



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA
APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA**

**MONITOREO DE FOTOSÍNTESIS EN PLANTAS
MEDIANTE LA TÉCNICA FOTOACÚSTICA: APLICACIÓN
AL ESTUDIO DEL LIRIO ACUÁTICO (*EICHHORNIA
CRASSIPES*)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN TECNOLOGÍA AVANZADA

PRESENTA:
HIDROBIÓLOGO PABLO ALEJANDRO CARDONA RICALDE

DIRECTOR:
DR. JOSÉ ANTONIO CALDERÓN ARENAS

México D. F. Enero del 2006



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
COORDINACION GENERAL DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN

CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de **México D. F.** el día **6** del mes de **Diciembre** del año **2005**, el (la) que suscribe **Pablo Alejandro Cardona Ricalde** alumno (a) del Programa de **Maestría en Tecnología Avanzada** con número de registro **A040142**, adscrito a **CICATA-IPN, Unidad Legaria**, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del **Dr. José Antonio Calderón Arenas** y cede los derechos del trabajo intitulado "**Monitoreo de Fotosíntesis en Plantas mediante la Técnica Fotoacústica: Aplicación al Estudio del Lirio Acuático (*Eichhornia Crassipes*)**", al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director de trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección e-mail: **cardona_ricalde@hotmail.com**. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Pablo Alejandro Cardona Ricalde

Nombre y Firma



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACION Y POSGRADO

ACTA DE REVISION DE TESIS

En la Ciudad de México, D.F. siendo las 11:00 horas del día 24 del mes de noviembre del 2005 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICATA-IPN para examinar la tesis de grado titulada: "MONITOREO DE FOTOSINTESIS EN PLANTAS MEDIANTE LA TECNICA FOTOACUSTICA: APLICACIÓN AL ESTUDIO DEL LIRIO ACUATICO (EICHHORNIA CRASSIPES)".

Presentada por el alumno:

CARDONA

Apellido paterno

RICALDE

materno

PABLO ALEJANDRO

nombre(s)

Con registro:

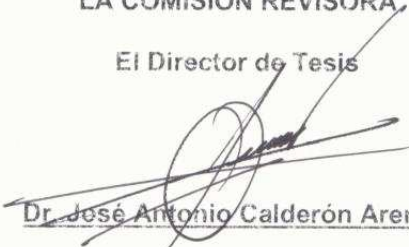
A	0	4	0	1	4	2
---	---	---	---	---	---	---

aspirante al grado de: **MAESTRIA EN TECNOLOGIA AVANZADA**



Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

El Director de Tesis


Dr. José Antonio Calderón Arenas
Dr. José Luis Fernández Muñoz
Dr. Eduardo San Martín Martínez
Dr. José Luis Jiménez Pérez
Dr. Miguel Ángel Aguilar Frutis

EL PRESIDENTE DEL COLEGIO


Dr. José Antonio Irán Díaz Góngora
CENTRO DE INVESTIGACION
EN CIENCIA APLICADA Y
TECNOLOGIA AVANZADA

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco al Dr. José Antonio Calderón Arenas, por su excelente dirección, dedicación e incondicional ayuda en la realización de esta tesis, así como por su incondicionable amistad y buenos consejos.

A Ana Leticia Cardona, por su excelente atención, ayuda y apoyo incondicional que me brindo, así como a sus valiosos consejos y valiosa amistad.

También quiero agradecer a todos los profesores del CICATA-IPN: Dr. José Antonio Díaz Góngora, Dr. Miguel Ángel Aguilar Frutis, Dr. Eduardo San Martín, Dr. José Luís Fernández Muñoz, Dr. José Luís Jiménez Pérez, Dr. Ernesto Marín Moares, quienes me han mostrado siempre una buena disposición para aclarar y discutir ideas, y su valiosa amistad.

A mis padres, hermanos y familia.

A todos mis compañeros del postgrado.

Agradezco al CONACYT por el apoyo económico que por medio de su beca fue otorgado.

Agradezco al programa PIFI-IPN por su valiosa ayuda económica durante el desarrollo de este trabajo.

DEDICATORIA

... a todos los que en esta vida han sido, son y serán parte importante de mis pensamientos y acciones... y aquellos que alguna vez, soñaron con estar en la cima...

CONTENIDO GENERAL

	PÁGINA
RESUMEN	i
SUMMARY	ii
CAPITULO 1	
Introducción	1
CAPITULO 2	
La Técnica Fotoacústica	
2.1 Introducción	6
2.2 El Efecto Fotoacústico	8
2.3 Modelo RG	10
2.4 Ondas Térmicas	22
2.5 Mecanismos de generación de la señal fotoacústica	27
CAPITULO 3	
Implementación de la técnica fotoacústica resuelta en tiempo para medición de la tasa fotosintética en muestras	
3.1 Introducción	30
3.2 Diseño y fabricación de la celda	31
3.3 Esquema de medición	31
3.4 Componentes del sistema	33
3.5 Automatización del sistema	40

3.6	Configuración del sistema	43
3.7	Mediciones de prueba	46
3.8	Conclusiones	48

CAPITULO 4

Medición de la evolución de O₂ y almacenamiento de energía en Lirio Acuático (*Eichhornia Crassipes*)

4.1	Introducción	49
4.2	El Lirio Acuático	50
4.3	Fotosíntesis y Mecanismos	62
4.4	Diseño y fabricación de acuario-invernadero para la conservación del Lirio Acuático en el laboratorio	76
4.5	Microscopía Óptica	78
4.6	Monitoreo de la evolución de O ₂ fotosintético	84
4.7	Monitoreo de almacenamiento de energía	88
4.8	Conclusiones	95

CAPITULO 5

	Conclusiones Generales	96
--	------------------------	----

	BIBLIOGRAFÍA	98
--	---------------------	----

RESUMEN

Debido a las características que presenta esta planta, se ha logrado establecer en los diferentes cuerpos de agua de regiones tropicales y sub-tropicales como una maleza, con consecuencias sumamente desfavorables tanto para el hábitat en el que se propaga así como para las diferentes actividades humanas que están relacionadas y que dependen de este medio.

Es por ello que se reporta la aplicación de la Técnica Fotoacústica en el monitoreo de la evolución de oxígeno fotosintético en lirio acuático (*Eichornia Crassipes*) con la perspectiva de utilizar este sistema en el estudio del efecto del ultrasonido y radiaciones de alta energía en la evolución y propagación del lirio acuático.

La fotosíntesis es un fenómeno muy complejo, cuyo estudio se ha favorecido con los últimos avances de la biología molecular, la instrumentación óptica, etc. En particular, la aplicación de la espectroscopia fototérmica en el estudio de la fotosíntesis, ha demostrado gran utilidad en la investigación del efecto de factores externos e internos a la planta en su proceso fotosintético.

El uso de la técnica fotoacústica, en su modalidad de celda fotoacústica abierta (CFA), permite la realización de estos estudios con plantas *in-vivo* e *in-situ*, lo cual representa un avance notable en este tipo de estudios.

SUMMARY

Due to the characteristics that it presents this plant, it has been possible to settle down in the different bodies of water of tropical and sub-tropical regions as an overgrowth, with consequences extremely unfavorable point for the habitat in the one that spreads as well as for the different human activities that are related and that they depend on this means.

It is for it that the application of the Photoacoustic Technique is reported in the census of the evolution of photosynthetic oxygen fotosintético in aquatic iris (*Eichornia Crassipes*) with the perspective of using this system in the study of the effect of the ultrasound and radiations of high energy in the evolution and propagation of the aquatic iris.

The photosynthesis is a very complex phenomenon whose study has been favored with the last advances of the molecular biology, the optic instrumentation, etc. in particular, the application of the photothermic spectroscopy in the study of the photosynthesis, it has demonstrated great utility in the investigation from the effect of external and internal factors to the plant in its process fotosintético.

The use of the Photoacoustic Technique, in their modality of open photoacoustic cell (OPC), it allows the realization of these studies with plants *in-vivo* and *in-situ*, that which represents a remarkable advance in this type of studies.

Capítulo

1

INTRODUCCIÓN

LAS TÉCNICAS FOTOTÉRMICAS.

El Efecto Fotoacústico (FA) es la base de la técnica que lleva su nombre y que forma parte de un conjunto de técnicas experimentales que se conocen como fototérmicas. En ellas, como hemos visto antes, la energía luminosa se hace incidir de forma periódica sobre el material investigado (en estado sólido, líquido o gaseoso) siendo parte de ella absorbida y parcialmente transformada en calor como resultado de procesos de desexcitación a escala atómica y molecular, como se muestra esquemáticamente en la Fig. 1.1.

La temperatura del material varía entonces con la misma periodicidad que lo hace la radiación incidente, induciendo cambios en los parámetros del material (y/o del medio en el que se encuentra) dependientes de ella. La detección de estas variaciones es la base de los diferentes esquemas experimentales.

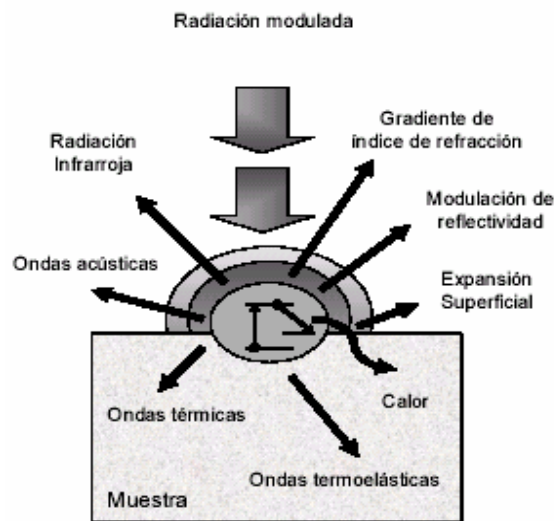


Fig. 1.1. Algunos efectos fototérmicos.

En la técnica FA (Fig. 1.2), la muestra a investigar es colocada en una celda cerrada que contiene aire u otro gas. Como resultado de la absorción de radiación modulada, el material se calienta, transmitiéndose el calor a una capa de gas adyacente a la superficie iluminada de la muestra. Esta capa de gas se calienta entonces periódicamente, expandiéndose y contrayéndose, y actuando como un pistón sobre el resto del gas contenido en la celda. Se genera así una onda acústica o de presión que puede ser detectada con un micrófono colocado también dentro de la celda.

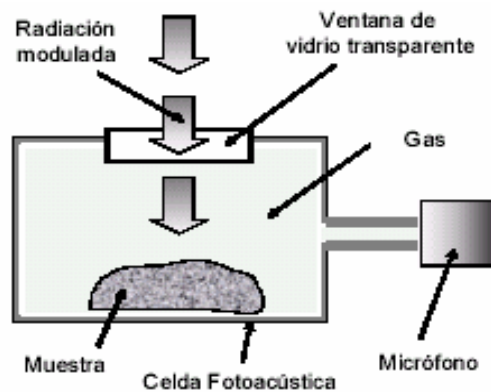


Fig. 1.2. Representación esquemática de una celda fotoacústica utilizada en la técnica basada en el efecto del mismo nombre.

Las técnicas fototérmicas, pueden ser utilizadas para medir diferentes propiedades de materiales o para estudiar diferentes procesos fisicoquímicos que tienen lugar en ellos. Para comprender por qué esto es posible, basta observar que el proceso de generación de una señal fototérmica consta de tres pasos fundamentales, que dependen a su vez de un grupo particular de estas propiedades:

1- Absorción de la radiación luminosa: Este proceso depende de las propiedades ópticas de la muestra, por ejemplo del llamado coeficiente de absorción óptico, que determina cuánta energía luminosa puede ser absorbida para luz de determinado color.

2- Transformación de la energía luminosa en calor. Este mecanismo depende de aquellos mediante los cuales los átomos y moléculas que componen el material investigado realizan dicha transformación, y por lo tanto de las propiedades que los caracterizan. La eficiencia de conversión, es decir, la razón o cociente entre la energía total absorbida y la porción de ella transformada en calor, es una de estas propiedades.

3- Difusión del calor generado a través de la muestra, proceso que depende de propiedades que caracterizan este proceso, como la conductividad térmica, k , la capacidad calorífica, $C=\rho c$, donde ρ es la densidad y c el calor específico, la difusividad térmica, $\alpha=k/C$, y la efusividad térmica, $\epsilon=(kC)^{1/2}$.

▪ **EL LIRIO ACUÁTICO (EICHHORNIA CRASSIPES)**

Esta planta recibe el nombre vulgar de jacinto de agua o lirio acuático por su vistosa inflorescencia de flores violeta que le asemejan hasta cierto punto a las flores del jacinto. De nombre científico *Eichornia Crassipes* es una planta libre flotadora, una hydrophyta emergente, perteneciente a la familia de las Pontederiaceas. Originaria de América del Sur (Amazonas), la que por la belleza de su flor se ha diseminado a casi todas las áreas tropicales y sub-tropicales del mundo. Su rápida reproducción, así como la ausencia de enemigos naturales en los nuevos lugares de su introducción, además de su excelente capacidad de adaptación a casi cualquier cuerpo de agua, han provocado la rápida diseminación de la planta, convirtiéndose así en una maleza.

Esto ha traído como consecuencia que actividades económicas importantes, como la navegación en ríos y lagos, la pesca, reducción del área hidráulica, incremento en el coeficiente de rugosidad (factor que interviene en la velocidad de escurrimiento en conductos abiertos), desarrollo de poblaciones de mosquitos vectores de enfermedades y la irrigación en la agricultura se han afectado sensiblemente en las áreas invadidas por la maleza. Una extensa cobertura del jacinto o lirio acuático provoca una evapotranspiración tres-cuatro veces superior a la que normalmente ocurre en superficies de agua libre, lo que genera también pérdida de agua, sobre todo en el período de sequía. No menos dañino es el efecto que ocasiona la maleza cuando ésta llega a los generadores de las estaciones hidroeléctricas, lo que provoca cortes eléctricos de determinada duración hasta que los generadores son limpiados de tejidos de la planta.

El problema más serio es el de la adopción de medidas de control (ya sea físico o mecánico, químico y biológico) que sean técnicamente efectivas, económicamente viables y que resulten ambientalmente compatibles. Es por estas razones que surge la necesidad de incorporar al estudio de estas medidas de control nuevas tecnologías, siendo en este caso, la técnica fotoacústica, que por sus propiedades no invasivas, destructivas ni degenerativas, además de que se basen en muy sólidos principios y que la mayoría de sus esquemas experimentales no sean en extremo complejos, sea idónea para aplicarla a esta problemática.

- El objetivo de esta tesis es llevar a cabo la implementación de la TFA resuelta en tiempo para el monitoreo de la fotosíntesis en plantas, así como su aplicación al estudio de la evolución de oxígeno fotosintético y almacenamiento de energía en lirio acuático.

El presente trabajo de tesis se divide en 5 capítulos, cuales temáticas a tratar de cada uno de ellos son las siguientes: En el Capítulo 2 se abarcan los puntos necesarios para poder comprender e introducirnos en la Técnica Fotoacústica, los cuales son; el efecto

fotoacústico, el modelo RG, las ondas térmicas y los mecanismos de generación de la señal fotoacústica.

El Capítulo 3 describe la implementación de la técnica fotoacústica resuelta en tiempo para medición de la tasa fotosintética en lirio acuático, donde se llevo a cabo el diseño y fabricación de la celda, se realizó el esquema de medición, se acondicionaron y pusieron a punto todos los componentes del sistema, la automatización y configuración de este, así como se realizaron las primeras mediciones de prueba.

En el Capítulo 4 tratamos el tema del lirio acuático, las generalidades y problemáticas de la especie *eichhornia crassipes*, así como los mecanismos que intervienen en el proceso fotosintético de las plantas verdes superiores; se describe la estrategia de adaptación que se siguió para la adaptación del lirio acuático en el laboratorio vía el diseño y la fabricación de un acuario-invernadero de simulación pensado para este fin; a su vez se muestra tanto el monitoreo de la evolución de O₂ como el monitoreo del almacenamiento de energía.

El Capítulo 5 contiene las conclusiones de la presente tesis así como los posibles alcances y trabajo a futuro que se pudiera realizar.

Capítulo

2

LA TÉCNICA FOTOACÚSTICA

2.1 INTRODUCCIÓN

Las ondas térmicas han resultado ser un gran campo de investigación científica a nivel mundial por más de un siglo, tanto para la investigación básica como para la investigación aplicada. En el año de 1880, Alexander Graham Bell, descubrió que cuando un haz luminoso, periódicamente interrumpido, se hace incidir sobre la superficie de un sólido colocado en el interior de un recipiente herméticamente cerrado, se detecta una respuesta audible, mediante un tubo de audición acoplado al recipiente (Fig. 2.1). Este fenómeno se denominó **efecto fotoacústico** en materiales sólidos. En sus inicios Bell detecto las fluctuaciones de presión del gas mediante un tubo auditivo; en la actualidad se suelen utilizar micrófonos sensibles para realizar esta detección. De esta manera, fue como a su comienzo, este efecto se denominaba “opto-acústico”, sin embargo, para evitar confusiones con el efecto acústico-óptico fue cambiado por “fotoacústico”.



Figura 2.1. Representación esquemática del efecto fotoacústico por Bell en 1880.

La primera descripción teórica del efecto fotoacústico en sólidos sobre la base de las ondas térmicas fue dada en el año de 1976 por Rosencwaig y Gersho [3]. Esta se basa en la consideración de una delgada capa de aire que se expande y contrae periódicamente en la interfase gas-sólido, por lo que actúa como un pistón vibratorio sobre la parte restante del volumen del gas, el cual obedece un proceso adiabático. Subsecuentes modelos han tratado refinamientos y extensiones de este modelo del pistón [4]. Rosencwaig también estableció la espectroscopia fotoacústica (EFA) como una herramienta para estudios ópticos en sólidos [5].

Dentro de los fenómenos físicos observados en la interacción radiación-materia, encontramos aquellos en los cuales la energía absorbida es transformada, vía procesos de desexcitación no radiativos en calor. Si colocamos un material dentro de una celda herméticamente cerrada y hacemos incidir luz modulada sobre su superficie, toma lugar la absorción de la radiación incidente y la generación en su interior una respuesta térmica, la cual perturba el gas de sus alrededores produciendo una variación de la presión en la celda y generando una señal acústica.

El efecto fotoacústico implica la generación de ondas acústicas u otros efectos termoelásticos, por cualquier tipo de material sobre el cual incide un haz energético modulado, como radiación electromagnética (desde las ondas de radio hasta los rayos X),

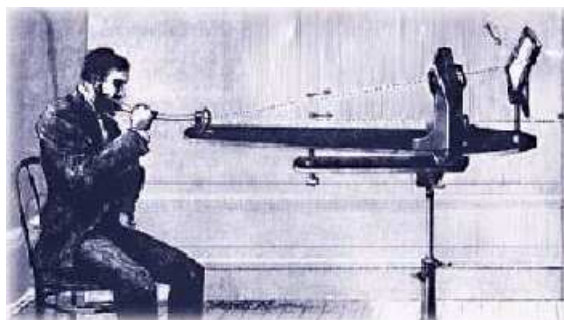
electrones, protones, ultrasonido, etc.

Se han reportado una diversidad de trabajos teóricos y experimentales, en los cuales se demuestran no solo aplicaciones espectroscópicas, sino también otras aplicaciones en campos de la ciencia como: física, química, biología, ingeniería y medicina [6, 7, 8].

2.2 EL EFECTO FOTOACÚSTICO

Como se ha mencionado anteriormente el efecto fotoacústico (FA) fué descubierto por A. G. Bell en 1880. Ahora daremos una explicación más detallada acerca de cómo se llevo a cabo este descubrimiento y entre que circunstancias fue que se dio.

Bell, mientras trabajaba en el fonógrafo (Fig. 2.2) reflejaba un haz de luz solar sobre una celda de selenio incorporada a un circuito telefónico. El haz de luz era reflejado con ayuda de un espejo colocado en el diafragma de una especie de altoparlante, y que vibraba al ser activado por la voz. La resistencia eléctrica del selenio era modulada entonces por la luz, reproduciéndose entonces la voz transmitida hacia el receptor telefónico (Nótese que Bell, con estos trabajos, se anticipó un siglo a lo que es hoy la transmisión de información a largas distancias a través de la atmósfera, e introdujo la idea de la comunicación óptica a distancia que revolucionó más tarde las comunicaciones con el desarrollo de las fibras ópticas).



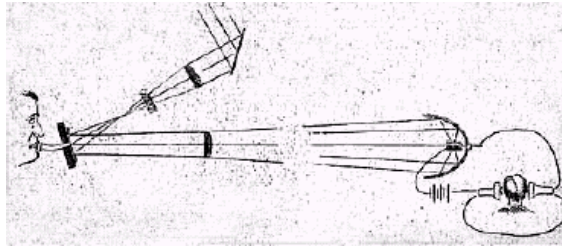


Figura 2.2. Fotófono construido por Bell según una fotografía de la época (encima) y un dibujo del propio Bell, según él un instrumento más revolucionario que el teléfono que había inventado años antes. Intentaba transmitir la voz utilizando un haz de luz modulado.

Inmerso en estos experimentos y colocando el selenio en forma de diafragma sobre un tubo de escucha (Fig. 2.3), Bell descubrió que ese material, y otros sólidos, emite sonido cuando es iluminado por la luz modulada. Bell llegó incluso a descubrir que la intensidad del sonido emitido depende de la longitud de onda o color de la luz incidente y que por lo tanto el efecto debía ser atribuido a un proceso de absorción óptica.

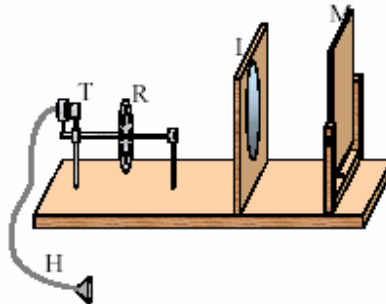


Figura 2.3. Descubrimiento del efecto fotoacústico por Bell. Esquema de su experimento: la luz del sol es desviada y enfocada hacia la muestra sólida T mediante el espejo M y la lente L. Antes de incidir sobre T es modulada con ayuda del disco rotatorio con agujeros denotado por R. El sonido generado es detectado con ayuda del tubo de escucha H.

El efecto FA en sólidos, aunque ganó el interés de varios científicos de renombre de la época (Fig. 2.4) como W K Röntgen (1845-1923) [*], J Tyndall (1820-1893) [*] y J W (Lord) Rayleigh (1842-1919) [*], permaneció como una curiosidad científica por casi medio siglo hasta que, gracias en gran medida al desarrollo del micrófono, que sustituiría al tubo de escucha en el montaje experimental de Bell, al advenimiento de fuentes luminosas

intensas y al desarrollo de sensibles sistemas de detección y procesamiento de datos, comenzaron a gestarse las primeras aplicaciones prácticas del efecto FA.



Figura 2.4. Wilhelm Konrad Röntgen (1845-1923) no solo descubrió los rayos X. Entre otras cosas notó que el efecto descubierto por Bell también se produce por la absorción de la luz en gases.

2.3 MODELO DE DIFUSIÓN TÉRMICA DE ROSENCWAIG Y GERSHO (MODELO RG)

La primera interpretación teórica del efecto fotoacústico en sólidos fue dada por Rosencwaig y Gersho en 1976 [3]. En el modelo teórico de Rosencwaig y Gersho se considera como principal mecanismo de la señal fotoacústica al de difusión del calor, generado en la muestra, hacia el gas en el interior de la celda. Ellos realizaron un análisis unidimensional del flujo de calor en la celda y demostraron que solamente una capa relativamente delgada de aire en su interior, de unas décimas de centímetro de espesor, adyacente a la superficie del sólido, responde térmicamente al flujo de calor periódico proveniente del sólido. Esta capa de aire sufre un calentamiento y un enfriamiento alternado y funciona como un pistón vibratorio, el cual genera la señal fotoacústica detectada.

Consideremos una celda cilíndrica como se muestra en la Fig.2.5. La celda tiene un diámetro D y longitud L . Si L es pequeña comparada con la longitud de onda de la señal acústica, entonces, el micrófono detectará la presión promedio producida en la celda.

Sea l el espesor de la muestra. La superficie frontal de la muestra esta expuesta al gas de la celda y la superficie trasera se encuentra en contacto con una base, el cual suponemos de conductividad térmica baja y espesor l_b . Así, la longitud de la columna de gas será $l_g = L - l - l_b$. Suponemos también que el soporte y el gas no absorben luz. El subíndice i denota la muestra (m), el gas (g) o la base (b), respectivamente, $\omega = 2\pi f$ es la frecuencia de modulación en rad/seg , y $j = \sqrt{-1}$.

Supongamos un haz de luz monocromática, modulada sinusoidalmente, con longitud de onda λ incidente sobre la muestra con intensidad.

$$I = \frac{1}{2} I_0 (1 + \cos(\omega t)) \quad (2.1)$$

donde I_0 es el flujo de luz monocromática incidente. Si β denota al coeficiente de absorción óptica de la muestra sólida para longitud de onda λ , entonces la densidad de calor producida en cualquier punto x debido a la luz absorbida en este punto del sólido es :

$$\frac{1}{2} \beta I_0 e^{\beta x} (1 + \cos(\omega t)) \quad (2.2)$$

Donde $x \in (-l, 0)$, con luz incidente en $x = 0$.

La ecuación de difusión térmica en el sólido tomando en cuenta la fuente de calor distribuida puede escribirse como :

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} = \alpha^{-1} \frac{\partial^2 \phi}{\partial t^2} - A e^{\beta x} (1 + e^{j\omega t}), \quad x \in (-l, 0) \quad (2.3)$$

con $A = \beta \eta I_0 / 2K_s$. Aquí ϕ es la temperatura y η es la eficiencia a la cual la luz absorbida, de longitud de onda λ , es convertida a calor por procesos de desexcitación no-radiativa.

De aquí en adelante, vamos a suponer que $\eta = 1$, suposición razonable para la mayoría de los sólidos a temperatura ambiente.

Las ecuaciones de calor para el soporte y el gas son:

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} = \alpha_b^{-1} \frac{\partial^2 \phi}{\partial t^2} \quad x \in (-l+l_b, l) \quad (2.4)$$

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} = \alpha_b^{-1} \frac{\partial^2 \phi}{\partial t^2} \quad \mathbf{x} \in -(0, l_g) \quad (2.5)$$

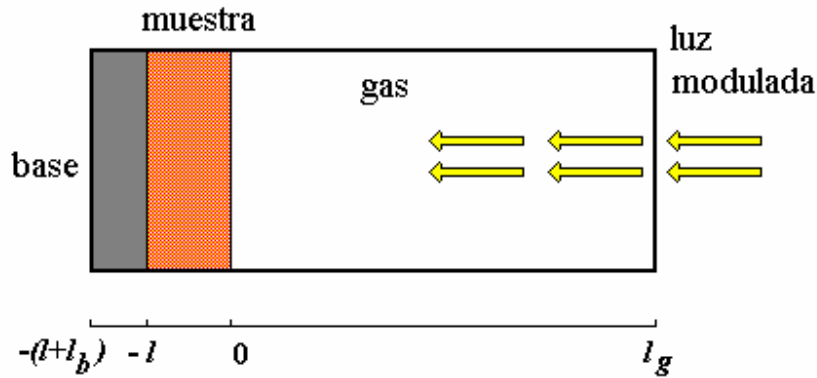


Figura 2.5. Sección transversal de la celda fotoacústica cerrada convencional

Resolviendo estas ecuaciones, y utilizando las condiciones de continuidad de la temperatura y del flujo en la superficie de la muestra, encontramos la solución explícita para Θ , la cual es la amplitud de la temperatura en la frontera sólido-gas ($x = 0$), dada por:

$$\Theta = \frac{\beta I_0 \mathcal{P}_0}{2k_s(\beta^2 - \sigma_s^2)} \left[\frac{(r-1)(b+1)e^{\sigma_s l} - (r+1)(b-1)e^{-\sigma_s l} + 2(b-r)e^{-\beta l}}{(g+1)(b+1)e^{\sigma_s l} - (g-1)(b-1)e^{-\sigma_s l}} \right] \quad (2.6)$$

Donde $b = k_b a_b / k_s a_s$, $g = k_g a_g / k_s a_s$, $r = (1-j)\beta / a_s$.

No debemos olvidar que este modelo supone que la fuente principal en la señal acústica proviene del flujo periódico del calor desde el sólido hacia el gas que lo rodea. El proceso de difusión periódico produce una variación de temperaturas periódica dada por :

$$\phi_{ac}(x, t) = \Theta e^{(-\sigma_g x + j\omega t)} \quad (2.7)$$

Analizando la ecuación (2.7) observamos que a una distancia de $2\pi/a_g = 2\pi\mu_g$, donde μ_g es la longitud de difusión térmica, la variación de temperatura periódica en el gas se amortigua

totalmente. Así que se define una capa superficial en la interfaz muestra-gas cuyo grosor es $2\pi\mu_g$, la cual es capaz de responder térmicamente a la temperatura periódica en la superficie de la muestra.

La ecuación de difusión de calor

Refiriéndonos a la luz, que proviene de la derecha, atraviesa un medio no absorbente g , de espesor l_g , e incide en $x = 0$ sobre la superficie de la muestra s , de espesor l_s , creando en su interior una fuente de calor $g(x,t)$. La muestra s se coloca sobre un soporte b , de espesor l_b . Para cada medio, la ecuación de difusión de calor toma la forma siguiente:

$$\frac{\partial^2}{\partial x^2} \Theta_g(x,t) - \frac{1}{\alpha_g} \frac{\partial}{\partial t} \Theta_g(x,t) = 0, \quad 0 \leq x \leq l_g \quad (2.8)$$

$$\frac{\partial^2}{\partial x^2} \Theta_s(x,t) - \frac{1}{\alpha_s} \frac{\partial}{\partial t} \Theta_s(x,t) = -g(x,t), \quad -l_s \leq x \leq 0 \quad (2.9)$$

$$\frac{\partial^2}{\partial x^2} \Theta_b(x,t) - \frac{1}{\alpha_b} \frac{\partial}{\partial t} \Theta_b(x,t) = 0, \quad -(l_s+l_b) \leq x \leq -l_s \quad (2.10)$$

donde Θ_i denota la diferencia de temperaturas entre el medio ambiente y el medio i ($i = g, s, b$), de manera que $T_i(x, t) = \Theta_i + T_o$ representa la temperatura del medio i .

Las condiciones de frontera de la continuidad de la temperatura y el flujo de calor en las interfaces entre los medios g, s y b , están dadas por,

$$\Theta_g(0,t) = \Theta_s(0,t) \quad (2.11)$$

$$\Theta_b(-l_s,t) = \Theta_s(-l_s,t) \quad (2.12)$$

$$k_g \frac{\partial}{\partial x} \Theta_g(0,t) = k_s \frac{\partial}{\partial x} \Theta_s(0,t) \quad (2.13)$$

$$k_b \frac{\partial}{\partial x} \Theta_b(-l_s,t) = k_s \frac{\partial}{\partial x} \Theta_s(-l_s,t) \quad (2.14)$$

Si consideramos que la intensidad del haz de luz monocromático incidente esta modulado en el tiempo en la forma:

$$I(t) = \frac{I_0}{2} [1 + e^{j\omega t}], \quad (2.15)$$

donde I_0 denota la intensidad de la luz monocromática incidente (W/cm^2), entonces, la fuente de calor, que aparece en la ecuación (2.9), puede escribirse como

$$g(x,t) = G(x)[1 + e^{j\omega t}] \quad (2.16)$$

donde $G(x)$ depende de las propiedades ópticas y térmicas de la muestra, el cual se tratará más adelante.

Soluciones a la ecuación de difusión

Las soluciones al sistema de ecuaciones (2.8)-(2.10) se componen de la suma de una parte estacionaria, que depende solo de la posición, y una parte que oscila en el tiempo,

$$\Theta_g(x,t) = (1 - x/l_g)B + \tau_g(x)e^{j\omega t} \quad 0 \leq x \leq l_g \quad (2.17)$$

$$\Theta_s(x,t) = T(x) + \tau_s(x)e^{j\omega t} \quad -l_s \leq x \leq 0 \quad (2.18)$$

$$\Theta_b(x,t) = (x + l_s + l_g) \frac{A}{l_b} + \tau_b(x)e^{j\omega t} \quad -(l_s + l_b) \leq x \leq l_s \quad (2.19)$$

La parte que oscila en el tiempo es la relevante en estas expresiones ya que, es la que da origen a las ondas térmicas, las cuales generan el efecto FA.

La sustitución de las expresiones (2.17)-(2.19) en las ecuaciones (2.8)-(2.10) conduce al siguiente sistema de ecuaciones diferenciales para las funciones $\tau_i(x)$,

$$\frac{d^2}{dx^2} \tau_g(x) - \sigma_g \tau_g(x) = 0, \quad 0 \leq x \leq l_g \quad (2.20)$$

$$\frac{d^2}{dx^2} \tau_s(x) - \sigma_s \tau_s(x) = -G(x), \quad -l_s \leq x \leq 0 \quad (2.21)$$

$$\frac{d^2}{dx^2} \tau_b(x) - \sigma_b \tau_b(x) = 0, \quad -(l_s + l_b) \leq x \leq l_s \quad (2.22)$$

sujetos a las condiciones de frontera

$$\tau_g(0) = \tau_s(0) \quad (2.23)$$

$$\tau_b(-l_s) = \tau_s(-l_s) \quad (2.24)$$

$$k_g \frac{d}{dx} \tau_g(0) = k_s \frac{d}{dx} \tau_s(0) \quad (2.25)$$

$$k_b \frac{d}{dx} \tau_b(-l_s) = k_s \frac{d}{dx} \tau_s(-l_s). \quad (2.26)$$

La solución a este problema esta dada por:

$$\tau_g(x) = \tau_s(0) e^{-\sigma_s x} \quad 0 \leq x \leq l_g \quad (2.27)$$

$$\tau_b(x) = \tau_s(-l_s) e^{\sigma_s(x+l_s)} \quad -(l_s+l_b) \leq x \leq l_s \quad (2.28)$$

$$\begin{aligned} \tau_s(x) = & \frac{1}{2\sigma_s [(g+1)(b+1)e^{\sigma_s l_s} - (g-1)(b-1)e^{-\sigma_s l_s}]} \\ & \left\{ [(g-1)e^{\sigma_s x} - (g+1)e^{-\sigma_s x}] \int_{-l_m}^x [(b+1)e^{\sigma_s(l_s+x')} - (b-1)e^{-\sigma_s(l_s+x')}] G(x') dx' + \right. \\ & \left. [(b+1)e^{\sigma_s(l_s+x)} - (b-1)e^{-\sigma_s(l_s+x)}] \int_x^0 [(g-1)e^{\sigma_s x'} - (g+1)e^{-\sigma_s x'}] G(x') dx' \right\} \\ & -l_s \leq x \leq 0 \quad (2.29) \end{aligned}$$

donde

$$g = \frac{k_g \sigma_g}{k_s \sigma_s} \quad y \quad b = \frac{k_b \sigma_b}{k_s \sigma_s} \quad (2.30)$$

Como puede notarse, para determinar completamente las soluciones, es necesario especificar la función $G(x)$, la cual, depende de la fuente de calor en cuestión.

Absorción de la radiación. Modelos de fuentes de calor

Podemos considerar que la absorción de la radiación ocurre de dos formas distintas, dependiendo de las propiedades ópticas de la muestra, lo que da lugar a dos modelos para la fuente de calor $g(x,t)$: el modelo de fuente en el volumen (Ley de Beer) y el modelo de fuente superficial.

En el modelo de absorción de Beer se considera que la radiación incidente se absorbe de manera que la intensidad de la fuente de calor generada en el interior del material disminuye exponencialmente con la profundidad. La atenuación de la intensidad de la fuente de calor esta caracterizada por el parámetro β , denominado coeficiente de absorción óptica, característico de cada material y que depende de la longitud de onda de la radiación incidente. Así, se tiene

$$G(x) = \frac{\beta I_0 \eta}{2k_s} e^{-\beta x} \quad \text{Absorción volumétrica} \quad (2.31)$$

Este modelo de absorción es apropiado para los materiales dieléctricos. Para la mayoría de los metales, por el contrario, es aplicable el modelo de absorción superficial, en el cual se supone que la energía radiante se absorbe en la superficie del material, originando la fuente de calor superficial, para la cual se tiene

$$G(x) = \frac{\beta I_0 \eta}{2k_s} \delta(x) \quad \text{Absorción superficial} \quad (2.32)$$

Expresiones para la temperatura en las caras de la muestra

Para cuantificar la magnitud de la señal FA nos interesa la temperatura de la muestra en sus dos caras. Estas pueden obtenerse sustituyendo $x = 0$ y $x = -l_s$ y la expresión para $G(x)$, apropiada al tipo de absorción de radiación, en la ecuación (2.43). El resultado es el siguiente,

Absorción Volumétrica (Absorción de Beer)

$$\tau_s(0) = \frac{\beta I_0 \eta}{2k_s (\beta^2 - \sigma_s^2)} \left[\frac{(r-1)(b+1)e^{\sigma_s l_s} - (r+1)(b-1)e^{-\sigma_s l_s} + 2(b-r)e^{-\beta l_s}}{(g+1)(b+1)e^{\sigma_s l_s} - (g-1)(b-1)e^{-\sigma_s l_s}} \right] \quad (2.33)$$

$$\tau_s(-l_s) = \frac{\beta I_0 \eta}{2k_s (\beta^2 - \sigma_s^2)} \left[\frac{2(r+g) - (r+1)(g+1)e^{\sigma_s l_s} e^{-\beta l_s} + (r-1)(g-1)e^{-\sigma_s l_s} e^{-\beta l_s}}{(g+1)(b+1)e^{\sigma_s l_s} - (g-1)(b-1)e^{-\sigma_s l_s}} \right] \quad (2.34)$$

Absorción Superficial

$$\tau_s(0) = \frac{\beta I_0 \eta}{2k_s \sigma_s} \left[\frac{(b+1)e^{\sigma_s l_s} - (b-1)e^{-\sigma_s l_s}}{(g+1)(b+1)e^{\sigma_s l_s} - (g-1)(b-1)e^{-\sigma_s l_s}} \right] \quad (2.35)$$

$$\tau_s(-l_s) = \frac{\beta I_0 \eta}{2k_s \sigma_s} \left[\frac{2}{(g+1)(b+1)e^{\sigma_s l_s} - (g-1)(b-1)e^{-\sigma_s l_s}} \right] \quad (2.36)$$

Cabe hacer notar que, para materiales ópticamente opacos ($\beta l_s \gg 1$) y a frecuencias de modulación para las que la longitud de difusión térmica es mucho mayor que la longitud de penetración óptica ($r = \beta / \sigma_s \gg 1$) las expresiones (2.48) y (2.49), las cuales se obtuvieron mediante el uso del modelo de absorción volumétrica, se reducen a las expresiones (2.50) y (2.51), obtenidas usando el modelo de absorción superficial. Así, para mayor generalidad, de aquí en adelante se consideraran solo las expresiones (2.48) y (2.49), las cuales se obtuvieron a partir del modelo de absorción volumétrica.

El pistón acústico. Variación de la presión en la celda

El proceso de difusión origina una variación periódica en la temperatura del gas, la cual esta dada por la componente sinusoidal (ac) de la solución, ver Ecs. (2.32), (2.42) y (2.48):

$$\phi_{ac}(x,t) = \tau_s(0) e^{-\sigma_s x + j\omega t} \quad (2.37)$$

En esta ecuación notamos que a una distancia de $2\pi\mu_g$, en la que μ_g es la longitud de difusión térmica, la variación periódica en la temperatura en el gas se amortigua casi totalmente (a un 0.19% de su valor inicial). Por tanto, podemos considerar que una capa de gas, de espesor $2\pi\mu_g$, adyacente a la superficie de la muestra, responde térmicamente a las variaciones periódicas de la temperatura en la superficie de la muestra. En esta capa de gas, el promedio espacial de la temperatura es:

$$\bar{\phi}(t) \approx \frac{1}{2\sqrt{2\pi}} \tau_s(0) e^{j(\omega t - \pi/4)} \quad (2.38)$$

Esta capa de gas se expande y contrae periódicamente, por lo cual podemos considerar que actúa como un pistón acústico, que genera una señal que se propaga a través del resto de la columna de gas.

El desplazamiento de este pistón se puede estimar utilizando la ley de los gases ideales:

$$\delta x(t) = 2\pi\mu_g \frac{\bar{\phi}(t)}{T_0} = \frac{\tau_s(0)\mu_g}{\sqrt{2T_0}} e^{j(\alpha t - \pi/4)} \quad (2.39)$$

donde $T_0 = \Phi_0 + \Phi_E$, siendo Φ_0 la temperatura ambiente en las paredes de la celda y Φ_E el incremento en la temperatura debido a la componente estacionaria del calor absorbido. Además, se ha considerado la temperatura dc (la componente no sinusoidal) promedio de esta capa superficial de gas igual a la temperatura dc en la superficie del sólido.

El incremento en la presión en la celda puede determinarse si suponemos que el resto del gas responde adiabáticamente a la acción del pistón:

$$\delta P(t) = \frac{\gamma P_0}{V_0} \delta V = \frac{\gamma P_0}{l_g} \delta x(t) \quad (2.40)$$

donde P_0 y V_0 representan la presión ambiental y el volumen de la cámara, respectivamente, γ es el coeficiente de calores específicos y $-\delta V$ es el incremento en el volumen.

Utilizando la expresión (2.54) en la (2.55), se obtiene para el cambio en la presión en la celda

$$\delta P(t) = Q e^{j(\alpha t - \pi/4)} \quad (2.41)$$

donde

$$Q = \frac{\tau_s(0)\gamma P_0}{\sqrt{2T_0} l_g a_g} \quad (2.42)$$

La forma explícita de Q es:

$$Q = \frac{\beta I_0 \gamma P_0}{2\sqrt{2} k_s l_g a_g T_0 (\beta^2 - \sigma_s^2)} \left[\frac{(r-1)(b+1)e^{\sigma_s l_s} - (r+1)(b-1)e^{-\sigma_s l_s} + 2(b-r)e^{-\beta l_s}}{(g+1)(b+1)e^{\sigma_s l_s} - (g-1)(b-1)e^{-\sigma_s l_s}} \right] \quad (2.43)$$

Para frecuencias típicas, de 20 Hz en adelante, el espesor del pistón térmico toma los valores

$$2\pi\mu_g = \sqrt{\alpha_g / \pi f} \leq 0.35 \text{ cm}.$$

En esta situación, la longitud l_g de la capa de aire en la celda debe ser algunas veces mayor que el espesor de este pistón térmico. El dispositivo experimental desarrollado en base a este modelo se denomina celda FA convencional o celda cerrada.

Casos límite

La expresión total encontrada para $\delta P(t)$, Ec. (2.56), se presenta difícil de interpretar debido a la complicada expresión que tiene Q , Ec. (2.58). Por lo cual, se examinarán algunos casos especiales en los cuales Q se transforma en una expresión relativamente simple. Estos casos se agrupan de acuerdo a la opacidad óptica de los sólidos, determinada por la relación entre la longitud de absorción óptica $\mu_\beta = 1/\beta$ y el espesor l_s del sólido.

Para cada categoría de opacidad óptica, se consideran tres casos de acuerdo a la magnitud relativa de la longitud de difusión térmica μ_s respecto de l_s y μ_β . Además, para facilitar la escritura es conveniente definir

$$C = \gamma P_0 I_0 / 2\sqrt{2} l_g T_0 \quad (2.44)$$

Antes de entrar en materia, a continuación se presentan algunas definiciones a usar:

- Se denomina **longitud de absorción óptica μ_o** de una sustancia para la radiación de longitud de onda λ a la distancia desde la superficie de incidencia a la que la luz es absorbida en un 63.2 % de su valor inicial (la intensidad de la luz decae en 36.8 %).
 - Se dice que una muestra de espesor l_s es **ópticamente opaca**, para la radiación de longitud de onda λ , si su longitud de absorción óptica es pequeña comparada con su espesor ($l_s \gg \mu_o$), y es **ópticamente transparente**, si su longitud de absorción óptica es mayor que su espesor ($l_s < \mu_o$).
 - Una muestra es **térmicamente delgada** si su espesor l_s es mucho menor que su longitud de difusión térmica ($l_s \ll \mu_s$) y es **térmicamente gruesa** si su espesor es mucho mayor que su longitud de difusión térmica ($l_s \gg \mu_s$).
-
-

Caso 1. Sólidos Ópticamente transparentes ($\mu_\beta > l_s$)

En este caso la luz se absorbe a través del espesor de la muestra. Se tiene $e^{-\beta l_s} \approx 1 - \beta l_s$.

1.a. Sólidos Térmicamente Delgados ($\mu_s \gg l_s, \mu_s \gg \mu_\beta$)

En este caso $e^{\pm\sigma_s l_s} \approx 1$ y $|r| > 1$, por tanto la expresión (2.58) se reduce a la forma,

$$Q = \frac{l_s C}{2a_g a_b k_s} (\beta - 2a_s - j\beta) \approx C \frac{(1-j)\beta l_s}{2a_g} \frac{\mu_b}{k_b} \quad (2.45)$$

Ya que μ_b / a_g es proporcional a ω^{-1} , entonces la señal acústica presenta esta dependencia.

Las propiedades térmicas del soporte aparecen en la expresión para Q .

1.b. Sólidos Térmicamente delgado ($\mu_s > l_s, \mu_s < \mu_\beta$)

En este caso $e^{\pm\sigma_s l_s} \approx 1$ y $|r| > 1$, por tanto la expresión (2.58) se reduce a la forma,

$$Q = \frac{\beta l_s C}{4a_g a_b^3 k_s b} [\beta^2 + 2a_s^2 - j(\beta^2 - 2a_b^2)]$$
$$Q \approx C \frac{(1-j)\beta l_s}{2a_g} \frac{\mu_b}{k_b} \quad (2.46)$$

La señal fotoacústica es de nuevo proporcional a βl variando como ω^{-1} , y depende solo de las propiedades térmicas del material de soporte ecuación (2.61) es idéntica a la ec. (2.60).

1.c. Sólidos Térmicamente Gruesos ($\mu_s < l_s, \mu_s \ll \mu_\beta$)

Ahora, se tiene $e^{-\sigma_s l_s} \approx 0$ y $|r| \ll 1$, por tanto la expresión (2.58) se reduce a la forma,

$$Q = -j \frac{\beta \mu_s}{2a_g} \left(\frac{\mu_s}{k_s} \right) \quad (2.47)$$

Ya que $\mu_s < l_s$, en este caso las propiedades térmicas del material soporte son reemplazadas por aquellas del sólido. La luz que se absorbe dentro de la longitud de difusión térmica μ_s es la que contribuye a la señal, a pesar del hecho que la luz se absorbe a través de la

longitud l_s del sólido. Q depende de la frecuencia como $\omega^{-3/2}$.

Caso 2. Sólidos Ópticamente Opacos ($\mu_\beta \ll l_s$)

En estos casos, la mayor parte de la luz se absorbe a través de una longitud pequeña comparada con l_s . Se tiene $e^{-\beta l_s} \approx 0$.

2.a. Sólidos Térmicamente Delgados ($\mu_s \gg l_s, \mu_s \gg \mu_\beta$)

En este caso $e^{\pm\sigma_s l_s} \approx 1$ y $|r| \gg 1$, por tanto la expresión (2.58) se reduce a la forma,

$$Q \approx C \frac{(1-j)}{2a_g} \left(\frac{\mu_b}{k_b} \right) \quad (2.48)$$

Ahora tenemos “opacidad fotoacústica” al igual que opacidad óptica, en el sentido que la señal acústica es independiente μ_s y de β , respectivamente. La señal varía como ω^{-1} y depende de las propiedades térmicas del soporte.

2.b. Sólidos Térmicamente Gruesos ($\mu_s \ll l_s, \mu_s < \mu_\beta$)

En este caso $e^{-\beta l_s} \approx 0$, $e^{-\sigma_s l_s} \approx 0$ y $|r| > 1$, luego la expresión (2.58) se reduce a la forma,

$$Q = \frac{l_s C}{2a_g a_b k_s} (\beta - 2a_s - j\beta)$$
$$Q \approx C \frac{(1-j)}{2a_g} \left(\frac{\mu_b}{k_b} \right) \quad (2.49)$$

La ecuación (2.62) es análoga a la ecuación (2.63). pero los parámetros térmicos del material de soporte son reemplazados ahora por aquellos del sólido (muestra). De nuevo la señal acústica es independiente de β y varía como ω^{-1}

2.c. Sólidos Térmicamente Gruesos ($\mu_s \ll l_s, \mu_s < \mu_\beta$)

Ahora, se tiene $e^{-\sigma_s l_s} \approx 0$ y $|r| < 1$, por tanto la expresión (2.58) se reduce a la forma,

$$Q = -j \frac{\beta \mu_s}{2a_g} \left(\frac{\mu_s}{k_s} \right) C \quad (2.50)$$

En este caso, tratamos con un sólido muy opaco ($\beta l_s \gg 1$). Sin embargo, como $\mu_s < \mu_\beta$ este sólido no es “fotoacústicamente opaco”, ya que solo la luz absorbida dentro de la longitud de difusión térmica μ_s , contribuirá a la señal acústica. De esta manera, aun cuando el sólido es ópticamente opaco, la señal acústica será proporcional a $\beta \mu_s$. La señal depende de las propiedades térmicas del sólido y varía como $\omega^{-3/2}$.

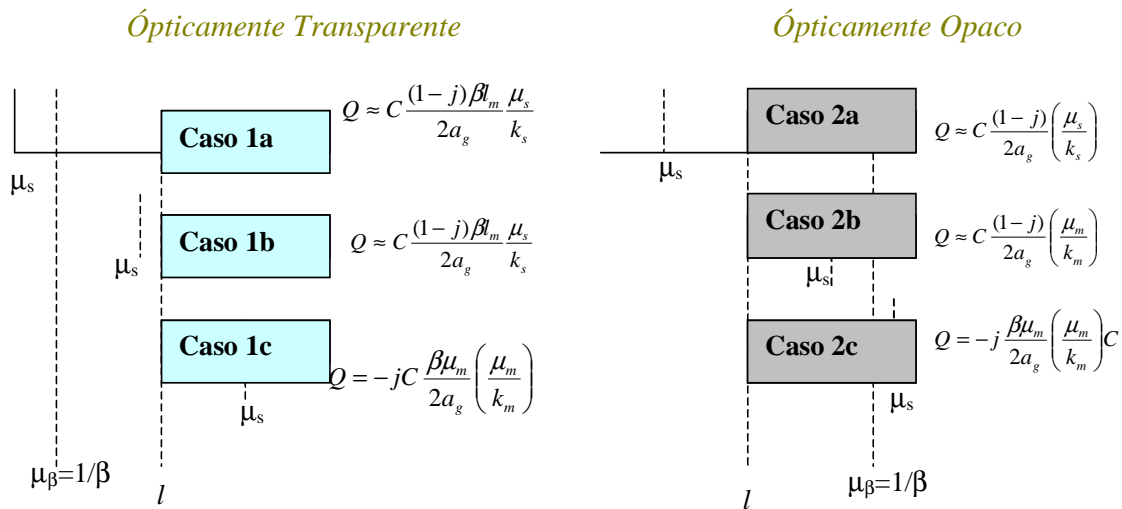


Figura 2.6, Representación de los casos límites discutidos en el modelo RG.

2.4 ONDAS TÉRMICAS

El concepto de onda térmica fue introducido alrededor de 1860 por Lord Kelvin y A. J. Angström [11] en la investigación de la difusión térmica en los cuerpos, sin embargo, fue más de 100 años después que se utilizó de nuevo este concepto [12,13]. En la actualidad, el formalismo de las ondas térmica es ampliamente usado para describir cualquier campo de temperatura en un régimen de calentamiento periódico.

En esta sección se presentan las propiedades fundamentales de las ondas térmicas y la

importancia de los parámetros que gobiernan su comportamiento. Además, se da una discusión acerca del retraso en la generación de calor en un sólido.

Teoría básica de las ondas térmicas

Las ondas térmicas se generan en un sólido, líquido o gas si se presentan fuentes de calor periódicas en el tiempo. La difusión de calor desde una fuente hacia la materia circundante produce una distribución de temperatura oscilatoria en el tiempo y el espacio. Una característica destacada de estas ondas de calor u ondas térmicas es la fuerte atenuación de su amplitud con la distancia desde la fuente de calor [14,15].

Generación y propagación de las ondas térmica

Consideremos un medio homogéneo isotópico semi-infinito cuya superficie es sujeta a un plano de calentamiento armónico, de la forma $(Q_0/2)[1+\cos(\omega t)]$, donde Q_0 es la intensidad de la fuente, ω es la frecuencia de modulación angular de la fuente de calor y t es el tiempo, Fig. 2.7. Si la superficie de calentamiento se toma para ocupar el plano y - z en $x=0$, la distribución de temperatura dentro del sólido puede ser obtenida resolviendo una ecuación unidimensional a la ecuación de difusión de calor en x y t [16]:

$$\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} - \frac{1}{\alpha} \frac{\partial T}{\partial t} = 0 \quad x < 0, t > 0. \quad (251)$$

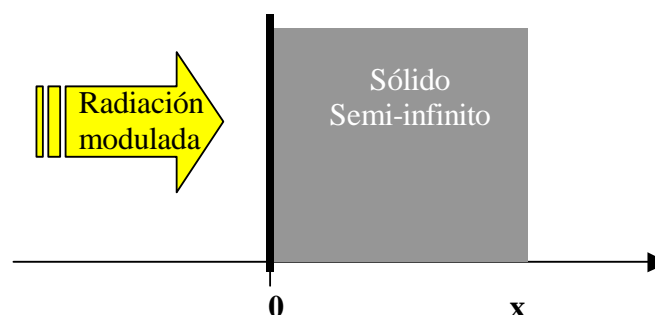


Figura 2.7. Un sólido homogéneo semi-infinito iluminado uniformemente con un flujo modulado de radiación en la superficie $x = 0$

Sujeto a las condiciones de frontera que la energía térmica periódica aplicada a la superficie es disipado por conducción en el sólido:

$$-k \frac{\partial T}{\partial x} = C + \cos(\omega t) = \text{Re} \left(\frac{Q_0}{2} [1 + e^{j\omega t}] \right) \quad x = 0, t > 0. \quad (2.52)$$

El calentamiento se divide en dos partes $Q_0/2$ y $(Q_0/2)e^{j\omega t}$, donde la primera representa la parte real y la segunda la parte imaginaria. La componente dc produce un aumento de temperatura y la ac ocasiona la modulación térmica respectivamente. Estamos interesados principalmente en la componente ac y omitiremos la componente dc en la solución siguiente. para resolver la ecuación (2.4) permitiendo asumir que la componente periódica tiene una solución de la forma.

$$T(x,t) = \text{Re}(T(x) e^{j\omega t}). \quad (2.53)$$

Omitiendo el símbolo Re, y sustituyendo en la ecuación anterior obtenemos.

$$e^{j\omega t} \left(\frac{d^2 T(x)}{dx^2} - \frac{j\omega}{\alpha} T(x) \right) = 0 \quad (2.54)$$

Despreciando el factor de tiempo de la exponencial, la solución general para la dependencia espacial de la temperatura puede escribirse en la forma.

$$T(x) = A e^{(-x\sigma)} + B e^{(x\sigma)} \quad \sigma = (1+j)\sqrt{\frac{\omega}{2\alpha}} \quad (2.55)$$

Donde A y B son constantes arbitrarias. Para evaluar estas constantes nosotros notamos que cuando x tiende a $+\infty$, $T(x)$ debe ser finito y por consiguiente la constante B es cero. La expresión para A esta evaluada aplicando la continuidad de flujo de las condiciones de la frontera a la superficie muestra, en $x = 0$.

$$\frac{Q_0}{2} = -k \frac{\partial T(x)}{\partial x} = (-k)(-\sigma) A e^{(-x\sigma)} \quad (2.56)$$

De aquí nosotros obtenemos que $A = Q_0 / 2K\sigma$, y la solución completa esta dada como [5]:

$$T(x,t) = \frac{Q_0}{2k\sigma} e^{(-\sigma x + j\omega t)} = \frac{Q_0}{2\sqrt{\rho c k \omega}} e^{-x\sqrt{\frac{\omega}{2\alpha}}} e^{j\left(\omega t - x\sqrt{\frac{\omega}{2\alpha}} - \frac{\pi}{4}\right)} \quad (2.57)$$

Esta es una expresión similar a la obtenida para la amplitud de la onda electromagnética en la superficie de la profundidad de las caras de un conductor eléctrico [17].

Propiedades fundamentales de las ondas térmicas.

Las principales características de la ecuación (2.10) son:

- i. Del número de onda $|k|_{ot} = \sqrt{\pi f / \alpha_s}$ pueden determinarse la **longitud de la onda térmica** y la **velocidad de propagación** de la temperatura máxima o mínima

$$\lambda_{ot} = 2\pi / |k|_{ot} = \sqrt{4\pi\alpha_s / f}$$

$$v_{ot} = \lambda_{ot} f = \sqrt{4\pi\alpha_s f} \quad (2.58)$$

- ii. De acuerdo a la ecuación (2.6), $I'(x=0, t) = (I_0 / 2) \cos(2\pi f t)$, por lo cual existe un retraso de fase entre el proceso de calentamiento periódico y la respuesta térmica dada por (2.8),

$$\Delta\varphi = \sqrt{\pi f / \alpha_s} x + \pi / 4 \quad (2.59)$$

la cual se incrementa con la distancia x .

- iii. La amplitud de la onda se amortigua fuertemente a una distancia

$$x = \mu = \sqrt{\alpha_s / \pi f} \quad (2.60)$$

esta decae a $1/e = 0.368$ de su valor inicial, y a la distancia de propagación de una longitud de onda esta amortiguada por un factor de $\exp(-2\pi) = 0.0019$, lo cual significa que la solución dada por la ecuación (2.10) para el sólido opaco semi-infinito puede aplicarse aún a muestras relativamente delgadas en tanto que su espesor sea comparable a la longitud de onda térmica.

-
-
- iv. Ya que la longitud de atenuación de la amplitud μ , llamada **longitud de difusión térmica**, y el cambio de fase varían con la frecuencia de modulación, f puede usarse para realizar inspecciones de profundidad bajo la superficie de muestras sólidas, por lo cual el amortiguamiento en la amplitud y el cambio de fase son las cantidades a medir. Sin embargo, la drástica disminución de la amplitud, ocasionada por el factor de amortiguamiento exponencial, presenta una limitación natural para profundidades de penetración grandes.
- v. La trayectoria que sigue cada punto de fase constante puede obtenerse de (2.10) manteniendo la fase sin cambio. En particular, para el caso en el que la fase es cero la trayectoria es la envolvente de la onda térmica y esta dada por

$$T'(x,t) = \pm \frac{\eta_s I_0}{2\sqrt{(k\rho c)_s}} \frac{1}{\sqrt{2\pi f}} e^{-\sqrt{\frac{\pi f}{\alpha_s}} x} \quad (2.61)$$

Importancia física de los parámetros que gobiernan el comportamiento de las ondas térmicas

Los parámetros ópticos η_s y β_s describen la intensidad y la localización de la fuente de calor, respectivamente. Si se consideran muestras opacas u ópticamente gruesas donde la inversa de la constante de absorción óptica β_s es mucho menor que el espesor de la muestra, y si se consideran solo procesos de desexcitación no radiativos, el parámetro η_s puede interpretarse como la eficiencia de la conversión fototérmica. En general, el valor, $0 < \eta(\lambda) \leq 1$, es desconocido para muchos materiales y superficies individuales. Siguiendo la definición, $\eta_s = 1-R$, la cantidad η_s puede determinarse de medidas de la reflectividad R , donde para superficies con reflexión difusa la distribución de la intensidad local de la radiación reflejada debe tomarse en cuenta. En algunos casos, para materiales que absorben poco como vidrios y para incidencia ortogonal sobre superficies suaves, la reflectividad puede predecirse teóricamente de la formula de Beer, obteniendo

$$R = \frac{(n-1)^2}{(n+1)^2}, \quad (2.62)$$

donde n es el índice de refracción.

2.5 MECANISMOS DE GENERACIÓN DE LA SEÑAL FOTOACÚSTICA

En los sólidos, los principales mecanismos de generación de la señal fotoacústica son: el de **difusión térmica**, el de **expansión térmica** y el de **flexión termoelástica**. Para muestras biológicas y algunos polvos puede ocurrir otro mecanismo que contribuye a la generación de la señal FA, el denominado **efecto fotobárico**. En los siguientes párrafos se describen cada uno de estos mecanismos.

- **Mecanismo de difusión térmico.** se basa en la suposición de que el calentamiento periódico de la superficie de la muestra da lugar a un flujo de calor en esta, que se difunde hacia una capa muy delgada del gas circundante, la cual actúa como un pistón vibratorio produciendo cambios en la presión del resto del gas y generando la señal acústica, Fig. 2.8

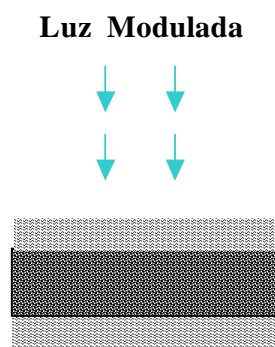


Figura 2.8 Difusión Térmica

-
-
- **Mecanismo de expansión térmico.** El calentamiento periódico de la muestra, originado por la absorción de la luz modulada incidente, origina una oscilación en su temperatura media. Como consecuencia, la muestra se expande y contrae periódicamente, de forma que su superficie en contacto con el aire se comporta como un pistón vibratorio, generando ondas acústicas en el gas (figura 2.9).

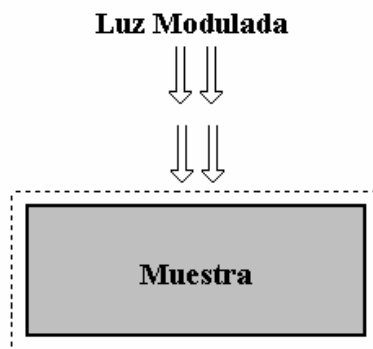


Figura 2.9 Expansión Térmica

Este mecanismo fue tratado por vez primera por McDonald y Wetsel en 1978 [4]. Estos autores proponen un modelo de pistón compuesto, el cual involucra la acción de dos pistones vibratorios: uno formado por la capa adyacente de gas, igual que en el modelo de difusión térmica, y el otro formado por la superficie de la muestra. Este constituye una extensión al modelo de difusión térmica de Rosencwaig y Gersho.

- **Mecanismo de flexión termoelástica.** Este se origina a causa de la generación de un gradiente de temperatura, en la dirección normal a la superficie de la muestra, el cual se presenta debido a la propagación de la onda térmica a través de la muestra. Debido a que la expansión térmica depende de la temperatura, este gradiente da lugar a la manifestación de una flexión termoelástica en la muestra (figura 2.10), denominada "efecto tambor". Estas flexiones son las que contribuyen a la señal FA generando ondas acústicas en el gas [20]. Este mecanismo se presenta principalmente en el caso de muestras sólidas en forma de lámina.
-
-

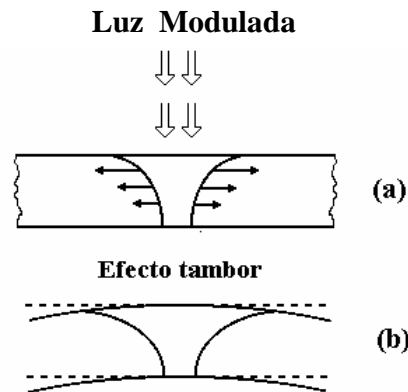


Figura 2.10 Flexión Termoelástica.

- **Efecto fotobárico.** Puede suceder que la muestra en estudio sea fotoquímicamente activa. Entonces en respuesta a la luz se puede presentar la liberación de algún gas desde la superficie de la muestra, lo cual originará cambios en la presión de la cámara FA. A esta contribución a la señal FA se le denomina “contribución fotobárica” y es la más importante en el estudio de la tasa fotosintética de plantas, por medio de las técnicas fotoacústicas, Fig. 2.11.

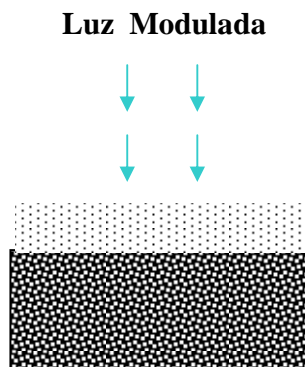


Figura 2.11 Efecto Fotobárico.

La manifestación de uno o más de los mecanismos de generación de la señal FA depende de diversos factores, entre los que podemos mencionar: el espesor de la muestra, sus propiedades térmicas, la frecuencia de modulación del haz y la geometría de la celda.

Capítulo

3

IMPLEMENTACIÓN DE LA TFA RESUELTA EN TIEMPO PARA MEDICIÓN DE LA TASA FOTOSINTÉTICA EN MUESTRAS

3.1 INTRODUCCIÓN

La fotosíntesis es un fenómeno muy complejo, cuyo estudio se ha favorecido con los últimos avances de la biología molecular y la física de léseres, la microscopía, la física molecular, la instrumentación óptica, etc. En particular, la aplicación de la espectroscopia fototérmica en el estudio de la fotosíntesis, ha demostrado gran utilidad en la investigación del efecto de factores externos e internos a la planta en su proceso fotosintético. El uso de la técnica fotoacústica, en su modalidad de celda fotoacústica abierta (CFA), permite la realización de estos estudios con plantas *in vivo* e *in situ*, lo cual representa un avance notable en este tipo de estudios.

3.2 DISEÑO Y FABRICACIÓN DE LA CELDA

Se ha llevado a cabo la fabricación de la celda fotoacústica para poder realizar las mediciones pertinentes, esto ya que no existía celda adecuada para poder llevar a cabo este tipo de mediciones, ya que, las celdas existentes, tienen la base en donde se coloca la muestra muy pequeña.

En la figura 3.1 se muestra un esquema de la celda fotoacústica, en la modalidad de celda fotoacústica abierta. La muestra se encuentra adherida con grasa de vacío en la parte inferior de la celda, de manera que una de las caras de la muestra esta en contacto con el aire en el interior de la celda y la otra da al exterior de la misma. Si se hace incidir radiación modulada en la cara trasera de la muestra, la energía absorbida por ésta genera una respuesta térmica que se transmite a través de la muestra y se difunde al interior de la cámara FA dando lugar a fluctuaciones de presión que son detectadas por el micrófono.

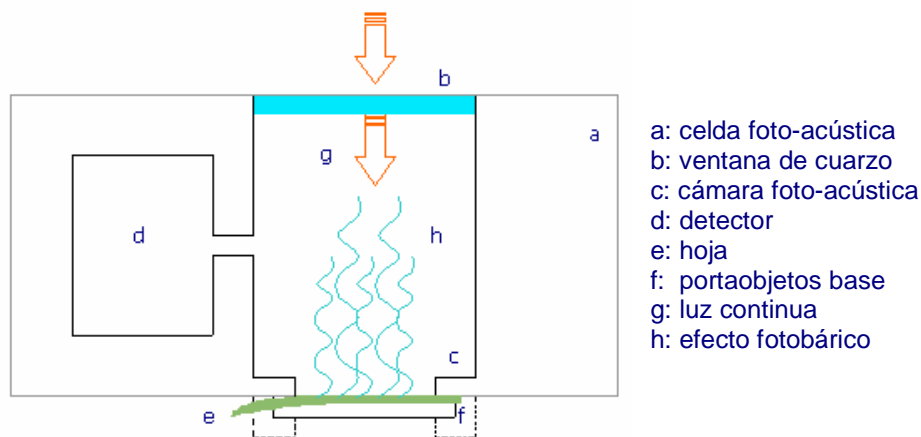


Figura 3.1. Esquema de la Celda Fotoacústica Abierta

3.3 ESQUEMA DE MEDICIÓN

En la figura 3.2 se muestra el montaje experimental de la TFA. El haz de luz de la lámpara de xenon atraviesa por el modulador mecánico (chopper), la señal de este, se encuentra en

referencia con el amplificador lock-in; posteriormente, este haz atraviesa por un monocromador, el cual selecciona la longitud de onda a la que deseemos trabajar; así, la luz guía incide sobre la CFA donde se encuentra la muestra; por otro lado, la luz continua incide directamente sobre la CFA; ambos haces de luz inciden simultáneamente sobre la muestra vía una fibra óptica bifurcada; el monocromador se encuentra en interface con el el computador; una vez obtenida la señal de la CFA, esta se dirige hacia el amplificador lock-in, el cual amplificará la señal y aislará esta de cualquier ruido externo; una vez realizado esto, la señal se dirige al computador adaptado previamente con un software adecuado, el cual nos permitirá obtener los gráficos adecuados de la señal correspondiente.

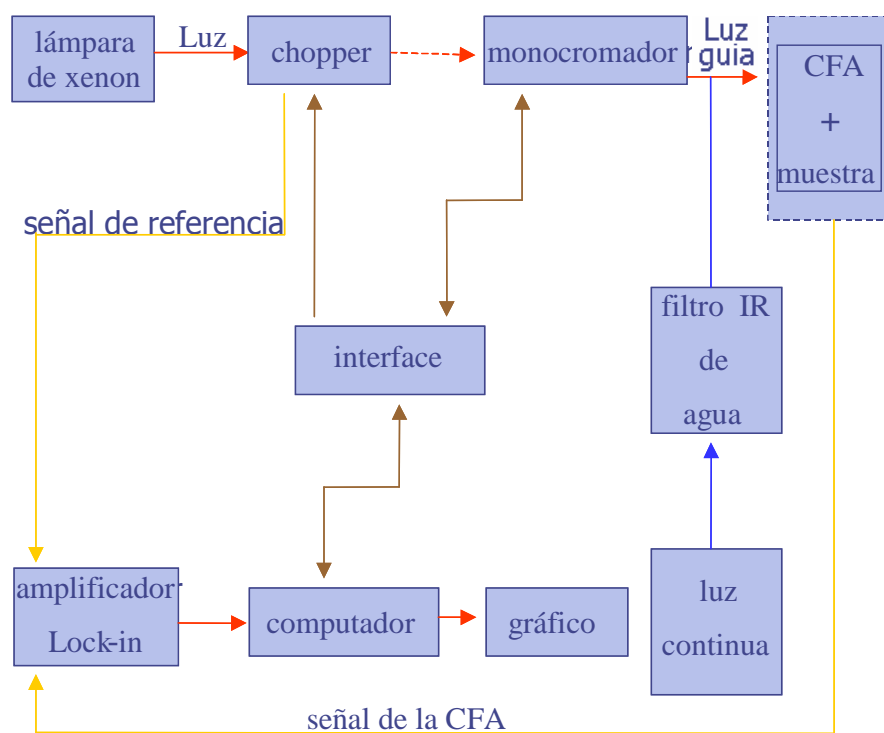
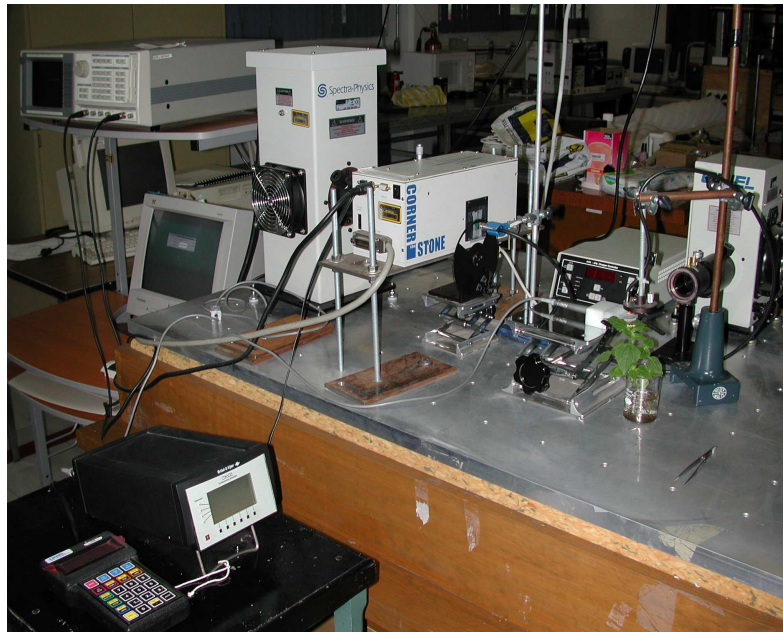


Figura 3.2. Esquema de medición de la TFA para monitoreo de la tasa fotosintética.



Fotografía 3.1. Montaje de la TFA para monitoreo de la tasa fotosintética

3.4 COMPONENTES DEL SISTEMA

Amplificador Lock-in

Los amplificadores Lock-in son utilizados para detectar y medir señales muy pequeñas de CA, muchas veces en el rango de nanovolts. Con este tipo de amplificadores se pueden lograr mediciones muy precisas aun cuando la señal se encuentre en presencia de fuentes de ruido externas de magnitudes aun mayores a la misma señal. Estos amplificadores usan una técnica conocida como detección sensible a la fase para separar la componente de la señal a una fase y frecuencia de referencia específicas. Las señales de ruido con frecuencias que difieren de la frecuencia de referencia son rechazadas. Un amplificador Lock-in tiene la capacidad, además, de generar señales de voltaje, por lo que en pocas palabras se le considera un convertidor analógico-digital-analógico. Esta característica es utilizada en nuestro sistema para controlar el modulador electromecánico a través de una de las cuatro salidas de voltaje con las que se cuenta.

Para esta investigación se utilizó un amplificador Lock-in SR850 de *Stanford Research Systems* cuyas especificaciones están en el anexo correspondiente.

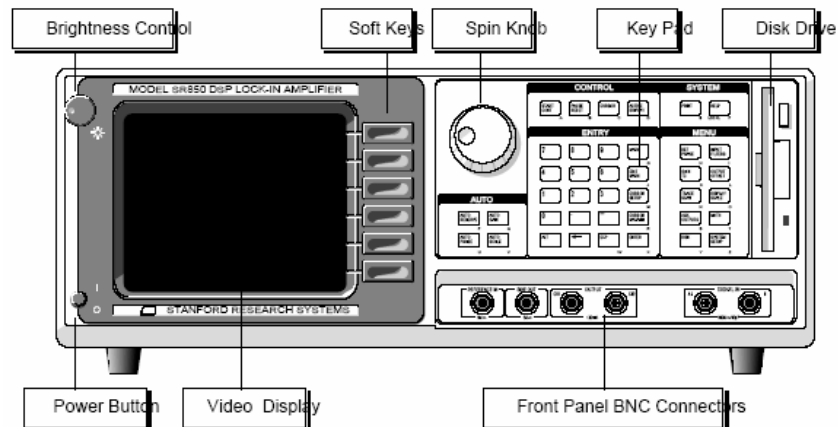


Figura 3.3. Panel frontal del Amplificador SR 850

Esencialmente, un amplificador lock in es un filtro con un ancho de banda arbitrariamente chico, que es sintonizado a la frecuencia de la señal. Este filtro rechazará la mayor parte del ruido no deseado y permitirá la medición de la señal. Además del filtrado, un lock-in provee una amplificación muy elevada.

Un parámetro a tener en cuenta en un amplificador es el ruido de entrada. Este suele especificarse como una cierta cantidad de nV/\sqrt{Hz} , y en un amplificador de muy bajo ruido esta cifra puede ser de $5 nV/\sqrt{Hz}$. Supongamos un ejemplo: se desea amplificar por 1000 una señal de 10 nV y 10 kHz. Lo primero que se nos ocurre pensar es fijar el ancho de banda en 100 kHz (una década por encima de la frecuencia de la señal a amplificar). Veamos que ocurre a la salida:

Señal de salida: $10nV \times 1000 = 10mV$

Ruido de salida: $5nV/\sqrt{Hz} \times \sqrt{100kHz} \times 1000 = 1.6mV$

Tenemos 158 veces más ruido que señal.

Podríamos intentar colocar un filtro pasabanda con un Q de 100 y cuya frecuencia central fuera de 10 kHz. El ancho de banda será entonces de $10\text{kHz}/100 = 100\text{Hz}$. Y en la salida del amplificador obtendremos:

Señal de salida = 10mV

Ruido de salida = $5\text{nV}/\sqrt{\text{Hz}} \times \sqrt{100} \times 1000 = 50\text{mV}$

Todavía el ruido es 5 veces mayor que la señal.

La solución es utilizar un amplificador que posea un detector sensible a la fase (PSD), que puede detectar la señal de 10kHz con un ancho de banda tan pequeño como 0,01Hz o aún menos.

En este caso la salida será:

Señal = 10mV

Ruido = $5\text{nV}/\sqrt{\text{Hz}} \times \sqrt{0.01\text{Hz}} \times 1000 = 0,5\text{mV}$

Ahora el ruido es 20 veces menor que la señal.

Fuente Luminosa

El láser utilizado como fuente de luz es un láser de *helio-neón* cuya potencia es de *** watts con una longitud de onda de **633** nm. Esta luz monocromática es mecánicamente modulada haciéndola pasar a través de las ranuras con las que cuenta el disco giratorio del chopper y uniformemente enfocada sobre la muestra.

La potencia del láser depende de las muestras a caracterizar. Para las muestras que se estudiaron en este proceso la potencia del láser es la adecuada.

Modulador mecánico

EL modulador electromecánico o chopper es utilizado para modular la luz láser y se controla por medio de una de las salidas de voltaje del lock-in. Este modulador consta de un

disco rasurado con 6 aspas a través del cual se hace pasar la luz láser incidente sobre la muestra. Al variar el voltaje de alimentación del modulador se cambia la frecuencia de giro del disco ranurado y se pueden obtener diversos valores para la señal producida en las muestras.



Fotografía 3.2 Modulador mecánico mod. 340CD de Scitec Instruments Ltd.

Tarjeta de adquisición de datos

El original bus de interfase de propósitos generales (*GPIB por sus siglas en ingles*), fue desarrollado al final de los años 60 por Hewlett-Packard (llamado HP-IB) para conectar y controlar los instrumentos programables que Hewlett-Packard fabricaba. Con la introducción de controladores digitales y de equipo de prueba programable, la necesidad se presentó para un interfaz estándar, de alta velocidad de comunicación entre los instrumentos y controladores de varias firmas. En 1975, el Instituto de Ingeniería Eléctrica y Electrónica (*IEEE*) desarrolló la ANSI/IEEE 488-1975 estándar, una interfaz estándar digital para la instrumentación programable, que contenía las especificaciones eléctricas, mecánicas, y funcionales de un sistema de interconexión. La original IEEE 488-1975 fue revisada en 1978, sobre todo para la clarificación editorial y la adiciones. Este bus ahora se utiliza por todo el mundo y es conocido con tres nombres:

- General Purpose Interface Bus (GPIB)
 - Hewlett-Packard Interface Bus (HP-IB)
-
-

- IEEE 488 Bus

Debido a que el documento original de IEEE 488 no contuvo ninguna pauta para las convenciones de una sintaxis y formatos generales, se continuó trabajando en la especificación realzando la compatibilidad y la flexibilidad de configuración del sistema entre sistemas de la prueba. Este trabajo dio lugar a un estándar suplementario, la IEEE 488.2, con códigos, formatos, protocolos, y comandos comunes, para el uso con la IEEE 488 (que fue retitulado IEEE 488.1). La IEEE 488.2 no sustituye a la IEEE 488.1. Muchos dispositivos todavía se conforman solamente con la IEEE 488.1. IEEE 488.2 fue desarrollada sobre la IEEE 488.1 definiendo un sistema mínimo de capacidades del interfaz de dispositivo, un sistema común de códigos y de formatos de los datos, un protocolo del mensaje del dispositivo, un sistema genérico de comandos comúnmente necesarios y un nuevo estado que reporta el modelo.

En 1990, la especificación de IEEE 488.2 incluyó los Comandos Estándares para la Instrumentación Programable (*SCPI*). *SCPI* define los comandos específicos que cada clase del instrumento (que incluye generalmente los instrumentos de varias marcas) debe obedecer. Así, *SCPI* garantiza compatibilidad y la flexibilidad de configuración completas del sistema entre estos instrumentos. No requiere de un largo aprendizaje el diverso sistema de comandos para cada instrumento en un sistema de *SCPI*-compliant, y es fácil sustituir un instrumento de una marca por un instrumento de otra.

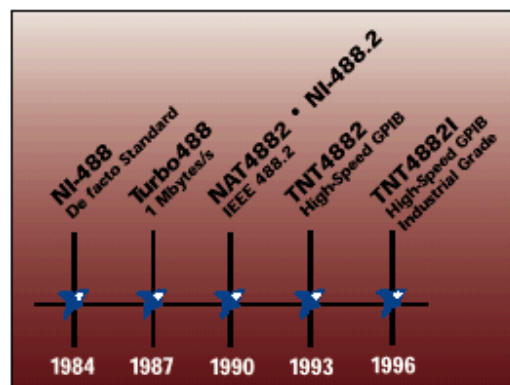


Figura 3.4. Innovaciones GPIB de National Instruments

Ahora, las GPIB se encuentran en casi todos los instrumentos de más de \$1000 usd. Los instrumentos del bajo costo utilizan los interfaces RS232. Mientras que el índice de transferencia había sido de 1 Mbyte, más que suficiente en los últimos 25 años, las computadoras de hoy y algunos instrumentos alcanzan el límite del sistema del bus. No obstante, para cerca de 98% de los usos, la velocidad no es una preocupación. El 2% restante pudieran beneficiarse de velocidades más altas de transferencia.



Fotografía 3.3. Instrumentos de control GPIB de Nacional Instruments

Programa de Control

LabVIEW es un ambiente de desarrollo gráfico con funciones integradas para realizar adquisición de datos, control de instrumentos, análisis de mediciones y presentaciones de datos. LabVIEW da la flexibilidad de un poderoso ambiente de programación sin la complejidad de los ambientes tradicionales. A diferencia de los lenguajes de propósito general, LabVIEW provee funcionalidad específica para que se pueda acelerar el desarrollo de aplicaciones de medición, control y automatización.

LabVIEW entrega herramientas poderosas para crear aplicaciones sin líneas de texto de código. Se jalen y colocan objetos ya contruidos para rápidamente crear interfases de usuario. Después se especifica la funcionalidad del sistema armando diagramas de bloques. LabVIEW se puede conectar de manera transparente con virtualmente todo tipo de

hardware incluyendo instrumentos de escritorio, tarjetas insertables, controladores de movimiento y controladores lógicos programables (PLCs).

LabVIEW está altamente integrado con el hardware de medida, con lo que se puede configurar y usar rápidamente cualquier dispositivo de medida que se tenga. LabVIEW puede conectarse a miles de instrumentos de medida para construir sistemas de medida completos, incluyendo desde cualquier tipo de instrumento autónomo hasta dispositivos de adquisición de datos, controladores de movimiento y sistemas de adquisición de imagen. Además LabVIEW trabaja con más de 1000 librerías de instrumentos de cientos de fabricantes, y muchos fabricantes de dispositivos de medida incluyen también herramientas de LabVIEW con sus productos.

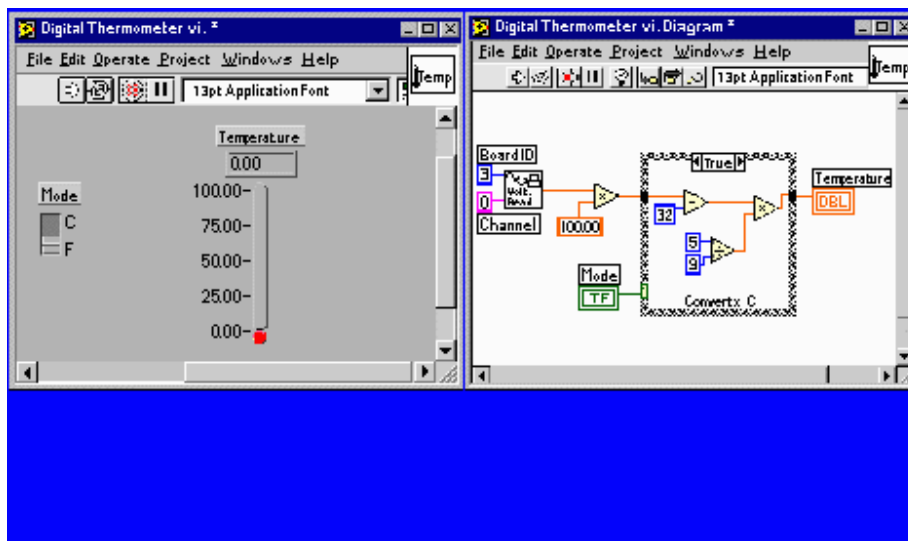


Figura 3.5. Diagrama de termómetro digital hecho en LabVIEW

Detector

Para detectar los cambios de las señales acústicas producidas por el material, al variar la frecuencia de operación del modulador electromecánico o chopper, se utiliza un micrófono de electroreto como transductor el cual se encuentra adherido a la celda herméticamente

cerrada. La salida del micrófono se conecta a una de las entradas del amplificador Lock-in para el registro de las señales.

Este micrófono detector de ondas de presión no responde en forma homogénea, específicamente a bajas frecuencias (1 Hz a 30 Hz) y la sensibilidad del micrófono es independiente de la frecuencia.

Este micrófono consta de un diafragma de electreto metalizado típicamente de 12 mm FEP, con un electrodo metálico depositado sobre el electreto con un espesor que varía de 50 a 100 nm. Además, posee un soporte de metal que se encuentra separado del diafragma por una capa de aire de 45 μm de espesor. El electrodo y el soporte son conectados a través de una resistencia R.



Fotografía 3.4. Micrófono de electreto.

3.5 AUTOMATIZACIÓN DEL SISTEMA

Para llevar a cabo la automatización del sistema, fue necesario elaborar un programa a través de instrumentos virtuales para trabajos de investigación mediante la Técnica Fotoacústica y emplea el lenguaje de programación LabVIEW que usa íconos en lugar de líneas de texto para crear aplicaciones.

El sistema inicia detectando la correcta comunicación entre la tarjeta GPIB y el software LabVIEW así como el encendido del sistema. Igualmente detecta la comunicación con el amplificador lock-in configurando el sistema para recibir datos externos.

Se definen el intervalo de lectura (3seg.) y el rango de frecuencia (64hz); se realiza un ajuste matemático (intervalo de lectura x 1000) + 500 = 350 y rango de frecuencia x

intervalo de lectura = 192. El primer módulo (initalize.vi) envía el intervalo de lectura a la función de ajuste donde se ingresarán los datos de lectura. El otro dato, rango de frecuencia, se envía al modulo de lectura de datos (read_trace.vi) esperando los resultados de la función de ajuste.

El módulo Trace scan.vi configura el tipo de datos a capturar así como el intervalo de lectura y rango de frecuencia. El tipo de datos seleccionado identifica algún error o advertencia (I32) y se determinan tres de cuatro datos posibles configurados de la siguiente manera: Trace 1: 300, Trace 2: 400, Trace 3: 1200, Scan Mode: false.

Una vez configurado el modo de captura de datos, el módulo Config_input.vi determina el canal por el cual el amp. Lock-in enviará los datos, en este caso será por el canal A.

El módulo Config.signal_conditioning.vi determina el valor de la sensibilidad (20mV/nA), la Cte. de tiempo (1 seg.) y la ganancia (off).

Hasta este momento la captura de datos del sistema no ha dado inicio, todo se ha concentrado en la configuración del sistema.

Ya configurado el sistema el módulo de la función de ajuste determina el número de datos a capturar combinando este con los datos obtenidos.

A partir de este momento el sistema manda instrucciones al chopper para que gire a la frecuencia indicada y así cortar el haz de luz incidente en la muestra para calentarla de manera intermitente.

Debido a la conversión de energía luminosa en calor dentro de la muestra y a la subsecuente difusión de calor y conversión en fluctuaciones de la celda, el micrófono detectará las variaciones de presión y la transformará en una señal eléctrica que es enviada al amplificador lock-in y registrada en amplitud y fase.

El amplificador lock-in enviará a través del Canal A los datos registrados por el micrófono filtrando el ruido de la señal enviada.

El módulo se detiene automáticamente al concluir con los datos capturados. Mientras, a la misma función de ajuste se le determina el número de aspas del chopper. Este dato se combina con el intervalo de tiempo de captura de datos correspondiente. Dentro de este módulo hay una subrutina Run_stop.vi (start/continue) que es la que da el tiempo de espera para la captura de datos y es regida por el intervalo de tiempo definido.

Terminada la captura de un dato, se envía a las subrutinas Read_trace.vi junto al rango de frecuencia el valor de la captura. Hay tres módulos read_trace.vi (Trace 1, Trace 2, Trace 3). Uno de estos tres módulos controla los datos que grafican la amplitud vs frecuencia ; otro módulo grafica la fase vs frecuencia y el tercer módulo controla el almacenamiento de datos en un archivo. Este proceso se realiza dato por dato.

Al concluir el proceso y no haberse detectado ningún error en el transcurso de la captura de datos el módulo Close.vi cierra el sistema.

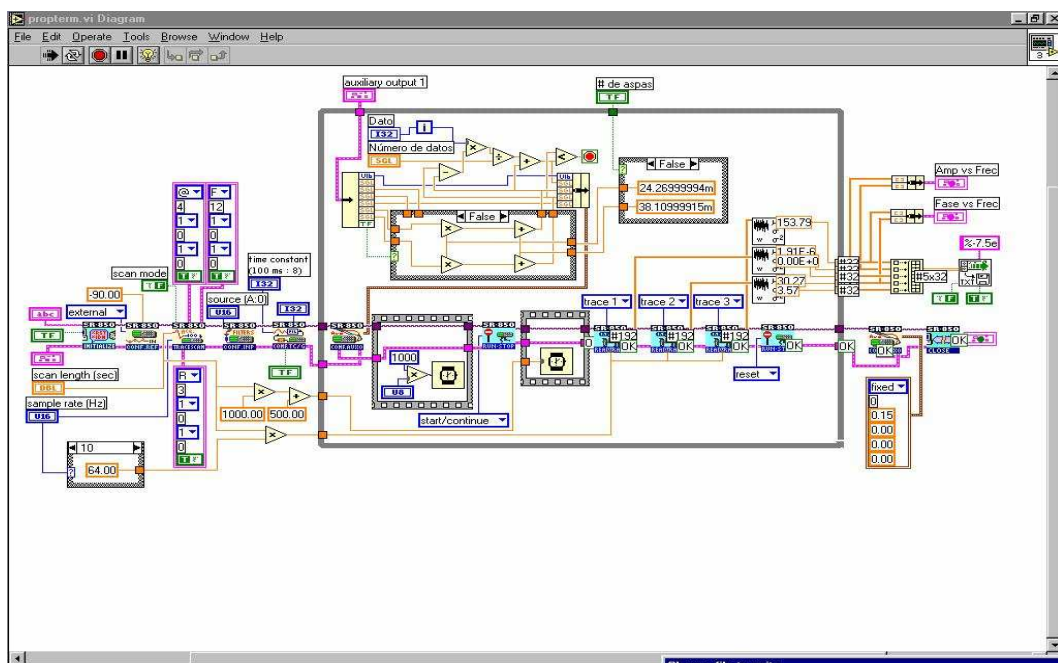


Figura 3.6. Diagrama a bloques del sistema de control y captura.

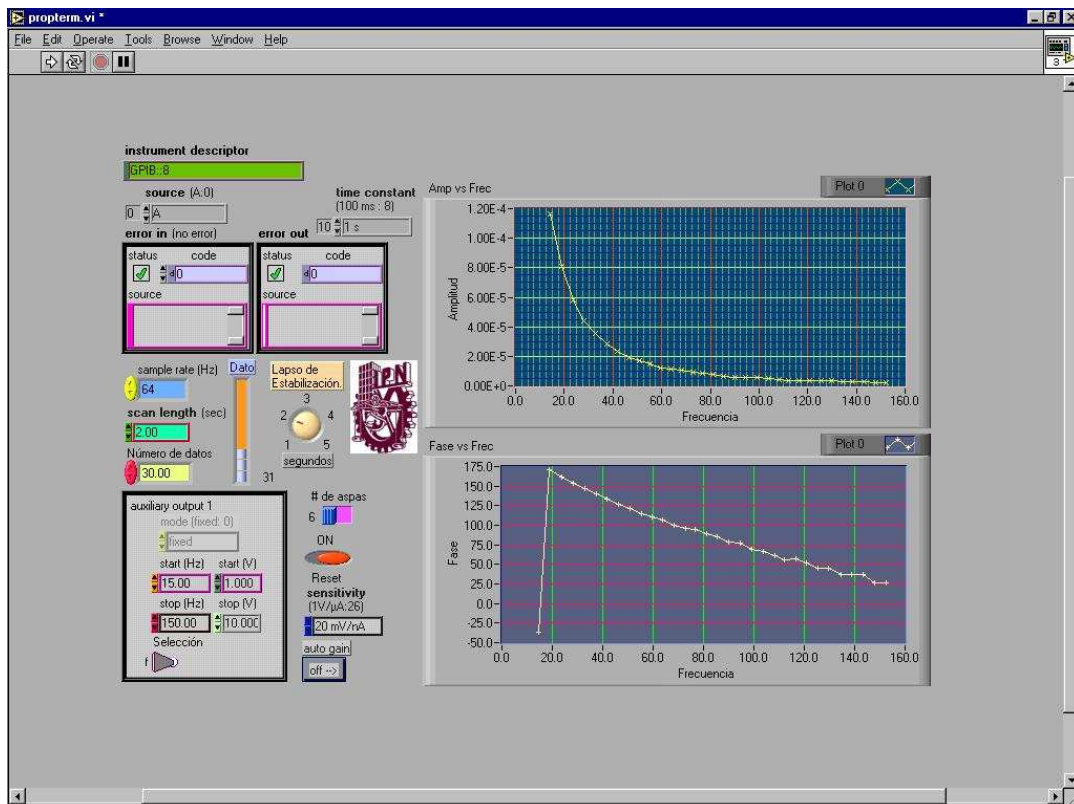


Figura 3.7. Pantalla de controles virtuales y graficación del programa de control y captura..

3.6 CONFIGURACIÓN DEL SISTEMA

Celda Fotoacústica

El sistema requiere de una celda fotoacústica para colocar la muestra sólida a estudiar. Esta se desarrolla a partir del primer modelo que elabora el Prof. Alejandro Graham Bell en 1881, cuando, en sus intentos por desarrollar el fonógrafo, utilizaba un receptor parabólico de grandes dimensiones al que hacía incidir el rayo de luz reflejante. En el foco de este receptor colocaba las muestras a estudiar.

Ahora, en la espectroscopia fotoacústica de sólidos, la muestra se coloca dentro de una pequeña celda cerrada que contiene aire y un micrófono sensible. La señal acústica surge del flujo de calor periódico desde el sólido al gas circundante dentro de la celda, cuando el

sólido es calentado cíclicamente por la absorción de la luz modulada. Procesos de desexcitación no radiativa convierten parte de la luz absorbida por el sólido en calor. El flujo periódico de calor hacia el gas de la celda produce fluctuaciones de presión en ésta, originando así un sonido.

Rosencwaig y Gersho (1976) desarrollaron el modelo actual de las celdas utilizadas. Considerando una celda cilíndrica, cuyo diámetro es D y la longitud es L , si L es pequeña comparada con la longitud de onda de la señal acústica, entonces, el micrófono detectará la presión promedio producida por en la celda.

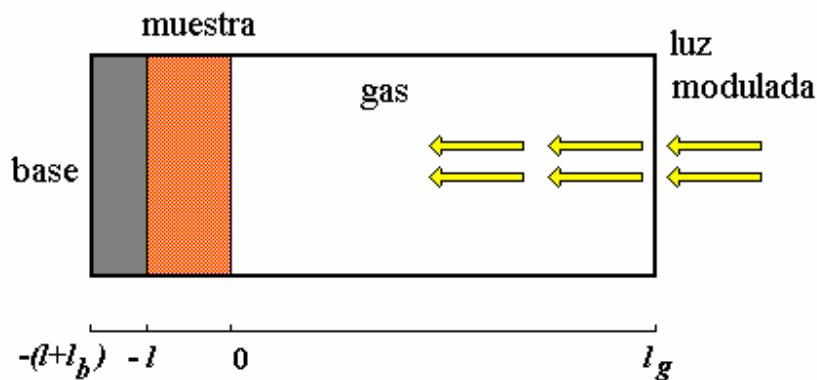


Figura 3.8. Sección transversal de la celda fotoacústica cerrada convencional

La Técnica de la Celda Fotoacústica Abierta (CFA)

Esta es una configuración de detección en celda abierta en el sentido que la muestra se coloca sobre el sistema de detección mismo, como en el caso las detecciones piezoeléctricas y piroeléctricas [14]. En esta celda la cámara fotoacústica es la misma cavidad de un micrófono comercial de electro. De esta manera se logra una celda de volumen mínimo, en la cual se evita la utilización de un medio transductor extra, lo que conduce a una mejor relación señal-ruido. Esta fue introducida inicialmente en los trabajos de Perondi, Silva y Leite en 1987 [15-17] y se ha utilizado en la medición de las

propiedades térmicas de semiconductores, polímeros y sistemas de dos capas, entre otras cosas [18-22].

En la Fig. 3.9 se muestra un esquema de la celda abierta. En esta, la muestra se coloca en la parte superior de la celda y la luz modulada incide sobre su superficie externa (denominada superficie trasera). El radio interno de la celda es de 3.5 mm y su espesor de 1 mm. La abertura donde se coloca la muestra tiene un radio aproximado de 1.5 mm.

La variación de la presión en la cámara, producida por la absorción de la luz en la muestra y, su conversión en calor que se difunde hacia el gas en la cámara, da lugar a una flexión en el diafragma de electreto, la cual origina un voltaje V a través del resistor R . Este voltaje después alimenta a un pre-amplificador FET (field effect transistor) ya incluido en el micrófono.

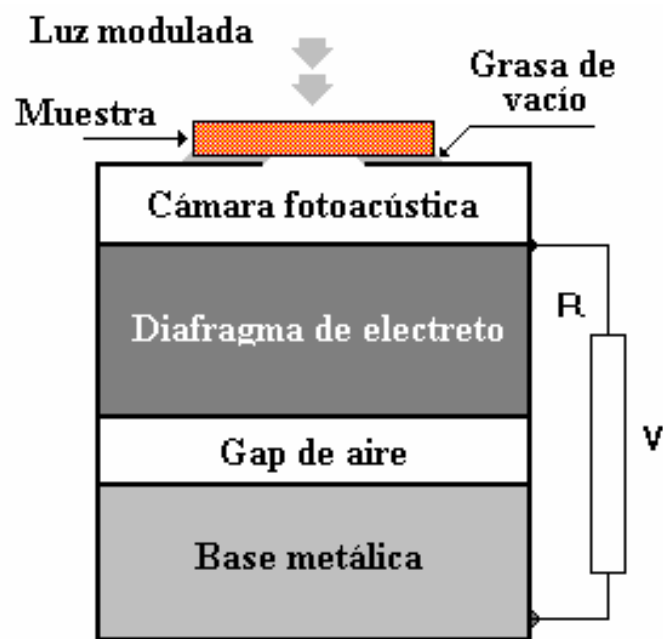
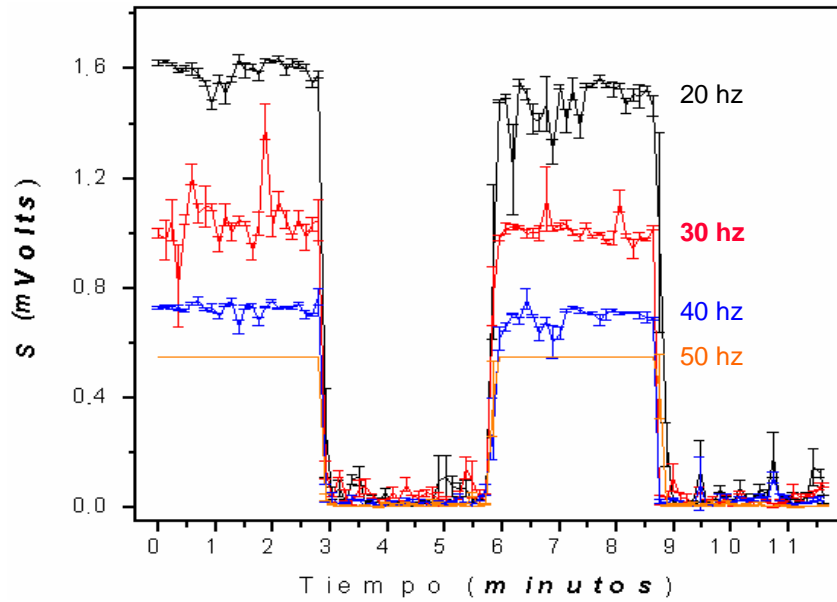


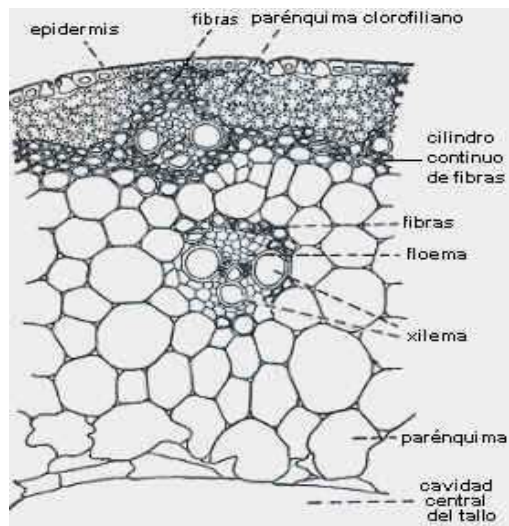
Fig. 3.9. Esquema de la celda fotoacústica abierta

3.7 MEDICIONES DE PRUEBA

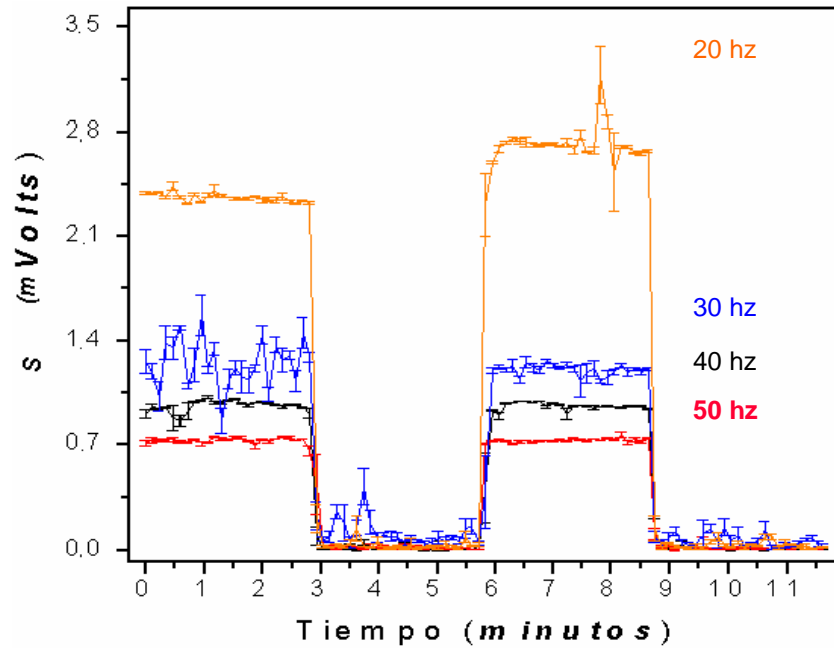


Grafica 1. Intensidad vs Tiempo. Incidiendo el haz de luz en la parte inferior de la hoja con una frecuencia constante

Corte transversal de la hoja.

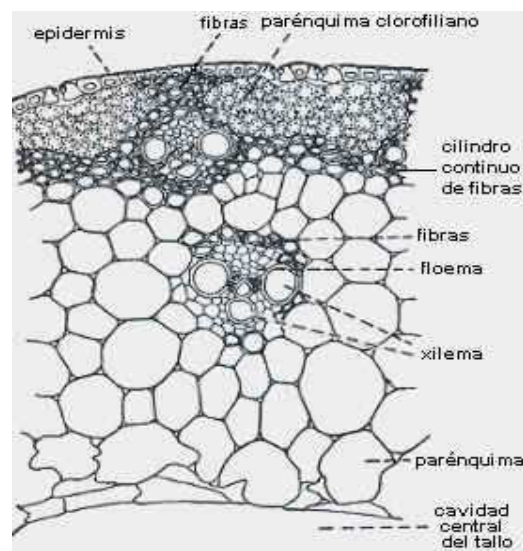


Incidencia del haz de luz



Grafica 2. Intensidad vs Tiempo. Incidiendo el haz de luz en la parte superior de la hoja con una frecuencia constante

Incidencia del haz de luz



Corte transversal de la hoja.

3.8 CONCLUSIONES

Nuestros resultados muestran la conveniencia de la técnica fotoacústica para el monitoreo de la fotosíntesis en lirio acuático, esto en virtud a las características in vivo, in situ, no destructiva y de alta sensibilidad de dicha técnica.

Observamos un incremento de la generación de oxígeno con la frecuencia de modulación debido a la disminución en la energía luminosa por pulso. Asimismo, ocurre un incremento en la emisión de oxígeno en la parte superior de la hoja, que es donde se encuentran los pigmentos fotosintéticos.

De las gráficas obtenidas, también podemos concluir que a menor frecuencia la intensidad de la señal fotoacústica aumenta, como se observa en las gráficas 1 y 2 donde las frecuencias que se manejaron fueron de 20Hz., 30Hz., 40Hz. y 50Hz., tanto para la parte superior de la hoja como para la parte inferior

Capítulo

4

MEDICIÓN DE LA EVOLUCIÓN DE O₂ Y ALMACENAMIENTO DE ENERGÍA EN LIRIO ACUÁTICO *EICHHORNIA CRASSIPES*

4.1 INTRODUCCIÓN

La fotosíntesis es un fenómeno muy complejo, cuyo estudio se ha favorecido con los últimos avances de la biología molecular y la física de láseres, la microscopía, la física molecular, la instrumentación óptica, etc. En particular, la aplicación de la espectroscopía fototérmica en el estudio de la fotosíntesis, ha demostrado gran utilidad en la investigación del efecto de factores externos e internos a la planta en su proceso fotosintético.

El uso de la técnica fotoacústica, en su modalidad de celda fotoacústica abierta (CFA), permite la realización de estos estudios con plantas *in vivo* e *in situ*, lo cual representa un avance notable en este tipo de estudios.

El lirio acuático es una planta flotante, la que por la belleza de su flor se ha diseminado a casi todas las áreas tropicales y sub-tropicales del mundo. Su rápida reproducción, así como la ausencia de enemigos naturales en los nuevos lugares de su introducción, además de su excelente capacidad de adaptación a casi cualquier cuerpo de agua, han provocado la rápida diseminación de la planta, convirtiéndose así en una maleza.

El problema más serio es el de la adopción de medidas de control (ya sea físico o mecánico, químico y biológico) que sean técnicamente efectivas, económicamente viables y que resulten ambientalmente compatibles.

Es por estas razones que surge la necesidad de incorporar al estudio de estas medidas de control nuevas tecnologías, siendo en este caso, la técnica fotoacústica, que por sus propiedades no invasivas, destructivas ni degenerativas, además de que se basen en muy sólidos principios y que la mayoría de sus esquemas experimentales no sean en extremo complejos, sea idónea para aplicarla a esta problemática.

4.2 EL LIRIO ACUÁTICO

EICHHORNIA CRASSIPES

Caracterización

A nivel mundial el jacinto de agua, *Eichhornia crassipes* (Martius) Solms-Laubach, (Fotos 4.1, 4.2.) causa problemas más serios y amplios que ninguna otra maleza acuática flotante. Esto es el resultado de su alta intensidad de crecimiento y reproducción, alta habilidad competitiva con relación a otras plantas acuáticas flotantes, el movimiento de las plantas por el viento y las corrientes de agua, y, debido a sus flores atractivas, propagadas por el hombre. Es una planta acuática de libre flotación con rosetas de hojas soportadas por pecíolos que pueden ser cortos y abultados o largos y delgados, de hasta 50 o aún 100 cm de longitud. Se propaga rápidamente mediante estolones que se desarrollan a partir de la

base de la roseta. Los estolones crecen hasta 30 cm de longitud antes de desarrollar una roseta hija. La intensidad de la propagación por este medio puede resultar en la duplicación del área infestada cada 6 a 15 días. Los tallos florecedores, a partir del centro de la roseta, producen una inflorescencia vistosa de flores azules/violetas, las cuales se convierten en cápsulas frutales cada una conteniendo hasta 400 semillas pequeñas. Se ha investigado ampliamente y aunque se conoce mucho acerca de su biología, control y potencial de utilización (ver Gopal y Sharma 1981; Gopal 1987 por reseñas), aún existen fallas significativas en nuestro conocimiento sobre esta planta.

Distribución / importancia

El centro de origen del jacinto de agua parece ser la Amazonia, Brasil, con propagación natural a otras áreas del continente sud-americano (Barrett y Forno, 1982). En sus áreas nativas en los neo-trópicos la *E. crassipes* se ha convertido ocasionalmente en una maleza en las presas o cuerpos de agua naturales donde el régimen hidrológico se ha alterado por las actividades del hombre y/o el nivel de nutrientes en el agua se ha incrementado. El jacinto de agua se ha introducido por el hombre en muchos países en los trópicos y subtropicos donde se ha propagado hasta convertirse en una maleza acuática extremadamente grave desde los 40°N hasta los 45°S (Holm *et al.* 1977). Se han desarrollado infestaciones extensas en el sur de los EE.UU. (especialmente en Lousiana y la Florida), en México, Panamá y muchas regiones de África (especialmente los sistemas de los ríos Nilo y Congo), el sub-continente Indio, el sudeste Asiático, Indonesia y Australia (Sculthorpe, 1971; Holm *et al.* 1977; Pieterse 1978; Gopal y Sharma 1981).

El jacinto de agua se reproduce vegetativamente mediante estolones, los cuales junto a las plantas aisladas, así como mantos a la deriva se distribuyen fácilmente por las corrientes de agua, el viento, los botes y las balsas. Sin embargo, en la mayor parte de sus áreas la planta también produce grandes cantidades de semilla de larga longevidad, y la persistencia y diseminación por este medio puede ser muy significativa (Sculthorpe, 1971). El

crecimiento está grandemente influido por los niveles de nutrientes en el agua, especialmente, los niveles de nitrógeno, fósforo y potasio (Reddy *et al.* 1989, 1990, 1991). El incremento de estos elementos a menudo es causado porque una parte de los fertilizantes aplicados a las áreas agrícolas y de pastos alcanzan los cuerpos de agua a través de la escorrentía o de los drenajes agrícolas y a través de los efluentes urbanos e industriales.



Foto 4.1. Eichhornia crassipes



Foto 4.2. Infestación extensa de Eichhornia crassipes

Aún dentro de las áreas nativas del jacinto de agua los cambios en el régimen hidrológico debidos, por ejemplo, a la construcción de presas y a incrementos en los niveles de nutrientes, han producido un crecimiento excesivo (Donselaar 1968; Harley 1992). El jacinto de agua no tolera agua salobre (Holm *et al.* 1977) y la salinidad puede limitar o modificar su distribución. El jacinto de agua que se acumula en las lagunas costeras de África Occidental durante el período de lluvias se reduce en aquellas áreas que se convierten en salinas durante el período seco. Se conoce que el jacinto de agua se ha extendido en su propagación desde 43 países en 1884 hasta 59 en 1980 y hasta otros tres países después de 1980. En dos de los últimos (Benin y Nigeria) y en un grupo de otros países las regiones más norteñas (tropicales) del África sub-Sahariana la propagación del jacinto de agua se ha incrementado grandemente durante los últimos 5-8 años. Esta situación es casi seguro el resultado de un incremento de la población humana que le ocasiona mayores afectaciones al medio ambiente. El medio ambiente ha sufrido a través de la eutroficación o pérdida de oxígeno del agua fresca debido a la descarga de efluentes de áreas urbanas e industriales, al incremento de la agricultura, la deforestación y la degradación general de las cuencas de agua. La velocidad actual de propagación del jacinto de agua en África parece ser mayor que en otros lugares y está afectando seriamente el manejo de los recursos hídricos, la ecología, la conservación de la biodiversidad y el bienestar de las comunidades humanas riverenas.

Composición química del agua

El crecimiento del jacinto de agua es favorecido por el agua rica en nutrientes, en especial por el nitrógeno, el fósforo y el potasio. La habilidad del jacinto de agua para absorber los nutrientes y otros elementos ha sido ampliamente investigado. Además de estos elementos, toma calcio, magnesio, azufre, hierro, manganeso, el aluminio, el boro, cobre, molibdeno y zinc. La habilidad del jacinto de agua de extraer los nutrientes y los metales pesados puede ser explotada para tratar los efluentes de alcantarillados pasándolos a través de canales que contienen la planta. Para un tratamiento exitoso las plantas se tienen que mantener en crecimiento activo mediante la eliminación del exceso de plantas. Sin embargo el jacinto de

agua nunca deberá introducirse en una región donde él no exista. El riesgo de crear un serio problema de maleza es muy grande. Con frecuencia las plantas acuáticas nativas se pueden usar eficientemente en el tratamiento de efluentes.

El contenido de oxígeno del agua es menor debajo del manto del jacinto de agua y puede reducirse hasta cero. Los efectos sobre los peces y otros animales acuáticos es catastrófico.

Evapotranspiración

La investigación ha mostrado que en todo el mundo las pérdidas de agua por evapotranspiración a través de una cubierta de jacinto de agua siempre es mayor que a partir de una superficie de agua descubierta. Sin embargo, las pérdidas por evapotranspiración varían grandemente debido a la temperatura, la humedad relativa, la velocidad del viento y las características de la infestación del jacinto de agua. Hamdoun y Tigani (1977) estimaron que se perdían cada año 7 mil millones de m³, o una décima parte del flujo promedio del Nilo, a través de la evapotranspiración del jacinto de agua. La magnitud de las pérdidas debidas a la evapotranspiración pueden poner en peligro la viabilidad de los esquemas de suministro de agua, especialmente, en los períodos de sequía.

Sedimentación, inundación y navegación

Los mantos de jacinto de agua pueden hacerse muy extensos y cubrir ríos, represas, canales, drenes y otras áreas húmedas. La reducción del flujo de agua causa aumentos de la sedimentación. Esto reduce la profundidad del agua y ocasionalmente torna cuerpos de agua abiertos en pantanos poco profundos. En los canales de irrigación y zanjas de drenaje el flujo del agua se reduce muy por debajo de los niveles diseñados, impidiendo así la entrega del agua de riego y el drenaje de los campos. Durante períodos de alta precipitación se producen inundaciones y se dañan los canales. Las represas también se obstaculizan y se sedimentan; se reduce su capacidad y vida útil, se afecta la pesca y la caza. Adicionalmente, las plantas arrastradas hacia las entradas de estaciones generadoras

hidroeléctricas y obras cabeceras de irrigación pueden causar daños costosos y conducir al cierre por reparación de dichas instalaciones.

Cuando los ríos se infestan intensamente se dificulta la navegación hasta hacerse imposible. Los muelles o atracaderos de los ríos pueden quedar bloqueados y dañarse. Un ejemplo extremo es el del Río Nilo en Sudán. El jacinto de agua infestó el río y sus tributarios desde Juba, en el sur, hasta la Presa Jebel Aulia, cerca de Jartúm, una distancia de 1700 km. La longitud total infestada del río excede los 3000 km, incluyendo los tributarios (Irving y Beshir 1982; Philipp *et al.* 1983; Beshir y Bennett 1985). Desde 1963 el Ministerio de Agricultura de Sudán ha estado tratando de controlar la infestación de la maleza para mantener abierto el acceso acuático para el tráfico por barco, mediante la aplicación de herbicidas con una flota de 42 botes y 3 naves aéreas, con base en 3 puntos o estaciones a lo largo del río (Beshir y Bennett 1985). El costo anual de la operación de control químico fue de alrededor de un millón de libras sudanesas. Adicionalmente, las pérdidas de tiempo por reparaciones y mantenimiento complementario a las embarcaciones debido a la incidencia del jacinto de agua costó anualmente alrededor de 500, 000 libras sudanesas (Hamdoun y Tigani 1977). A pesar de esta asignación masiva de recursos, no se logró el control requerido.

El jacinto de agua puede aumentar sustancialmente el nivel de las aguas de inundación con los consiguientes daños. Las plantas bloquean los canales naturales de drenaje y los construidos por el hombre, se acumulan con la corriente superior y represan con eficacia el agua. Como el drenaje normal queda obstaculizado, el agua puede inundar y erosionar los campos, entrar en edificios y poblados, dañar y provocar arrastres en carreteras y puentes.

Estilo de vida, salud y educación

En muchos países el estilo de vida de las comunidades humanas rivereñas está dictado por las características del cuerpo de agua. Con frecuencia el único medio de transporte es el bote y el cuerpo de agua es la única fuente de agua de beber, cocer y lavar, aparte que los

componentes de la dieta se extraen también del mismo. Una fuerte infestación de jacinto de agua impide la navegación en canoas y aún en grandes botes motorizados. Esto impide ocasionalmente la asistencia de los niños a la escuela, visitas por atención médica, visitas a los mercados, etc. Además, los vectores de malaria, schistosomiasis, filariasis, encefalitis y otras enfermedades humanas y animales suelen aumentar, lo que causa un deterioro de la salud humana y pérdidas de animales domésticos. Se ha afirmado que el organismo causal del cólera se concentra alrededor de las raíces del jacinto de agua.

Pesca y alimentos

Las fuentes de alimentos frecuentemente sólo son accesibles a través del agua y muchas comunidades dependen en gran medida de los peces como fuente de alimento y como artículo de comercio. Por lo tanto, cuando un cuerpo de agua adyacente a una aldea o poblado está cubierto de jacinto de agua, la comunidad puede sufrir hambre, más aún, la reducción de los niveles de oxígeno debajo de un manto de jacinto de agua causa una alta mortalidad a las poblaciones de peces. Por ejemplo, en Nigeria, 500 km² de lagunas costeras están infestadas con el jacinto de agua, 24, 000 pescadores están seriamente afectados y esta cifra puede elevarse hasta 2 millones (T A Farri comunicación personal). En Benin se ha estimado que las capturas de peces se han reducido en 50% o más (R van Thielen comunicación personal).

Fitoplancton

El fitoplancton requiere luz para su crecimiento. Por lo tanto, la sombra proyectada por el jacinto de agua puede inhibir el crecimiento del fitoplancton, lo cual, a su vez, reduce la densidad poblacional de zooplancton y se afecta la cadena alimenticia. Sin embargo, estos efectos de la sombra están dados por la intensidad luminosa, la duración del día, la turbidez, las velocidades del flujo y el nivel de nutrientes del agua.

Flora

El jacinto de agua interactúa con la vegetación nativa y puede reducir significativamente la densidad poblacional de especies individuales a través de la sombra que proyecta y la competencia por los recursos esenciales. Las plantas sumergidas y aquellas de menor altura que el jacinto de agua son las más amenazadas, ya que están expuestas a recibir insuficiente luz para su fotosíntesis. La competencia prolongada por una población densa de jacinto de agua puede reducir la biodiversidad floral del cuerpo de agua.

Fauna

Una población densa de jacinto de agua afecta la fauna acuática directamente, a través de la reducción del contenido de oxígeno del agua, e indirectamente, a través de la reducción del fitoplancton y zooplancton, de las plantas alimenticias y de los lugares adecuados de reproducción. Los efectos sobre la flora y la fauna no han recibido el estudio que merecen. Sin embargo, existen muchos registros de muertes de peces a consecuencia de la reducción de los niveles de oxígeno. Aunque ciertas especies podrían favorecerse, en general, la infestación del jacinto de agua en un cuerpo de agua debe provocar una reducción de la biodiversidad.

Usos

La enorme biomasa del jacinto de agua ha estimulado muchas pruebas para su utilización, pero esta tiene aplicación limitada en la fabricación de papel de pobre calidad, en la generación de biogás, para el tratamiento de efluentes y para producción de alguna artesanía. No existe duda alguna de que los efectos dañinos del jacinto de agua sobrepasan sus beneficios. Aún una utilización máxima sólo eliminará una pequeña cantidad de la maleza y no contribuirá a una reducción sustancial de sus efectos dañinos. El mundo no puede tolerar el costo ambiental de no tratar el jacinto de agua como un problema extraordinariamente serio, el cual debe ser detenido y efectivamente controlado (Gopal y Sharma 1981). Se puede evitar cualquier conflicto de intereses entre los defensores de la utilización y los del control ilimitado mediante la aplicación de un esquema de manejo de

la maleza que permita la utilización en pequeña escala y el control paralelo de las infestaciones más problemáticas (Wright y Center 1984).

MÉTODOS DE CONTROL

▪ *Herbidas*

Sólo en pocas ocasiones se ha intentado el control mediante herbidas de infestaciones grandes de jacinto de agua que crecen bajo condiciones favorables (Scott *et al.* no fechado) y aún cuando se han invertido enormes recursos, como en Sudan, este tratamiento ha tenido poco efecto. Sin embargo, este método ha sido exitoso para el control de infestaciones pequeñas, de fácil acceso por tierra o mediante botes (Smith *et al.* 1984; Jamieson *et al.* 1977; C. Julian comunicación personal) y para erradicar infestaciones menores en regiones que son climáticamente desfavorables para el crecimiento de esta planta. Los herbidas más comúnmente usados han sido 2, 4-D, aminotriazole y glifosato, siendo el primero el más extensamente usado, además de ser relativamente barato.

El control mediante herbidas requiere de un alto insumo de mano de obra y equipos mecánicos, por lo que puede resultar costoso. La inspección sistemática unida al tratamiento deben realizarse indefinidamente para evitar la regeneración de la infestación a partir de plantas y semillas dispersas. Este compromiso a largo plazo es con frecuencia difícil de mantener y constituye un costo continuado.

Existe también un costo ambiental en el uso de herbidas. Los residuos de éstos en el agua y en los sedimentos pueden afectar el ambiente acuático y aniquilar los peces directamente o mediante la reducción de los niveles de oxígeno disuelto, como consecuencia de la descomposición de las malezas. Si los residuos son excesivos, el agua será inadecuada para consumo humano o para irrigación (Anon. 1985). El ser humano cobra más conciencia de los efectos de la contaminación sobre el ambiente, sobre si mismo y sobre sus animales

domésticos. Muchas comunidades no toleran más la contaminación de su medio por plaguicidas.

▪ ***Extracción física, drenaje***

La extracción física tiene limitaciones obvias en su magnitud, además de seguramente tendrán lugar reinfestaciones a partir de fragmentos de plantas y semillas. Sin embargo, este método es ambientalmente "seguro" y útil para reducir pequeñas infestaciones y para el mantenimiento de canales. Si la extracción física es el único método de control usado, entonces la demanda de recursos será interminable. La extracción física puede ser por vía manual, por dragado o mediante una máquina cosechadora especialmente diseñada.

El drenaje permanente para secar un estanque o lago controla el jacinto de agua (Smith *et al.* 1984). Sin embargo, las semillas de la maleza poseen una larga longevidad (Matthews *et al.* 1977), por lo que si el área acumula de nuevo agua, las semillas podrán germinar y se producirá una reinfestación. El drenaje permanente puede ser un método efectivo de control en situaciones apropiadas donde la pérdida del agua no producirá inconvenientes a los poblados adyacentes de dejar sin agua a los animales domésticos, destruir una fuente local de alimentos (por ej. peces) o provocar otros efectos ambientales adversos.

▪ ***Control Biológico***

La investigación sobre el control biológico del jacinto de agua comenzó en 1961 y los primeros agentes de control fueron liberados en EE.UU. alrededor de 10 años después (Perkins 1972, 1973). Actualmente se utilizan uno o más agentes de control en por lo menos 22 países (Julien 1992; Limon 1984). Como consecuencia, las infestaciones por jacinto de agua se han reducido en algunos países, sin poder llegar aún a erradicarlo por completo, mientras que en otros no se registran avances positivos al respecto.

Seis artrópodos y 3 hongos han contribuido al control biológico del jacinto de agua (Harley y Wright 1984; Julien 1992), pero las especies que han resultado más exitosas son dos

picudos (gorgojos): *Neochettina bruchi* Hustache y *N. eichhorniae* Warner, y una polilla *Sameodes albiguttalis* (Warren). Sin embargo, no se ha logrado un control óptimo en todas las situaciones, por lo que se evalúan otros agentes.

La situación actual es que:

- Se han descubierto agentes de control biológico en las áreas nativas del jacinto de agua
- La investigación ha demostrado que estos agentes no pueden sobrevivir y reproducirse sobre ninguna otra planta, excepto sobre jacinto de agua
- Estos agentes han logrado disminuir el área de infestación de esta maleza en varios países
- Se prevé que la investigación en curso mejore el nivel general de control

Esto significa que ya se disponen de agentes de control cabalmente investigados y comprobados. Estos agentes han sido extensamente utilizados y la experiencia muestra que se pueden introducir en nuevas regiones, sin riesgos para el cultivo o el ambiente. Los costos de la introducción en las nuevas regiones son relativamente bajos, pero los proyectos tienen que ser dirigidos por científicos experimentados en el control biológico del jacinto de agua. Sin una dirección experta es probable que los proyectos fracasen y los escasos recursos se pierdan. El momento es excelente para un exitoso control biológico del jacinto de agua en la mayoría de las situaciones donde la planta resulte ser una maleza exótica (Harley y Forno 1989).

Los hongos *Acremonium zonatum* (Sawada) Gams y *Cercospora piaropi* Tharp (estrechamente relacionado con *C. rodmanii* Conway que se ha usado como agente de control en algunas situaciones en EE.UU.) parecen haberse diseminado por todo el mundo con el jacinto de agua y estos no deben ser normalmente introducidos como agentes de control biológico. Los síntomas generalmente son más evidentes en las hojas más viejas.

Estos hongos por si solos no son especialmente dañinos, pero frecuentemente sus efectos se incrementan, sobre todo cuando las plantas están sometidas a stress por el ataque de insectos. El daño por el ácaro, *Orthogalumna terebrantis*, generalmente es más evidente sobre las hojas más viejas y este artrópodo es de dudoso valor como agente de control.

Manejo de las cuencas de agua y control integrado

La proliferación del jacinto de agua en su hábitat exótico está determinado principalmente por dos factores: el suministro de nutrientes y la ausencia de enemigos naturales de la maleza. Las estrategias de control serán completamente efectivas siempre que el manejo de las cuencas de agua como el control directo de la maleza sean bien dirigidos.

El manejo de las cuencas de agua puede tener efectos sobre los niveles de nutrientes de los ríos, lagos y otros cuerpos de agua, lo cual ya ha sido mencionado. Las cuencas de agua deben manejarse para controlar el jacinto de agua y otras malezas acuáticas flotantes, lo cual podrá ofrecer un nivel de vida aceptable y sostenible para la población que vive aledaña a la cuenca de agua, y para también conservar la ecología y la biodiversidad de la región (ver Howard-Williams y Thompson 1985; y Mitchell 1985 para una mayor discusión).

El efecto de control que los enemigos naturales desarrollan sobre el jacinto de agua en su hábitat nativo, se restablece en el hábitat exótico a través del control biológico. La introducción agresiva del control biológico será el aspecto principal de una estrategia de control integrada, única vía que brindará un efecto económicamente sostenible, sin efectos colaterales adversos sobre la ecología, biodiversidad y también sobre la salud humana. Tal estrategia también incluirá la reducción del arrojado de nutrientes en el agua a través del manejo de la cuenca de agua y el uso de medidas de control a corto plazo, tales como el uso de los herbicidas, la extracción física y el drenaje en situaciones críticas. Se deben adoptar estrategias perfectamente formuladas como política de gobierno.

Conciencia pública, supervisión.

Se debe establecer una campaña pública de concientización y educación sobre los problemas causados por el jacinto de agua. Esta campaña debe enfatizar la importancia de no cultivar ni propagar el jacinto de agua, de no contaminar el agua y de informar las nuevas apariciones de la maleza acuática a las autoridades competentes.

En los programas escolares se debe incluir información sobre estos problemas y otros temas asociados. La campaña debe estar dirigida a todos los sectores de la comunidad. La responsabilidad para evaluar la propagación del jacinto de agua y establecer su control debe ser conferida a una agencia del gobierno central con autoridad y fondos para actuar.

4.3 FOTOSÍNTESIS Y MECANISMOS

La fotosíntesis que de momento podemos definir como el empleo de la energía de la luz solar por las células de las plantas para efectuar la biosíntesis de los componentes celulares, es un proceso metabólico fundamental para todos los organismos vivos. La energía solar constituye no solamente la fuente energética inmediata para las plantas verdes y otros autótrofos fotosintéticos, sino también, en último término, la fuente energética para casi todos los organismos heterótrofos, mediante la actuación de las cadenas alimenticias de la biosfera. Además, la energía solar capturada por el proceso de la fotosíntesis es la fuente de cerca del 90% de toda la energía empleada por el hombre para satisfacer las demandas de calor, de luz y de potencia, ya que el carbón, el petróleo y el gas natural, que son los combustibles utilizados para la mayor parte de las máquinas fabricadas por el hombre, son los productos de descomposición del material biológico generado hace millones de años por los organismos fotosintéticos.

Si bien cabe hacer mención a una definición más profunda acerca del proceso de fotosíntesis, esto, para tratar de entender y tener más en claro lo que estaremos hablando en esta sección del presente capítulo, ésta sería la siguiente: Proceso por el cual las plantas

verdes superiores absorben fotones provenientes de la radiación solar; posteriormente, los electrones de las moléculas excitadas de clorofila son transportados a través de una cadena de aceptores redox que convierten la energía electromagnética en energía química: ATP y NADPH+H⁺, la cual a su vez, funcionará como fuentes de energía para fabricar glúcidos y otros componentes orgánicos a partir de CO₂ y H₂O; de forma simultánea se desprende O₂ a la atmósfera.

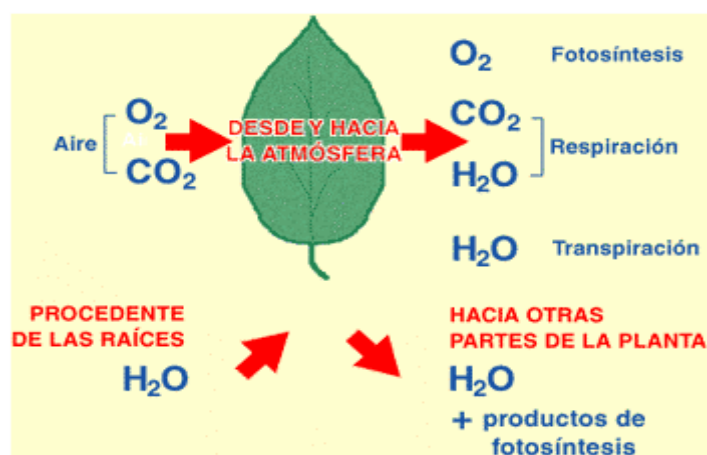


Figura 4.1. Esquema general de la fotosíntesis.

Resulta útil y conveniente considerar que la fotosíntesis se produce en dos fases principales. La naturaleza bioquímica de estas dos fases resulta ilustrada con mayor simplicidad por la fotosíntesis en las plantas superiores, que se representa habitualmente por la ecuación:



La hoja como máquina fotosintética

La mayor parte de la actividad fotosintética de las plantas superiores se realiza en las hojas verdes, que están particularmente adaptadas para realizar eficazmente este proceso. El limbo foliar consta, en general de 3 tipos de tejido: cutícula, una capa protectora de células epidérmicas (epidermis superior e inferior) y bajo la epidermis se encuentra el mesófilo fotosintético (parénquima clorofílico).

En esta red de conductos aéreos constituye el camino por el que llega a las células fotosintetizantes el CO_2 y por el que el O_2 liberado en la fotosíntesis es devuelto a la atmósfera exterior. El tejido vascular de los nervios es el camino que utilizan los productos de la fotosíntesis para abandonar la hoja y trasladarse a los órganos no fotosintetizadores del vegetal.

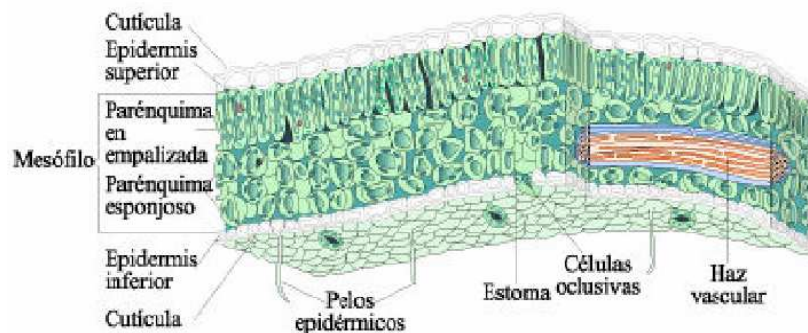


Figura 4.2. Estructura de la hoja en corte transversal

El cloroplasto:

La energía luminosa empleada en la transformación fotosintética del CO_2 es absorbida por la clorofila, pigmento verde característico de las plantas, que se encuentra en su totalidad localizado en los cloroplastos. Si existiera una definición, o bien, si se pudiera definir a un cloroplasto, esta sería la mejor opción: Maquinaria Fotosintética ó Laboratorio de Síntesis Orgánica; organelo celular estructurado en base a doble membrana.

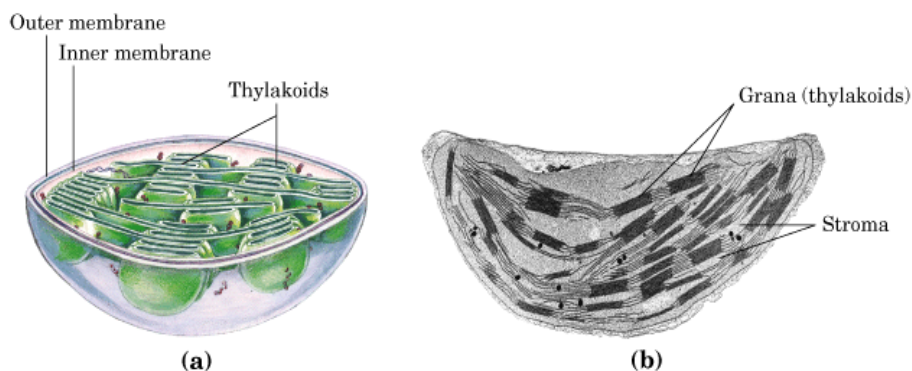


Figura 4.3. Cloroplasto. (a) Diagrama esquemático. (b) Micrografía electrónica de un cloroplasto a alta ampliación mostrando las grana, pilas de membranas tilacoides.

- **Estructura**

Externa → Permeable a pequeñas moléculas e iones, protección y control de tráfico.

Interna → Encierra el compartimiento interno que contiene muchas vesículas o sacos aplanados y rodeados de membrana llamados *tilacoides*, que están normalmente ordenados en pilas llamadas *granás*. Se lleva a cabo la captación de fotones y transporte de electrones.

Tilacoide → Se lleva a cabo la fotólisis del agua y la formación de un gradiente de H^+ . Aquí es donde tiene lugar la *Fase Fotoquímica*.

Estroma → Se lleva a cabo la síntesis de moléculas orgánicas. Tiene lugar la *Fase Bioquímica*.

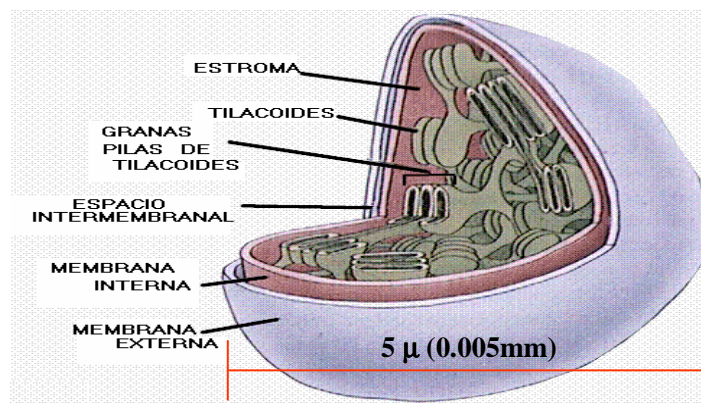


Figura 4.4. Cloroplasto. Diagrama esquemático.

Los pigmentos fotosintéticos y los complejos enzimáticos necesarios para las reacciones luminosas y la síntesis de ATP están incrustados en las membranas de los tilacoides (comúnmente llamadas lamelas). El estroma (fase acuosa encerrada por la membrana interna) contiene la mayoría de las enzimas requeridas para las reacciones de fijación de carbono.

La fotosíntesis en plantas abarca dos procesos:

- Reacciones dependientes de la luz o reacciones luminosas. *Fase Fotoquímica*.
 - Reacciones de asimilación de carbono o fijación de carbono. *Fase Bioquímica*.
-
-

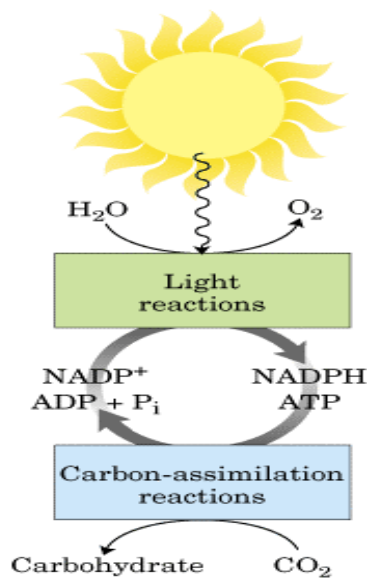
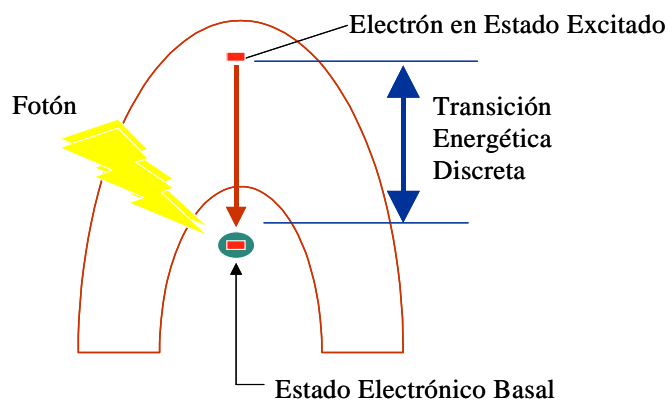


Figura 4.5 Procesos que abarca la fotosíntesis

Absorción de la luz

Una molécula que ha absorbido un fotón se encuentra en un estado excitado que, en general, es inestable. Los electrones elevados a orbitales de energía superior normalmente vuelven rápidamente a sus orbitales normales de menor energía; la molécula excitada vuelve al estado basal estable; liberando el cuanto absorbido en forma de luz o calor o utilizándolo para realizar trabajo químico.



Las clorofilas absorben energía luminosa para la fotosíntesis

Los pigmentos más importantes que absorben luz en las membranas de los tilacoides son las clorofilas, pigmentos verdes con estructuras policíclicas planas en que la posición central está ocupada por Mg^{2+} . Los cloroplastos de plantas superiores contienen tanto clorofila *a* como clorofila *b*. Aunque las dos son verdes, sus espectros de absorción son suficientemente diferentes como para permitir que los dos pigmentos complementen sus gamas de absorción de la luz en la región visible. La mayoría de plantas contienen el doble de clorofila *a* que de clorofila *b*.

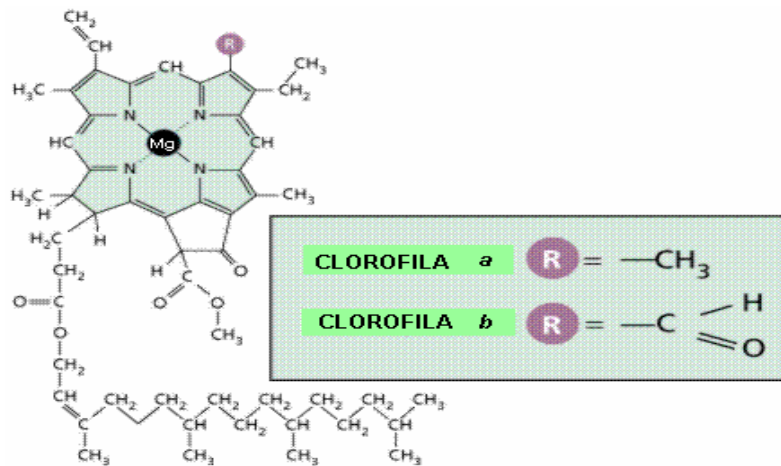


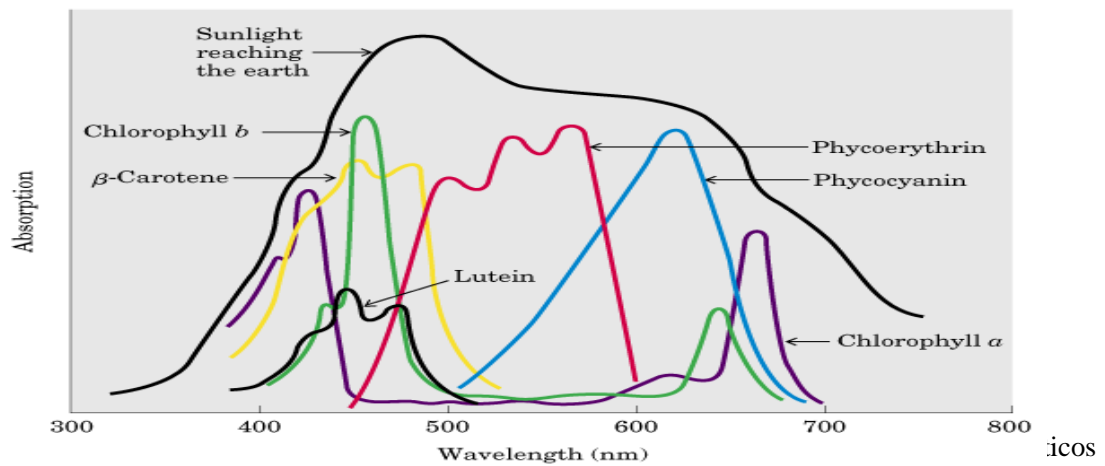
Figura 4.7. Clorofilas *a* y *b*.

Absorción de la luz visible por fotopigmentos

La clorofila es esencial en la fotosíntesis por ser el agente que, mediante la absorción de energía luminosa, lleva a cabo la totalidad del proceso. Al igual que otros pigmentos, la clorofila se caracteriza por absorber ciertas longitudes de onda o colores. Absorbe las porciones rojas y azul del espectro, a la vez que permite que la luz verde pase sin ser casi absorbida, razón por la cual la clorofila tiene precisamente ese color.

Aunque la clorofila hace el papel de absorbente de luz en la fotosíntesis de las plantas verdes, este papel puede ser realizado en parte por otros pigmentos que existen en las

plantas inferiores. Así, la ficoeritrina y la ficocianina actúan como absorbentes de luz en algunas algas rojas, mientras que determinados pigmentos carotenoides pueden absorber luz para realizar el proceso fotosintético en otras especies de algas.



Los pigmentos accesorios aumentan la gama de absorción de la luz

Estos pigmentos absorben luz de longitud de onda diferente de la absorbida por las clorofilas, por lo que son receptores luminosos suplementarios. Estos pigmentos absorben luz de longitud de onda diferente de la absorbida por las clorofilas, por lo que son receptores luminosos suplementarios.

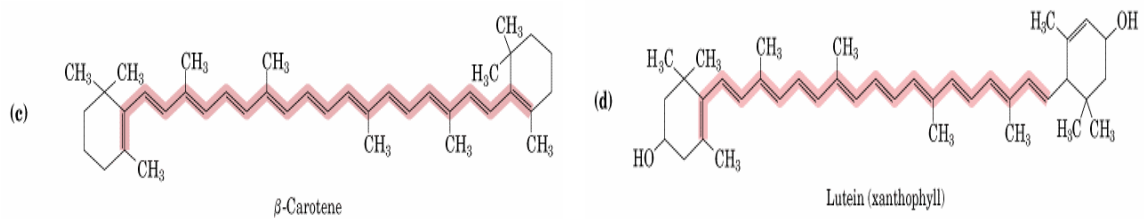


Figura 4.9. Fotopigmentos secundarios

La clorofila canaliza la energía absorbida a centros de reacción mediante transferencia de excitones

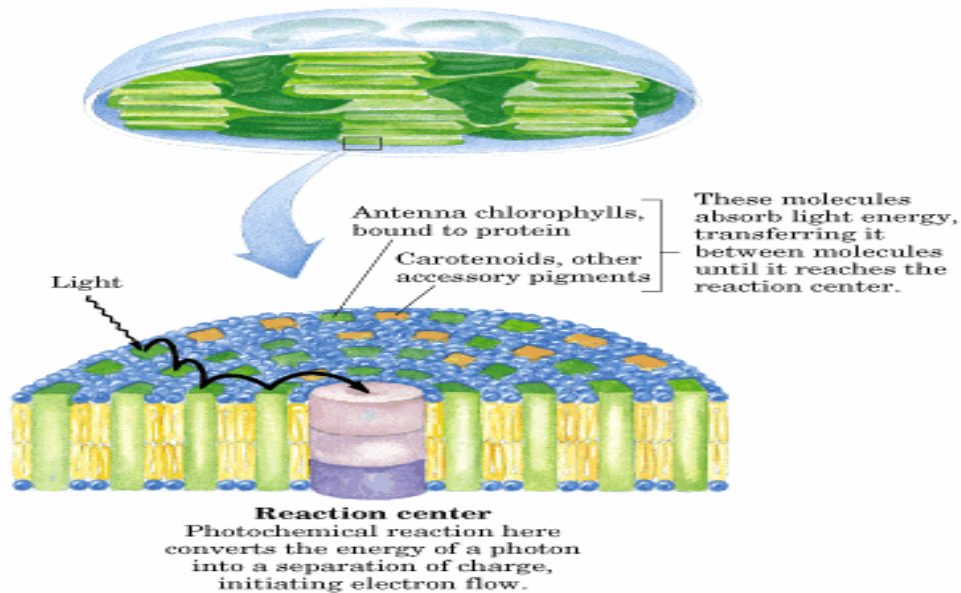


Figura 4.10. Organización de los fotosistemas en la membrana tilacoide

Los fotosistemas están estrechamente empaquetados en la membrana tilacoide, con varios cientos de clorofilas antena y pigmentos accesorios rodeando un centro de fotorreacción. La absorción de un fotón por cualquiera de las clorofilas antena origina la excitación del centro de reacción por transferencia de excitones (flechas negras). El complejo del citocromo b_6f y la ATP sintasa también se encuentran incrustados en la membrana tilacoide.

Los pigmentos de las membranas tilacoides que absorben luz están ordenados en conjuntos funcionales denominados fotosistemas. Todas las moléculas de pigmento de un fotosistema pueden absorber fotones, pero sólo unas pocas moléculas de clorofila asociadas al centro de reacción fotoquímico están especializadas en translucir la energía luminosa en energía química. Las otras moléculas pigmento de un fotosistema se denominan moléculas captadoras de luz o moléculas antena. Absorben energía luminosa y la transmiten rápida y eficientemente al centro de reacción.

Las moléculas de clorofila en los complejos captadores de luz muestran propiedades de absorción de la luz que son sutilmente diferentes de las de la clorofila libre.

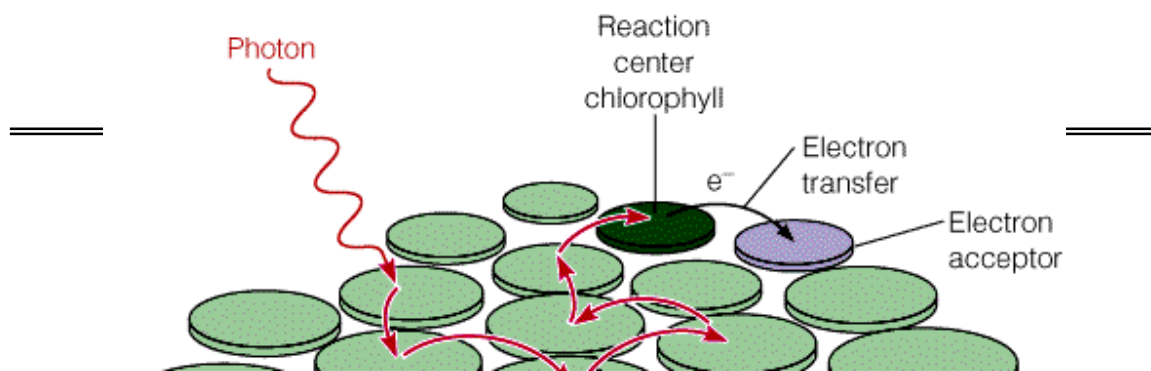


Figura 4.11. Complejos de captación de luz: Antena y centro de reacción. Transferencia de energía por resonancia y transferencia de e^-

Dos centros de reacción actúan en tándem en las plantas

Las membranas tilacoides de los cloroplastos tienen dos clases de fotosistemas :

Fotosistema II (PSII) → Es un sistema tipo feofitina-quinona que contiene cantidades aproximadamente iguales de clorofilas a y b. La excitación de su centro de reacción P680 impulsa electrones a través de la membrana del tilacoide.

Fotosistema I (PSI) → Es del tipo ferredoxina. Tiene un centro de reacción designado P700 y una elevada proporción de clorofila a respecto a clorofila b. El P700 excitado pasa electrones a la proteína Fe-S ferredoxina, y a continuación al NADP^+ , produciendo NADPH.

Estos dos centros de reacción presentes en plantas actúan en tándem para catalizar el movimiento de electrones impulsado por la luz desde el H_2O hasta el NADP^+ . Los electrones son transportados de un fotosistema a otro por la proteína soluble plastocianina.

Integración de los fotosistemas I y II en cloroplastos.

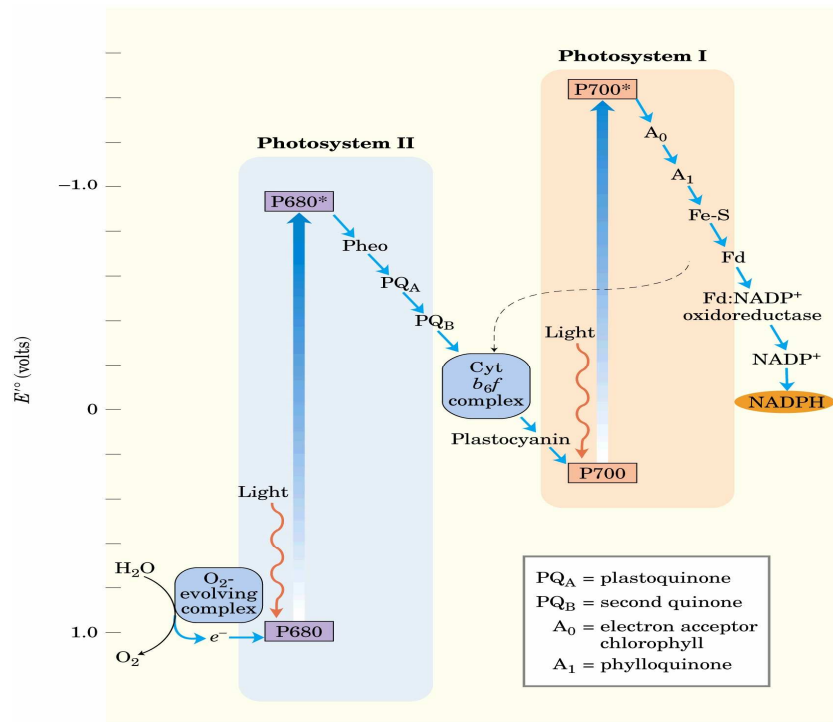


Figura 4.12. Esquema en Z. Integración de los fotosistemas I y II en los cloroplastos.

Este esquema en Z (Fig. 4.12) muestra la ruta de transferencia de electrones desde el agua (parte inferior izquierda) al NADP⁺ (parte superior derecha) en la fotosíntesis no cíclica. La posición de cada transportador electrónico sobre la escala vertical es un reflejo de su potencial de reducción estándar. Para elevar la energía de los electrones que provienen del agua al nivel de energía requerido para reducir el NADP⁺ a NADPH, cada electrón ha de ser elevado dos veces (flechas gruesas) por los fotones absorbidos en PSI y PSII. Se requiere un fotón por cada electrón elevado en cada fotosistema. Después de la excitación, los electrones de alta energía fluyen cuesta abajo via la cadena de transportadores mostrada. Durante la reacción de escisión del agua y durante la transferencia de electrones a través del complejo del citocromo b₆f, se transportan protones a través de la membrana tilacoide produciendo el gradiente de protones que es central para la formación de ATP. La flecha a

trazos es la ruta de la transferencia cíclica de electrones en la que solo intervienen PSI; los electrones vuelven a PSI vía la ruta cíclica en lugar de reducir el NADP^+ a NADPH .

La modulación del apilamiento de las granas iguala el flujo de electrones en PSI y PSII.

Un dominio hidrofóbico del complejo que captura luz LHCII en las lamelas de los tilacoides se inserta en la lamela vecina y mantiene las dos membranas en yuxtaposición (lamelas del grana). La acumulación de plastoquinol estimula una proteína quinasa que fosforila un residuo Thr del dominio hidrofóbico de LHCII, lo cual reduce su afinidad por la membrana tilacoide vecina, convirtiendo la lamela del grana en lamela del estroma. Una proteína fosfatasa específica revierte esta fosforilación reguladora cuando la razón $\text{PQ}/[\text{PQH}_2]$ aumenta.

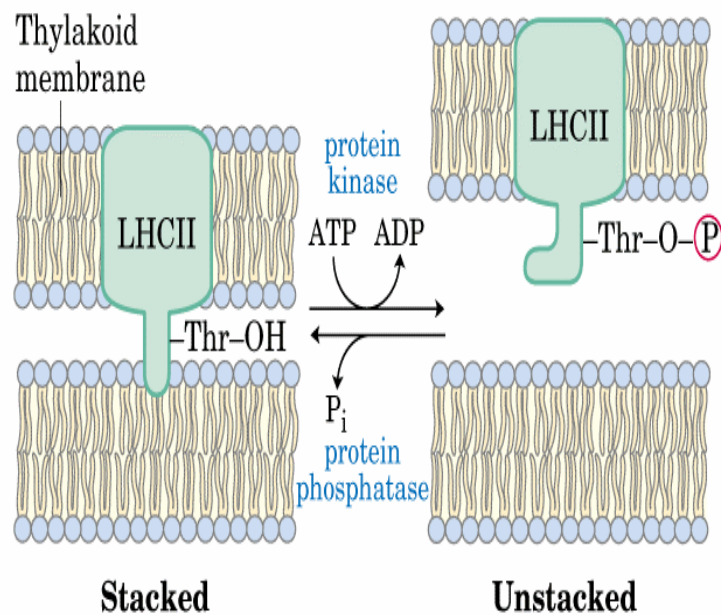


Figura 4.13. Complejo que captura luz LHCII .

El complejo del citocromo b₆f conecta los fotosistemas II y I

Los electrones almacenados temporalmente en el plastoquinol como resultado de la excitación de P680 de PSII se transportan al P700 de PSI mediante el complejo del citocromo b₆f y la proteína soluble plastocianina.

El citocromo b₆f trasporta los electrones de una quinona a una proteína hidrosoluble que transporta un electrón (plastocianina en cloroplasto).

En los cloroplastos, la dirección del movimiento protónico es desde el compartimiento del estroma a la luz del tilacoide, moviéndose hasta 4 protones por cada par de electrones.

La diferencia de pH determinada entre el estroma (pH 8) y la luz del tilacoide (pH 5,0) representa una diferencia de 1 000 veces en la concentración de protones –una importante fuerza motriz para la síntesis de ATP.

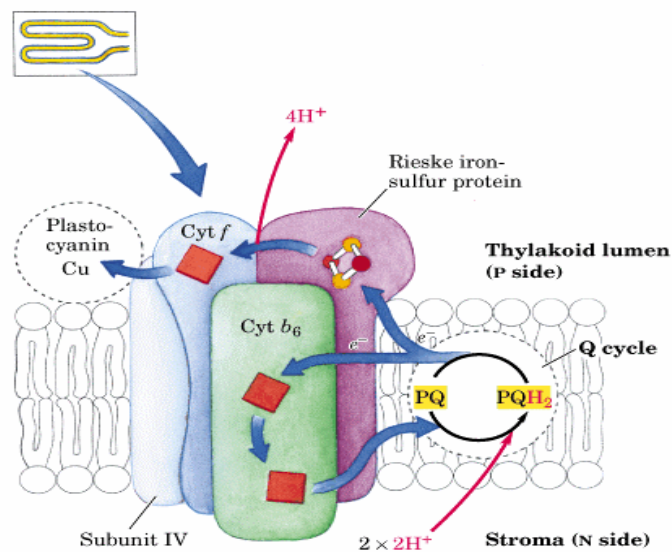
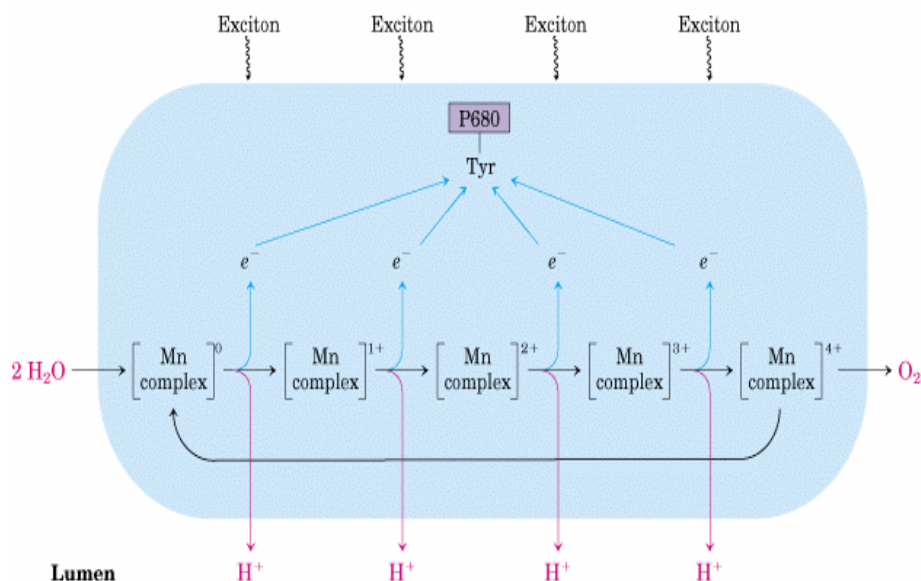


Figura 4.14. Flujo de electrones y protones a través del complejo del citocromo b₆f.

El plastoquinol (PQH₂) formado en PSII es oxidado por el citocromo b₆f en una serie de pasos similares a los del ciclo Q que se da en el complejo del citocromo bc₁ (complejo III de la mitocondria). Un electrón pasa al centro Fe-S de la proteína de Rieske (púrpura), los

demás al hemo del citocromo b6 (verde). El efecto neto es el paso de electrones desde PQH2 a la proteína soluble plastocianina, que los transporta al PSI.

El agua es escindida por el complejo que desprende oxígeno



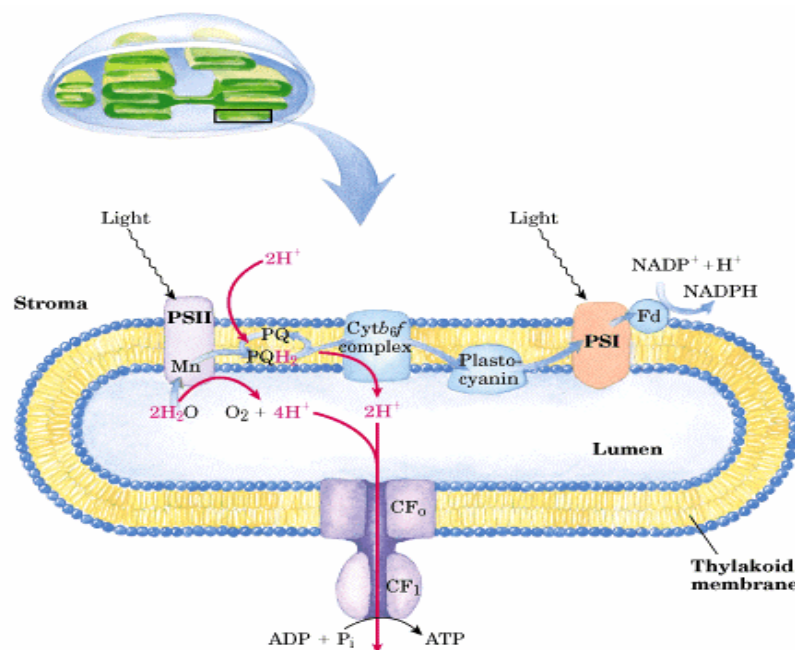
4.15. Actividad partidora de agua del complejo que libera oxígeno.

Se muestra el proceso que genera un agente oxidante de cuatro electrones en el complejo que parte agua de PSII; se cree que este agente es un centro multinuclear con varios iones MN. La absorción secuencial de cuatro fotones, cada uno responsable de la pérdida de un electrón del centro Mn, produce un agente oxidante que puede tomar cuatro electrones de dos moléculas de agua, produciendo O₂. Los electrones cedidos por el centro Mn pasan de uno en uno a un residuo Tyr oxidado en una proteína de PSII.

Las moléculas transferidas de electrones de la cadena que interconecta PSII con PSI están asimétricamente orientadas en la membrana tilacoide, por lo que el flujo de electrones fotoinducido da lugar a un movimiento neto de protones a través de la membrana, desde el lado del estroma a la luz del tilacoide.

Síntesis de ATP por fotofosforilación

Las actividades combinadas de los dos fotosistemas de plantas transportan electrones desde el H_2O al NADP^+ , conservando parte de la energía de la luz absorbida en forma de NADPH. Simultáneamente, se bombean protones a través de las membranas tilacoides y la energía se conserva en forma de potencial electroquímico. Un gradiente de protones acopla el flujo electrónico con la fosforilación.



4.16. Circuitos de protones y electrones en los tilacoides.

Los electrones (flecha azul) se desplazan desde el H_2O a través de PSII, la cadena de transportadores intermedios, PSI y finalmente al NADP^+ . Los protones (flechas rojas) se bombean a la luz del tilacoide por el flujo de electrones a través de la cadena de transportadores entre PSII y PSI y vuelven a entrar en el estroma a través de canales protónicos formados por la porción F_o de la ATP sintasa, designada CF_o en la enzima del cloroplasto. La subunidad F_1, CF_1 , cataliza la síntesis de ATP.

4.4 DISEÑO Y FABRICACIÓN DE ACUARIO-INVERNADERO PARA CONSERVACIÓN DEL LIRIO ACUÁTICO EN EL LABORATORIO

Se ha construido dicho acuario-invernadero para simular y controlar las condiciones naturales del lirio acuático en el laboratorio. Para lo cual fue necesario implementar una serie de insumos, como se observa en la Fig. 4.17, que nos permitieran tener al lirio acuático en las mismas condiciones en las que se encuentra en su hábitat natural.

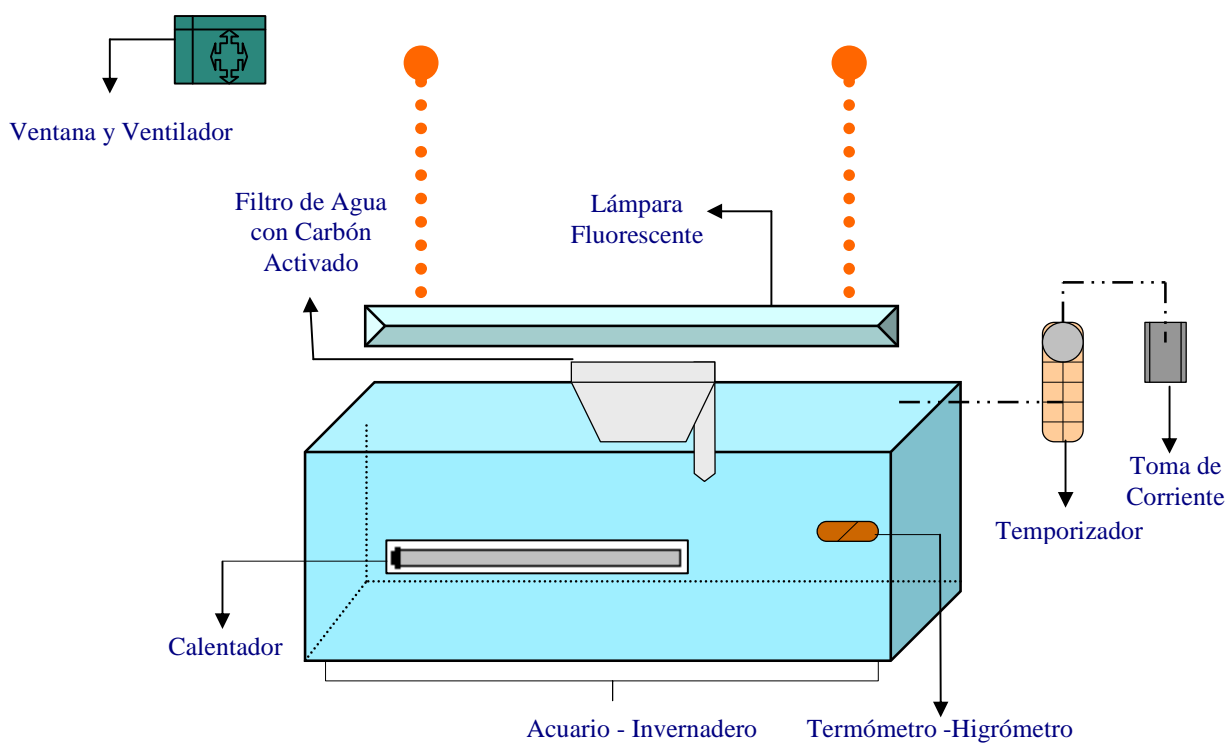
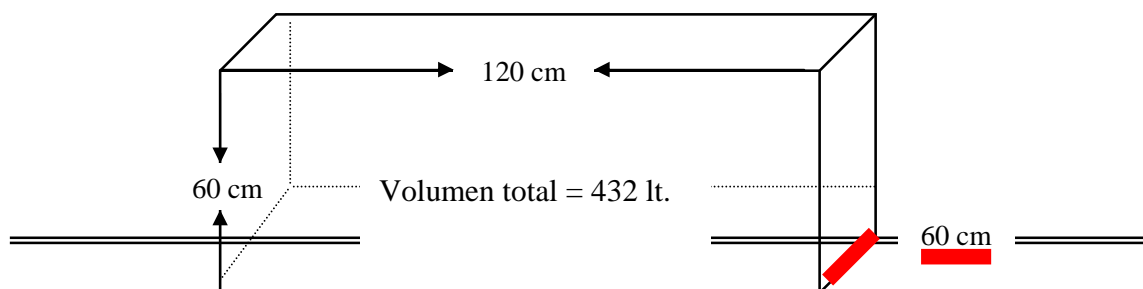


Figura 4.17. Acuario-Invernadero de Simulación

Dicho acuario-invernadero está fabricado en fibra de vidrio y cuenta con las siguientes dimensiones:



Hemos tomado como base lo citado en el presente capítulo, en el punto 4.2, para diseñar una estrategia de adaptación para el lirio acuático, para realizar dicha estrategia nosotros necesitamos controlar todos los parámetros de los cuales se sirve dicha planta para sobrevivir en su entorno natural. Es por ello, que tener bajo control los parámetros fisicoquímicos del agua, así, como la concentración de nutrientes (proporcionados mediante un fertilizante líquido) y la intensidad y tiempo de luz es de vital importancia para lograr este objetivo. Y es por ello que hemos llegado a tomar los siguientes parámetros, después de haber realizado una serie de pruebas y de estar probando con las diferentes variables posibles, llegando a encontrar que las siguientes son las mejores condiciones en las que el lirio acuático puede sobrevivir *in-vitro*.

Parámetros físico-químicos		Concentración de Nutrientes
pH	6.05	Fertilizante líquido universal
Temperatura	25°	15N-30P-15k *
Conductividad	477	61.34gr / 180lt °
Cloro	0.5 mg/l	
Intensidad de la luz	5000 lux	* basado en una [] hidropónica
Tiempo de iluminación	13 hrs. / día	° 180lt = volumen de llenado

Tabla 4.1. Parámetros físico-químicos y concentración de nutrientes.

Tomando entonces, estos parámetros como los idóneos para la estrategia de adaptación, fue que así fueron utilizados, obtenido una buena respuesta por parte de los lirios, que mostraron una adaptación favorable y un buen desarrollo fisiológico; esto se observó durante un periodo de 2 meses, que fue cuando se introdujeron los lirios al acuario, éstos, procedentes de los canales de Cuemanco, México D.F., se introdujeron 43 individuos juveniles (dimensiones: Hoja = 5cm, Pecíolo = 10 cm, Raíz = 11 cm; medidas promedio de

los 43 Ind.) y pudimos observar que no se presentó necrosis de ningún tipo, y que además, presentaban nuevos brotes de estolones para así desarrollar más pecíolos.

Con esta adecuada adaptación, nosotros pudimos llevar a cabo las medidas requeridas *in-vivo* e *in-situ*, del lirio acuático para observar el monitoreo de la evolución de O₂ y el almacenamiento de energía.

4.5 MICROSCOPIA ÓPTICA

Se realizó microscopía óptica de la hoja de diferentes plantas de lirio acuático, estas fueron elegidas al azar, tomando en cuenta el estado morfológico en el cual se encontraban. Al realizar este tipo de estudio, podemos entender de mejor manera algunos de los puntos escritos anteriormente; así como también, tener una base de dicho estudio para aplicaciones futuras.

Dicho estudio fue llevado a cabo con un microscopio estereoscópico, el cual tiene un máximo aumento de 1000 X; ocular = 10 X, objetivos: 10 X, 25 X, 40 X y 100 X respectivamente.

Los cortes realizados para poder ser observados, fueron hechos longitudinal y transversalmente; debido a la morfología de la hoja y su delicadeza que presenta esta para ser manipulada, se tuvieron que realizar con sumo cuidado, utilizando para ello el equipo adecuado, en este caso se utilizó un estuche de disección y un microtomo, así los cortes realizados quedaron adecuadamente para ser observados.

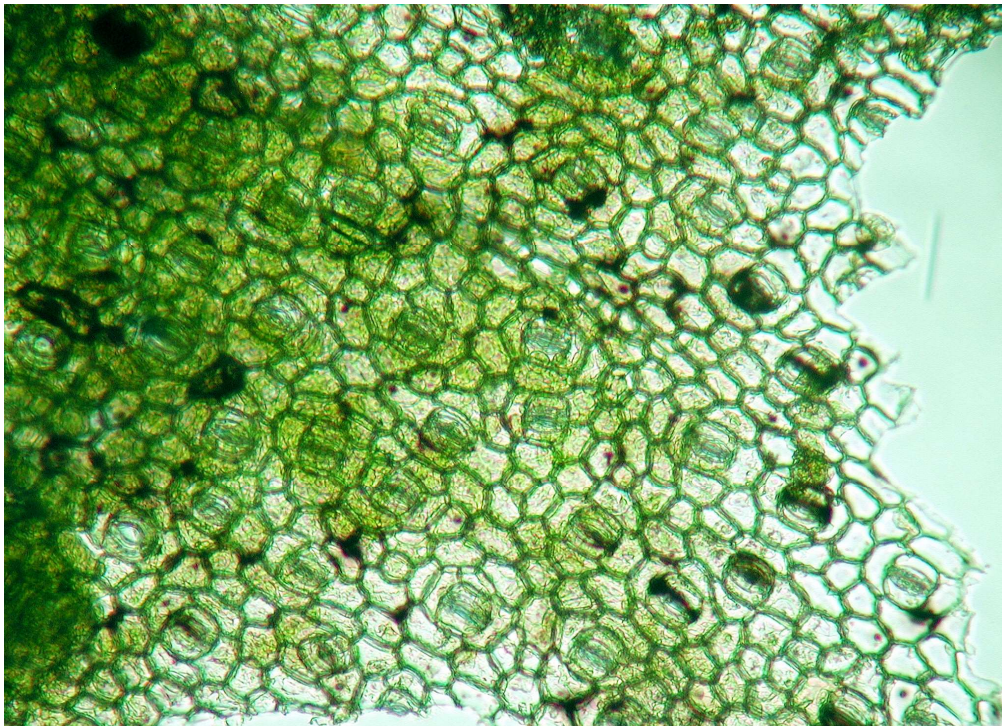


Foto 4.1. Corte longitudinal. Epidermis-haz (10x)

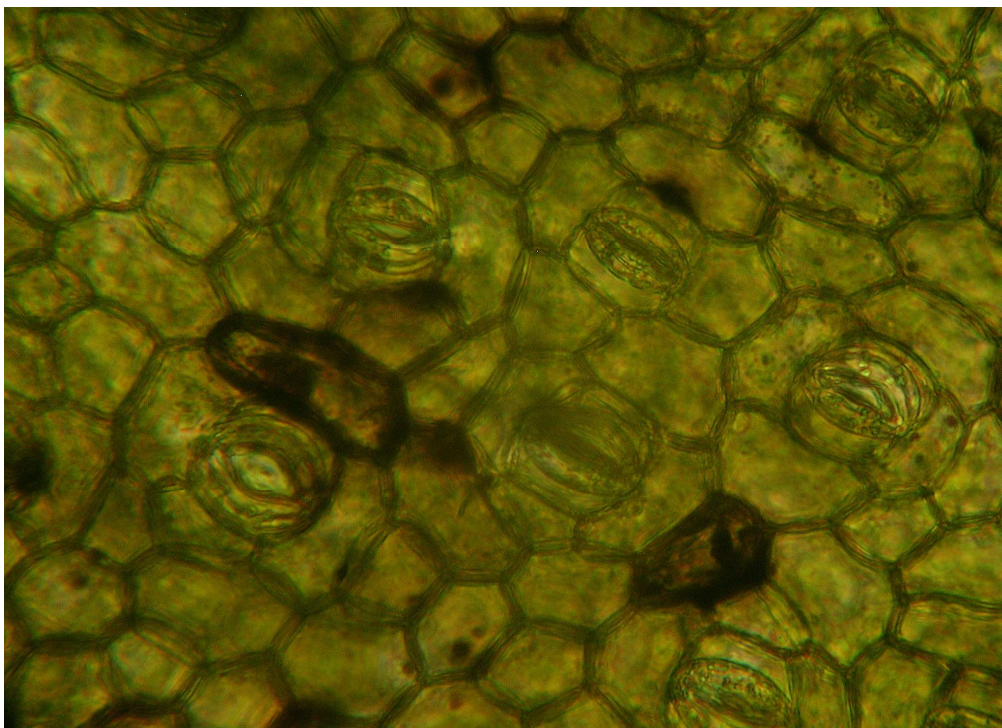


Foto 4.2. Corte longitudinal. Epidermis-haz (25x)

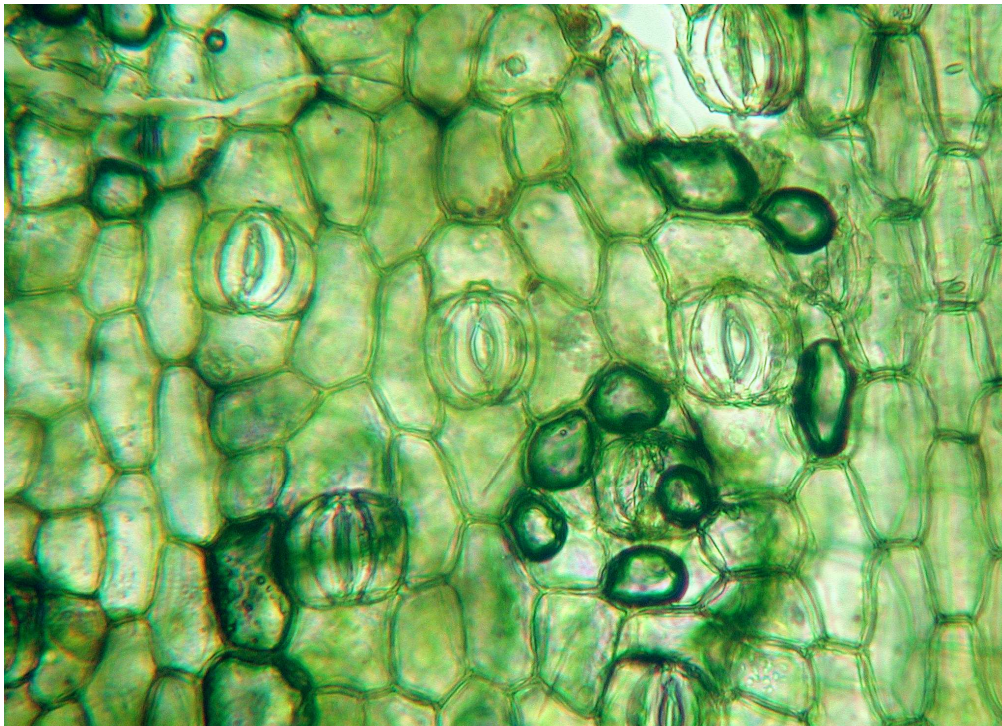


Foto 4.3. Corte longitudinal. Epidermis-envés (25x)

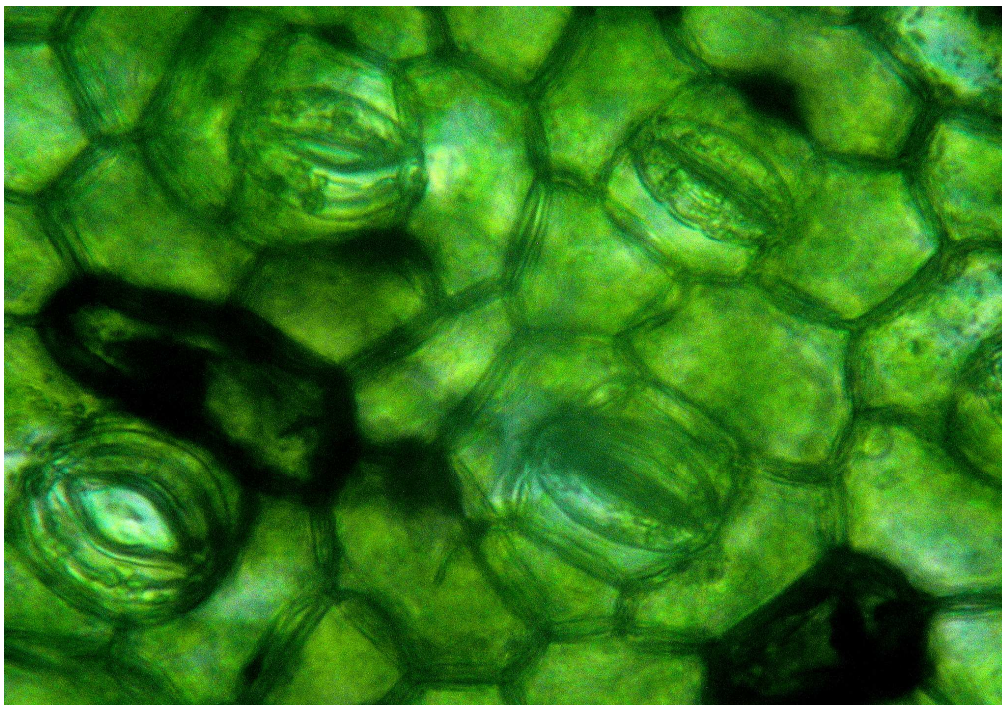


Foto 4.4. Corte longitudinal. Epidermis-haz (40x)



Foto 4.5. Corte longitudinal. Epidermis-envés (40x)

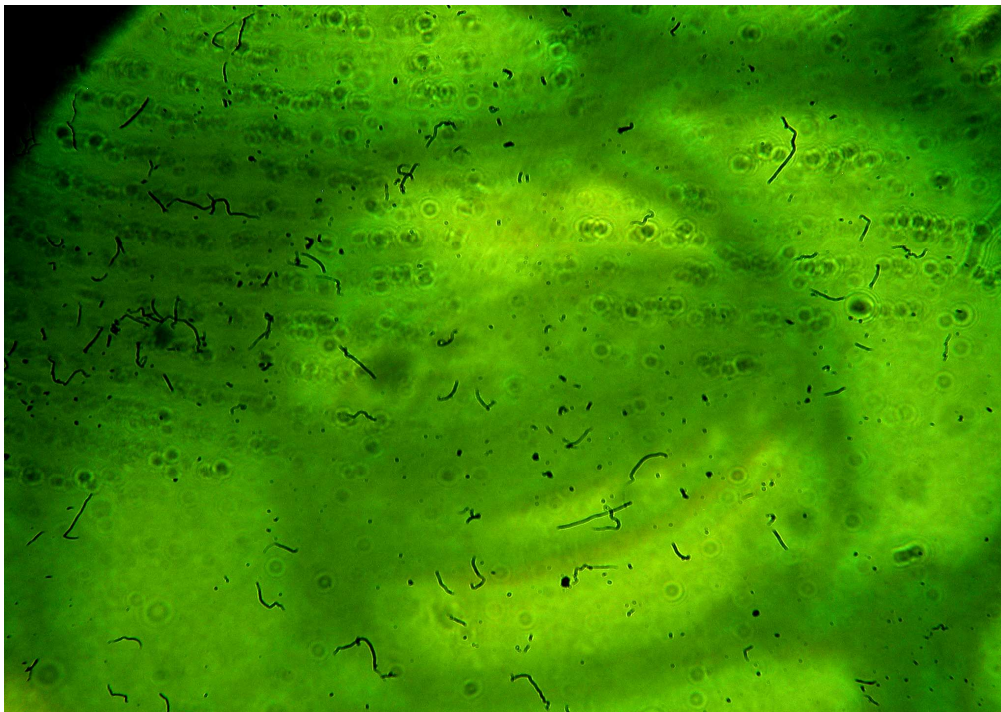


Foto 4.6. Corte longitudinal. Epidermis-haz (100x)

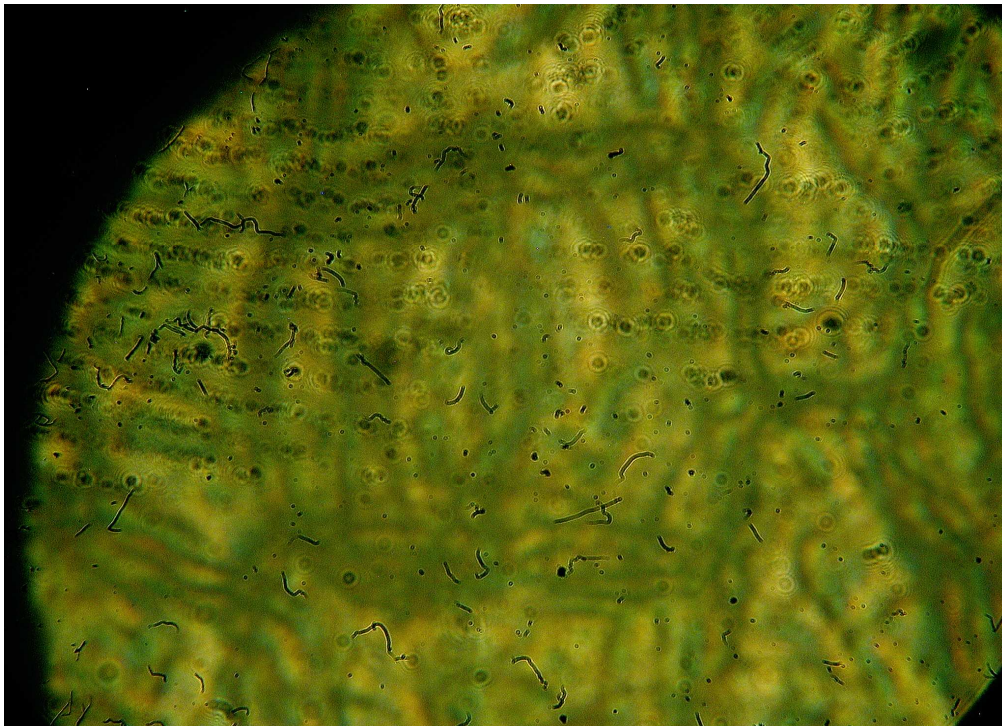


Foto 4.7. Corte longitudinal. Epidermis-envés (100x)



Foto 4.8. Corte transversal - (10x)

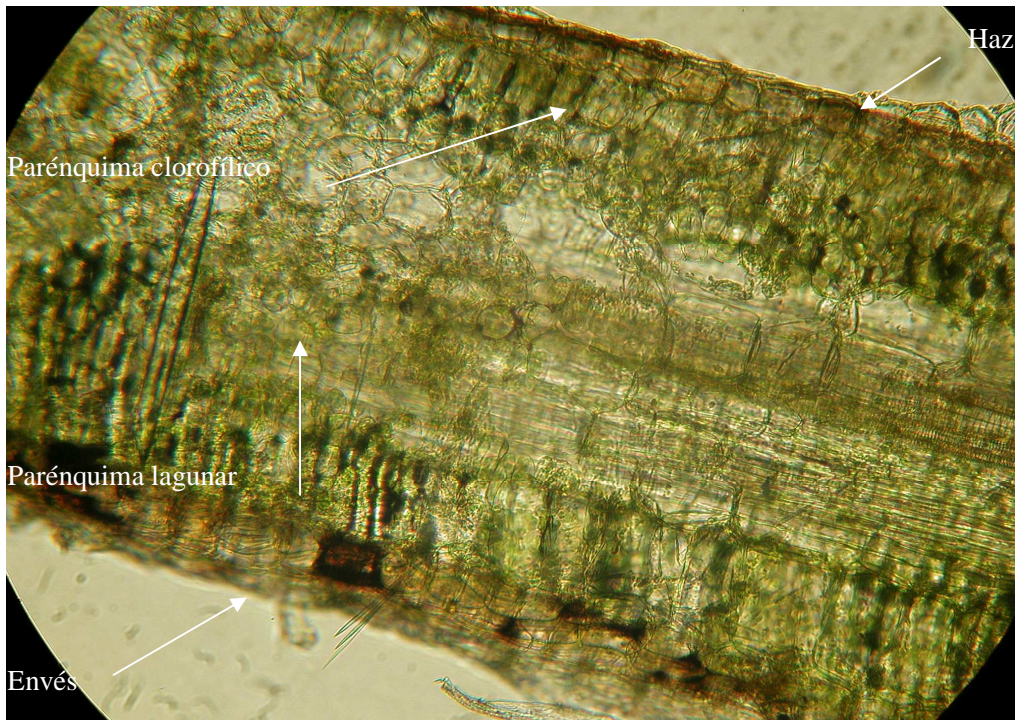


Foto 4.9. Corte transversal - (25x)

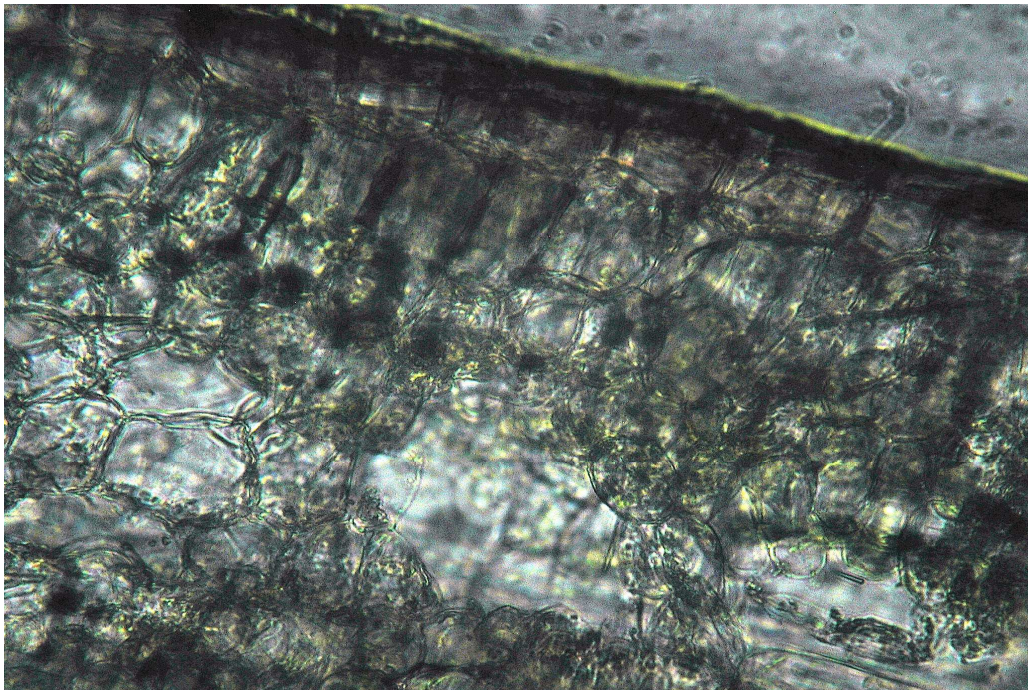
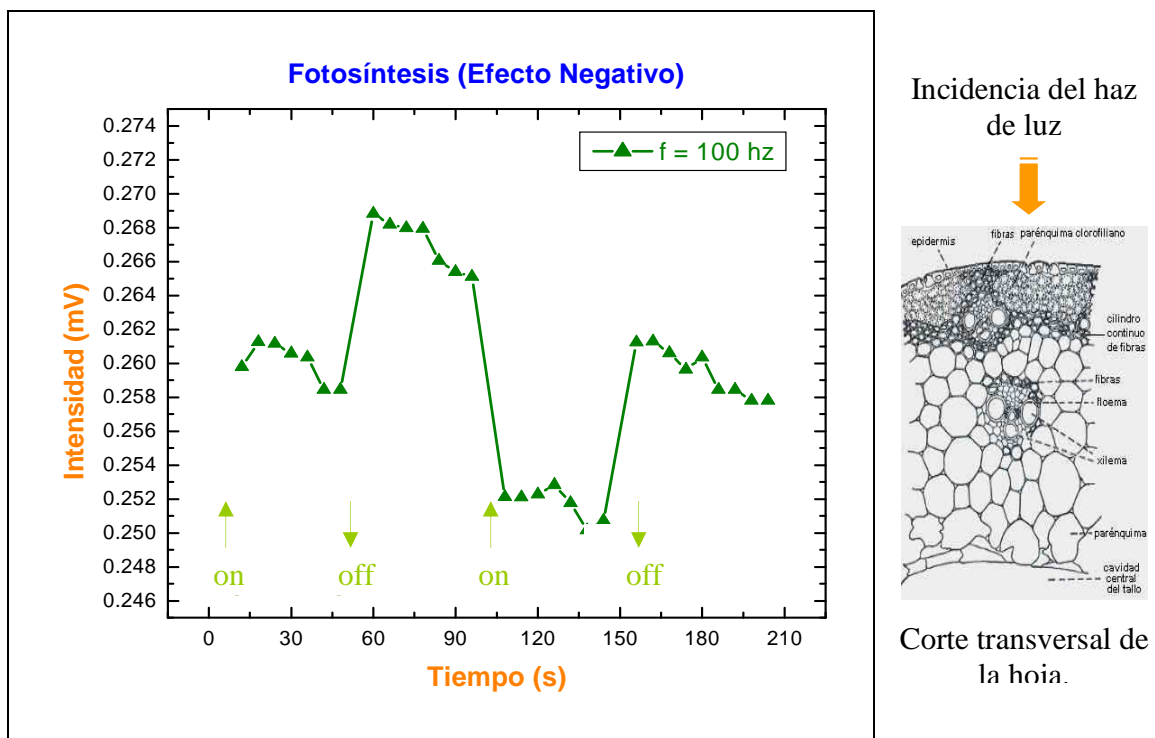


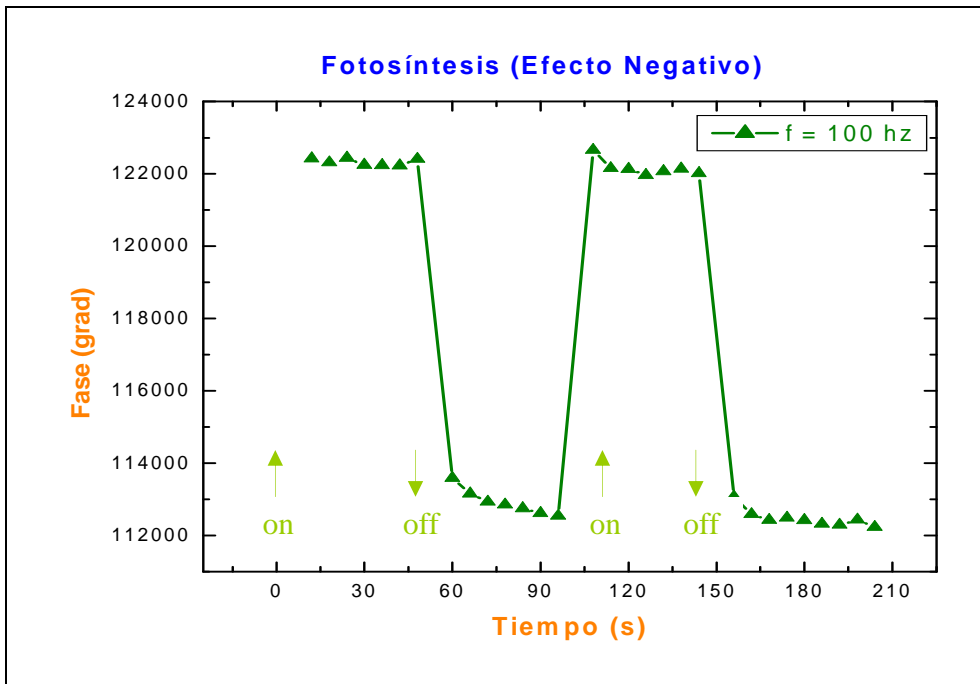
Foto 4.10. Corte transversal - (40x)

4.6 MONITOREO DE LA EVOLUCIÓN DE O₂

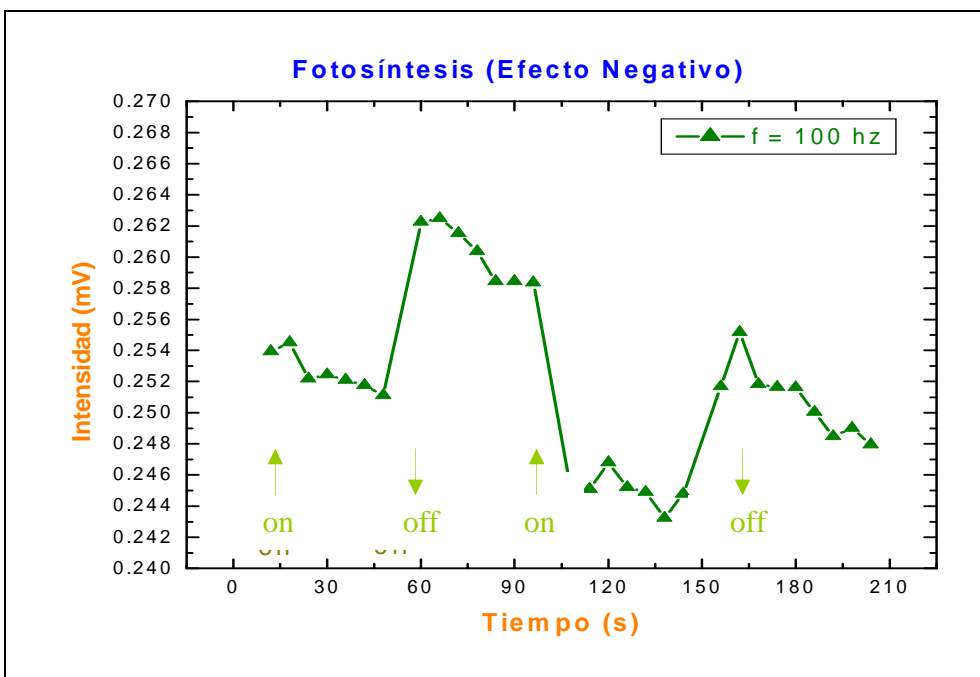
Al llevar a cabo el monitoreo de la evolución de O₂ es necesario encontrar el “efecto negativo” de la señal FA, para lo cual fue necesario encontrar la frecuencia de modulación con la cual pudiéramos observar tanto la evolución de O₂ como el efecto negativo. Después de correr una serie de muestras a diferentes frecuencias de modulación, pudimos encontrar mencionado efecto a una frecuencia de 100 hz., la cual fue utilizada posteriormente para realizar el monitoreo de la evolución de O₂. A continuación se muestran los gráficos que fueron seleccionados en los cuales podemos comprobar lo anteriormente dicho.



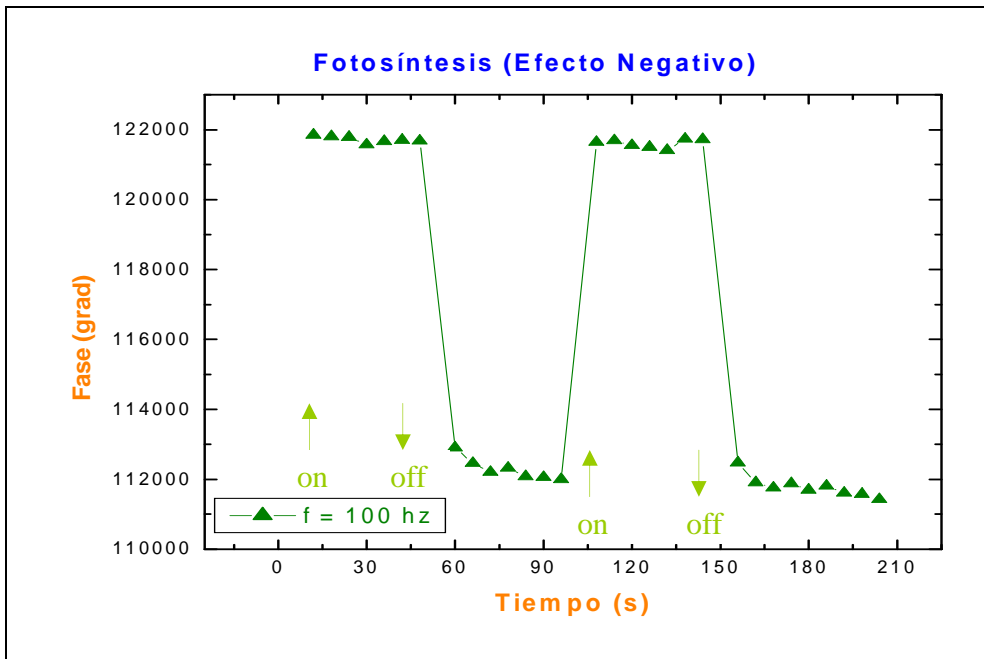
Gráfica 1. Efecto Negativo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.



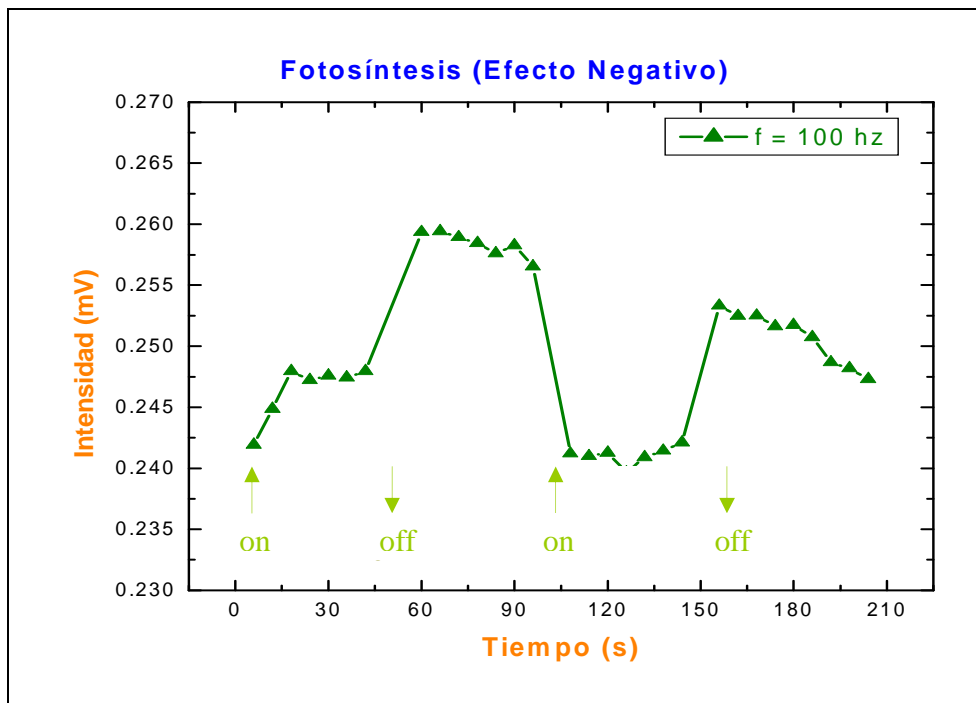
Gráfica 2. Efecto Negativo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.



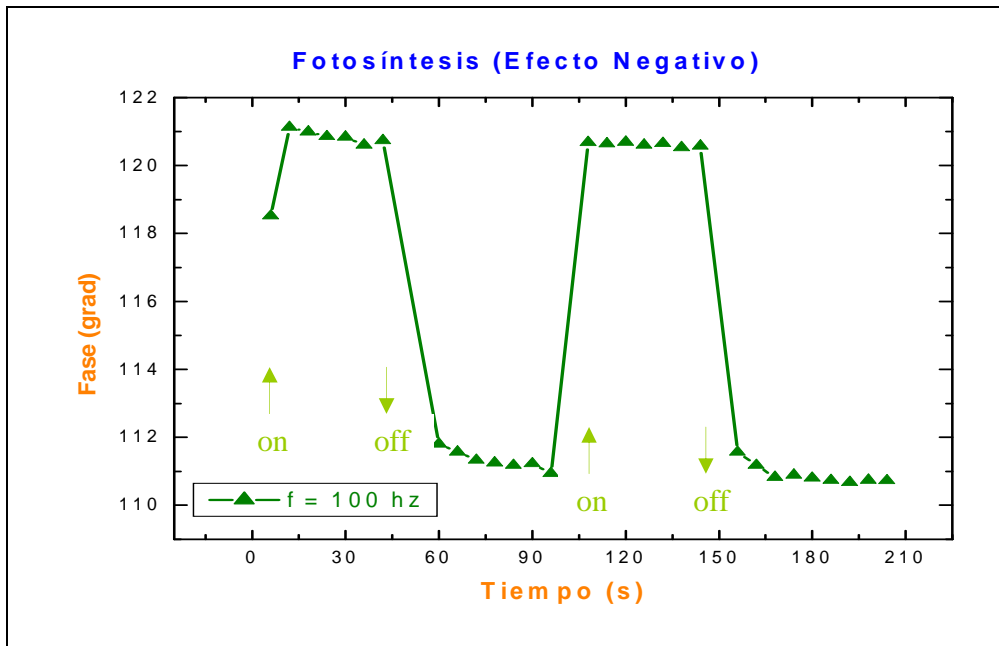
Gráfica 3. Efecto Negativo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.



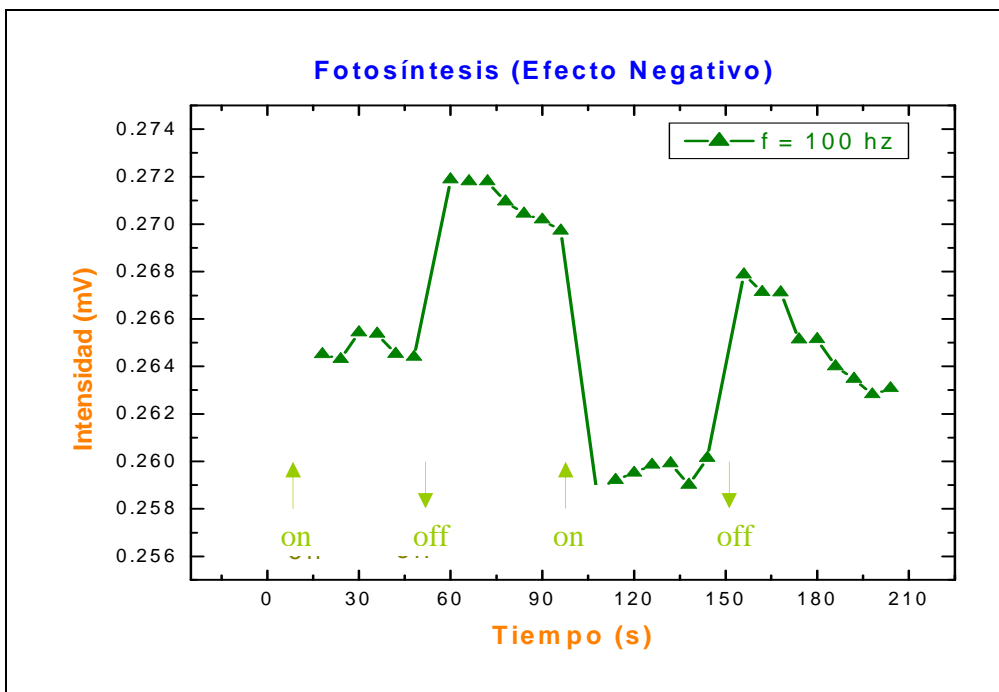
Gráfica 4. Efecto Negativo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.



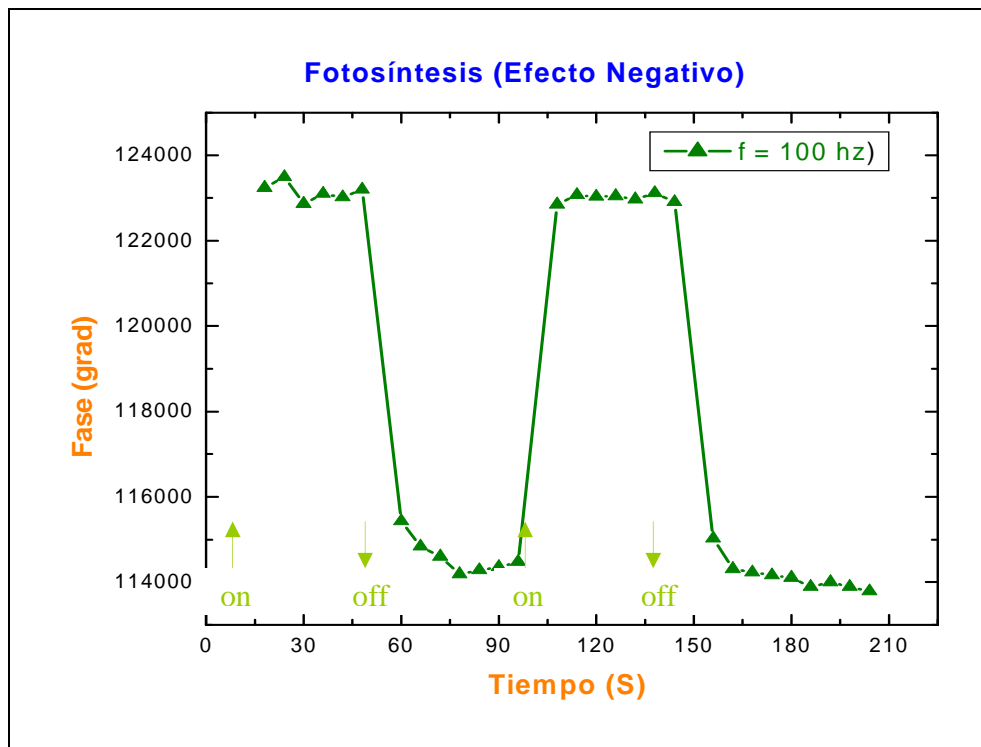
Gráfica 5. Efecto Negativo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.



Gráfica 6. Efecto Negativo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.



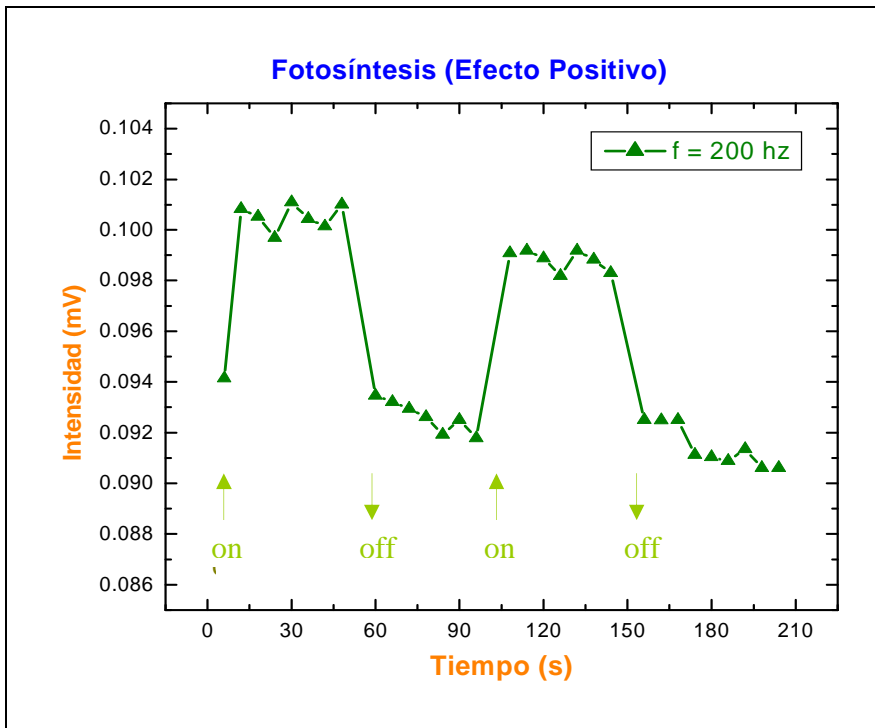
Gráfica 7. Efecto Negativo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.



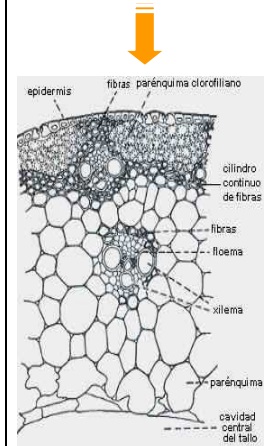
Gráfica 8. Efecto Negativo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.

4.7 MONITOREO DE ALMACENAMIENTO DE ENERGÍA

Se llevó a cabo el monitoreo del almacenamiento de energía, donde ahora fue necesario encontrar el “efecto positivo” de la señal FA, para lo cual fue necesario encontrar la frecuencia de modulación con la cual pudiéramos observar tanto el almacenamiento de energía como el efecto positivo. Después de correr una serie de muestras a diferentes frecuencias de modulación, pudimos encontrar mencionado efecto a una frecuencia de 200 hz., la cual fue utilizada posteriormente para realizar el monitoreo del almacenamiento de energía. A continuación se muestran los gráficos que fueron seleccionados en los cuales podemos comprobar lo anteriormente dicho.

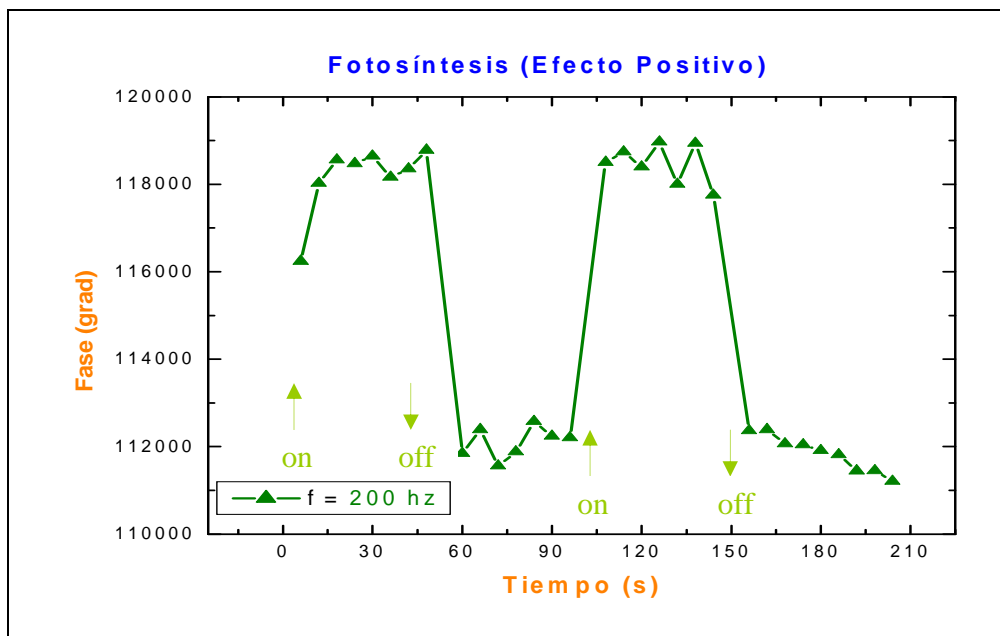


Incidencia del haz de luz

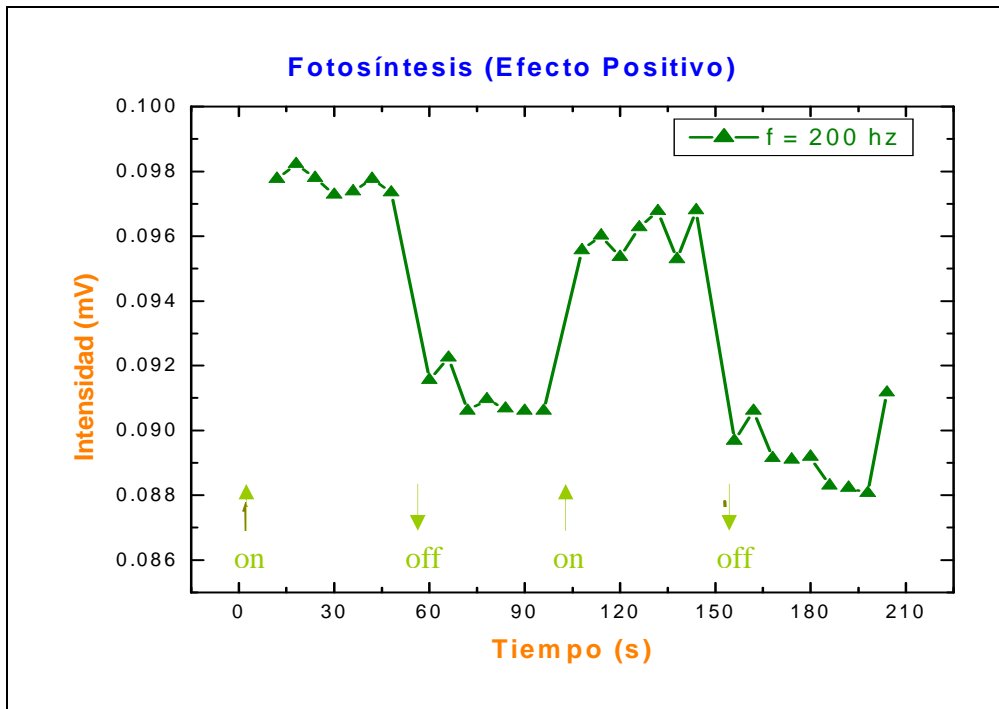


Corte transversal de la hoja.

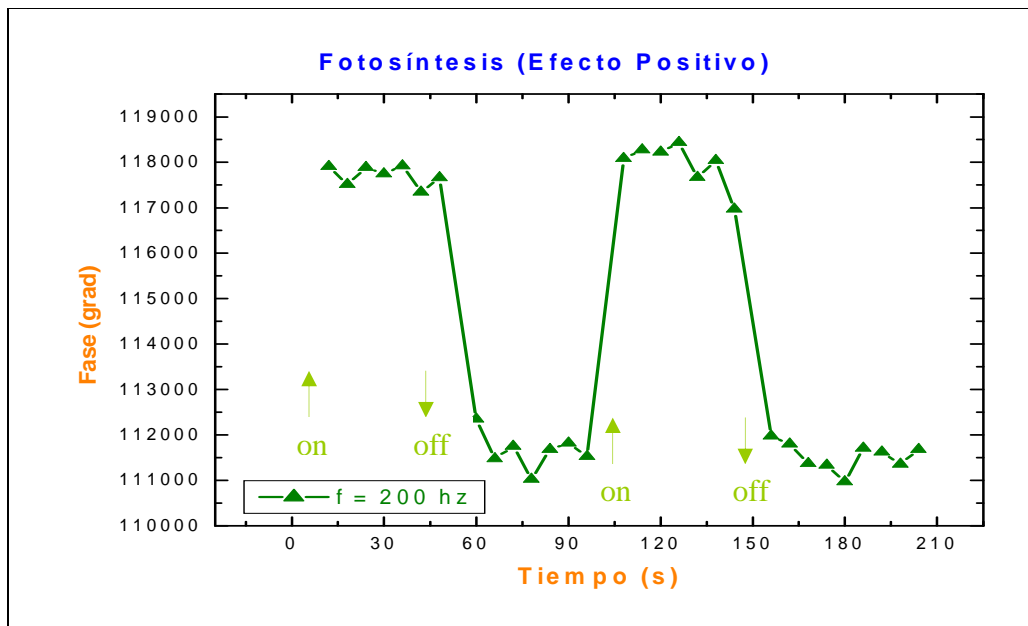
Gráfica 9. Efecto Positivo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.



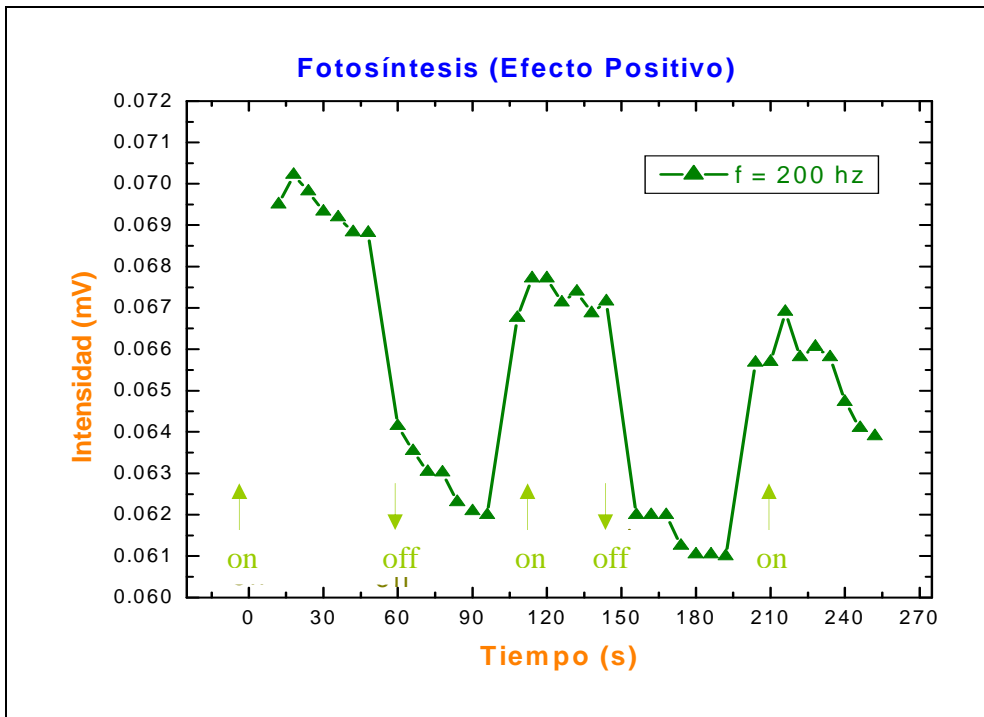
Gráfica 10. Efecto Positivo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.



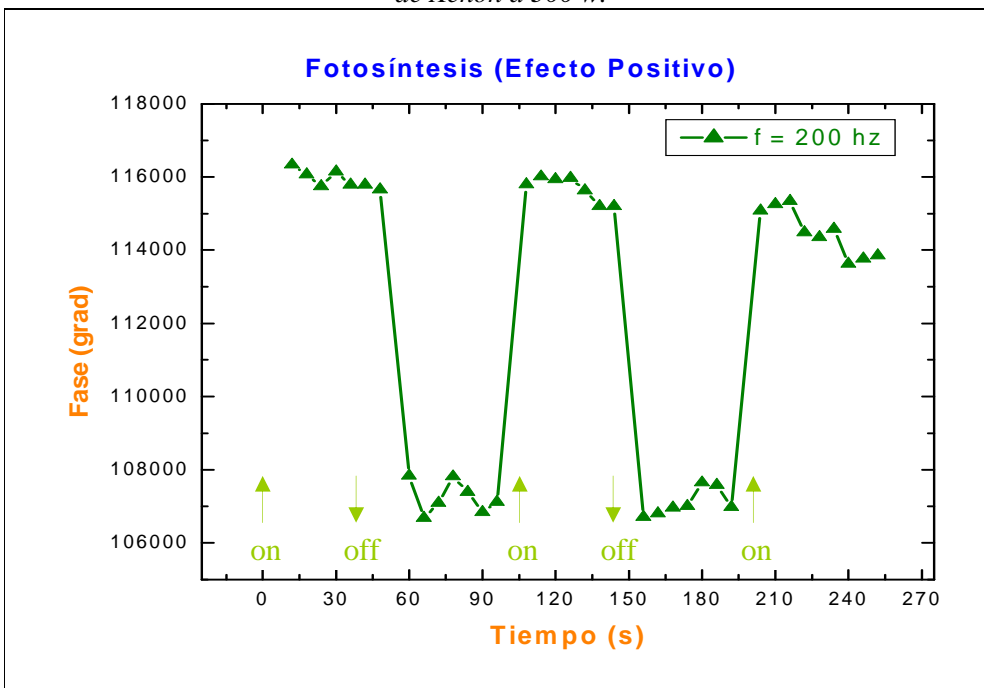
Gráfica 11. Efecto Positivo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.



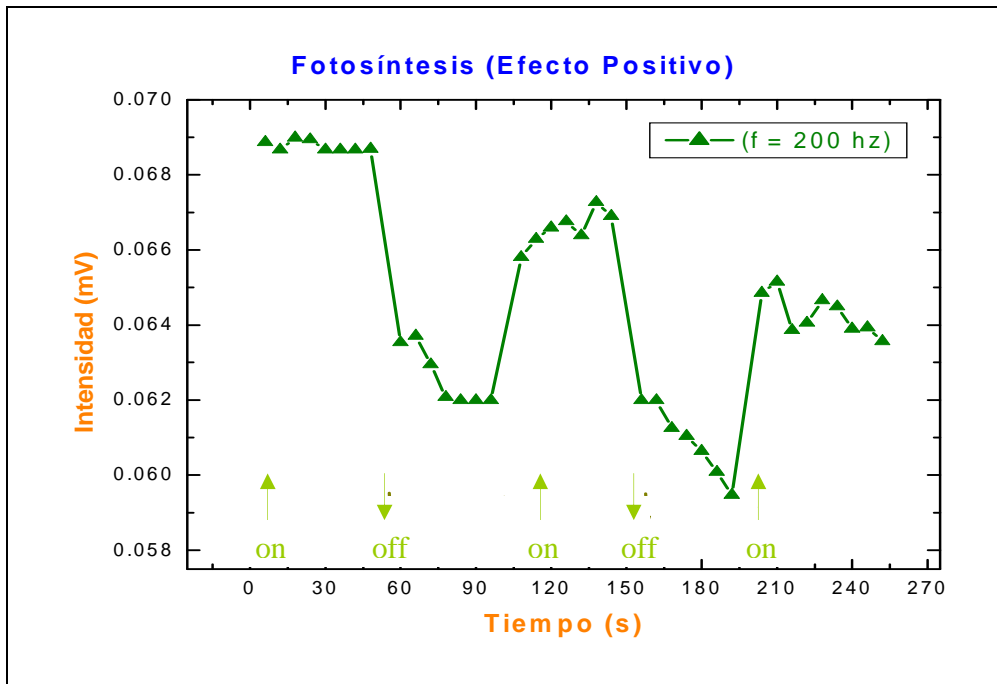
Gráfica 12. Efecto Positivo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.



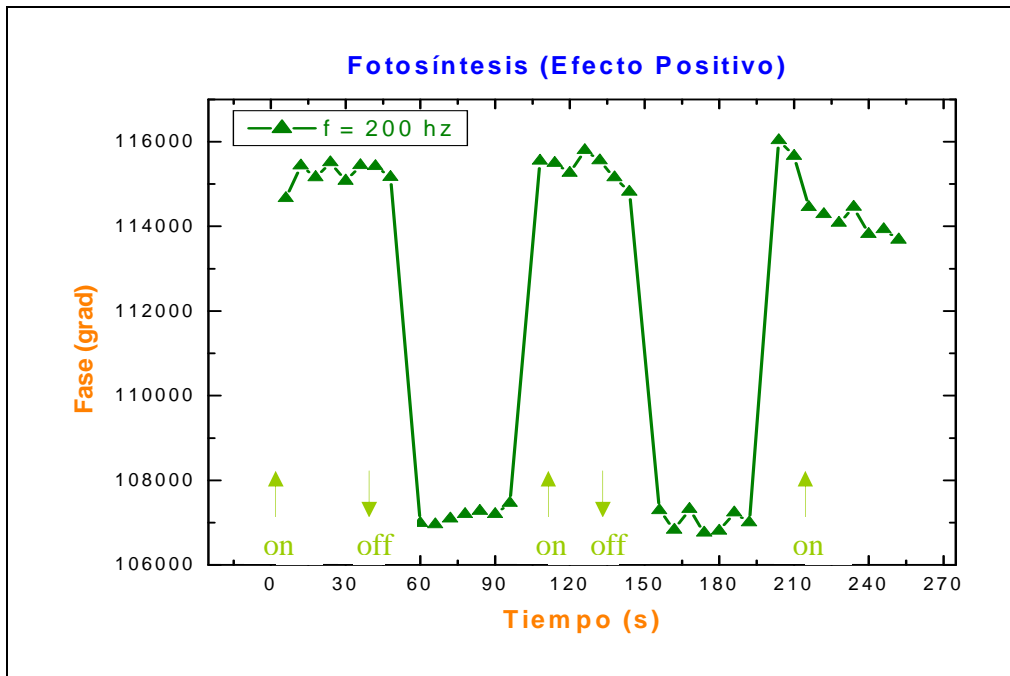
Gráfica 13. Efecto Positivo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.



Gráfica 14. Efecto Positivo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.



Gráfica 15. Efecto Positivo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.



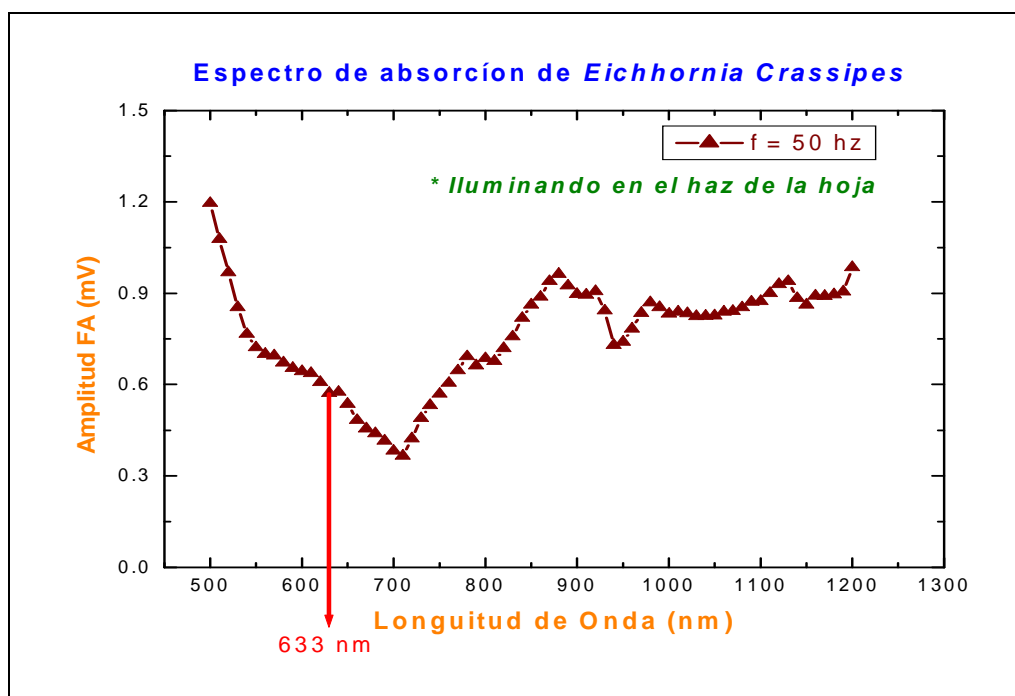
Gráfica 16. Efecto Positivo Fotosintético. Fuentes de iluminación: Láser He-Ne 633nm y Lámpara de Xenón a 300 w.

Espectro de absorción del Lirio Acuático

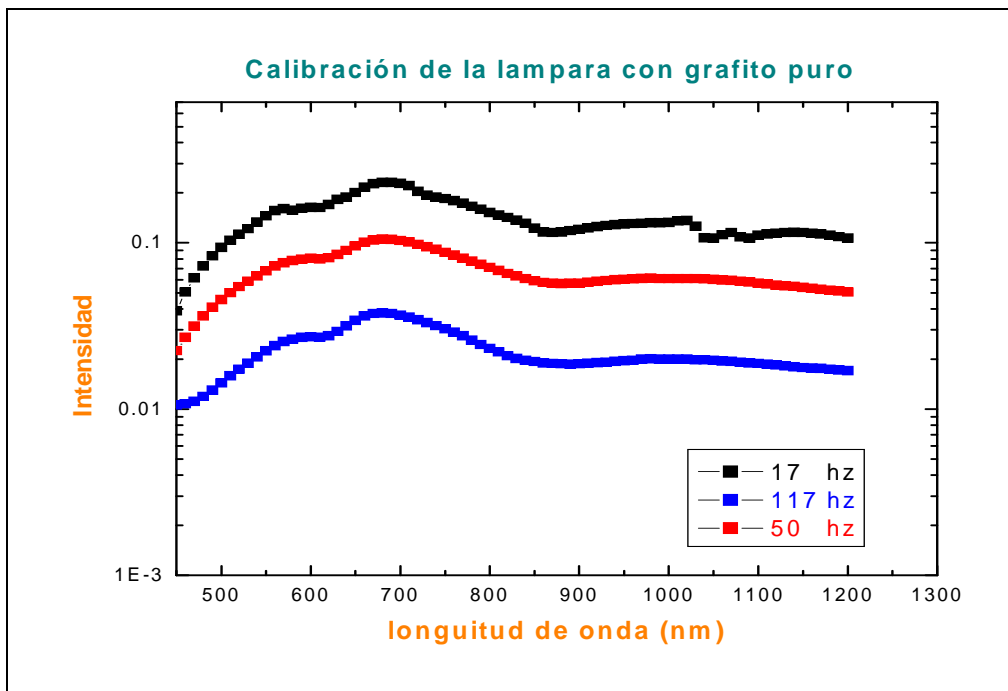
Se aplicó Espectroscopia Fotoacústica a distintas hojas de las plantas de lirio acuático que se tenían en el acuario-invernadero, esto para poder observar el espectro de absorción de dicha planta; las hojas fueron seleccionadas al azar, siempre y cuando estuvieran en condiciones óptimas para realizar las medidas, es decir, que no presentaran necrosis parcial o total, que no estuvieran mutiladas, que no presentaran descoloramiento y que no estuvieran quemadas.

Para poder aplicar EFA, se tuvo primero que calibrar la lámpara con un cuerpo totalmente oscuro, en este caso se utilizó grafito puro, donde encontramos que la mejor señal la obteníamos a una modulación de 50 hz. Posteriormente las curvas obtenidas de las muestras eran calibradas con las obtenidas de la calibración previa.

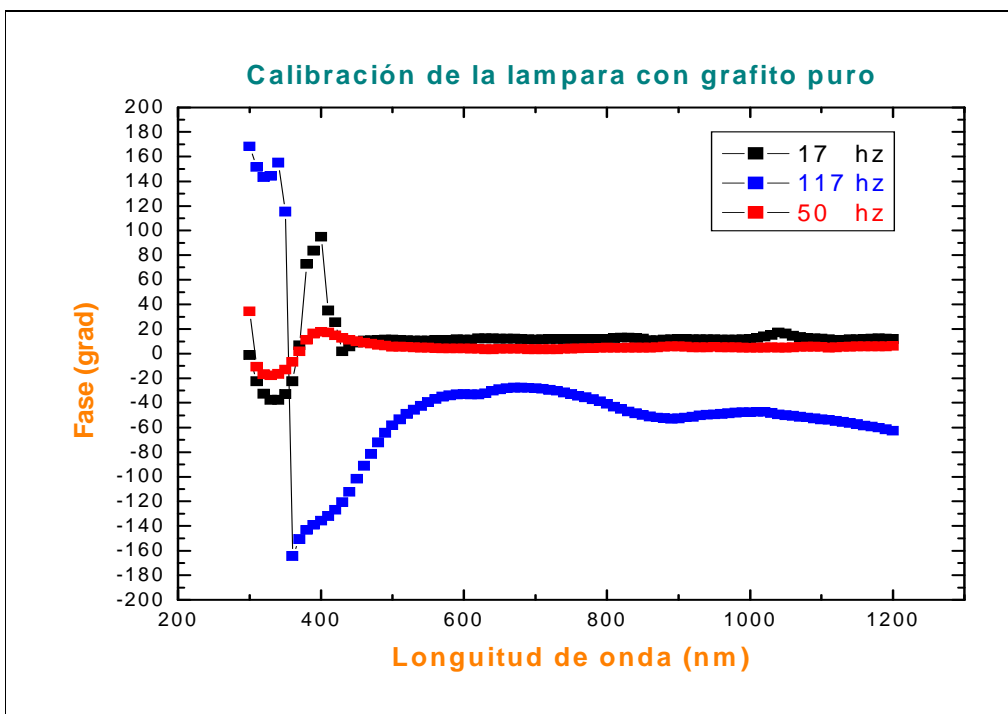
Se muestran tanto las gráficas de los espectros de absorción de la planta, así como las de la calibración.



Gráfica 17. Espectro de Absorción de Lirio Acuático. Fuente de iluminación: Lámpara de xenón a 600 w.



Gráfica 18. Calibración Lámpara de Xenón



Gráfica 19. Calibración Lámpara de Xenón

4.8 CONCLUSIONES

Se implemento el sistema FA resuelto en tiempo para el monitoreo de la evolución de oxígeno en plantas.

Se realizo un estudio del mecanismo de fotosíntesis en plantas.

Se logró encontrar el efecto negativo de la fotosíntesis (evolución del O₂), donde la frecuencia que nos permitió observar este fenómeno fue de 100 hz.

Se logró encontrar el efecto positivo (almacenamiento de energía), donde, ahora, la frecuencia que nos permitio observar este fenómeno fue de 200 hz.

Se aplicó EFA para obtener los espectros de absorción del Lirio Acuático, donde la frecuencia de modulación utilizada fue de 50 Hz.

Capítulo

5

CONCLUSIONES GENERALES

Se diseñó y construyó un acuario-invernadero con las condiciones necesarias para tener una adecuada adaptación de las muestras.

Se adecuó el acuario-invernadero para el grupo de control de acuerdo a las necesidades de sobrevivencia de las plantas. Se adecuó un espacio aislado y se realizaron las modificaciones necesarias para liberar la tapa, así como se implementó en un espacio aislado.

Se fabricó el acuario-invernadero para el grupo de irradiación.

Se implementó el sistema FA resuelto en tiempo para el monitoreo de la evolución de oxígeno en plantas.

Se obtuvieron resultados preliminares de la medición de la fotosíntesis en lirio acuático mediante la TFA.

Se realizó un estudio del mecanismo de fotosíntesis en plantas.

Se logró encontrar el efecto negativo de la fotosíntesis (evolución del O₂), donde la frecuencia que nos permitió observar este fenómeno fue de 100 hz.

Se logró encontrar el efecto positivo (almacenamiento de energía), donde, ahora, la frecuencia que nos permitio observar este fenómeno fue de 200 hz.

Se aplicó EFA para obtener los espectros de absorción del Lirio Acuático, donde la frecuencia de modulación utilizada fue de 50 Hz.

BIBLIOGRAFÍA

- Anon. 1985. *Guidelines for the use of Herbicides in or near Water*. Department of Resources y Energy; Australian Water Resources Council. Australian Government Publishing Service, Canberra.
 - Barrett S.C.H. y I.W. Forno 1982. Style morph distribution in new world populations of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms-Laubach (water hyacinth). *Aquatic Botany* 13: 299- 306.
 - Beshir M.O. y F.D. Bennett 1985. Biological control of water hyacinth on the White Nile, Sudan. In: E.S. Delfosse (Ed.). *Proceedings, VI International Symposium Biological Control of Weeds, Agosto 1984, Vancouver, Canada*. Agriculture Canada, pp 491-496.
 - Donselaar J. van 1968. Water y marsh plants in the artificial Brokopondo Lake (Surinam, S. America) during the first three years of its existence. *Acta Botanica Neerlandica* 17: 183-196.
 - Gopal B. 1987. *Water Hyacinth*. Elsevier, Amsterdam.
 - Gopal B. y K.P. Sharma 1981. *Water-Hyacinth (Eichhornia crassipes) the most troublesome weed of the world*. Hindasia, Delhi.
-
-

-
-
- Hamdoun A.M. y K.B. El Tigani 1977. Weed problems in the Sudan. *PANS* 23: 190-194.

 - Harley K.L.S. 1992. *Survey of water hyacinth and other floating aquatic weeds in Guyana*, Unpublished report of a consultancy. Commonwealth Science Council, London.

 - Harley K.L.S. y I.W. Forno 1989. Management of aquatic weeds. Biological control by means of arthropods. En: A.H. Pieterse y K.J. Murphy (Eds.), *Aquatic Weeds*, Oxford University Press, Oxford, pp 177-186.

 - Harley K.L.S. y A.D. Wright 1984. Implementing a program for biological control of water hyacinth, *Eichhornia crassipes*. En: G. Thyagarajan (Ed.). *Proceedings International Conference on Water Hyacinth, February 1983, Hyderabad, India*. UNEP, Nairobi, pp 58-69.

 - Holm L.G., D.L. Plucknett, J.V. Pancho y J.P. Herberger 1977. *The World's Worst Weeds. Distribution and Biology*. The University Press of Hawaii, Honolulu.

 - Howard-Williams C. y K. Thompson 1985. The conservation and management of African wetlands. En: P. Denny (Ed.). *The Ecology and Management of African Wetland Vegetation*, W. Junk, Dordrecht.

 - Irving N.S. y M.O. Beshir 1982. Introduction of some natural enemies of water hyacinth to the White Nile, Sudan. *Tropical Pest Management* 28: 20-26.

 - Jamieson G.I., C. Kershaw y R.J. Ciesiolka 1977. Waterhyacinth control on the lower Fitzroy River. *Journal Aquatic Plant Management* 15: 5-9.
-
-

-
-
- Julien M.H. 1992. *Biological Control of Weeds. A World Catalogue of Agents and their Target Weeds. 3rd edition.* CABI, Wallingford.

 - Limon L.G. 1984. Mexican agency studies aquatic weeds. *Aquaphyte*, Fall 1984, p 3.

 - Matthews L.J., B.E. Manson y B.T. Coffey 1977. Longevity of waterhyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) seed in New Zealand. *Proceedings 6th Asian-Pacific Weed Science Conference, 1968* 1: 273-277.
 - Mitchell D.S. 1985. African aquatic weeds and their management. En: P. Denny (Ed), *The Ecology and Management of African Wetland Vegetation*, W. Junk, Dordrecht, pp 177-202.

 - Perkins B.D. 1972. Potential for water hyacinth management with biological agents. *Proceedings Annual Tall Timbers Conference on Ecological Animal Control by Habitat Management. February 1972.* pp 53-64.

 - Perkins B.D. 1973. Release in the United States of *Neochetina eichhorniae* Warner, an enemy of water hyacinth. *Proceedings of the 26th Annual Meeting of the Southern Weed Science Society (U.S.A.)*. p 368.

 - Philipp O., W. Koch y H. Koser 1983. *Utilisation and control of water hyacinth in Sudan.* GTZ, Dag-Hammarskjold-Weg.

 - Pieterse A.H. 1978. The water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) - a review. *Abstracts on Tropical Agriculture* 4: 9-42.
-
-

-
-
- Reddy K.R., M. Agami y J.C. Tucker 1989. Influence of nitrogen supply rates on growth and nutrient storage by water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) plants. *Aquatic Botany* 36: 33-43.
 - Reddy K.R., M. Agami y J.C. Tucker 1990. Influence of phosphorus on growth and nutrient storage by water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) plants. *Aquatic Botany* 37: 355-365.
 - Reddy K.R., M. Agami, E.M. D'Angelo y J.C. Tucker 1991. Influence of potassium on growth and nutrient storage by water hyacinth. *Bioresource Technology* 37: 79-84.
 - Scott W.E., P.J. Ashton y D.J. Steyn, sin fecha. *Chemical control of the water hyacinth on Hartbeespoort dam*. Department of Water affairs, Pretoria.
 - Sculthorpe C.D. 1971. *The Biology of Aquatic Vascular Plants*. Edward Arnold, Londres
 - Smith L.W., R.E. Williams, M. Shaw y K.R. Green 1984. A water hyacinth eradication campaign in New South Wales, Australia. En: G. Thyagarajan (Ed.). *Proceedings International Conference on Water Hyacinth, February 1983, Hyderabad, India*. UNEP, Nairobi, pp 925-935.
 - Wright A.D. y T.D. Center 1984. Biological control: Its place in the management of water hyacinth. En: G. Thyagarajan (Ed.). *Proceedings International Conference on Water Hyacinth, February 1983, Hyderabad, India*. UNEP, Nairobi, pp 793-802.
 - D.P. Almond; P.M. Patel, "Photothermal Science and Techniques", Chapman & Hall, First edition, 1996.
-
-

-
-
- Gutiérrez, L. E.; Uribe G. E.; Ruiz , F.E y Huerto D. R. “Control Integral del Lirio Acuático”, 1997.
 - A. L. Lehninger, “Bioquímica”, Omega, 2a Edición, 1995.
 - H. Curtis; N. S. Barnes, “Biología”, Panamericana, 6a. Edición, 2000.
 - A.C. Pereira; M. Zerbetto; G. C. Silva; H. Vargas; W. J. Da Silva; G. Nieto; N. Cella; L. M. Miranda. “OPC technique for *in vivo* studies in plant photosynthesis research” Meas. Sci. Technol. 3. 1992.
 - John T.O. Kirk. “Light & Photosynthesis in Aquatic Ecosystems”. Cambridge University Press. Second Edition. 1994.
 - Blankenship R. E. “Molecular Mechanisms of Photosynthesis”. Blackwell Science. First Edition. 2002.
-
-