$). A figura 44 apresenta essa relação.

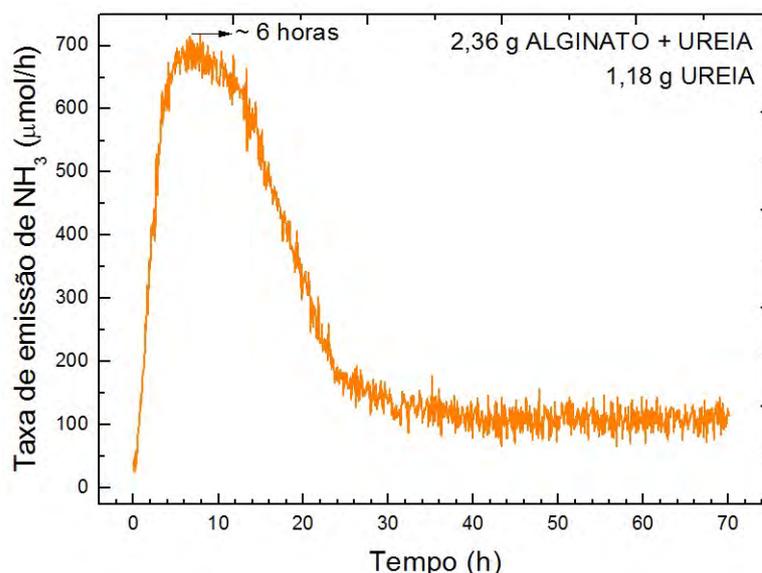


Figura 44: Taxa de emissão de amônia para 1,18 g de ureia incorporada na matriz polimérica de alginato, em uma solução 50% v/v de urease em água, dada em $\mu\text{mol/h}$

Dos 1,18 g de ureia dessa amostra, 0,54 g (540 mg) são de NH₃. As figuras 42, 43 e 44 mostram que a taxa de emissão máxima ocorreu em aproximadamente 6 horas após o início da

medida. Ainda que haja uma pequena variação⁶² no sinal fotoacústico e nas taxas de emissão em relação a ALG09116, esse resultado permite uma comparação tanto com essa amostra quanto com a de ureia sem a matriz polimérica, haja visto também que a quantidade de ureia envolvida é bem próxima, que o experimento foi realizado sob as mesmas condições e que no intervalo de 24 horas a partir do início da medida, apenas 11655 μmol (198 mg) de NH_3 haviam sido emitidos por essa amostra.

Para uma melhor comparação com a ALG09116, podemos considerar que no intervalo de 48 horas (do início da medida), 14699 μmol (250 mg) de NH_3 foram emitidos pela ALG0666, o que corresponde a 46% da amônia presente sob a forma de ureia nessas microcápsulas. Considerando todo o intervalo da medida (70 horas corridas), 17113,8 μmol (291 mg) de NH_3 foram emitidos. Isso corresponde a cerca de 54% da amônia presente nas microcápsulas, o que significa que mesmo após 70 horas do início do experimento, cerca de 46% (249 mg) de amônia ainda estava encapsulada sob a forma de ureia. Essa pequena variação num intervalo de 22 horas (entre 70 e 48 h) pode ser explicado devido o fato da taxa de emissão decair consideravelmente após cerca de 6 horas do início da emissão.

No entanto, se consideramos que a taxa de emissão ($109,36 \pm 17,12$) $\mu\text{mol/h}$ mantém-se constante a partir de 40 horas do início da medida, podemos determinar que o tempo de liberação desses 46% de amônia que mesmo após 70 horas encontra-se sob a forma de ureia no interior das microcápsulas, será de aproximadamente 156 horas, ou, aproximadamente 6,5 dias.

5.4.4 Comparativo entre as taxas de emissão das amostras

Ao analisar a figura 45 podemos notar uma considerável redução nas taxas de emissão de amônia, devido a incorporação da ureia na matriz polimérica de alginato. Enquanto a ureia pura apresentou uma taxa máxima de emissão de aproximadamente 11792 $\mu\text{mol/h}$ após 3 horas de emissão, as amostras ALG09116 e ALG0666 apresentaram 683 e 700 $\mu\text{mol/h}$ após 6 horas de emissão, respectivamente. Com isso, podemos dizer que a ureia incorporada ao alginato reduziu em 94% as taxas de emissão de amônia, com relação a ureia pura.

⁶²Aqui, convém considerar que há uma pequena diferença de massa entre as amostras (preparadas em períodos diferentes) e que os seus respectivos experimentos foram realizados com uma diferença de dois meses.

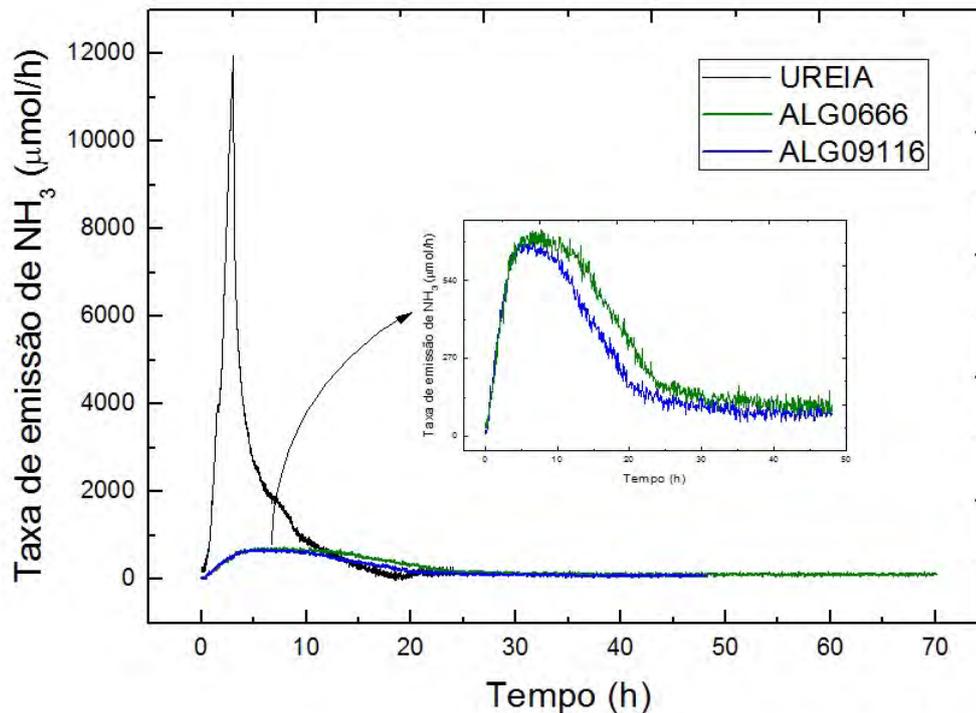


Figura 45: Comparativo entre as taxas de emissão de amônia da ureia e das amostras de ureia contendo alginato, com destaque para a emissão das duas amostras de ureia incorporada ao alginato

Quantitativamente, esse resultado significa também que, para as quantidades de ureia aplicadas nas medidas (tanto pura quanto incorporada ao alginato), o tempo de emissão da amônia para a ureia incorporada ao alginato é significativamente maior (aproximadamente 300 horas) quando comparado com as 24 horas para a ureia pura. Já qualitativamente, significa que a matriz polimérica atua como barreira física e não permite a interação imediata das enzimas *urease* com a ureia contida nas camadas mais internas da microcápsula, o que por sua vez, ocasiona as baixas taxas de emissão para essas amostras, quando comparadas com a da ureia pura.

Convém pontuar também que nas medidas realizadas com todas as amostras nessa seção descritas apresentaram ao longo de todo o processo uma emissão de amônia abaixo de 100 ppmv⁶³. Assim sendo, pode-se considerar que não existe nenhuma influência do CO₂ nesse processo, uma vez que o limite mínimo detectável para esse gás no sistema em questão é de 3000 ppmv, conforme descrito na seção 5.3.1.

⁶³Verificável por meio da integração das curvas referentes as figuras 37(b), 40(b) e 43.

6 CONCLUSÃO

O espectrômetro fotoacústico proposto e montado mostrou-se uma excelente ferramenta para a detecção de amônia. Por meio dele ele, foi possível detectar concentrações mínimas de aproximadamente 300 partes por bilhão de amônia em nitrogênio. Tais valores de concentração viabilizam o emprego deste sistema de detecção em diversas atividades de pesquisa voltadas para o monitoramento de amônia em sistemas ambientais e biológicos. O mesmo equipamento mostrou-se sensível para detectar 0,3% de dióxido de carbono em nitrogênio (partes em volume).

Espectros obtidos para a concentrações em porcentagens de dióxido de carbono mostraram que independente da presença de um pico de CO₂ na linha principal de absorção da amônia (1531,68 nm) essa molécula não gera interferência nas medidas de amônia para esse sistema na aplicação aqui apresentada.

Com relação as amostras investigadas, os resultados obtidos apresentaram uma boa reprodutibilidade, mostrando uma redução significativa de mais de 90% na taxa de amônia emitida a partir da ureia incorporada ao alginato, o que nos permite concluir que para essa aplicação específica e aqui apresentada, a matriz polimérica mostrou-se efetiva.

Devido ao fato dessa ureia estar distribuída uniformemente ao longo da microcápsula, é conveniente considerar que essa emissão será feita de forma gradual e lenta, estando diretamente relacionada a degradação do polímero na superfície aplicada. Com isso, é possível através da relação entre a taxa de emissão para uma dada formulação e a quantidade contida ou até mesmo retida na microcápsula, determinar o tempo em que ocorre ou ocorrerá a liberação da amônia no meio aplicado, o que gera uma perspectiva otimista quanto ao uso desse sistema.

Esse resultado, permite considerar que a incorporação da ureia utilizada como fertilizante em uma matriz polimérica biodegradável é uma promissora proposta de redução na volatilização de NH₃ e seu lançamento na atmosfera, bem como uma alternativa que fornecerá, caso seja aplicada de forma correta, a nutrição adequada das plantas de uma determinada cultura. Todavia, testes em campo, bem como testes com diferentes formulações de matrizes poliméricas ainda são necessários para o desenvolvimento e aplicação desse sistema.

Bibliografia

- [1] Peter M Vitousek, John D Aber, Robert W Howarth, Gene E Likens, Pamela A Matson, David W Schindler, William H Schlesinger, and David G Tilman. Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences. *Ecological applications*, 7(3):737–750, 1997.
- [2] Roberto Ferreira Novais. *Fertilidade do solo*. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2007.
- [3] SR SOUZA and MS FERNANDES. Ix–nitrogênio. *Nutrição mineral de plantas. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo*, pages 215–252, 2006.
- [4] Bernardo Van Raij. *Fertilidade do solo e manejo de nutrientes*. International Plant Nutrition Institute, 2011.
- [5] Frederick R Troeh and Louis M Thompson. *Solos e fertilidade do solo*. Andrei, 2007.
- [6] IFA FAO. Global estimates of gaseous emission of nh₃, no and n₂o from agricultural land. *Food and Agriculture Organization of United States and International Fertilizer Industry Association, Rome*, 2001.
- [7] VM Reis, ALM de Oliveira, VLD Baldani, FL Olivares, and JI Baldani. Fixação biológica de nitrogênio simbiótica e associativa. *Nutrição mineral de plantas. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa*, pages 153–174, 2006.
- [8] James B Howard and Douglas C Rees. Structural basis of biological nitrogen fixation. *Chemical Reviews*, 96(7):2965–2982, 1996.
- [9] John Raymond Postgate. *The fundamentals of nitrogen fixation*. CUP Archive, 1982.
- [10] LB Fenn and LR Hossner. Ammonia volatilization from ammonium or ammonium-forming nitrogen fertilizers. In *Advances in Soil Science*, pages 123–169. Springer, 1985.
- [11] Natalie Anderson, Ross Strader, and Cliff Davidson. Airborne reduced nitrogen: ammonia emissions from agriculture and other sources. *Environment International*, 29(2):277–286, 2003.

- [12] SC Jarvis, BF Pain, et al. Ammonia volatilization from agricultural land. In *Proceedings-Fertiliser Society*, number 298 in 1, 1990.
- [13] John R Postgate. Biological nitrogen fixation. *Nature*, 226:25–27, 1970.
- [14] Stephen C Wagner. Biological nitrogen fixation. *Nat. Educ. Knowl*, 2(11):14, 2011.
- [15] MB Peoples, DF Herridge, and JK Ladha. Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production? *Plant and soil*, 174(1-2):3–28, 1995.
- [16] L. Sangoi, P.R. Ernani, V. A. Lech, and C. Rampazzo. Volatilização de N-NH₃ em decorrência da forma de aplicação de uréia, manejo de resíduos e tipo de solo, em laboratório. *Ciência Rural*, 33(4):687–692, 2003.
- [17] W.G. Englert; J. Rubio. Characterization and environmental application of a chilean natural zeolite. *J. Miner. Process.*, 75:21–29, 2005.
- [18] C. Bastioli. *Handobook of biodegradable polymers*. Rapra technology, Shawbury, U.K., 1 edition, 2005.
- [19] R Chandra. Biodegradable polymers. *Progress in Polymer Science*, 23(7):1273–1335, Nov 1998.
- [20] Katarzyna Leja and Grażyna Lewandowicz. Polymer biodegradation and biodegradable polymers – a review. *Pol J Environ Stud*, 19:255–66, 2010.
- [21] LO. Ekebafé, DE. Ogbeifun, and FE. Okieimen. Polymer applications in agriculture. *Biokemistri*, 23(2), 2011.
- [22] A. Kosterev and A.A. Titel. Chemical sensors based on quantum cascade lasers. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, 38:582–591, 2002.
- [23] M. Baptista-Filho; M.G. da Silva; M.S. Sthel; D.U. Schramm; H. Vargas; A. Miklos; P. Hess. Ammonia detection using quantum-cascade laser photoacoustic spectroscopy. *Applied Optics*, 45:4966–4971, 2006.
- [24] M. G. da Silva, A. Miklos; H. Vargas, and P. Hess. Photoacoustic detection of ozone using a quantum cascade laser. *Applied Physics B: Lasers and Optics*, 78:677–680, 2004.

- [25] L.A.C.J. Voeselek, M. Banga, R.H. Thier, C.M. Mudde, F.J.M. Harren, G.W.M. Barendse, and C.W.P.M. Blom. Submergence-induced ethylene synthesis, entrapment, and growth in two plant species with contrasting flooding resistances. *Plant Physiol.*, 103:783–791, 1993.
- [26] J. Kreuzwieser; F.J.M. Harren; L. J. J. Laarhoven; I. Boamfa; S. Lintel-Hekkertb; U. Scheerer; C. Hif;glin; H. Rennenberg. Acetaldehyde emission by the leaves of trees - correlation with physiological and environmental parameters. *Physiol. Plantarum*, 113:41–49, 2001.
- [27] L.A.J. Mur, I.E. Santosa, L.J.J. Laarhoven, N. Holton, F.J.M. Harren, and A.R. Smith. Laser photoacoustic detection allows in planta detection of nitric oxide in tobacco following challenge with avirulent and virulent pseudomonas syringae. *Plant Physiol.*, 138:1247–1258, 2005.
- [28] E. Santosa, P.C. Ram, E.I. Boamfa, L.J.J. Laarhoven, J. Reuss, M.B. Jackson, and F.J.M. Harren. Patterns of peroxidative ethane emission from submerged rice seedlings indicate that damage from reactive oxygen species takes place during submergence and, is not necessarily a post-anoxic phenomenon. *Planta*, 226:193–202, 2007.
- [29] M.W. Sigrist, R. Bartlome, D. Marinov; J.M. Rey, D.E. Vogler, and H. Wi;chter. Trace gas monitoring with infrared laser-based detection schemes. *Appl. Phys. B*, 90:289–300, 2008.
- [30] M.G. da Silva, J.A.P. Lima, M.S. Sthel, E. Marif;n, C.E. Gatts, S.L. Cardoso, E. Campos-trini, M.G. Pereira, A.C. Campos, M.S.O. Massunaga, and H. Vargas. Ethylene and CO_2 emissions rates in tropical fruits investigated by infrared absorption techniques. *Analytical Science*, 17:534–537, 2001.
- [31] M.G. da Silva; E.O. Santos; M.S. Sthel; S.L. Cardoso; A. Cavalli; A.R. Monteiro; J.G. Oliveira; M.G. Pereira; H. Vargas. Effect of heat treatment on ethylene and CO_2 emissions rates during papaya (*Carica papaya*, L.) fruit ripening. *Review of Scientific Instruments*, 74:703–705, 2003.
- [32] U.D. Schramm, M. S. Sthel, L. O. Carneiro, A. C. Campos Silva, and H. Vargas. Application of a photoacoustic method to the measurement of acetylene reduction by nitrogenase enzyme. *J. Phys. IV*, 125:31–33, 2005.

- [33] S.F. Corrêa; M. Baptista-Filho; M.G. da Silva; J.G. Oliveira; E.M.M. Aroucha; R.F. Silva; M.G. Pereira; H. Vargas. Effect of the potassium permanganate during papaya fruit ripening: Ethylene production. *J. Phys. IV*, 125:869–871, 2005.
- [34] M. Baptista-Filho; S.F. Corrêa; L.B. da Silva; J. Xavier-Filho; J.G. de Oliveira; H. Vargas. Photoacoustic study of ethylene emission and respiration rate of carbon dioxide from insulin germinated beans (*Phaseolus vulgaris L.*). *J. Phys. IV*, 125:861–864, 2005.
- [35] T. Pereira, M. Baptista-Filho, S.F. Corrêa, J.G. Oliveira, M.G. da Silva, and H. Vargas. Photoacoustic technique applied to ethylene mission in passion fruit seedlings: An experimental approach. *J. Phys. IV*, 125:865–867, 2005.
- [36] S.F. Corrêa; M.S. Souza; T. Pereira; G.V.L. Alves; J.G. Oliveira; M.G. Silva; H. Vargas. Determination of thermal diffusivity in papaya pulp as a function of maturation stage. *Rev. Bras. de Fruti.*, 2008.
- [37] T. Pereira. *Aplicação de métodos físicos não destrutivos ao estudo de sistemas biológicos*. PPGCN/UENF, Campos dos Goytacazes -RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, thesis (doctor in natural science) edition, 2008.
- [38] M. Baptista-Filho, H. G. Riter, M. G. da Silva, F. J. Luna, C. G. Werneck, I. Rech, J. C. Polidoro, M. B. M. Monte, F. Souza-Barros, A. Miklos, and H. Vargas. Ammonia traces detection based on photoacoustic spectroscopy for evaluating ammonia volatilization from natural zeolites at typical crop field temperature. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 158:241–245, 2011.
- [39] Anne Bernhard. The nitrogen cycle: Processes, players, and human impact. *Nature Education Knowledge*, 2(2):12, 2010.
- [40] Donald A Phillips. Efficiency of symbiotic nitrogen fixation in legumes. *Annual Review of Plant Physiology*, 31(1):29–49, 1980.
- [41] AH Gibson. Factors in the physical and biological environment affecting nodulation and nitrogen fixation by legumes. *Plant and Soil*, 35(1):139–152, 1971.
- [42] Jayne Belnap. Factors influencing nitrogen fixation and nitrogen release in biological soil crusts. In *Biological soil crusts: structure, function, and management*, pages 241–261. Springer, 2001.

- [43] Johanna Döbereiner. A importância da fixação biológica de nitrogênio para a agricultura sustentável. *Biotecnologia Ciência*, pages 2–3, 1997.
- [44] George Stanford and SJ Smith. Nitrogen mineralization potentials of soils. *Soil Science Society of America Journal*, 36(3):465–472, 1972.
- [45] JN Ladd and RB Jackson. Biochemistry of ammonification. *Agronomy*, 1982.
- [46] C Johnson, G Albrecht, Q Ketterings, J Beckman, and K Stockin. Nitrogen basics—the nitrogen cycle. *Agronomy Fact Sheet Series. Cornell University Cooperative Extension*, 2005.
- [47] Bess B Ward. How nitrogen is lost. *Science*, 341(6144):352–353, 2013.
- [48] Sergei Winogradsky. On the nitrifying organisms. *Sciences*, 110:1013–1016, 1890.
- [49] Dimitry Y Sorokin, Sebastian Lücker, Dana Vejmelkova, Nadezhda A Kostrikina, Robert Kleerebezem, W Irene C Rijpstra, Jaap S Sinninghe Damsté, Denis Le Paslier, Gerard Muyzer, Michael Wagner, et al. Nitrification expanded: discovery, physiology and genomics of a nitrite-oxidizing bacterium from the phylum chloroflexi. *The ISME journal*, 6(12):2245–2256, 2012.
- [50] Holger Daims, Elena V Lebedeva, Petra Pjevac, Ping Han, Craig Herbold, Mads Albertsen, Nico Jehmlich, Marton Palatinszky, Julia Vierheilig, Alexandr Bulaev, et al. Complete nitrification by nitrospira bacteria. *Nature*, 528(7583):504–509, 2015.
- [51] Maartje AHJ van Kessel, Daan R Speth, Mads Albertsen, Per H Nielsen, Huub JM Op den Camp, Boran Kartal, Mike SM Jetten, and Sebastian Lücker. Complete nitrification by a single microorganism. *Nature*, 2015.
- [52] MK Firestone. Biological denitrification. *Nitrogen in Agricultural Soils, ASA-CSSA-SSSA, Madison*, pages 289–326, 1982.
- [53] Tom M Addiscott. *Nitrate, agriculture and the environment*. CABI, 2005.
- [54] Edwin L Schmidt. Nitrification in soil. *Nitrogen in Agricultural Soils*, 1982.
- [55] S Agehara and DD Warncke. Soil moisture and temperature effects on nitrogen release from organic nitrogen sources. *Soil Science Society of America Journal*, 69(6):1844–1855, 2005.

- [56] James P Shapleigh. The denitrifying prokaryotes. In *The prokaryotes*, pages 769–792. Springer, 2006.
- [57] William Jackson Payne et al. *Denitrification*. John Wiley & Sons Inc., 1981.
- [58] BB Ward, AH Devol, JJ Rich, BX Chang, SE Bulow, Hema Naik, Anil Pratihary, and A Jayakumar. Denitrification as the dominant nitrogen loss process in the arabian sea. *Nature*, 461(7260):78–81, 2009.
- [59] GP Robertson. Denitrification. *Handbook of Soil Science*, pages C181–90, 2000.
- [60] Guibing Zhu, Shanyun Wang, Leiliu Zhou, Yu Wang, Siyan Zhao, Chao Xia, Weidong Wang, Rong Zhou, Chaoxu Wang, Mike SM Jetten, et al. Ubiquitous anaerobic ammonium oxidation in inland waters of china: an overlooked nitrous oxide mitigation process. *Scientific reports*, 5, 2015.
- [61] Laurent Philippot, Sara Hallin, and Michael Schloter. Ecology of denitrifying prokaryotes in agricultural soil. *Advances in Agronomy*, page 249–305, 2007.
- [62] J. M. Bremner and K. Shaw. Denitrification in soil. ii. factors affecting denitrification. *The Journal of Agricultural Science*, 51(01):40, Aug 1958.
- [63] AR Ravishankara, John S Daniel, and Robert W Portmann. Nitrous oxide (n₂o): the dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century. *science*, 326(5949):123–125, 2009.
- [64] Paul J Crutzen. The influence of nitrogen oxides on the atmospheric ozone content. *Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society*, 96(408):320–325, 1970.
- [65] Yuan Liu, Yongzhuo Liu, Huimin Zhou, Lianqing Li, Jinwei Zheng, Xuhui Zhang, Jufeng Zheng, and Genxing Pan. Abundance, composition and activity of denitrifier communities in metal polluted paddy soils. *Scientific Reports*, 6:19086, Jan 2016.
- [66] Nicolas Gruber and James N Galloway. An earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature*, 451(7176):293–296, 2008.
- [67] James N Galloway, Alan R Townsend, Jan Willem Erisman, Mateete Bekunda, Zucong Cai, John R Freney, Luiz A Martinelli, Sybil P Seitzinger, and Mark A Sutton. Transfor-

- mation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, 320(5878):889–892, 2008.
- [68] Donald E Canfield, Alexander N Glazer, and Paul G Falkowski. The evolution and future of earth's nitrogen cycle. *science*, 330(6001):192–196, 2010.
- [69] David Fowler, Mhairi Coyle, Ute Skiba, Mark A Sutton, J Neil Cape, Stefan Reis, Lucy J Sheppard, Alan Jenkins, Bruna Grizzetti, James N Galloway, et al. The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 368(1621):20130164, 2013.
- [70] Mark A Sutton, Stefan Reis, Stuart N Riddick, Ulrike Dragosits, Eiko Nemitz, Mark R Theobald, Y Sim Tang, Christine F Braban, Massimo Vieno, Anthony J Dore, et al. Towards a climate-dependent paradigm of ammonia emission and deposition. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1621):20130166, 2013.
- [71] JF Noxon. Atmospheric nitrogen fixation by lightning. *Geophysical Research Letters*, 3(8):463–465, 1976.
- [72] David L. Drapcho, Douglas Sisterson, and Romesh Kumar. Nitrogen fixation by lightning activity in a thunderstorm. *Atmospheric Environment (1967)*, 17(4):729–734, jan 1983.
- [73] Bertrand Hirel, Jacques Le Gouis, Bertrand Ney, and André Gallais. The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *Journal of Experimental Botany*, 58(9):2369–2387, 2007.
- [74] H-M Lam, KT Coschigano, IC Oliveira, R Melo-Oliveira, and GM Coruzzi. The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. *Annual review of plant biology*, 47(1):569–593, 1996.
- [75] C Bayer and J Mielniczuk. Nitrogênio total de um solo submetido a diferentes métodos de preparo e sistemas de cultura. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 21(2):235–239, 1997.

- [76] C. Bredemeier and C. M. Mundstock. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. *Ciência Rural*, 30(2), 2000.
- [77] E da S. Araújo, R. M. Boddey, S. Urquiaga, and B.J.R. Alves. Câmara coletora para quantificação do n-nh₃ volatilizado do solo. *Embrapa Agrobiologia. Comunicado Técnico*, 2006.
- [78] James N Galloway. The global nitrogen cycle: changes and consequences. *Environmental pollution*, 102(1):15–24, 1998.
- [79] EG Beauchamp. Nitrous oxide emission from agricultural soils. *Canadian Journal of Soil Science*, 77(2):113–123, 1997.
- [80] BB Huang, DH Yan, H Wang, BF Cheng, and XH Cui. Effects of water quality of the basin caused by nitrogen loss from soil in drought. *Natural Hazards*, 75(3):2357–2368, 2015.
- [81] Xiang YAN, Ji-yun JIN, Ping HE, and Ming-zao LIANG. Recent advances on the technologies to increase fertilizer use efficiency. *Agricultural Sciences in China*, 7(4):469–479, Apr 2008.
- [82] H. Hasan. Ureolytic microorganisms and soil fertility: a review. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, 31(15-16):2565–2589, 2000.
- [83] Barbara Krajewska. Ureases i. functional, catalytic and kinetic properties: A review. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 59(1-3):9–21, Jul 2009.
- [84] CC Moyo, DE Kissel, and ML Cabrera. Temperature effects on soil urease activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 21(7):935–938, 1989.
- [85] Wei-tsung Chin and Wybe Kroontje. Urea hydrolysis and subsequent loss of ammonia. *Soil Science Society of America Journal*, 27(3):316–318, 1963.
- [86] William HR Shaw and John J Bordeaux. The decomposition of urea in aqueous media. *Journal of the American Chemical Society*, 77(18):4729–4733, 1955.
- [87] JW Ernst and HF Massey. The effects of several factors on volatilization of ammonia formed from urea in the soil. *Soil Science Society of America Journal*, 24(2):87–90, 1960.

- [88] LN Overrein and PG Moe. Factors affecting urea hydrolysis and ammonia volatilization in soil. *Soil Science Society of America Journal*, 31(1):57–61, 1967.
- [89] F Broadbent, K Tyler, G Hill, et al. Nitrification of ammoniacal fertilizers in some california soils. *Hilgardia*, 27(9):247–267, 1957.
- [90] F Broadbent, K Tyler, G Hill, et al. Nitrification of fertilizers: Ammoniacal fertilizers used in study on the rate nitrifying bacteria function at various ammonia concentrations in soils. *California Agriculture*, 12(10):9–14, 1958.
- [91] Jan Willem Erisman, Mark A Sutton, James Galloway, Zbigniew Klimont, and Wilfried Winiwarter. How a century of ammonia synthesis changed the world. *Nature Geoscience*, 1(10):636–639, 2008.
- [92] Erika Pereira Felix and Arnaldo Alves Cardoso. Amonia (nh³) atmosferica: Fontes, transformacao, sorvedouros e metodos de analise. *Química Nova*, 27(1):123–130, 2004.
- [93] Pieter TJ Johnson, Alan R Townsend, Cory C Cleveland, Patricia M Glibert, Robert W Howarth, Valerie J McKenzie, Eliska Rejmankova, and Mary H Ward. Linking environmental nutrient enrichment and disease emergence in humans and wildlife. *Ecological Applications*, 20(1):16–29, 2010.
- [94] SSD Foster, AC Cripps, and Amanda Smith-Carington. Nitrate leaching to groundwater. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 296(1082):477–489, 1982.
- [95] HJ Di and KC Cameron. Nitrate leaching in temperate agroecosystems: sources, factors and mitigating strategies. *Nutrient cycling in agroecosystems*, 64(3):237–256, 2002.
- [96] PM Groffman. Nitrogen in the environment. *Handbook of Soil Science*. Boca Raton, Florida, pp C-1, 90, 2000.
- [97] Charles Krauter, Dave Goorahoo, Christopher Potter, and Steven Klooster. Ammonia emissions and fertilizer applications in california's central valley, 2006.
- [98] KJ McInnes, RB Ferguson, DE Kissel, and ET Kanemasu. Field measurements of ammonia loss from surface applications of urea solution to bare soil. *Agronomy Journal*, 78(1):192–196, 1986.

- [99] CM Reynolds and DC Wolf. Effect of soil moisture and air relative humidity on ammonia volatilization from surface-applied urea. *Soil science*, 143(2):144–152, 1987.
- [100] Paul E Fixen and Ford B West. Nitrogen fertilizers: meeting contemporary challenges. *Ambio: a journal of the human environment*, 31(2):169–176, 2002.
- [101] Marit Legreid, J.greid, Oluf Chr Bockman, Ola Kaarstad, et al. *Agriculture, fertilizers and the environment*. CABI publishing, 1999.
- [102] Hajime Akimoto. Spectra and photolytic reactions of atmospheric molecules. In *Atmospheric Reaction Chemistry*, pages 71–164. Springer, 2016.
- [103] World Health Organization. *Guidelines for drinking-water quality: recommendations*, volume 1. World Health Organization, 2004.
- [104] Patricia Fraser and Clair Chilvers. Health aspects of nitrate in drinking water. *Science of the Total Environment*, 18:103–116, 1981.
- [105] TM Addiscott and N Benjamin. Nitrate and human health. *Soil use and management*, 20(2):98–104, 2004.
- [106] Deepanjan Majumdar and Navindu Gupta. Nitrate pollution of groundwater and associated human health disorders. *Indian Journal of Environmental Health*, 42(1):28–39, 2000.
- [107] Dennis R Keeney. Nitrogen management for maximum efficiency and minimum pollution. *Nitrogen in agricultural soils*, 1(nitrogeninagrics):605–649, 1982.
- [108] Donald Scavia and Suzanne B Bricker. Coastal eutrophication assessment in the united states. In *Nitrogen Cycling in the Americas: Natural and Anthropogenic Influences and Controls*, pages 187–208. Springer, 2006.
- [109] Bill Freedman. *Environmental ecology: the ecological effects of pollution, disturbance, and other stresses*. Academic Press, 1995.
- [110] John H Seinfeld, EF Viglizzo, M Lorenz, N Clarke, E Paoletti, A Bytnerowicz, N Grulke, N Lukina, H Sase, J Mery Staelens, et al. Air pollution physical and chemical fundamentals. *contaminacion atmosferica: fundamentos fisicos y quimicos.*, 1978.

- [111] H Berresheim, PH Wine, DD Davis, and HB Singh. Composition, chemistry, and climate of the atmosphere. *Ed. RK Singh, New York*, pages 251–307, 1995.
- [112] Dieter Häussinger. Regulation of hepatic ammonia metabolism: the intercellular glutamine cycle. *Advances in enzyme regulation*, 25:159–180, 1986.
- [113] Jill E Ryer-Powder. Health effects of ammonia. *Plant/operations progress*, 10(4):228–232, 1991.
- [114] B Crook, JF Robertson, SA Travers Glass, EM Botheroyd, J Lacey, and MD Topping. Airborne dust, ammonia, microorganisms, and antigens in pig confinement houses and the respiratory health of exposed farm workers. *The American Industrial Hygiene Association Journal*, 52(7):271–279, 1991.
- [115] Dieter Häussinger and Wolfgang Gerok. Metabolism of amino acids and ammonia. In *Regulation of hepatic metabolism*, pages 253–291. Springer, 1986.
- [116] Fred W Billmeyer Jr. Textbook of polymer science. *New York*, 1984.
- [117] E. M Biasoto and L. C Mendes. Introdução a polímeros. *Edgard Blucher Ltda., São Paulo*, 1999.
- [118] S. V. Canevarolo Jr. Ciência dos polímeros. *Artiber editora, São Paulo*, 2002.
- [119] Robert O Ebewe. *Polymer science and technology*. CRC press, 2000.
- [120] K. I. Draget, G. O Phillips, and P. A Williams. Alginates. *Handbook of hydrocolloids*, pages 807–828, 2009.
- [121] A. Haug. *Composition and properties of alginates*. Norwegian Institute of Seaweed Research, 1964.
- [122] Arne Haug, Sverre Myklestad, Bjorn Larsen, and O Smidsrød. Correlation between chemical structure and physical properties of alginates. *Acta Chem Scand*, 21(3):768–78, 1967.
- [123] FIONA A JOHNSON, DUNCAN QM CRAIG, and AMANDA D MERCER. Characterization of the block structure and molecular weight of sodium alginates. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 49(7):639–643, 1997.

- [124] K. Kashima and M. Imai. *Advanced Membrane Material from Marine Biological Polymer and Sensitive Molecular-Size Recognition for Promising Separation Technology*. In-Tech, 2012.
- [125] Crispin Humberto Garcia-Cruz, Ulisses Foggetti, and Adriana Navarro da Silva. Bacterial alginate: technological aspects, characteristics and production. *Química Nova*, 31(7):1800–1806, 2008.
- [126] Kurt Ingar Draget, Gudmund Skjæv-Bræk, and Olav Smidsrød. Alginate based new materials. *International Journal of Biological Macromolecules*, 21(1-2):47–55, Aug 1997.
- [127] Gregor T Grant, Edwin R Morris, David A Rees, Peter JC Smith, and David Thom. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. *FEBS letters*, 32(1):195–198, 1973.
- [128] Andrew S Marriott, Ed Bergström, Andrew J Hunt, Jane Thomas-Oates, and James H Clark. A natural template approach to mesoporous carbon spheres for use as green chromatographic stationary phases. *RSC Advances*, 4(1):222–228, 2014.
- [129] Yi Chai, Le-He Mei, Dong-Qiang Lin, and Shan-Jing Yao. Diffusion coefficients in intrahollow calcium alginate microcapsules. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 49(3):475–478, 2004.
- [130] Gene O Fanger. Microencapsulation: a brief history and introduction. In *Microencapsulation*, pages 1–20. Springer, 1974.
- [131] J. P. Soares, G. O. Chierice J. E. Santos and, and E. T. G. Cavalheiro. Thermal behavior of alginic acid and its sodium salt. *ECLÉTICA Química*, 29(2):57–63, 2004.
- [132] Arne Haug, Björn Larsen, Olav Smidsrød, Jon Munch-Petersen, and Jon Munch-Petersen. The degradation of alginates at different ph values. *Acta Chemica Scandinavica*, 17:1466–1468, 1963.
- [133] Arne Haug and Bjorn Larsen. The solubility of alginate at low ph. *Acta Chem Scand*, 17:1653–1662, 1963.

- [134] Elizabeth Hearn and Ronald J Neufeld. Poly (methylene co-guanidine) coated alginate as an encapsulation matrix for urease. *Process Biochemistry*, 35(10):1253–1260, 2000.
- [135] Y. M. Elçin. Encapsulation of urease enzyme in xanthan-alginate spheres. *Biomaterials*, 16(15):1157–1161, 1995.
- [136] Andreas R. DeGroot and Ronald J. Neufeld. Encapsulation of urease in alginate beads and protection from α -chymotrypsin with chitosan membranes. *Enzyme and Microbial Technology*, 29(6-7):321–327, Oct 2001.
- [137] Yoh-Han Pao. *Optoacoustic spectroscopy and detection*. Elsevier, 1977.
- [138] D.P. Almond; P.M. Patel. *Photothermal Science and Techniques*. Chapman & Hall, London, 1st, edition, 1996.
- [139] A. Miklós, P. Hess, and Z. Bozóki. Application of acoustic resonators in photoacoustic trace gas analysis and metrology. *Review of Scientific Instruments*, 72:1937–1955, 2001.
- [140] G R Lima, M S Sthel, M G da Silva, D U S Schramm, M P P de Castro, and H Vargas. Photoacoustic spectroscopy of co 2 laser in the detection of gaseous molecules. *Journal of Physics: Conference Series*, 274:012086, Jan 2011.
- [141] M Viengerov. New method of gas analysis based on tyndall roentgen opto-acoustic effect. *Dokl. Akad.*, 1(19):687, 1938.
- [142] ML Viengerov. Eine methode der gasanalyse, beruhend auf der optisch-akustischen tyndall-röntgenerscheinung. In *Dokl. Akad. Nauk SSSR*, volume 19, pages 687–688, 1938.
- [143] A. G. Bell. On the production and reproduction of sound by light. *American Journal of Science*, s3-20(118):305–324, oct 1880.
- [144] M.W. Sigrist. *Chemical Analysis - Air monitoring by spectroscopic techniques*. Wiley-Interscience Publication, 1994.
- [145] Peter Hess. Resonant photoacoustic spectroscopy. *Physical and Inorganic Chemistry*, pages 1–32, 1983.

- [146] Philip M Morse and K Uno Ingard. Linear acoustic theory. In *Akustik I/Acoustics I*, pages 1–128. Springer, 1961.
- [147] Lloyd B Kreuzer. The physics of signal generation and detection. *Optoacoustic spectroscopy and detection*, pages 1–25, 1977.
- [148] DW Hill and T Powell. Non-dispersive infra-red gas analysis in science. *Medicine and Industry. Adam Hilget Ltd*, 1968.
- [149] David Kliger. *Ultrasensitive laser spectroscopy*. Elsevier, 2012.
- [150] TD Harris and FE Tytle. Ultrasensitive laser spectroscopy. *DS Kliger, Ed*, pages 343–367, 1983.
- [151] Robert Martin Eisberg and Robert Resnick. *Quantum physics of atoms, molecules, solids, nuclei and particles*. Wiley, 1979.
- [152] D. F. Swinehart. The beer-lambert law. *Journal of Chemical Education*, 39(7):333, jul 1962.
- [153] A. Beer. Bestimmung der absorption des rothen lichts in farbigen flüssigkeiten. *Annalen der Physik*, 162:78–88, 1852.
- [154] Ludwig Boltzmann. Weitere studien über das wärmegleichgewicht unter gasmolekülen. *Kinetic theory*, 2:115–225, 1970.
- [155] L Boltzmann. Über die beziehung zwischen dem zweiten hauptsatze der mechanischen wärmtheorie und der wahrscheinlichkeitsrechnung, respektive den sätzen über das wärmegleichgewicht. *Wissenschaftliche Abhandlungen*, 2:316–402, 1877.
- [156] Andrew C Tam. Photoacoustics: spectroscopy and other applications. In *Ultrasensitive laser spectroscopy*, page 2. Elsevier, 1983.
- [157] Jean-Philippe Besson, Stéphane Schilt, and Luc Thévenaz. Multi-gas sensing based on photoacoustic spectroscopy using tunable laser diodes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 60(14):3449–3456, dec 2004.
- [158] Bernard Cheuk-Yuen Yip. *Trace detection in gases using photoacoustic spectroscopy and Fabry-perot interferometry*. PhD thesis, Iowa State University, 1984.

- [159] Philip McCord Morse and K Uno Ingard. *Theoretical acoustics*. Princeton university press, 1968.
- [160] Martin Trusler. *Physical acoustics and metrology of fluids*. CRC Press, 1991.
- [161] Philip M. Morse. *Vibration and Sound*. McGraw-Hill Book Company Inc, 1948.
- [162] Andreas Mandelis. Progress in photothermal and photoacoustic science and technology. *Principles and Perspectives of Photothermal and Photoacoustic Phenomena and Life and Earth Science*, 1997.
- [163] G. R. Lima, L. Mota, A. Miklós, J. Angster, Z. Dubovski, M. G. da Silva, M. Sthel, and H. Vargas. Sensitive harmonic detection of ammonia trace using a compact photoacoustic resonator at double-pass configuration and a wavelength-modulated distributed feedback diode laser. *Applied Physics B*, May 2014.
- [164] B Baumann, M Wolff, B Kost, and H Groninga. Calculation of quality factors and amplitudes of photoacoustic resonators. In *Proc. Comsol Conf. Frankfurt*, pages 134–138, 2006.
- [165] J. Wang, W. Zhang, L. Li, and Q. Yu. Breath ammonia detection based on tunable fiber laser photoacoustic spectroscopy. *Applied Physics B*, 103(2):263–269, May 2011.
- [166] J. Li, X. Gao, L. Fang, W. Zhang, and H. Cha. Resonant photoacoustic detection of trace gas with DFB diode laser. *Optics and Laser Technology*, 39:1144–1149, 2007.
- [167] András Miklós, Stefan Schäfer, and Peter Hess. *Photoacoustic Spectroscopy, Theory*, pages 1815–1822. Elsevier, 1999.
- [168] J. Faist, F. Capasso, D. L. Sivco, C. Sirtori, A. L. Hutchinson, and A. Y. Cho. Quantum cascade laser. *Science*, 264(5158):553–556, Apr 1994.
- [169] BOHDAN MROZIEWICZ, MACIEJ BUGAJSKI, and WŁODZIMIERZ NAKWASKI. Structures of distributed feedback lasers. *Physics of Semiconductor Lasers*, pages 348–365, 1991.
- [170] A. Robinson and D. Johnson. A carbon dioxide laser bibliography, 1964-1969. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, 6(10):590–599, oct 1970.

- [171] C.K.N. Patel. Continuous-wave laser action on vibrational-rotational transitions of CO_2 . *Phys. Rev. A*, 1(136):1187–1193, 1964.
- [172] Stefan Kalchmair, Romain Blanchard, Tobias S. Mansuripur, Guy-Mael de Naurois, Christian Pfluegl, Mark F. Witinski, Laurent Diehl, Federico Capasso, and Marko Loncar. High tuning stability of sampled grating quantum cascade lasers. *Optics Express*, 23(12):15734, jun 2015.
- [173] Oana Malis, Claire Gmachl, Deborah L. Sivco, Loren N. Pfeiffer, A. Michael Sergent, and Kenneth W. West. The quantum cascade laser: A versatile high-power semiconductor laser for mid-infrared applications. *Bell Labs Technical Journal*, 10(3):199–214, nov 2005.
- [174] Jônatas Eduardo da Silva César. Excesso de ruído no oscilador paramétrico Ótico. Master's thesis, Universidade de São Paulo, 2008.
- [175] J. A. Giordmaine and Robert C. Miller. Tunable coherent parametric oscillation in LiNbO_3 at optical frequencies. *Physical Review Letters*, 14(24):973–976, jun 1965.
- [176] M Yu Saygin and A S Chirkin. Theory of the optical parametric oscillator in the quadratic and cubic approximations. *Laser Physics*, 26(1):015402, dec 2015.
- [177] F. Dixon, M. Feng, and N. Holonyak. Distributed feedback transistor laser. *Applied Physics Letters*, 96(24):241103, jun 2010.
- [178] LB Kreuzer. Ultralow gas concentration infrared absorption spectroscopy. *Journal of Applied Physics*, 42(7):2934–2943, 1971.
- [179] Juliana R. Tavares, Marcelo S. Sthel, Mila V. da Rocha, Guilherme R. Lima, Marcelo G. da Silva, and Helion Vargas. Detection of greenhouse gas precursors from ethanol powered vehicles in Brazil. *Biomass and Bioenergy*, 61:46–52, Feb 2014.
- [180] M. V. Rocha, M. S. Sthel, M. G. Silva, L. B. Paiva, F. W. Pinheiro, A. Miklós, and H. Vargas. Quantum-cascade laser photoacoustic detection of methane emitted from natural gas powered engines. *Applied Physics B*, 106(3):701–706, Mar 2012.
- [181] C.G. Teodoro, D.U. Schramm, M.S. Sthel, G.R. Lima, M.V. Rocha, J.R. Tavares, and H. Vargas. CO_2 laser photoacoustic detection of ethylene emitted by diesel engines used in urban public transports. *Infrared Physics & Technology*, 53(2):151–155, Mar 2010.

- [182] D. U. Schramm, M. S. Sthel, M. G. da Silva, L. O. Carneiro, A. P. Souza, and H. Vargas. Diesel engines gas emissions monitored by photoacoustic spectroscopy. *Review of Scientific Instruments*, 74(1):513, 2003.
- [183] G. V. L. Alves, W. C. dos Santos, W. R. Waldman, J. G. de Oliveira, H. Vargas, and M. G. da Silva. A photoacoustic technique applied to detection of ethylene emissions in edible coated passion fruit. *Journal of Physics, Conference Series*, 214:012020, 2010.
- [184] H. Huszár, A. Pogány, Z. Bozóki, A. Mohácsi, L. Horváth, and G. Szabó. Ammonia monitoring at ppb level using photoacoustic spectroscopy for environmental application. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 134(2):1027–1033, 2008.
- [185] A. Miklós, P. Hess, J. Sneider, S. Kamm, and S. Schafer. Improved photoacoustic detector for monitoring polar molecules such as ammonia with a 1,53 um dfb diode laser. *AIP Proceedings*, 1999.
- [186] M. Angelmahr, A. Miklós, and P. Hess. Wavelength- and amplitude-modulated photoacoustics: comparison of simulated and measured spectra of higher harmonics. *Appl. Opt.*, 47(15):2806, May 2008.
- [187] Xiang Zhu and Daniel T. Cassidy. Modulation spectroscopy with a semiconductor diode laser by injection-current modulation. *Journal of the Optical Society of America B*, 14(8):1945, Aug 1997.
- [188] Rolf Arndt. Analytical line shapes for lorentzian signals broadened by modulation. *Journal of Applied Physics*, 36(8):2522–2524, 1965.
- [189] A. Miklós, Z. Bozóki, Y. Jiang, and M. Fehér. Experimental and theoretical investigation of photoacoustic-signal generation by wavelength-modulated diode lasers. *Applied Physics B: Lasers and Optics*, 58:483–492, 1994.
- [190] David S. Bomse, Alan C. Stanton, and Joel A. Silver. Frequency modulation and wavelength modulation spectroscopies: comparison of experimental methods using a lead-salt diode laser. *Applied Optics*, 31(6):718, feb 1992.
- [191] TC O’Haver, MS Epstein, and AT Zander. Waveform effects in wavelength modulation spectrometry. *Analytical Chemistry*, 49(3):458–461, 1977.

- [192] Jaakko Saarela, Juha Toivonen, Albert Manninen, Tapio Sorvajärvi, and Rolf Hernberg. Wavelength modulation waveforms in laser photoacoustic spectroscopy. *Applied optics*, 48(4):743–747, 2009.
- [193] RK Skogerboe, PJ Lamothe, GJ Bastiaans, SJ Freeland, and GN Coleman. A dynamic background correction system for direct reading spectrometry. *Applied Spectroscopy*, 30(5):495–500, 1976.
- [194] S. Stéphane and L. Thevenaz. Wavelength modulation photoacoustic spectroscopy: Theoretical description and experimental results. *Infrared Physics and Technology*, 48(2):154–162, Jun 2006.
- [195] Louis C. Philippe and Ronald K. Hanson. Laser diode wavelength-modulation spectroscopy for simultaneous measurement of temperature, pressure, and velocity in shock-heated oxygen flows. *Appl. Opt.*, 32(30):6090, Oct 1993.
- [196] William D Harkins. A general theory of the mechanism of emulsion polymerization. *Journal of the American Chemical Society*, 69(6):1428–1444, 1947.
- [197] William D Harkins. General theory of mechanism of emulsion polymerization ii. *Journal of polymer science*, 5(2):217–251, 1950.
- [198] Julie Diane Mellor et al. *Fundamentals of freeze-drying*. Academic Press Inc.(London) Ltd., 1978.
- [199] Catarina M. Silva, Antônio J. Ribeiro, Margarida Figueiredo, Domingos Ferreira, and Francisco Veiga. Microencapsulation of hemoglobin in chitosan-coated alginate microspheres prepared by emulsification/internal gelation. *AAPS J*, 7(4):903–913, Dec 2005.
- [200] Congming Xiao and Fei Sun. Fabrication of distilled water-soluble chitosan/alginate functional multilayer composite microspheres. *Carbohydrate Polymers*, 98(2):1366–1370, Nov 2013.
- [201] S Mukhtar, A Rose, S Capareda, C Boriack, R Lacey, B Shaw, and C Parnell. Assessment of ammonia adsorption onto teflon and ldpe tubing used in pollutant stream conveyance. *Agricultural*, 2003.

- [202] Camille Petit and Teresa J Bandosz. Synthesis, characterization, and ammonia adsorption properties of mesoporous metal–organic framework (mil (fe))–graphite oxide composites: exploring the limits of materials fabrication. *Advanced Functional Materials*, 21(11):2108–2117, 2011.
- [203] LR Danielson, MJ Dresser, EE Donaldson, and JT Dickinson. Adsorption and desorption of ammonia, hydrogen, and nitrogen on ruthenium (0001). *Surface Science*, 71(3):599–614, 1978.

APÊNDICES

A Elaboração dos programas para o controle do sistema de detecção utilizando o *Labview*

A maioria dos sistemas encontrados no LCFIS já conta com um software que comunica os seus instrumentos com o computador, permitindo assim o seu controle e aquisição de dados. Como um dos objetivos neste trabalho foi a montagem de um sistema novo de detecção, fez-se necessário o desenvolvimento de programas que realizassem a comunicação e controle dos componentes do espectrômetro. Para esse fim, foi escolhida a plataforma *Labview*, que permite a comunicação de computadores a instrumentos por meio de uma série de portas de comunicação. Para o sistema desenvolvido, a comunicação utilizada é a IEEE 488 (GPIB), sendo essa comunicação responsável pelo envio de comandos para o amplificador *lock-in* e para o controlador de temperatura e corrente do *laser (driver)*.

Cabe ressaltar que o programa não se limita apenas a capturar dados do amplificador *lock-in*, ele também ajusta (enviando comandos de controle para o mesmo) as condições de operação para que a medida ocorra da forma adequada, selecionando a frequência de modulação escolhida (em função da frequência de ressonância da célula), o sinal de entrada como AC (tensão alternada) e A-B (necessário configurar assim, pois a célula diferencial da figura 14 mede dois sinais simultaneamente, e o *lock-in* faz essa diferença na entrada, fornecendo um sinal com um nível relativamente baixo de ruídos).

Todos esses pontos citados acima foram considerados na elaboração desses programas, pois sabe-se que, futuramente esses *softwares* poderão vir a ser utilizados por outros pesquisadores. Exemplos da interface gráfica para os diferentes modos de medida são mostrados nas figuras 46, 47 e 48 :

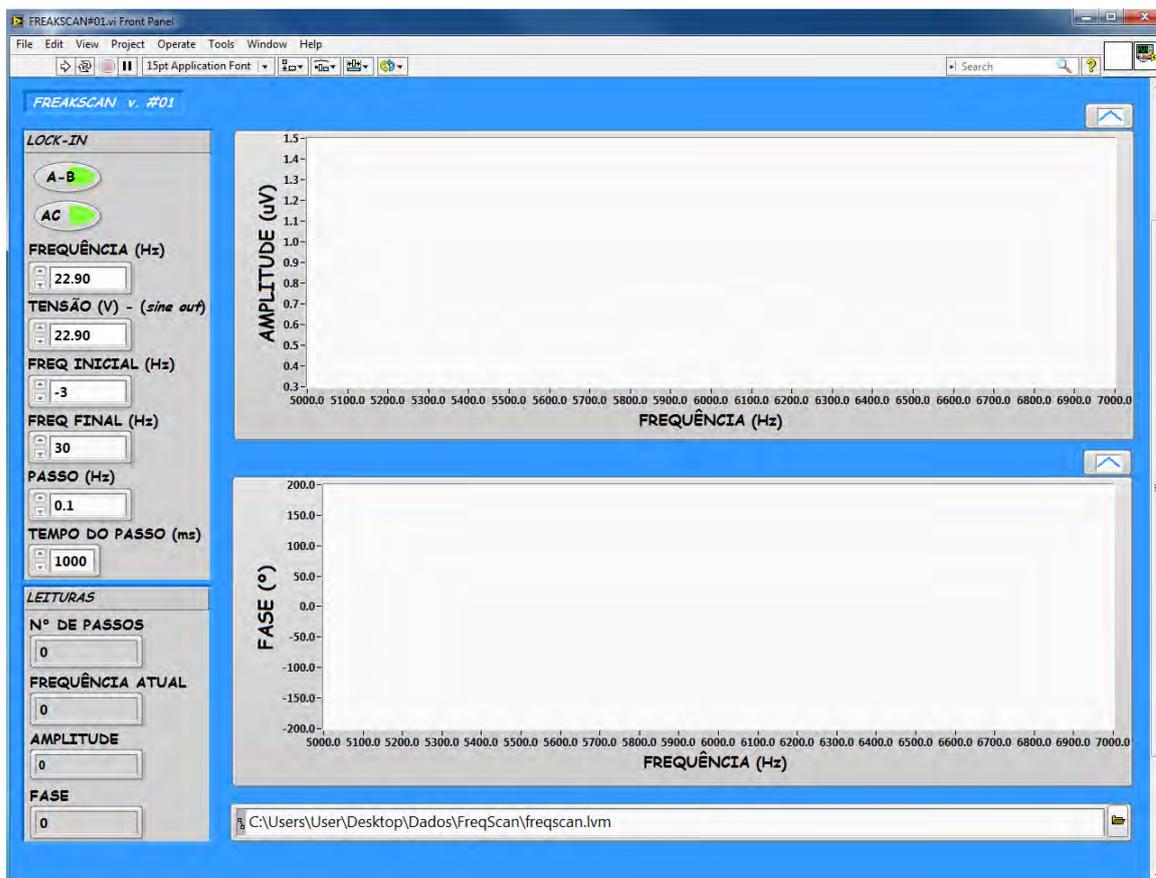


Figura 46: Interface do programa desenvolvido para o *scan* de frequência

Esse é um programa básico, cuja interface permite e realiza o controle unicamente do amplificador *lock-in*, exigindo que qualquer controle de corrente ou temperatura do *laser* seja feito manualmente. Foi assim concebido (e em código aberto) para que seja utilizado em outros sistemas de medidas do LCFIS (não só para gases, mas também sólidos e líquidos), tendo esse programa (no presente trabalho) permitido que fossem realizadas medidas de variação do sinal fotoacústico com a frequência, com o objetivo de determinar experimentalmente a frequência de ressonância da célula fotoacústica.

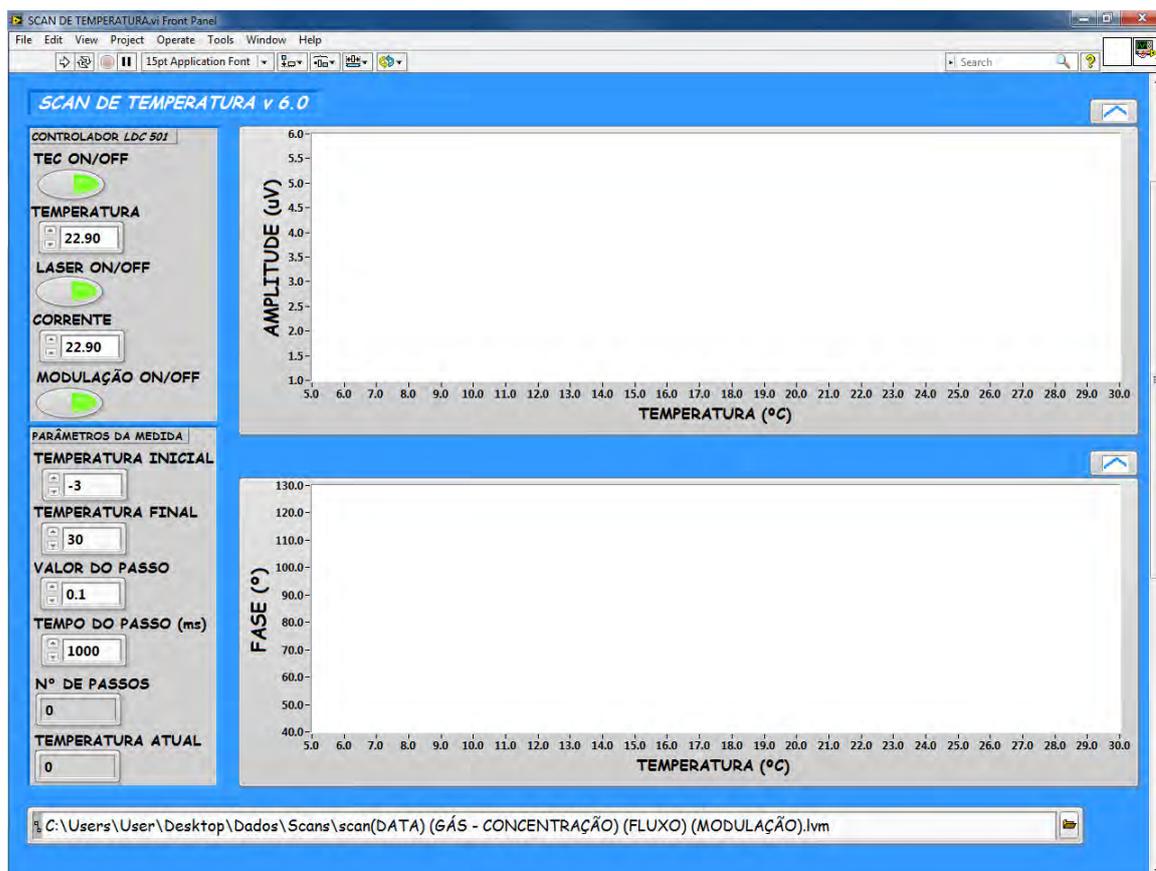


Figura 47: Interface do programa desenvolvido para o *scan* de temperatura

É o programa mais complexo e completo, que permite a automação total tanto do controlador de corrente e temperatura do *laser*, quanto do amplificador *lock-in*. Sua interface permite o ajuste e determinação de condições tais como: temperatura inicial e final, tempo do passo e valor da corrente de operação, essenciais para a função para a qual foi desenvolvido: realizar medidas fazendo-se variar a temperatura do *laser* e conseqüentemente, o seu comprimento de onda.

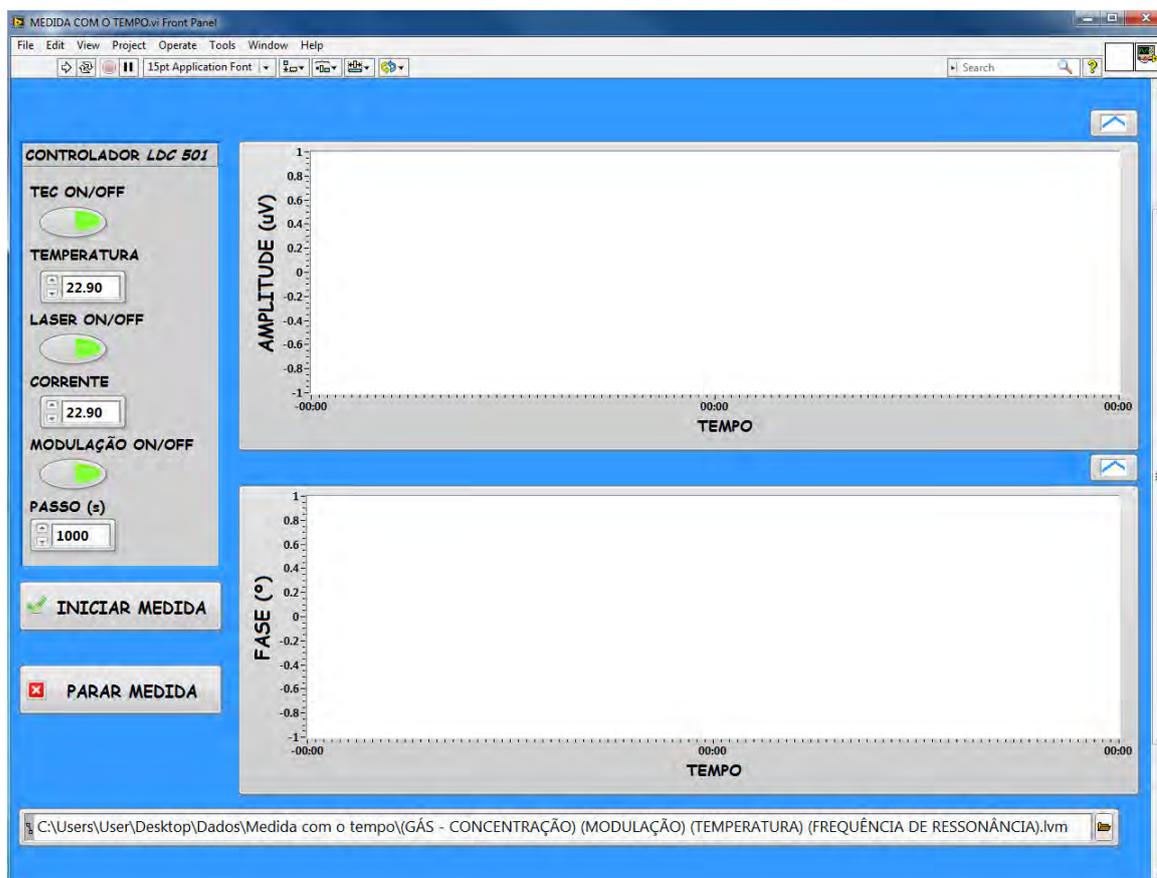


Figura 48: Interface do programa desenvolvido para a medida da intensidade do sinal com o tempo

Por meio deste programa (fig. 48) é possível realizar medidas da intensidade do sinal fotoacústico (sua amplitude e fase, separadamente). Apesar de também poder controlar o *driver* representado na fig 16, foi projetado principalmente para o controle e leitura do amplificador *lock-in*, sendo o programa mais simples e importante, uma vez que é o utilizado nas medidas tanto envolvendo a passagem de diferentes concentrações (determinação de espectros e patamares para diferentes concentrações) quanto para a emissão de amônia das amostras de fertilizantes investigadas.

A Resultados das medidas utilizando a configuração com o diodo *laser* NEC NX8562LB de 20 mW e 1531,95 nm

Ainda que não tenha sido definido como componente definitivo do sistema e utilizado na realização das medidas que de fato avaliaram a eficiência da matriz polimérica de ureia e alginato, os testes e resultados referentes a configuração que utilizava como fonte de radiação o *laser* NEC NX8562LB serão aqui apresentados, uma vez que fizeram parte do período de familiarização com a técnica, bem como com o sistema e sua automação.

Como parte fundamental da caracterização do sistema, a ressonância da célula fotoacústica foi determinada. No entanto, isso foi feito por meio da geração de um ruído externo de frequência variável, utilizando como fonte o próprio amplificador *lock-in*, que ao mesmo tempo adquiria o sinal oriundo dos microfones do interior da célula. Com isso, foi observado e adotado o valor de 6,38 kHz e todos os demais testes e caracterizações do espectrômetro fotoacústico foram realizados com essa frequência de modulação.

Cabe ressaltar que os resultados aqui apresentados são condescendentes, no que diz respeito a aplicação adequada da metodologia proposta e a na prática, aplicada. E estão aqui devido a problemas ocorridos que afetaram diretamente as medidas e, conseqüentemente, as suas respectivas análises, o que torna dubitável os resultados e quaisquer conclusões a respeito dessas medidas. No entanto, é pertinente considerar que, ainda que esses resultados possam de alguma forma soarem levianos, eles tiveram e têm a sua relevância ao longo de todo o processo de trabalho.

Caracterização do sistema

Primeiramente foi obtida a curva característica de potência versus corrente do diodo *laser* NEC NX8562LB (Fig. 49), tendo como objetivo encontrar as melhores condições de operação do *laser*. Segundo os dados técnicos fornecidos pelo fabricante, o *laser* opera em torno de 20 mW com comprimento de onda centrado em 1531,95 nm.

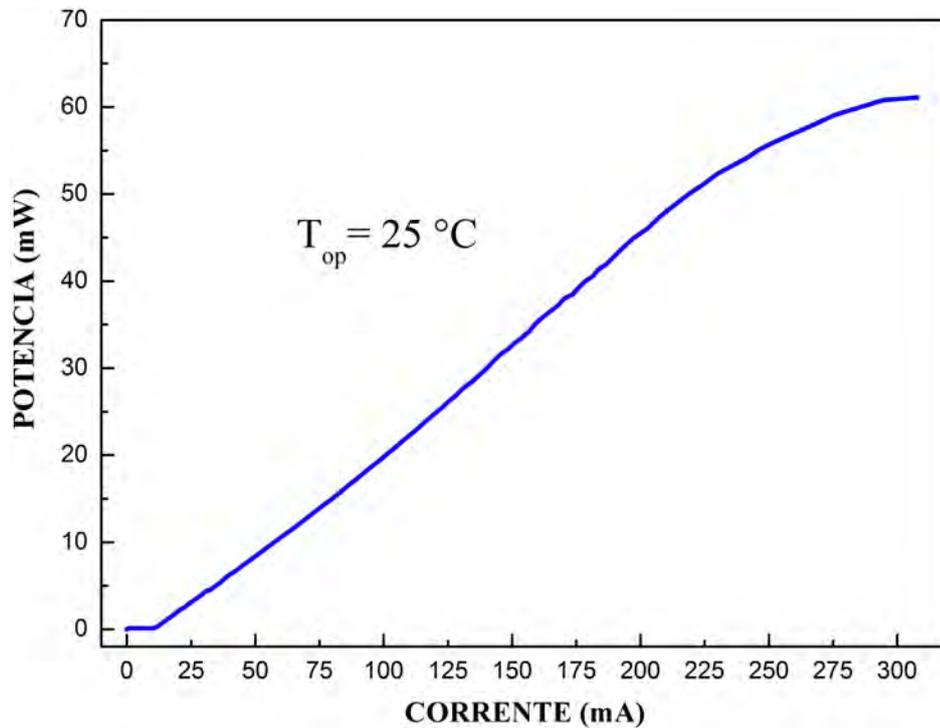


Figura 49: Curva potência vs corrente do diodo *laser*

Conforme pode ser visto na figura 49, a dependência da potência do *laser* com a corrente aplicada não é totalmente linear ao longo de toda a curva. Até 10 mA de corrente não ocorre emissão do *laser*, porém, em torno de 250 mA inicia-se a saturação da potência que tende para aproximadamente 60 mW. Na saturação, a eficiência quântica do *laser* diminui e qualquer corrente adicional aplicada transforma-se em calor, podendo assim danificar o *laser*. Uma vez determinados esses parâmetros, pode-se escolher valores de corrente para as medidas, sendo que as modulações utilizadas foram a modulação em comprimento de onda (MCO) e em amplitude (MA), respectivamente). Para esse *laser*, optou-se por operá-lo a uma potência máxima de 30 mW e, assim sendo, as modulações foram aplicadas de forma a manter essa potência constante.

Foram escolhidas diferentes correntes de operação do *laser* para as modulações, sendo esses valores apresentados na figura 50. Com esses testes, foi encontrada a condição de operação que proporciona a melhor relação sinal/ruído para as medidas fotoacústicas. Essa condição corresponde a um ponto importante, uma vez que está diretamente ligada a sensibilidade do sistema.

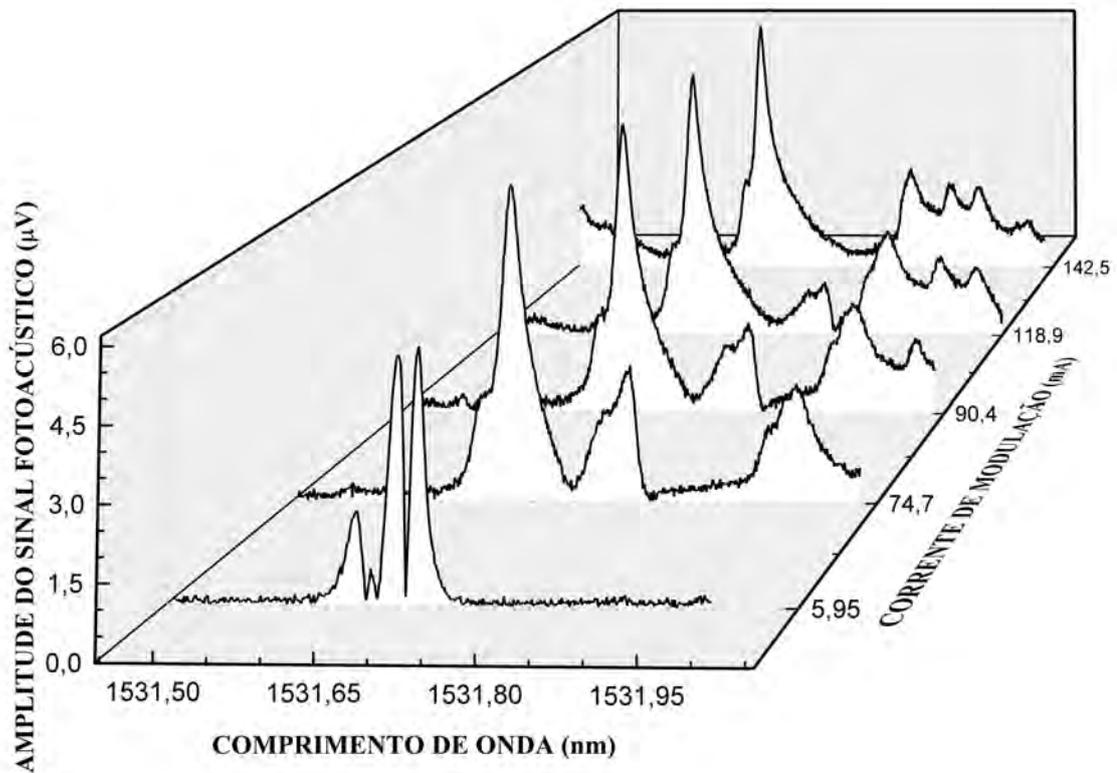


Figura 50: Varreduras para diferentes modulações em comprimento de onda e amplitude

Para cada uma das modulações apresentadas na figura 50, foram realizadas medidas do sinal e do *background*. Essas medidas consistiram em manter o comprimento de onda do laser fixo no ponto correspondente ao máximo de absorção do NH_3 , para cada uma das modulações. Primeiramente, foi medido o *background*, fazendo-se passar pela célula um fluxo de 100 sccm de N_2 . Conforme já mencionado, esse gás foi escolhido como gás de arraste para as medidas devido a sua não absorção na faixa da amônia. A figura 51 apresenta a relação encontrada entre o *background* e sua respectiva modulação:

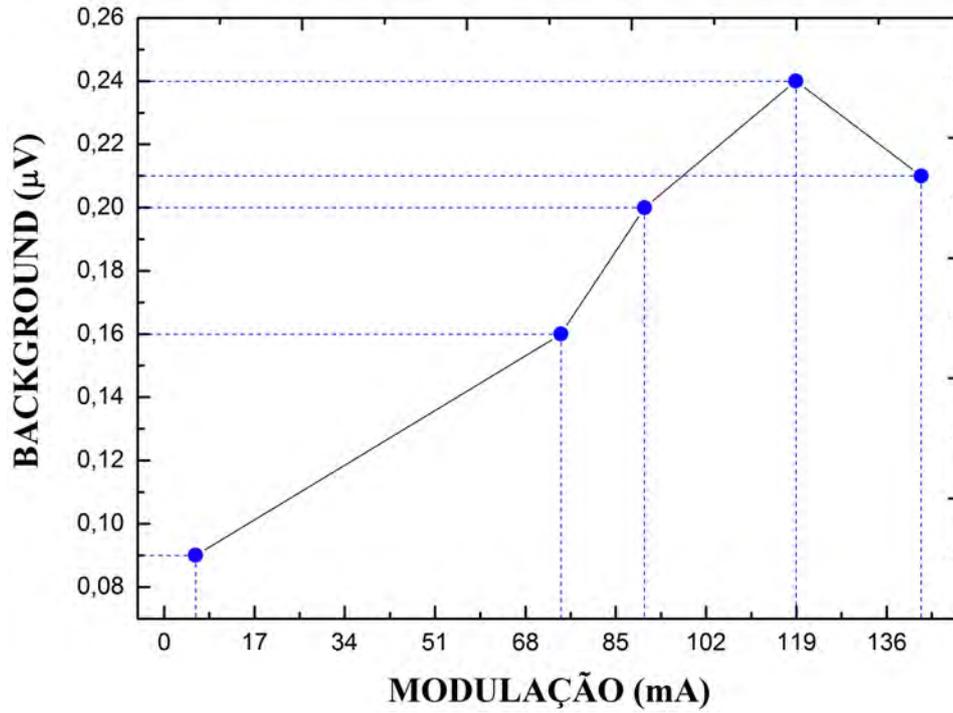


Figura 51: Background vs modulação

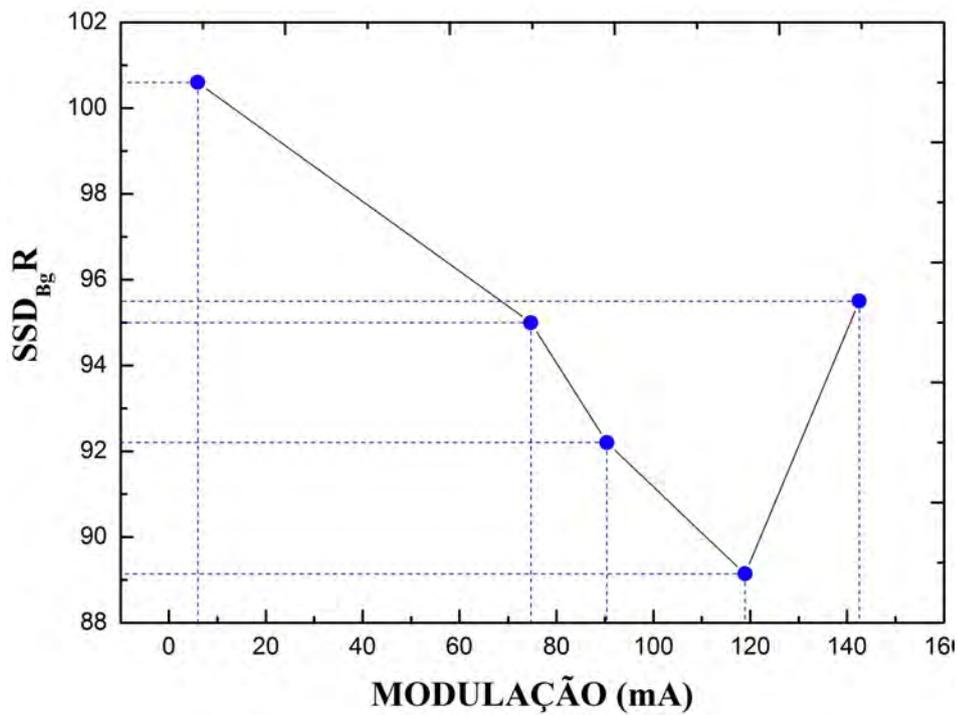


Figura 52: Relação sinal ruído para diferentes modulações

Também foi dada atenção à seletividade do espectrômetro, ou seja, a sua capacidade de detectar com a melhor resolução possível, a absorção do gás de interesse (nesse caso, NH₃). Por exemplo, a figura 53 mostra a dependência do sinal fotoacústico com a concentração de

NH_3 , variando a amônia de 0 a 10 ppmv. A barra de erro de cada ponto experimental plotado corresponde o desvio médio padrão de um total de 300 pontos (medidas) para uma determinada concentração de NH_3 . Para todas as medidas, a vazão total usada para as misturas foi de 100 sccm que corresponde a 100 mL/min, em condições normais de temperatura e pressão.

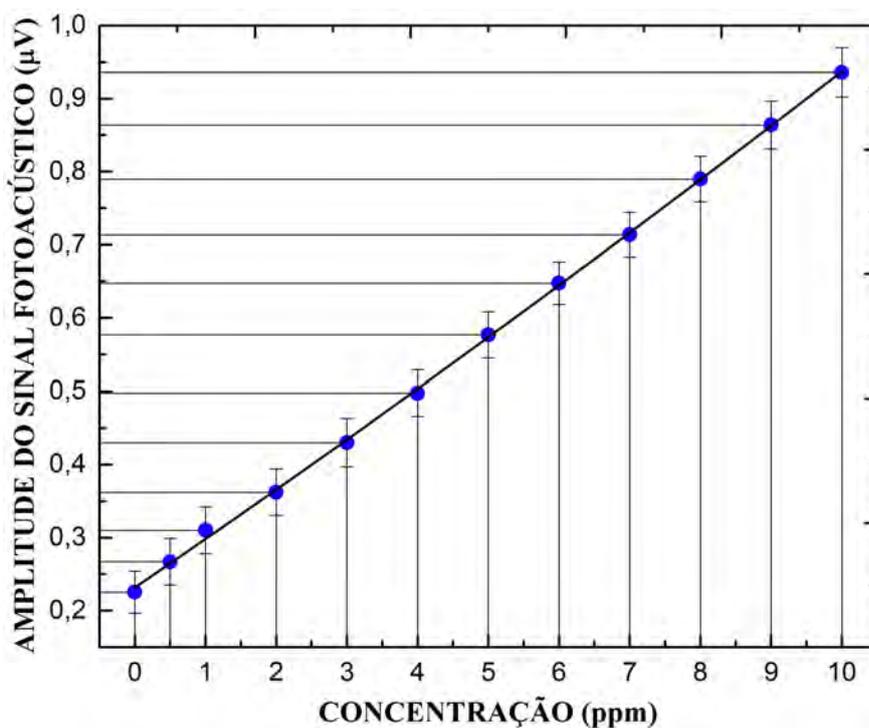


Figura 53: Dependência do sinal fotoacústico com a concentração de amônia.

Quanto ao definição de limite inferior de detecção, considerou-se que esse corresponde a menor concentração para a qual não ocorre superposição entre as barras de erro da medida com a barra de erro do fundo (medida obtida passando apenas um gás não absorvedor no nosso caso, o nitrogênio N_2). Nessas condições, através do ajuste da reta da figura 53, o limite inferior determinado para o sistema foi de 500 ppbv.

Resultados para as amostras de ureia incorporadas ao alginato

Os resultados aqui descritos correspondem a medidas realizadas com as amostras ALG10115, ALG04116 e ALG 04516,

ALG10115

A figura 54 corresponde ao resultado referente a medida da primeira amostra de ureia incorporada com alginato produzida. A princípio seguiu a mesma metodologia aplicada nas demais

amostras produzidas posteriormente, no entanto, contava com uma relação 25% m/m com o alginato. Essa medida foi realizada aplicando as amostras sobre a superfície de 40 g de solo (pH 8,0 e fornecido pela Embrapa) umidificado.

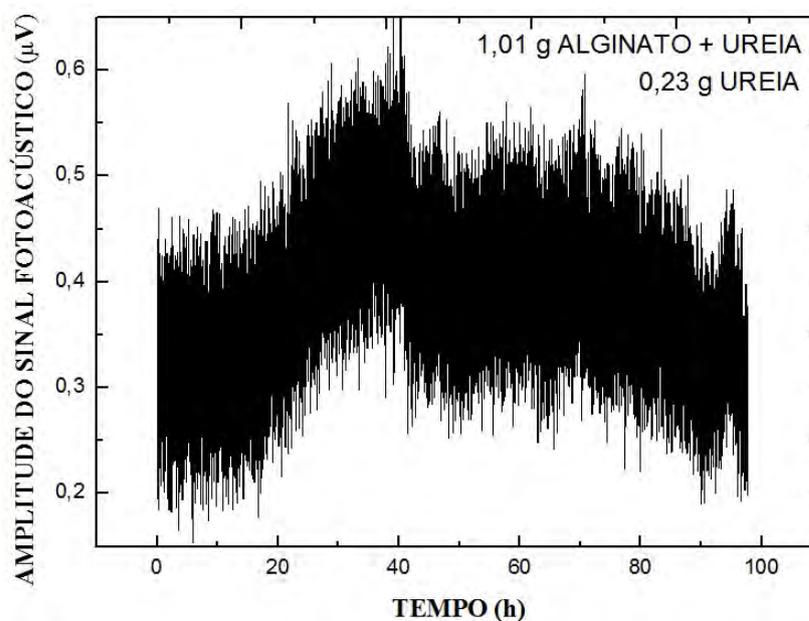


Figura 54: Sinal fotoacústico referente a medida da amostra ALG10115

Após 4 dias de medida, optou-se por interrompe-la. Dois pontos são plausíveis para entender esse resultado: apesar das microcápsulas terem sido preparadas seguindo os procedimentos descrito na seção 4.2.1, descobriu-se posteriormente que a água utilizada no preparo da solução de alginato não era ultrapura, deionizada ou destilada. Nesse caso, a enzima *urease* presente na água pode ter reagido com a ureia, eliminando-a completamente ou quase completamente. Além disso, o procedimento experimental foi realizado sem o controle da temperatura do porta amostras e sem a presença do *cold trap*, o que pode ter acarretado em uma influência da água nessa medida.

ALG04116 e ALG04516

A figura 55 corresponde aos resultados referentes as medidas da segunda e terceira amostra de ureia incorporada com alginato produzida. A produção dessas amostras seguiu a mesma metodologia aplicada nas demais amostras produzidas posteriormente, no entanto, assim como a ALG10115, contavam com uma relação 25% m/m com o alginato. Assim como a medida anterior, essas medidas também foram realizadas aplicando as amostras sobre a superfície de 40 g de solo umidificado.

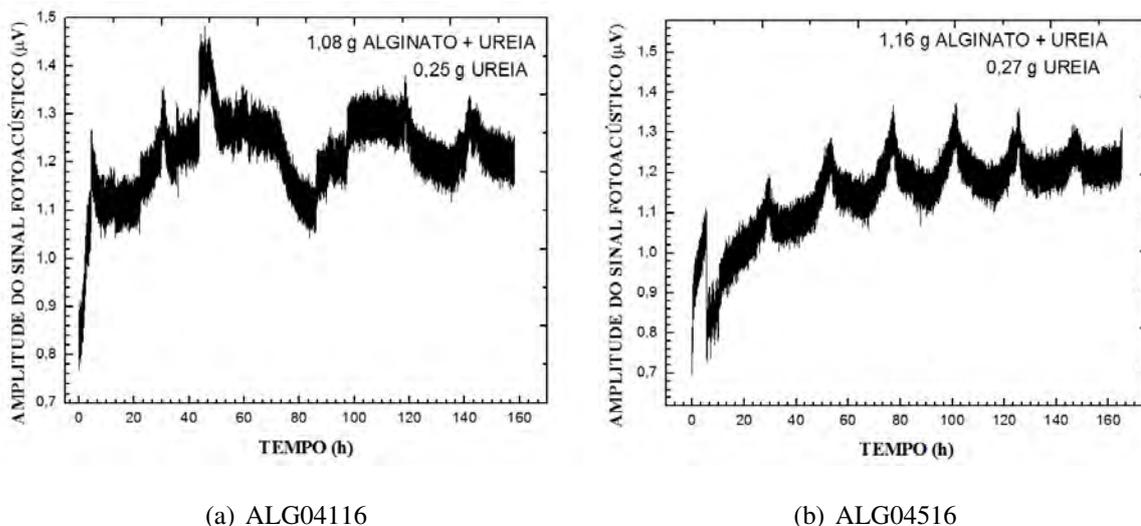


Figura 55: Sinal fotoacústico referente as medidas das amostras ALG04116 (a) e ALG04516 (b)

Na ausência de materiais para a composição de um *cold trap* (figura 19) tal como o descrito na seção 4.1, uma composição alternativa foi utilizada, constando de um pequeno frasco de vidro incrustado em gelo e posto no interior de um pequeno *freezer*. Ainda que teoricamente funcionasse, o principal problema dessa composição esteve no fato da linha de condução do gás estar no interior do *freezer*, o que levou a um congelamento parcial da água no interior dessa linha, antes da sua chegada ao frasco. Com isso, fica questionável se o fluxo de gás arrastado para a célula mantinha-se constante ou até mesmo se era mantido, uma vez que é plausível considerar que a variação na área da superfície interna dessas linhas pode variar tanto o fluxo quanto a quantidade de moléculas que chegam na célula, principalmente no caso da amônia.

A medida durou cerca de 7 dias e apresentou um comportamento que, a princípio, era a de uma emissão (uma vez que nas primeiras horas observou-se o aumento gradual do sinal fotoacústico com o tempo.) No entanto, após esse período, a medida foi interrompida e verificou-se o comportamento apresentado nas figuras 55 (a) e (b). Ambos os procedimentos foram realizados sem o controle da temperatura do porta amostras, o que pode ter levado, devido as flutuações de temperatura na época dessas medidas (realizadas entre dezembro de 2015 e fevereiro de 2016) a esse resultado tão discrepante com o esperado, uma vez que a atividade da enzima *urease* bem como a cinética da reação de hidrólise da ureia são dependentes e afetadas pela temperatura do meio.

ALG06716

A figura 56 corresponde ao resultado referente a medida da quarta amostra de ureia incorporada com alginato produzida. Com o intuito de otimizar as amostras, optou-se por alterar a proporção de ureia e alginato presente nas microcápsulas (ver tabela 2). Assim sendo, essa amostra contava com uma relação 50% m/m com o alginato. E, diferentemente do que foi realizado nas medidas das amostras anteriores, essa medida foi realizada aplicando as amostras sobre uma solução 50% v/v de urease em água ultrapura ao invés de aplicadas no solo.

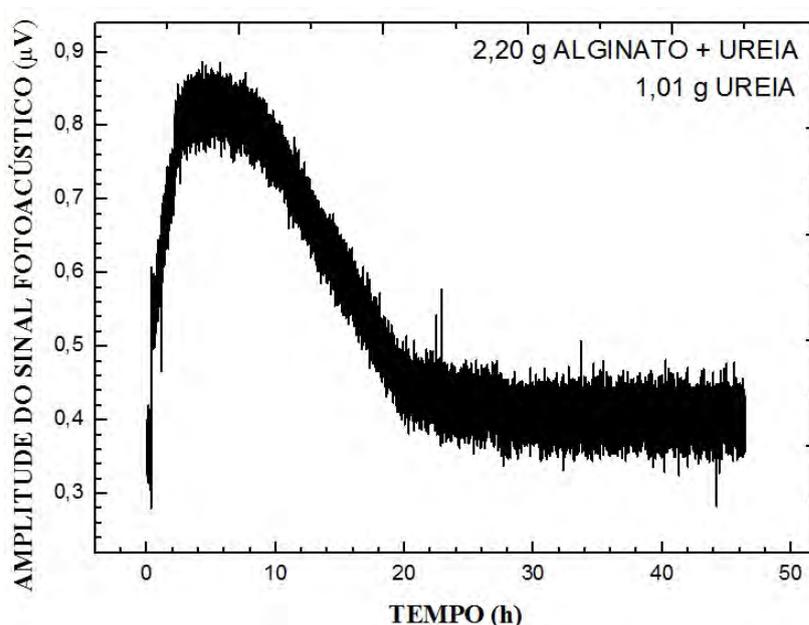


Figura 56: Sinal fotoacústico referente a medida da amostra ALG06716

No que diz respeito a retenção da água, foi utilizado o mesmo procedimento aplicado nas medidas referentes as amostras ALG04116 e ALG04516. No entanto, com o intuito de não ocorrer o mesmo problema com o congelamento da água, dessa vez a linha de condução do gás não esteve em contato direto com a atmosfera do *freezer*. Porém, ao final do experimento, gotículas de água foram observadas ao longo do comprimento da linha de passagem do gás, o que indica que há uma grande possibilidade dessas moléculas terem chegado ao interior da célula e interferido, de alguma forma, no sinal gerado pelo NH_3 emitido pelas amostras. Cabe aqui ressaltar também que essa medida foi realizada utilizando um fluxo diferente do utilizado nas medidas de caracterização e calibração do sistema. Conforme apresentado na seção A, foi utilizado o fluxo de 100 sccm para essa calibração. Já na medida da amostra ALG06716, o fluxo utilizado foi o de 40 sccm, o que torna incompatível e incerta, a comparação desse sinal com os resultados da calibração.

Assim sendo, ainda que seja interessante para uma análise qualitativa (se o compararmos visualmente aos resultados das amostras ALG09116 e ALG0666 que apresentam um comportamento do sinal fotoacústico com o tempo relativamente similar ao sinal dessa amostra), esse resultado não pode ser quantitativamente comparado aos resultados obtidos com as amostras ALG09116 e ALG0666, uma vez que foi realizado em condições experimentais cuja dinâmica foi afetada por diversos fatores não triviais.