

VARIAÇÕES NATURAIS DA CONCENTRAÇÃO DE CO₂ E
DA RAZÃO ISOTÓPICA ¹³C/¹²C NO AR ATMOSFÉRICO

DINIVAL MARTINS

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade
de São Paulo, para obtenção do título de
Mestre em Energia Nuclear na Agricultura.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Agosto - 1981

VARIAÇÕES NATURAIS DA CONCENTRAÇÃO DE CO₂ E
DA RAZÃO ISOTÓPICA ¹³C/¹²C NO AR ATMOSFÉRICO

DINIVAL MARTINS

Orientador: ENEAS SALATI

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade
de São Paulo, para obtenção do título de
Mestre em Energia Nuclear na Agricultura.

A meus pais

Oscar e Clementina,

OFEREÇO

*A minha esposa Chica
e meus filhos Kely e Deny*

DEDICO

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Dr. Eiichi Matsui, cientista incansável, pela amizade, pelo alto espírito de colaboração, pelo incentivo constante e pelas várias sugestões, inestimáveis para a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Eneas Salati pela orientação;
- Ao CENA pelas facilidades oferecidas;
- À FAPESP e CNPq pelo apoio financeiro;
- Ao amigo Roberto Braidotti pelo auxílio técnico;
- Aos auxiliares de laboratório José Aurélio Bonassi, Maria Antonia Zambetta Perez e Maria Isabel Beira Moda, pelas análises isotópicas;
- Ao Dr. Carlos Moura dos Reis e Dra. Maria de Nazaré Góis Ribeiro pelo apoio em Belém e Manaus respectivamente;
- À FAB na pessoa do Coronel Carlomam Tatagiba de Azevedo pelas amostragens realizadas no Nordeste;
- Aos vigias Osvaldo Diniz e Novênio Paggiaro pela proteção durante as amostragens noturnas;
- À cara amiga Neusa Maria Augusti pelo serviço de datilografia;
- Ao colega Clovis Ângeli Sansígolo pela contribuição;

- Ao colega Romeu Aparecido Rocha pelos desenhos técnicos;
- Aos amigos Benedito Herculano Davanzo e Celso de Aguiar pela composi
ção gráfica;
- A todos os amigos da Divisão de Ciências Ambientais pelo ambiente de
cordialidade mantido nos laboratórios;
- E a todos aqueles que, de uma maneira ou outra, contribuíram para a
realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADO

ÍNDICE

	Página
RESUMO	<i>xiii</i>
SUMMARY	xv
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DA LITERATURA	03
3. METODOLOGIA	16
3.1. Medida da concentração de CO ₂ no ar atmosférico	16
3.1.1. Analisador de gás infravermelho modelo IRGA 20 ..	16
3.1.2. Sistema de admissão de amostras do analisador de gás	18
3.1.3. Padrões para a medida da concentração de CO ₂	21
3.1.4. Coleta do ar atmosférico para análise da concen- tração de CO ₂	28
3.2. Medida da variação natural da razão isotópica ¹³ C/ ¹² C no CO ₂ do ar atmosférico	30

3.2.1. Coleta de CO ₂ do ar atmosférico utilizando N ₂ -líquido (-190°C)	31
3.2.2. Coleta de CO ₂ do ar atmosférico utilizando "molecular sieve" tipo 4 Å	33
3.2.3. Extração e purificação do CO ₂ coletado em "traps"	34
3.2.4. Extração e purificação do CO ₂ do ar atmosférico coletado em recipientes de aço inoxidável	37
3.3. Medida da variação natural da razão isotópica ¹³ C/ ¹² C em amostras de plantas	39
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	44
4.1. Cálculo da concentração de CO ₂ nos diferentes padrões e curva padrão de análise	44
4.2. Determinação da concentração de CO ₂ em diferentes horários do dia	52
4.3. Medidas da concentração de CO ₂ em amostras de ar	58
4.4. Correlação entre a concentração de CO ₂ e razão isotópica ¹³ C/ ¹² C no ar atmosférico	58
4.5. Concentração de CO ₂ no ar atmosférico nas proximidades de Manaus e no INPA	62

	Página
4.6. Determinação da concentração de CO ₂ e razão isotópica ¹³ C/ ¹² C em diferentes localidades do Brasil	63
4.7. Medidas de concentração de CO ₂ e razão isotópica ¹³ C/ ¹² C na floresta Amazônica	65
4.8. Comparação entre as razões isotópicas ¹³ C/ ¹² C no carbono fixado pelas plantas e no CO ₂ atmosférico	67
5. CONCLUSÕES	69
LITERATURA CITADA	71

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Concentração de CO ₂ dos diferentes padrões de análise preparados em laboratório	45
Tabela 2. Resultados obtidos na análise dos padrões, e estimativa da concentração de CO ₂ do padrão referência G-1 ..	48
Tabela 3. Desvios em milímetros dos padrões P-11 e P-22 e a determinação da concentração do padrão referência G-1 .	49
Tabela 4. Desvios em milímetros dos padrões G-2 e G-3 em relação ao padrão referência G-1 e suas concentrações de CO ₂	50
Tabela 5. Concentração de CO ₂ no ar atmosférico nas proximidades de Manaus (AM)	62
Tabela 6. Resultados analíticos de amostras de ar atmosférico coletadas no Norte e Nordeste do Brasil	64
Tabela 7. Resultados analíticos de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ no CO ₂ do ar atmosférico em Ubatuba (SP)	65

Tabela 8. Valores de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e concentração de CO_2 do ar atmosférico na floresta Amazônica	66
Tabela 9. Resultados analíticos da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ em amostras de plantas cultivadas em diferentes partes do Brasil	67

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Esquema do analisador infravermelho de gás modelo IRGA 20	17
Figura 2. Sistema de admissão do analisador de gás	18
Figura 3. Sistema de alto vácuo, utilizado para obtenção de volu- mes conhecidos de CO ₂ purificado	21
Figura 4. Sistema de circulação gasosa, para o preparo de mistu- ras padrões de CO ₂	25
Figura 5. Balão de coleta de ar atmosférico	29
Figura 6. Sistema de coleta de ar atmosférico em recipientes de aço inoxidável	29
Figura 7. Sistema coletor de CO ₂ do ar atmosférico utilizando N ₂ líquido (-190°C)	32
Figura 8. Sistema para coleta de CO ₂ do ar atmosférico utilizan- do "molecular sieve" tipo 4 Å	33

Figura 9. Sistema de extração e purificação do CO ₂ coletado em "traps"	35
Figura 10. Sistema de extração de CO ₂ do ar contido no recipiente de aço inoxidável	38
Figura 11. Sistema de combustão da matéria orgânica sob fluxo contínuo de O ₂	40
Figura 12. Registro de uma análise conjunta dos padrões para a determinação da concentração de CO ₂ dos padrões G-1, G-2 e G-3	46
Figura 13. Curva padrão para as determinações de concentrações de CO ₂ no analisador infravermelho de gás IRGA-20 ..	51
Figura 14. Variação da concentração de CO ₂ - CENA 16/05/80	53
Figura 15. Concentrações de CO ₂ no início da noite	53
Figura 16. Oscilações na concentração de CO ₂ no ar atmosférico CENA 12/06/80	54

Figura 17. Concentração de CO ₂ no ar atmosférico calculadas a cada 5 minutos num período de 24 horas, CENA 14-15 06/1980.....	55
Figura 18. Comparação da determinação da concentração de CO ₂ num fluxo contínuo de ar atmosférico e em amostras de ar coletadas em recipientes especiais CENA	57
Figura 19. Variação da concentração de CO ₂ no ar atmosférico nas diferentes horas do dia, dentro e fora da mata	59
Figura 20. Concentração de CO ₂ e variação natural da razão isotópica $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ no ar atmosférico	60

VARIAÇÕES NATURAIS DA CONCENTRAÇÃO DE CO₂ E DA RAZÃO ISOTÓPICA ¹³C/¹²C NO
AR ATMOSFÉRICO

Dinival Martins

Eneas Salati
Orientador

RESUMO

Foram construídos diversos sistemas e testadas várias técnicas de amostragens para as determinações da concentração e da razão isotópica ¹³C/¹²C do CO₂ atmosférico. Foi construído um sistema para preparo de padrões de ar seco com concentrações desejadas de CO₂ próximas do ar atmosférico, com desvios menores que 0,5ppm. Utilizando-se de um analisador de gás pelo princípio de absorção de radiação infravermelha (IRGA-20 da Grubb Parsons), foi possível medir concentrações absolutas de CO₂ no ar atmosférico com desvio padrão menor que 2ppm e variações relativas com desvio menor que 0,5ppm. A adaptação de um sistema de introdução de amostras gasosas ao analisador, possibilitou a realização de análise da variação da concentração de CO₂ num fluxo contínuo de ar atmosférico pelo método dinâmico, e pelo método estático no qual a concentração de CO₂ foi determinada em amostras de ar atmosférico coletadas em recipientes especiais pré-evacuados. Os sistemas de amostragens desenvolvidos, para coleta do ar atmosférico e

CO₂ para análise da variação da razão isotópica ¹³C/¹²C por espectrometria de massa, mostraram ser práticos, eficientes e de fácil operação. Nas determinações da concentração de CO₂ realizados durante 24 horas em áreas florestadas, verificou-se a baixa concentração nas horas de intensa atividade fotossintética das plantas e um acúmulo de CO₂ no ar atmosférico no período noturno devido à respiração das plantas e do solo. Os valores de δ¹³C/¹²C para o CO₂ atmosférico das diferentes regiões do Brasil, mostraram ser mais negativos nas áreas florestadas em comparação com as litorâneas, demonstrando a influência da floresta na dinâmica do CO₂ na biosfera.

NATURAL VARIATION OF CO₂ CONCENTRATION AND ¹³C/¹²C
ISOTOPIC RATIOS IN THE AIR

Dinival Martins

Eneas Salati
adviser

SUMMARY

Various sampling systems were constructed and several sampling techniques tested to determine air CO₂ concentration and ¹³C/¹²C ratio. A system was constructed to prepare dry air standards with the desired CO₂ concentration, close to that of air, with deviations smaller than 0.5 ppm. Using an Infrared absorption gas analyser (IRGA-20, Grubb Parsons) it was possible to measure absolute concentration of air CO₂ with a standard deviation smaller than 2 ppm, and relative variation with a deviation smaller than 0.5 ppm. Through the adaptation of a system to feed gas samples to the analyser, it was possible to perform analysis of the variation in CO₂ concentration in a continuous air flow by the dynamic method, and by the static method in which the air CO₂ concentration was determined in samples collected in special, pre-evacuated receivers. The sampling systems developed for collection of air and CO₂ to analyse the variation in ¹³C/¹²C isotopic ratio by mass spectrometry, proved to be practical, efficient and easy to operate. Determination of CO₂ concentration in forest areas for 24 hours showed a low concentration during the hours

of high plant photosynthetic activity and an accumulation of air CO₂ during the night due to plant and soil respiration. ¹³C/¹²C values in air CO₂ in different regions of Brasil were more negative in the forest as compared to coastal areas, indicating the influence of the forest on the dynamics of CO₂ in the biosphere.

1. INTRODUÇÃO

O aumento da concentração do dióxido de carbono no ar atmosférico, é um fato incontestável. As causas bem como os efeitos desse desequilíbrio, são fatores que motivam muitos pesquisadores a desenvolverem milhares de trabalhos, na esperança de se obter respostas satisfatórias para o problema. Diversos meteorologistas afirmaram, baseados em modelos matemáticos, que a temperatura média do globo terrestre poderá aumentar com a elevação da concentração de CO₂, (SLADE, 1978). Se essas previsões se concretizarem, algumas alterações ecológicas importantes poderão ocorrer, principalmente no ciclo da água (alteração dos índices pluviométricos e degelo nas calotas polares).

O Homem, indubitavelmente, é o grande responsável pelo aumento global da concentração de CO₂. A queima de combustíveis fósseis, e principalmente a destruição de grandes florestas são os principais fatores que adicionam CO₂ à atmosfera.

A fotossíntese, realizada pelas plantas, retira o CO₂ da atmosfera, fixando-o na biosfera. As grandes áreas florestadas, dentre

as quais destaca-se a Floresta Amazônica, são regiões que merecem atenção especial, pois a simples destruição ou mesmo a substituição da mata por pastagens ou culturas anuais, poderá alterar o equilíbrio ecológico, com danos irreparáveis.

A obtenção de dados, que permitem uma possível utilização racional das florestas, é uma necessidade nos dias atuais. A utilização de técnicas modernas de medidas, permitem acompanhar a evolução dos fenômenos naturais, prevendo em tempo hábil prováveis alterações ecológicas.

Este trabalho tem como objetivo, a obtenção de padrões para a determinação da concentração de CO₂ no ar atmosférico através dos analisadores infravermelhos de gás (IRGA) e estabelecer algumas técnicas de amostragens de CO₂ e de ar atmosférico para análise da variação da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ por espectrometria de massa, que contribuirão na obtenção de parâmetros para o estudo do ciclo do carbono.

2. REVISÃO DA LITERATURA

O dióxido de carbono (CO_2), foi reconhecido como componente do ar atmosférico, quando McBRIDE (1764) estimou por gravimetria a quantidade de CO_2 num volume conhecido de ar que ficou em contacto com uma solução alcalina básica. Esse processo, após modificações serviu como padrão por longo tempo.

O CO_2 é a forma na qual o carbono se desloca até a biosfera e desta retorna à atmosfera. A biosfera contém uma complexa mistura de compostos de carbono num contínuo estado de criação, transformação e decomposição. No ciclo do carbono, o CO_2 atmosférico é fixado pelo processo fotossintético, realizado por plantas e certos microrganismos. Nesse processo, o CO_2 e a água reagem para formar carboidratos, com liberação de O_2 que entra na atmosfera. Parte dos carboidratos é consumido diretamente para suprir energia à planta, liberando o CO_2 para a atmosfera, pelas folhas das plantas ou por suas raízes. Parte do carbono fixado pelas plantas é consumido pelos animais, que também respiram e liberam CO_2 . Vegetais e animais morrem e são posteriormente decompostos por microrganismos no solo; o carbono de seus tecidos é oxidado a CO_2 e retorna à at-

mósfera. Um ciclo similar a este também ocorre no mar (BOLIN, 1974). Segundo CLOUD (1974), o dióxido de carbono respirado pelas células animais e vegetais entra na atmosfera e é novamente fixado pelas células vegetais, após uma residência atmosférica média de cerca de 300 anos.

Desde o início do século XIX, tem-se realizado medidas de concentração do CO₂ na atmosfera, podendo-se destacar os seguintes trabalhos:

LÉWY (1850), fez a primeira determinação da concentração de CO₂ do ar atmosférico na América do Sul (Vila de Santa Fé de Bogotá-Colômbia). Os resultados, nos meses de agosto e setembro alcançaram um valor máximo, chegando a 47 partes em 10.000 partes de ar, mas de março a julho não passaram de 3 a 4 partes em 10.000.

MÈNE (1851), realizou várias análises do ar em diferentes alturas no "Pantheon" em Paris. A quantidade de ar coletada por amostragem era de 115 a 160 litros. O mesmo autor, apresentou um novo método de dosagem do CO₂ atmosférico em que o ar aspirado, passava por um recipiente contendo uma quantidade conhecida de potassa cáustica com indicador (tornassol). Doze anos depois, MÈNE (1863), publicou uma série de conclusões baseadas em seus trabalhos, onde ele relaciona algumas causas da variação da concentração de CO₂ no ar atmosférico. Esse autor, foi um dos primeiros a afirmar que a concentração de CO₂ não era a mesma durante todo o ano e que durante a noite a concentração era maior.

TRUCHOT (1873), descreveu um método de avaliação da concentração de CO₂ no ar atmosférico utilizando água de barita. Foram realiza

das medidas durante o dia e a noite em Clermont-Ferrand (França) e no campo, a alguns quilômetros da vila, na presença e na ausência de vegetação. Os resultados são expressos em volume de $\text{CO}_2/10000$ volumes de ar:

Clermon Ferrand (sobre o solo)	{	dia	3,53		
		noite	4,03		
no campo	{	sem vegetação	{	dia	3,14
			noite	3,78	
	com vegetação	{	dia com sol	3,54	
		dia sem sol	4,15		
		noite	6,49		

Os resultados, demonstram a variação da concentração de CO_2 entre o dia e a noite, sendo a diferença maior na presença da vegetação. O mesmo autor, realizou medidas de concentração de CO_2 em diferentes altitudes:

Clermont-Ferrand (395 m)	3,13
Cume de Pay Dôme (1446 m)	2,03
Pico de Sancy (1884 m)	1,72

Através dos valores obtidos, observa-se que a concentração de CO_2 diminui da menor para a maior altitude.

REISET (1879), mediu com precisão, 92 amostras coletadas no campo a 8 Km de Diepe. Os resultados obtidos foram em torno de (290 ppm); e o autor afirmou que somente em condições muito especiais é que os resultados atingiam valores mais altos, mas não passava de (300 ppm).

O Dr. Hyades, realizou viagem para o cabo Horn, no extremo sul da América do Sul e determinou a concentração de CO₂ no ar atmosférico, cujos resultados foram apresentados e discutidos por MÜNTZ e ALBIN (1884). Os resultados, de certa forma, confirmaram a teoria de Schloesing, o qual dizia que o hemisfério sul possuía menor concentração de CO₂ no ar atmosférico, quando comparado com o hemisfério norte. Os resultados foram em média (256 ppm) para o hemisfério sul e (284 ppm) para o hemisfério norte.

KEELER (1884), descreveu um aparelho construído para pesquisar a absorção térmica pelo dióxido de carbono. Era o início de uma nova técnica para medidas de concentração de CO₂. Mais tarde TRABERT (1894) e ARRHENIUS (1896), utilizaram a nova metodologia e definiram as linhas de absorção do CO₂, vapor d'água e outros elementos, bem como a influência do CO₂ na absorção da radiação solar.

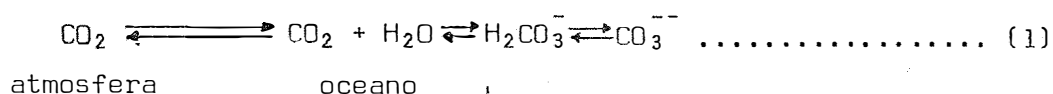
MATTOS (1920), foi o primeiro a determinar a concentração de CO₂ no ar atmosférico de São Paulo. Os equipamentos utilizados, foram construídos pelo próprio autor e a dosagem do "ácido carbônico" era feita após o borbulhamento de 120 litros de ar através de uma solução de soda cáustica, contida em três provetas especiais; em seguida titulava-se com uma solução de ácido acético empregando-se fenolftaleína como indicador. Os valores obtidos, eram extrapolados para 100 m³ de ar. As médias mensais foram de 311, 314, 313 e 312 ppm para os meses de junho, julho, agosto e setembro de 1920, respectivamente. Deve-se salientar, que o "Gabinete de análise do ar em São Paulo" localizava-se na Avenida Paulista, e provavelmente os resultados tenham sofrido a influência

do meio urbano, elevando assim a concentração média de CO₂ para a época.

Com o advento dos veículos automotores, os quais utilizam derivados de petróleo surgiu uma nova fase que questionava a sua influência ou não na concentração de CO₂ no ar atmosférico, CARPENTER (1937), demonstrou num trabalho realizado no período de 1930 a 1936, que a concentração de CO₂ em New Hampshire, Baltimore e Washington foi constante em torno de 0,031% (~310 ppm). O CO₂ atmosférico foi absorvido em solução de KOH, que posteriormente era titulada. A bureta utilizada era de precisão e permitia leitura de 0,001% do volume. Pelos resultados, o autor concluiu que não existia evidência de variações sazonais ou pela presença de grandes consumidores de combustíveis. Os valores de concentração de CO₂ não demonstraram nenhuma variação mensurável. Por outro lado, CALLENDAR (1958), num trabalho bibliográfico sobre o teor de CO₂ na atmosfera, demonstrou que de 1865 a 1901, os valores de concentração oscilaram em torno de 291,5 ppm; e de 1909 a 1956 chegou a 324 ppm. Destacou ainda, o autor, que as medidas de concentração de CO₂ na atmosfera, realizados antes de 1870, deveriam ser rejeitados, pois as técnicas de coleta e análise das amostras proporcionavam erros de até 100%.

SCHLOESING (1880), foi o primeiro a afirmar que os oceanos mantinham o teor de CO₂ do ar atmosférico constante, baseado em análise de concentração de sais nas águas do canal da Mancha. CALLENDAR (1958), afirmou, baseado em trabalhos anteriores, que apesar do equilíbrio entre as concentrações de CO₂ na atmosfera e as águas superficiais dos oceanos, existe um aumento na concentração do CO₂ na atmosfera, o que significa que os oceanos não estão aceitando o excesso da produção do mesmo. Quan-

do o CO₂ proveniente da atmosfera dissolve-se nas águas dos oceanos, ocorre basicamente a cadeia de reações.



KANWISHER (1960), mediu a tensão exercida pelo CO₂ dissolvido nas águas marinhas. A pressão parcial ou tensão exercida pela dissolução física do CO₂ é denominada de pCO₂. O autor, concluiu que essa tensão aumentava 4,5%/°C, e o pH decrescia com o aumento da temperatura. O abaixamento do pH, pode afetar o equilíbrio mostrado pela equação (1) e os mares funcionariam como mais uma fonte de CO₂ à medida que a temperatura aumentasse. HALDANE (1936), determinou a concentração de CO₂ na massa de ar originária do mar, na costa de Ayrshire e encontrou valores em torno de 370 ppm de CO₂. Por outro lado, amostragens realizadas na costa sul da ilha de Wight, tiveram os resultados em torno de 270 ppm. Pensava-se, geralmente, que o mar que rodeia as Ilhas Britânicas agisse como um sumidouro de CO₂; mas através das observações feitas, isso nem sempre ocorre, devido talvez a um desequilíbrio na cadeia de reação já mencionada. PEARMAN e GARRAT (1972), estudando o sistema atmosfera-oceano, ressaltaram que os oceanos também funcionam como fonte de CO₂. As águas quentes dos oceanos da região equatorial agem como fonte de CO₂ para a atmosfera; enquanto que os oceanos das regiões de latitudes maiores que 30°, são os maiores absorvedores de CO₂ da atmosfera.

A preocupação dos pesquisadores, em obter respostas satisfatórias quanto ao aumento da concentração de CO₂ na atmosfera, é notada através da quantidade de trabalhos publicados. Embora a maioria dessas

pesquisas tenham sido realizadas no hemisfério norte, foram desenvolvidas novas metodologias para medir com precisão, em qualquer parte do globo terrestre, a concentração de CO₂ numa mistura gasosa. Sabe-se que a radiação infravermelha (onda longa) é absorvida pelas moléculas de CO₂ e vapor d'água; como a maioria da radiação refletida pela terra é de onda longa, ocorre a interação aquecendo a superfície do globo terrestre (efeito estufa). Foi baseado nesse fenômeno que surgiram os aparelhos de medidas de concentração de CO₂ mais precisos que existem, os analisadores infravermelho de gás (IRGA).

RIGAUD (1974), fez uma revisão dos métodos utilizados para a determinação da concentração de CO₂ dissolvido em líquidos e em misturas gasosas. Dos métodos estudados, a colorimetria e a condutimetria foram considerados bons, mas o método físico de espectrometria infravermelho, é mais importante, por ser específico e preciso.

Os analisadores baseados na absorção proporcional da radiação infravermelha, IRGA (Infra Red Gas Analyser), fazem medidas relativas, isto é, fornecem os resultados em relação a um padrão. FONCELIUS e WÄRME (1960), desenvolveram uma metodologia de preparo de misturas padrões para calibração dos analisadores IRGA. Um volume medido de CO₂ puro a pressão e temperatura conhecidos, é misturado com ar isento de CO₂ num recipiente pré-evacuado. Os autores, afirmaram que essa técnica, permitia fazer padrões cuja concentração de CO₂ variava de 1 a 400 ppm. A precisão fornecida pelos analisadores IRGA é da ordem de ± 1 ppm. A metodologia, sem dúvida, fornece bons resultados, mas para a monitoração diária da concentração do CO₂ no ar atmosférico, existe a necessidade de um

estoque grande da mistura padrão. WHITFIELD (1980), propôs uma sistemática para calibração de analisadores IRGA, numa larga faixa de concentrações de CO₂ (0 - 500 ppm até 0 a 5000 ppm). Os resultados mostraram que a precisão desses analisadores são de ± 1 ppm nas faixas de 0 a 500 ppm e de ± 5 ppm para as faixas de 0 a 5000 ppm. Nos testes com absorventes de CO₂, os resultados concordaram com as medidas dos analisadores IRGA em 2 a 3%. Ultimamente, a maioria das pesquisas que necessitem medidas de concentração de CO₂, utilizam analisadores IRGA, por serem os mais precisos e versáteis.

KEELING et alii (1976a), utilizando-se de um analisador IRGA acoplado a um computador, determinou a concentração de CO₂ atmosférico no observatório de Mauna Loa, Hawaí, no período de 1964 a 1971. Comparado com resultados anteriores, houve um aumento na concentração de CO₂ de 3,4% entre 1959 a 1971. Um aumento de 3,7% também foi verificado no período de 1957 a 1971 no Polo Sul, evidentemente mostrando ser um fenômeno global (KEELING et alii, 1976b). Desde o início da revolução industrial, e com o aumento da utilização de combustíveis fósseis como fonte de energia, o CO₂ que se mantinha na proporção de 290 ppmv nos meados de 1880, passou para praticamente 330 ppmv hoje. Numa extrapolação feita, McLEAN (1978) estimou que no ano 2000 a concentração de CO₂ na atmosfera seria de 385 ppmv, e que de 1800 até hoje, a temperatura média do globo terrestre aumentou de 0,5^oC e deverá aumentar mais 0,5^oC até o ano 2000.

Depois de afirmar que: "existe a necessidade de um século de trabalho científico para se calcular com alguma certeza a extensão da influência do dióxido de carbono na atmosfera", PLASS (1956) demonstrou

que a influência do CO_2 no fluxo da radiação infravermelha quando a concentração do mesmo dobrar, a temperatura média aumentará $3,6^\circ\text{C}$ e se a concentração reduzir pela metade, teremos um abaixamento da temperatura de $3,8^\circ\text{C}$ (podendo iniciar uma era glacial). KAPLAN (1960), contestou as afirmações de PLASS (1956) e baseado no balanço de energia estimou um abaixamento de $1,8^\circ\text{C}$ para uma redução de 50% na concentração do CO_2 atmosférico.

WOODWELL et alii (1978) afirmaram que após 7 anos de revisão sobre o balanço global do dióxido de carbono, confirmou-se que sua concentração realmente aumentou na atmosfera. A principal fonte de CO_2 tem sido comumente aceita como sendo a queima de combustíveis fósseis; e os maiores sumidouros são os oceanos, apesar de possuir uma taxa de mistura muito baixa, acumulando assim o CO_2 na atmosfera. Entretanto os autores analisaram outro sumidouro, a fotossíntese, que segundo alguns autores é estimulada pelo aumento da concentração de CO_2 . Recentemente, existe uma dúvida quanto à possibilidade da biosfera funcionar como fonte de CO_2 . A quantidade de carbono existente na biosfera juntamente com o húmus, é duas ou três vezes maior que o total em média existente na atmosfera, com possibilidade de a curto prazo causar variação no teor de CO_2 atmosférico. Em condições extremas a biosfera libera para a atmosfera, cerca de $18 \times 10^{15}\text{g C/ano}$, sendo mais de três vezes a quantidade liberada pela queima de combustíveis fósseis que é estimada em $5 \times 10^{15}\text{g de C/ano}$. A quantidade total de carbono fixado na vegetação continental, estimada em 1950, foi $830 \times 10^{15}\text{g}$, sendo que mais de 90% estavam nas grandes áreas florestadas aproximadamente $461 \times 10^{15}\text{g}$ nas florestas tropicais (sazonais

e pluviais).

A floresta Amazônica é a maior floresta tropical pluvial remanescente do mundo. Num estudo realizado em Western Llanos, Venezuela, mostrou que houve uma redução de 32,5% na área florestada no período de 1950 a 1975, correspondendo a um deflorestamento da ordem de 1,3% ao ano. As florestas do Brasil, de um modo geral, estão se extinguindo: São Paulo (área 250000 Km²) possuía 60% de sua área coberta com florestas naturais; devido ao crescimento demográfico, em 1950 verificou-se que existia apenas 20%. No Paraná, entre 1953 e 1963, a área de florestas correspondia a 65000 Km², mas sofreu um deflorestamento à base de 3% ao ano. Atualmente, os reflorestamentos tem sido incentivados e no Paraná e São Paulo já cobrem 10% das áreas deflorestadas.

ADAMS et alii (1977) comentaram que além do processo de deflorestamento afetar a taxa de absorção de CO₂ da atmosfera, a queima da madeira, juntamente com os combustíveis fósseis contribuem para aumentar a concentração de CO₂ na atmosfera. Comparando-se a utilização da madeira nos Estados Unidos e no Brasil, demonstrou-se que a perda líquida de madeira per cápta no ano de 1970 foi de 0,2 toneladas métricas nos Estados Unidos e 3,5 toneladas métricas no Brasil.

Uma das formas para estudar o problema do CO₂ atmosférico é além da determinação periódica do seu teor na atmosfera em estações estrategicamente distribuídas no país, utilizar os isótopos do carbono e do oxigênio para conhecer a origem real das fontes de dióxido de carbono. RODRIGUES e EPSTEIN (1974), analisaram aproximadamente 150 amostras de ar

atmosférico, quanto à concentração de CO_2 e a razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ em Pasadena, Califórnia. Os resultados das análises da concentração de CO_2 no ar atmosférico oscilam entre 318 e 415 ppm. Através das análises da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ foi possível identificar, pelo menos, duas fontes de produção de CO_2 provocadas pelo Homem: a queima de gás natural com 43%, com variação de $\delta^{13}\text{C}_{(\text{PDB})}$ entre $-36,9$ a $-39,1^{\circ}/\text{oo}$ e os gases de escape dos veículos com 57% sendo $\delta^{13}\text{C}_{(\text{PDB})}$ entre $-24,5$ à $-28,4^{\circ}/\text{oo}$.

Os primeiros a determinarem a razão isotópica absoluta $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ foram JENKINS e ORSTEIN (1932) por espectrometria óptica. O valor encontrado, foi 0,0094 para o carbono terrestre. A determinação absoluta mais precisa, foi realizada por NIER (1950), analisando o dióxido de carbono preparado a partir de um carbonato de Solenhofen. O valor encontrado foi $1123 \pm 3 \times 10^{-5}$.

A variabilidade da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ na natureza, foi logo descoberta e utilizada como traçador por inúmeros pesquisadores.

CRAIG (1953) e KEELING (1961), demonstraram que numa atmosfera livre e com concentração de CO_2 de 312 ppm, o valor correspondente da razão isotópica é $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = -7^{\circ}/\text{oo}$ em relação ao padrão internacional PDB (Peedee Belemite da Formação Peedee, Cretaceo Superior, Carolina do Sul, USA).

Nas determinações das razões isotópicas $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, ficou demonstrado que existe um fracionamento isotópico durante a fixação do CO_2 para formar a matéria orgânica. Os valores de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ para as plantas

são geralmente menores que o valor para o CO₂ atmosférico.

Trabalhos experimentais, realizados por NIER e GULBRANSEN (1939); PARK e EPSTEIN (1961); SMITH e EPSTEIN (1971) e TROUGHTON et alii (1974), tem indicado que as plantas superiores possuem a capacidade de discriminar o carbono-12 do carbono-13, ambos isótopos estáveis que ocorrem na natureza. Esta capacidade de discriminação é variável entre as espécies e está correlacionada com o tipo de fixação do CO₂ na fotossíntese, provavelmente ao nível da reação de carboxilação, (WHELAN et alii, 1973).

Através da determinação da razão isotópica $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ dos compostos orgânicos, tem sido possível identificar as plantas que possuem ciclo fotossintético C-3 ou C-4. As plantas de metabolismo C-3, apresentam maior fracionamento isotópico na absorção do CO₂, que as plantas C-4. A análise do material orgânico das plantas C-4, fornecem valores de $\delta^{13}\text{C}$ em torno de $-12^{\circ}/\text{oo}$ e as plantas C-3 em torno de $-28^{\circ}/\text{oo}$. Os valores de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de uma determinada região podem indicar a relação entre a fixação do CO₂ pela fotossíntese e a liberação pela respiração, que poderá ser um parâmetro de grande importância para os estudos de fisiologia ecológica, objetivando caracterizar a distribuição das espécies que ocorrem em comunidades naturais.

Problemas, no entanto, ainda existem nesse tipo de trabalho, porque a composição isotópica do tecido vegetal, depende não só do ciclo fotossintético da planta, mas também da composição isotópica do CO₂ atmosférico. Numa floresta, o CO₂ utilizado na elaboração da matéria orgânica é proveniente da atmosfera livre, da respiração das próprias plantas, e pela decomposição da matéria orgânica através dos microrganismos

do solo. A utilização de uma técnica que permita identificar e quantificar essas diferentes fontes de CO_2 , sem dúvida nenhuma, dará uma grande contribuição ao estudo do ciclo do carbono na biosfera.

3. METODOLOGIA

3.1. Medida da concentração de CO₂ no ar atmosférico

3.1.1. Analisador de gás infravermelho modelo IRGA-20 da Grubb Parsons

A determinação da concentração de CO₂ numa mistura gasosa foi realizada em um analisador de gás modelo IRGA-20. O aparelho possui duas fontes emissoras de radiação infravermelha, localizada nas extremidades de duas câmaras cilíndricas paralelas, denominadas de célula de referência e célula analítica. Para medidas absolutas, preenche-se a célula de referência com nitrogênio seco e mede-se a concentração de CO₂ na mistura gasosa contida na célula analítica ambas com a mesma pressão. As medidas relativas de concentração, são realizadas substituindo-se o nitrogênio seco por uma mistura gasosa padrão (CO₂ + N₂ seco) com concentração de CO₂ conhecida. O detector é constituído de duas câmaras seladas, contendo CO₂ a baixa pressão, separadas por um fino diafragma metálico que possui adjacente ao mesmo uma placa metálica perfurada, formando um condensador elétrico. Os dois feixes de radiação infravermelha provenientes das fontes, atravessam os interceptores e seguem em paralelo, sendo que

um deles atravessa a célula de referência e atinge uma das câmaras de absorção do detector e o outro atravessa a célula analítica atingindo a outra câmara de absorção do detector. A absorção da radiação infravermelha, é diretamente proporcional a concentração de CO_2 do gás contido nas células (analítica ou de referência); assim sendo, os feixes de radiação infravermelha que atingem as câmaras de absorção do detector, poderão possuir diferentes intensidades, provocando expansões diferentes no gás contido nas câmaras de absorção, que causará deflexão no diafragma metálico (Figura 1). O aumento da distância ou a aproximação entre o diafragma e a placa metálica perfurada, origina diferentes sinais elétricos que após serem amplificados, são transmitidos a um cursor da escala localizada na parte frontal do aparelho.

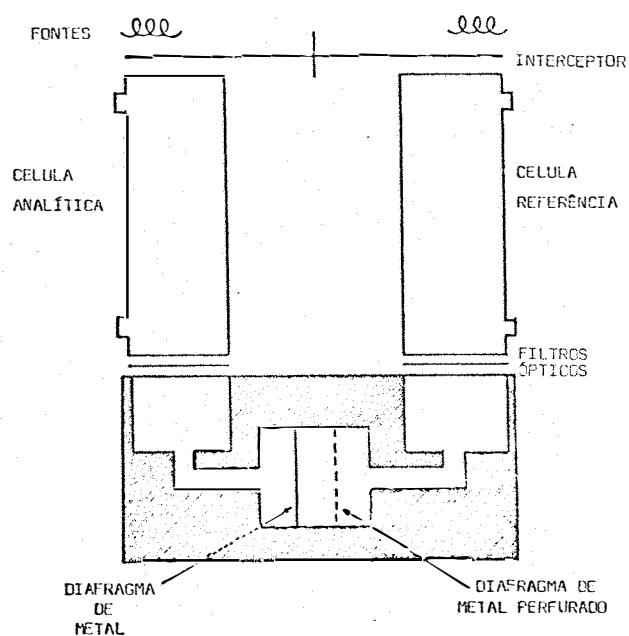


Figura 1 - Esquema do analisador infravermelho de gás modelo IRGA-20.

3.1.2. Sistema de admissão de amostras do analisador de gás

Construiu-se junto ao analisador de gás, um sistema que permite fazer vácuo nas células de referência e analítica, introduzindo posteriormente o gás padrão e amostra gasosa a ser analisada. Devido à versatilidade desse sistema, pode-se ainda, analisar a concentração de CO_2 no ar atmosférico sob fluxo constante de ar, mantendo-se o gás padrão em condições estáticas na célula de referência, ou ambos sob um mesmo fluxo.

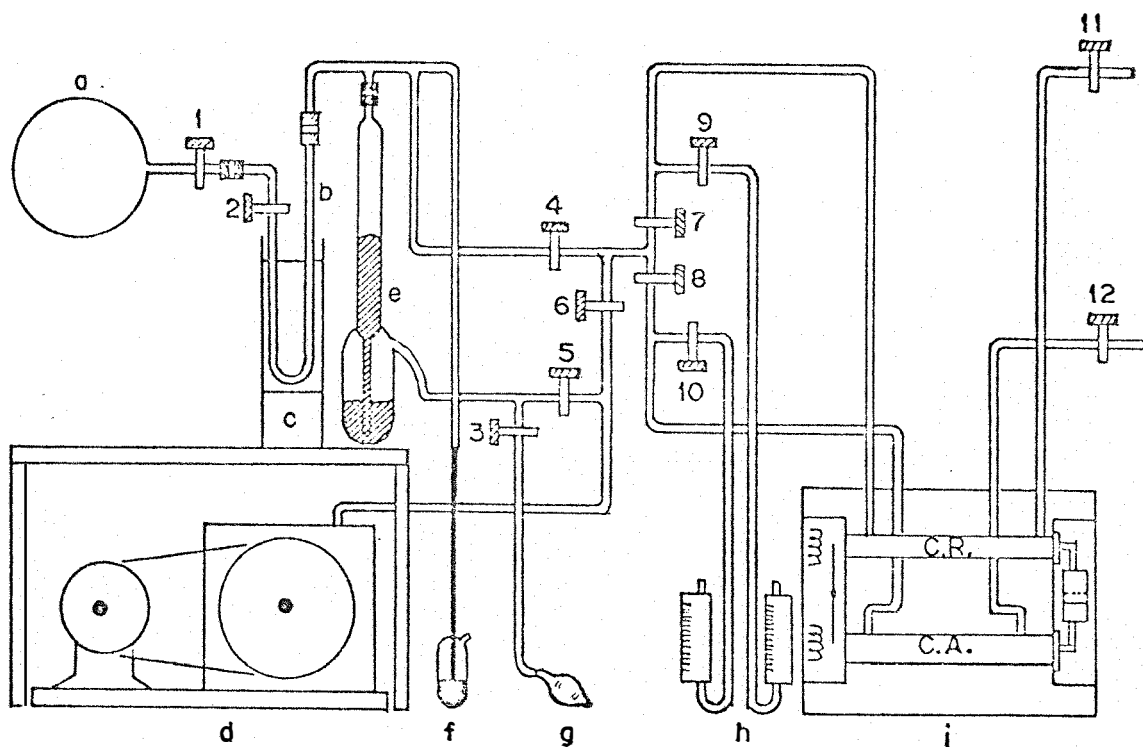


Figura 2 - Sistema de admissão do analisador de gás

A figura 2, ilustra um esquema do sistema de admissão do analisador infravermelho de gás, onde:

- (a) recipiente com ar atmosférico, no qual se pretende analisar a concentração de CO₂;
- (b) tubo em "U", mergulhado em uma mistura refrigerante (gelo seco + álcool) à -80°C para a retenção do vapor d'água da amostra de ar;
- (c) frasco de Dewar para conservar a mistura refrigerante;
- (d) bomba de vácuo, que permite evacuar todo o sistema, inclusive as células de referência (C.R.) e analítica (C.A.);
- (e) bomba "Toepler", através da qual pode-se aumentar ou diminuir a pressão do gás nas células C.R. e C.A.
- (f) manômetro de Hg, que permite a calibração de pressões iguais para todas as análises;
- (g) pera insufladora para aumentar a pressão na bomba "Toepler";
- (h) fluxômetros reguladores de fluxos de gás padrão e amostra;
- (i) analisador infravermelho de gás, modelo IRGA-20.
- (l) torneira do balão de vidro contendo amostra de ar atmosférico;

- (2) torneira de entrada ao sistema de admissão;
- (3) torneira que permite a passagem de ar impulsionado pela pera insufladora, para aumentar a pressão do gás até a pressão ideal para análise;
- (4) torneira, pela qual se faz vácuo no manômetro, bomba "Toepler", tubo em "U" e através do qual a amostra ou padrão entram em suas respectivas células;
- (5) torneira, através da qual se controla o vácuo no interior da bomba "Toepler", para diminuir a pressão do padrão ou amostra no interior do sistema;
- (6) torneira geral de vácuo, que interliga a bomba de vácuo ao sistema;
- (7) torneira de entrada do padrão para a célula de referência nas análises pelo método estático;
- (8) torneira de entrada da amostra para a célula analítica nas análises pelo método estático;
- (9) e (11) são as torneiras que permitem o fluxo do gás padrão através da célula de referência, (9) e (11) abertos e (7) fechado.
- (10) e (12) torneiras para análise da amostra sob fluxo contínuo de ar (10) e (12) abertos e (8) fechado.

3.1.3. Padrões para a medida da concentração de CO_2

A concentração de CO_2 numa mistura gasosa, é determinada comparando-se com um gás padrão, cuja concentração de CO_2 seja conhecida.

Os padrões de CO_2 , são feitos a partir do CO_2 comercial (purificado) misturado em concentrações desejadas com ar atmosférico isento de CO_2 . A Figura 3, mostra o sistema de alto vácuo onde se efetua a purificação do CO_2 comercial, obtendo-se um volume conhecido do mesmo isento de impurezas.

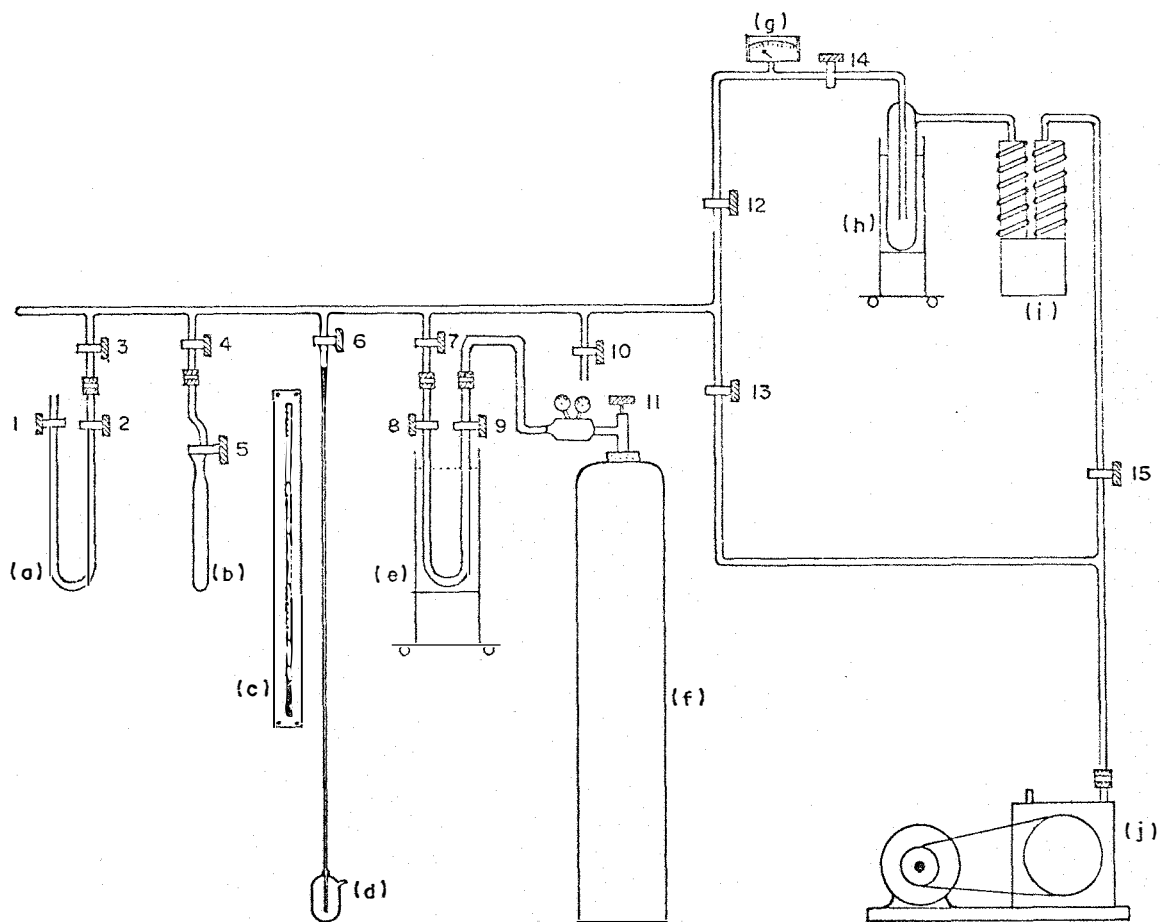


Figura 3 - Sistema de alto vácuo, utilizado para obtenção de volumes conhecidos de CO_2 purificado.

A purificação do CO₂ comercial, com volume, temperatura e pressão conhecidos, é realizada no sistema da Figura 3 através dos seguintes passos técnicos:

- Deve-se escolher antecipadamente a concentração de CO₂ em que se deseja o padrão. Foram construídos 3 tubos de vidro (b) com volumes distintos, determinados através de pesagens com Hg, (P₁ = 6,53 mL; P₂ = 7,07 mL e P₃ = 8,36 mL). Esses tubos, são construídos no volume desejado, em laboratório de vidraria.
- Feita a escolha do tubo (b), adapta-o ao sistema e faz-se alto vácuo (1×10^{-3} torr) indicado pelo vacuômetro (g). Para isso abrem-se as torneiras 13; 7; 8; 6; 5; 4; 3 e 2. Essa operação, denomina-se pré-vácuo, e é verificado através do nível de Hg do manômetro (d); em seguida, fecha-se a torneira 13 e abrem-se as torneiras 12; 14 e 15 obtendo-se alto vácuo em todo o sistema. Anota-se nesse instante a altura do mercúrio no manômetro (d) e fecham-se as torneiras 12 e 15.
- Abrem-se as torneiras 9 e 11, observando a entrada de CO₂ comercial do cilindro (f) no sistema, através do nível de Hg no manômetro (d). Quando as pressões interna (sistema) e externa (ambiente) se igualarem, fecham-se as torneiras 9; 11 e coloca-se um frasco de "Dewar" com N₂ líquido (-190°C) envolvendo o tubo (e). Após a solidifi

- cação do CO₂ no tubo (e), operação essa verificada através do manômetro (d), abrem-se as torneiras 13, 9 e 11, sendo que as torneiras 9 e 11 são fechadas depois de 10 ou 15 segundos e a torneira 13 após 10 minutos.
- Em seguida, faz-se a limpeza do CO₂ condensado, com alto vácuo. Abrem-se as torneiras 15; 14 e 12 para a retirada de impurezas que são principalmente N₂, O₂ e A. Quando se obtiver bom vácuo (1×10^{-3} torr) indicado pelo vacuômetro (g), fecham-se as torneiras 3 e 12.
 - Retira-se o frasco de "Dewar" que envolve o tubo (e) e observa-se o aumento da pressão no interior do sistema, pelo abaixamento do nível de Hg no manômetro (d) causado pela sublimação do CO₂ que estava solidificado. Quando a pressão interna for ligeiramente maior a ambiental, abre-se a torneira 10, fecha-se a torneira 5 e faz-se a leitura da temperatura ambiente no termômetro (c). A seguir, fecham-se as torneiras 10, 15 e abre-se a 13 para retirar o excesso de CO₂ do sistema.
 - O tubo (b) com volume conhecido, possui agora CO₂ puro com pressão e temperatura também conhecidas.
 - O passo seguinte é obter alto vácuo no sistema para se proceder a transferência do CO₂ do tubo (b) para o tubo (a). Para isso, fecha-se a torneira 13 e abrem-se a 15 e 12 verificando-se através do vacuômetro (g).

- Obtendo-se bom vácuo no sistema, fecha-se a torneira 12, abrem-se as torneiras 2, 3, 5 e coloca-se um frasco de "Dewar" com N_2 líquido envolvendo o tubo (a). Após 5 minutos, o CO_2 do tubo (b) transferiu-se para o tubo (a). Fecham-se as torneiras 2, 3, 4, 5, retira-se o tubo (a) e transporta-o até o sistema de mistura gasosa esquematizado na figura 4.

O tubo (a) que possui CO_2 puro, é adaptado ao sistema de circulação e denomina-se agora tubo (d). A seguir, faz-se a adaptação do reservatório (e), abrem-se as torneiras 1, 3, 4, 8, 7 e liga-se a bomba de circulação (a). Nessas condições, o ar flui num circuito fechado, passando pelo tubo desumificador (b), que contém Silica Gel e pelo tubo (c) que contém "ASCARITE" (amianto sodado) que retira todo o CO_2 . A bomba de circulação (a), trabalha com um fluxo de 1 l/min. Após 3 horas o reservatório (e), juntamente com a tubulação do sistema, que é de 115 cm³, possuem uma quantidade conhecida de ar isento de CO_2 , com pressão e temperatura conhecidas. Existem três reservatórios (e) com os seguintes volumes:

$$n^{\circ} 1 = 19.670,3 \text{ ml}$$

$$n^{\circ} 2 = 19.053,8 \text{ ml}$$

$$n^{\circ} 3 = 19.606,1 \text{ ml}$$

A mistura gasosa padrão, entre o CO_2 purificado e o ar isento de CO_2 , é realizada fechando-se as torneiras 1, 3, 4, e abrindo-se as 2, 5 e 6. O tempo estimado para ocorrer a mistura é de 1 hora. Após es-

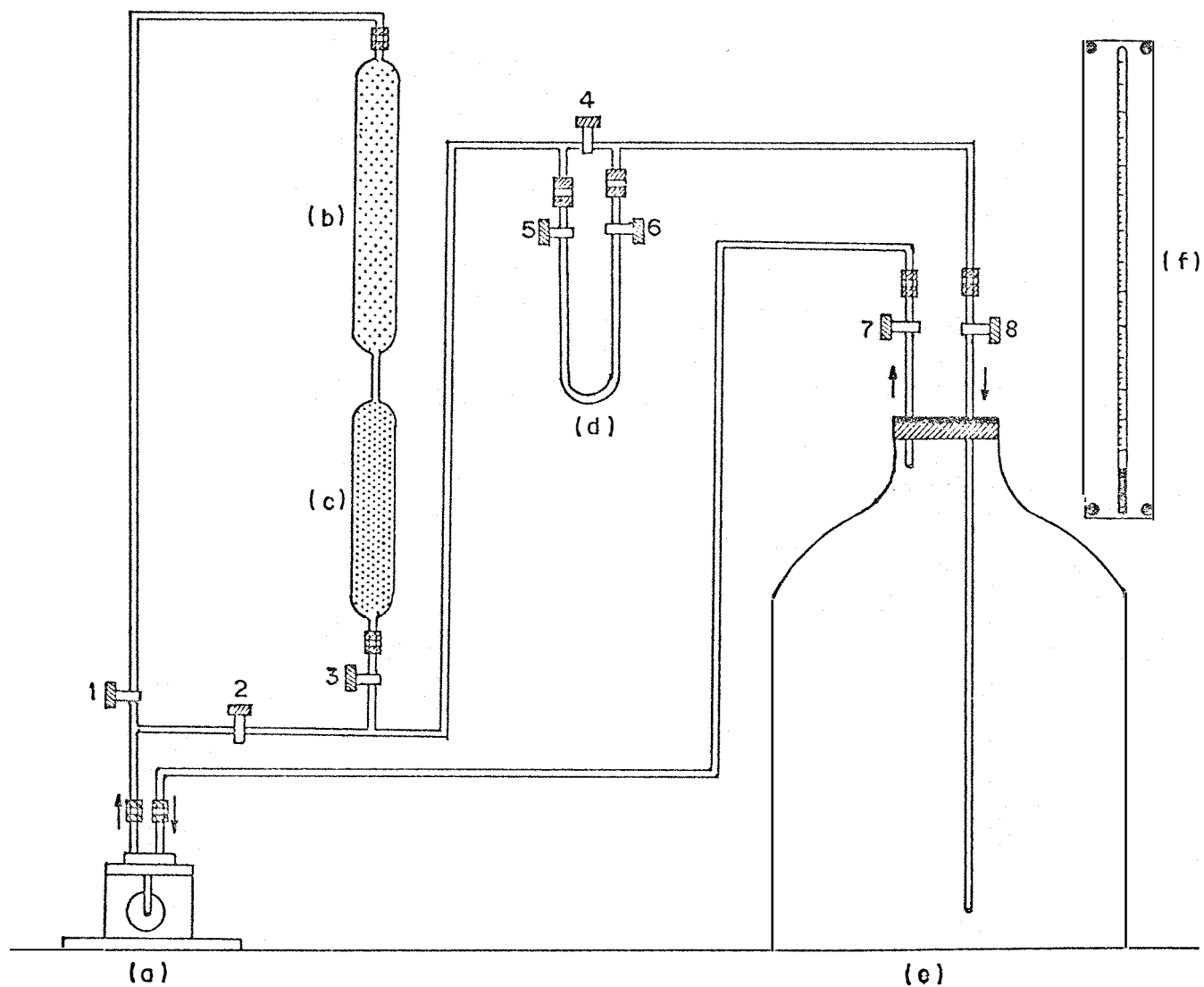


Figura 4 - Sistema de circulação gasosa, para o preparo de misturas padrões de CO₂.

se período, desliga-se a bomba (a), fecham-se as torneiras 2, 5, 6, 7, 8 e retira-se o reservatório (e) que contém a mistura padrão.

A denominação da mistura padrão, significa:

P-13 (volume do tubo P-1 de CO₂ purificado misturado com o volume do reservatório nº 3 de ar isento de CO₂).

A relação molar de CO₂ na mistura padrão, baseia-se na equação de estado dos gases, e a relação entre o número de moles de CO₂ puro (n₁) e o número de moles de ar isento de CO₂ (n₂):

$$\frac{n_1}{n_2} = \frac{P_1 V_1 T_2}{P_2 V_2 T_1}$$

Sabendo-se que:

n₁ = número de moles de CO₂ puro

n_2 = número de moles de ar isento de CO_2

P_1 = pressão atmosférica no laboratório durante a purificação do CO_2 comercial

P_2 = pressão atmosférica no laboratório durante a mistura gasosa entre o CO_2 puro e o ar isento de CO_2

V_1 = volume de CO_2 puro; tubo (b)(Figura 3)

V_2 = volume de ar isento de CO_2 ; reservatório (e) somado aos 115 cm^3 que é o volume do sistema de tubulação(Figura 4)

T_1 = temperatura ambiente durante a purificação do CO_2 comercial

T_2 = Temperatura ambiente durante a mistura gasosa entre o CO_2 purificado e o ar isento de CO_2 .

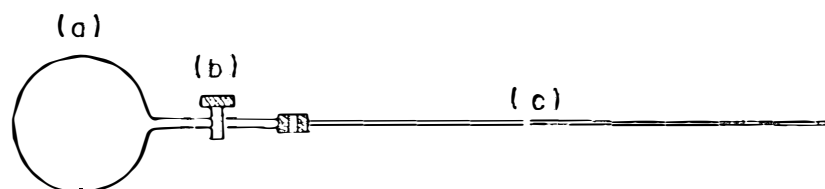
Para as análises da concentração de CO_2 no ar atmosférico, utilizam-se três padrões ($\text{CO}_2 + \text{N}_2$ seco) adquiridos de uma firma comercial. Os padrões acondicionados em recipientes especiais sob pressão, foram calibrados utilizando os padrões feitos em laboratório. Os padrões de utilização diária guardados sob pressão em cilindros especiais denominam-se: G-1, G-2 e G-3.

3.1.4. Coleta do ar atmosférico para análise da concentração de CO_2

A determinação da concentração de CO_2 no ar atmosférico, pode ser realizada pelo sistema dinâmico (fluxo contínuo de ar) ou estático (amostras coletadas em recipientes especiais). O sistema dinâmico de análise, permite a visualização contínua das oscilações da concentração de CO_2 no ar atmosférico; por outro lado, só pode ser utilizado em locais onde exista energia elétrica. Nesse sistema de análise, o ar é captado com auxílio de uma tubulação flexível sendo succionado ao analisador IRGA através de uma bomba de circulação.

No sistema estático de análise, o ar atmosférico é coletado em recipientes especiais pré-evacuados e transportados ao laboratório para ser analisado. Balões de vidro (1 l), adaptado com torneira de alto vácuo são utilizados para coletas de ar atmosférico. No instante da coleta, faz-se uma adaptação de um tubo metálico de 1 m de comprimento por 2,0 mm de diâmetro interno, para evitar a contaminação da amostra pelo CO_2 proveniente da respiração da pessoa que está executando a coleta (Figura 5).

No sistema estático de análise, são utilizados também recipientes com capacidade para 10 l de ar construídos em aço inoxidável. A Figura 6, mostra o sistema de coleta de ar em recipientes de aço.

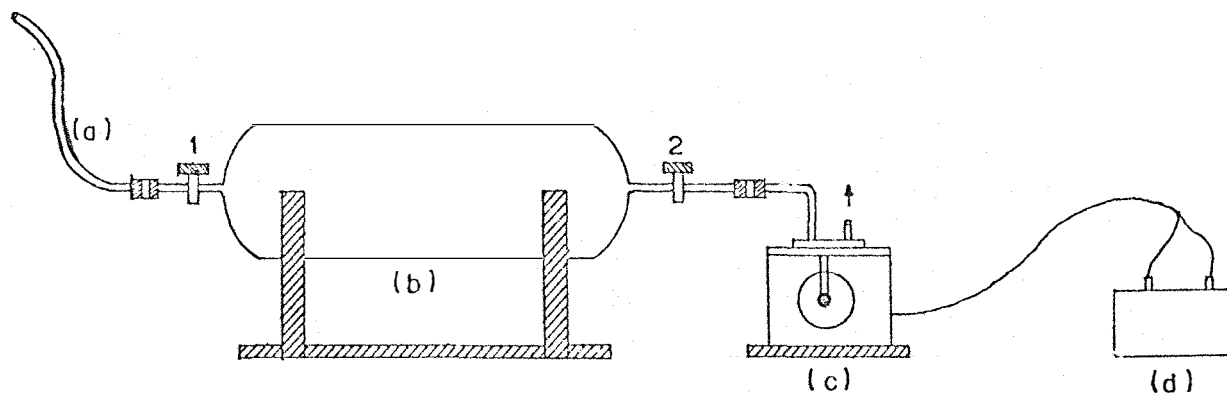


(a) Balão de vidro (1 ℓ)

(b) Torneira de alto vácuo

(c) Tubo metálico de 1 m por 2 mm de diâmetro interno.

Figura 5 - Balão de coleta de ar atmosférico.



(a) Tubulação flexível para captação de ar atmosférico.

(b) Recipiente construído em aço inoxidável (10 ℓ).

(c) Bomba de circulação de ar (fluxo 5 ℓ/min.), adaptada com motor à corrente contínua.

(d) Bateria de 12 Volts.

1 e 2 - Torneiras de alto vácuo.

Figura 6 - Sistema de coleta do ar atmosférico em recipientes de aço inoxidável.

O procedimento para se coletar o ar atmosférico por esse sistema é simples:

- O reservatório de aço é pré-evacuado no laboratório.
- Faz-se a adaptação do tubo (a) e as ligações com a bomba de circulação.
- Abre-se a torneira 1 e após três minutos, abre-se a torneira 2 e liga-se a bomba de circulação (c).
- Após 15 minutos, desliga-se a bomba (c), fecham-se as torneiras 2 e 1 e transporta o recipiente com ar para análise.

Com o volume de 10 ℓ de ar coletado nesses recipientes, pode-se determinar a concentração de CO₂ e em seguida extrair o CO₂ desse volume para análise isotópica ¹³C/¹²C e ¹⁸O/¹⁶O.

3.2. Medida da variação natural da razão isotópica ¹³C/¹²C no CO₂ do ar atmosférico

As análises da razão isotópica ¹³C/¹²C são realizadas no espectrômetro de massa VARIAN modelo MAT-230, utilizando como padrão de referência o "Cena-Standard" (CO₂ gasoso obtido do mármore). Os resultados são expressos em unidades δ⁰/∞∞ em relação ao padrão internacional PDB, o qual é definido como:

$$\delta^{13}\text{C}_{(\text{PDB})} \text{ } ^0/\infty\infty = \frac{R_a - R_p}{R_p} \cdot 10^3$$

onde:

R_a = razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da amostra

R_p = razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do padrão.

"Cena Standard" = $\delta^{13}\text{C}_{(\text{POB})} = 1,90\text{‰}$

O método analítico empregado, é baseado no trabalho descrito por McKINNEY et alii (1950), utilizando os fatores de correção sugeridos por CRAIG (1957).

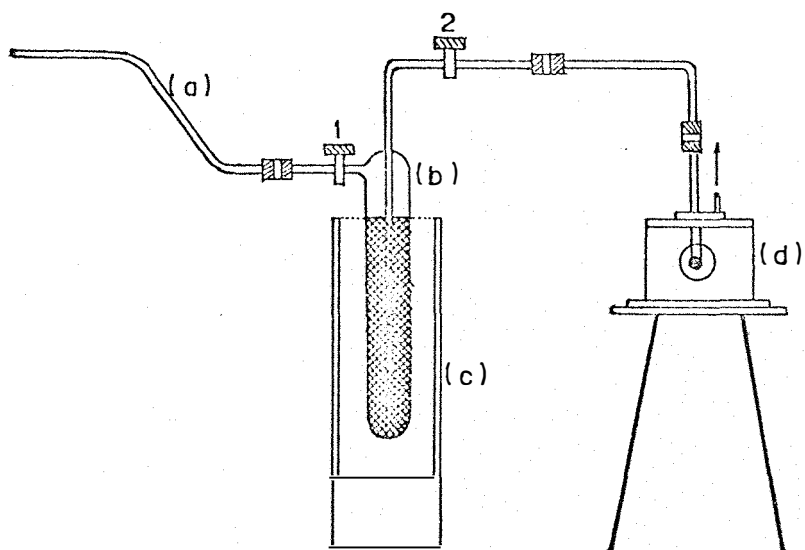
3.2.1. Coleta de CO_2 do ar atmosférico utilizando N_2 líquido (-190°C)

A Figura 7, mostra esquematicamente o sistema de coleta de CO_2 do ar atmosférico,

Após a escolha do local para coleta e instalação do sistema:

- Abrem-se as torneiras 1 e 2 e liga-se a bomba de circulação (d) durante 10 minutos para retirar os gases residuais das tubulações e do "Trap".
- Em seguida, coloca-se o frasco de Dewar (c) com N_2 líquido, deixando nessas condições por 150 minutos.
- Após esse período, desliga-se a bomba (d), fecham-se as torneiras 1 e 2, desconecta o "Trap" do sistema e transporta-o mergulhado no N_2 líquido do frasco de Dewar (c)

para o sistema de extração e purificação do CO_2 coletado.



(a) Tubulação para captação de ar (~ 30 m).

(b) "Trap" construído em vidro PYREX, que possui em seu interior pedacinhos de tela de aço inoxidável para facilitar a retenção de CO_2 .

(c) Frasco de Dewar contendo N_2 líquido (-190°C), que refrigera o "Trap" (b) e retém os componentes do ar atmosférico condensáveis nessa temperatura.

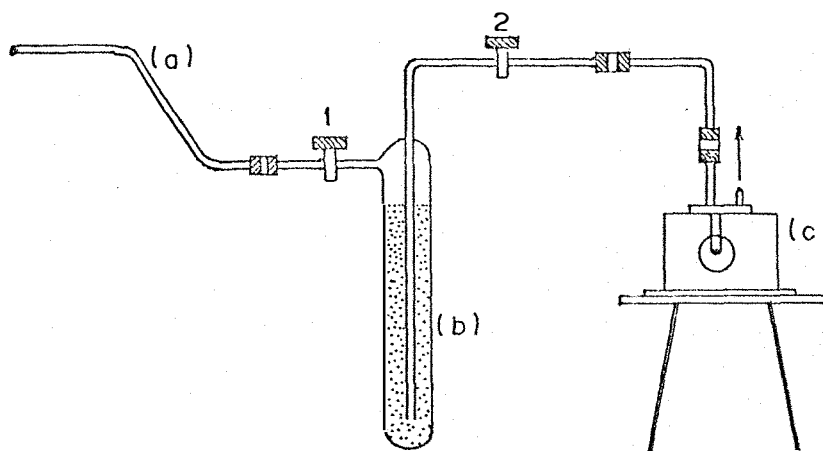
(d) Bomba de circulação de ar (fluxo = 300 mL/min.).

1 e 2 - Torneiras do "Trap" de coleta.

Figura 7 - Sistema coletor de CO_2 do ar atmosférico utilizando N_2 líquido (-190°C).

3.2.2. Coleta de CO_2 do ar atmosférico utilizando "molecular sieve" tipo 4 Å

A figura 8 mostra o sistema de coleta, no qual utiliza-se "molecular sieve", destinado aos locais onde não existe N_2 -líquido.



(a) Tubulação para captação do ar atmosférico.

(b) "Trap", contendo "Molecular Sieve" esférico (2 mm) com crivo de 4 Å.

(c) Bomba de circulação (fluxo 300 mL/min.)

1 e 2 - Torneiras do "Trap" para coleta do CO_2 .

Figura 8 - Sistema para coleta de CO_2 do ar atmosférico utilizando "Molecular Sieve" tipo 4 Å

- "Molecular sieve" ou peneira molecular, é uma substância granular, porosa, que possui a capacidade de selecionar e reter determinados gases à temperatura ambiente e liberá-los por aquecimento a 480°C .

A coleta do CO_2 atmosférico, é realizada da seguinte maneira:

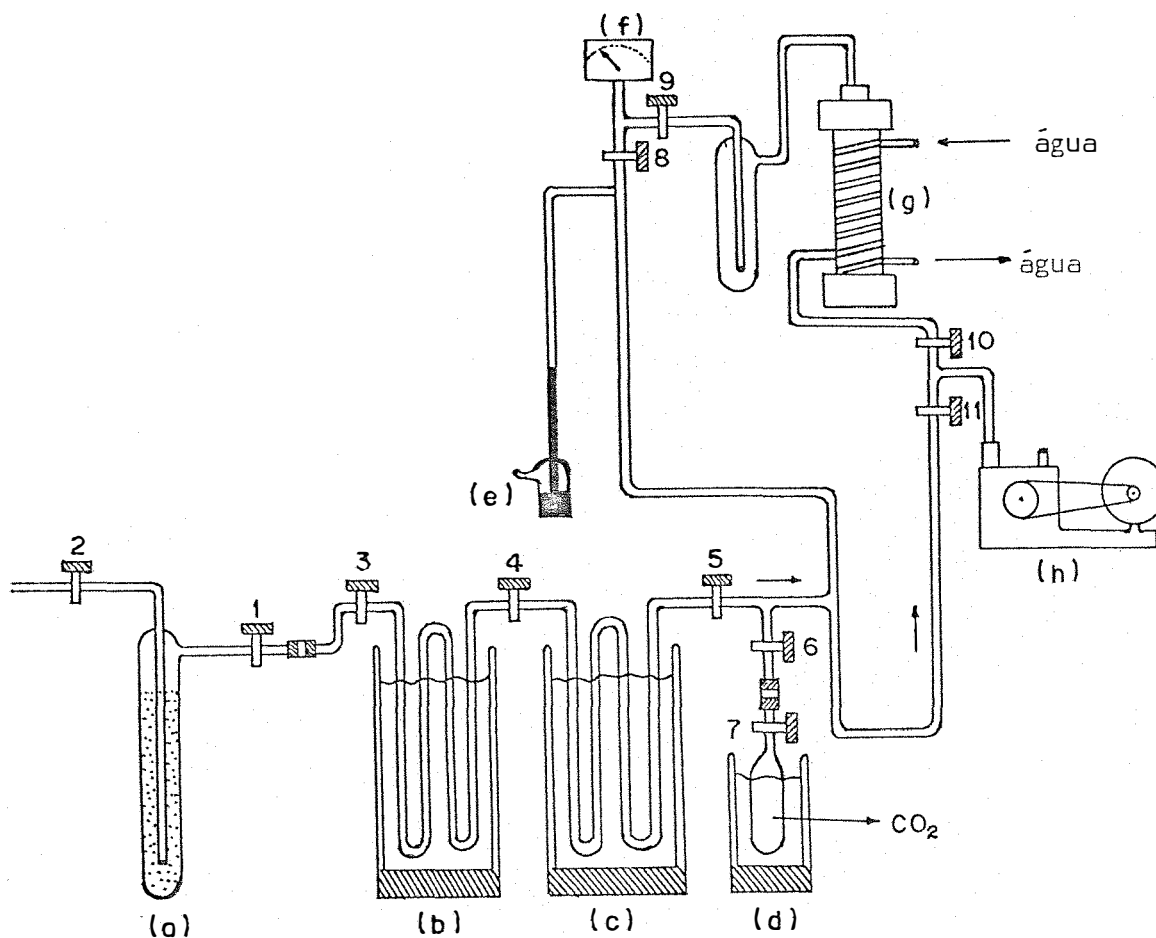
- Antes da instalação do "Trap" (b) ao sistema, o mesmo deve ser evacuado à temperatura de 480°C .
- Após o seu resfriamento, conecta-o ao sistema, abrem-se as torneiras 1 e 2 e liga-se a bomba (c) por um período de 4 horas.
- Em seguida, fecham-se as torneiras 1, 2 e transporta-se o "Trap" para o sistema de extração e purificação de CO_2 .

3.2.3. Extração e purificação do CO_2 coletado em "Traps"

A necessidade da purificação do CO_2 coletado, deve-se principalmente ao vapor d'água do ar atmosférico que fica retido no "Trap" de coleta. O sistema de extração e purificação do CO_2 coletado é mostrado na Figura 9. A operação do sistema, tem a seguinte sequência:

Extração do CO_2 coletado em "Trap" refrigerado com N_2 líquido.

- O "Trap" é transportado para o sistema de extração, no interior do frasco de Dewar contendo N_2 líquido e conectado ao sistema jun



- (a) "Trap" onde o CO₂ do ar atmosférico foi coletado.
 (b) Frasco de Dewar com N₂ líquido (-190°C) para refrigerar o "Trap" de fluxo contínuo.
 (c) Frasco de Dewar contendo gelo seco + álcool (-80°C) refrigerando o "Trap" de fluxo contínuo onde o vapor d'água será retido.
 (d) "Trap" com N₂ líquido para reter o CO₂ purificado.
 (e) Manômetro de mercúrio.
 (f) Vacuômetro de precisão.
 (g) Bomba de vácuo (difusão - óleo)
 (h) Bomba de vácuo (mecânica).
 1 e 2 - Torneiras do "Trap" de coleta. .
 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10 e 11 - Torneiras do sistema de extração.
 7 - Torneira do balão com amostra de CO₂ do ar atmosférico.

Figura 9 - Sistema de extração e purificação do CO₂ coletado em "Traps".

to a torneira 3.

- Abrem-se as torneiras 11, 6, 5, 4 e 3, fazendo-se pré-vácuo (vácuo feito apenas com a bomba mecânica) controlado pelo manômetro (e).
- Após 10 minutos, fecha-se a torneira 11 e abrem-se as torneiras 10, 9, 8 e 7 fazendo-se alto vácuo (1.10^{-3} torr) medido pelo vacuômetro (f).
- Em seguida, fecham-se as torneiras 8, 10 e 6, abre-se a torneira 11, coloca-se os frascos de Dewar (b) com N_2 líquido e (c) com gelo seco + álcool. Abre-se a torneira 1 e retira o frasco de Dewar com N_2 líquido que envolvia o "Trap" (a). Nessas condições, os gases que estavam retidos no "Trap" (a) irão se condensar em (b). Para acelerar o processo, aquece-se levemente o "Trap" (a) com água à $\sim 60^\circ C$. O tempo gasto na extração é de 30 minutos.
- Após esse período, fecham-se as torneiras 1, 3 e 11, retira-se o frasco de Dewar (b) deixando o CO_2 expandir, sendo a pressão verificada através do manômetro (e).
- Coloca-se o frasco de Dewar (d) com N_2 líquido para resfriar o balão da amostra, fecha-se a torneira 5 e abre-se a torneira 6 para recolher o CO_2 isento de vapor d'água que ficou retido em (c). Recolhido o CO_2 , fecham-se as torneiras 6, 7, retira-se o frasco de Dewar (d) e

transporta o balão com amostra de CO₂ do ar atmosférico para análise no espectrômetro de massa MAT-230.

Extração do CO₂ coletado com "Trap" de "molecular sieve"

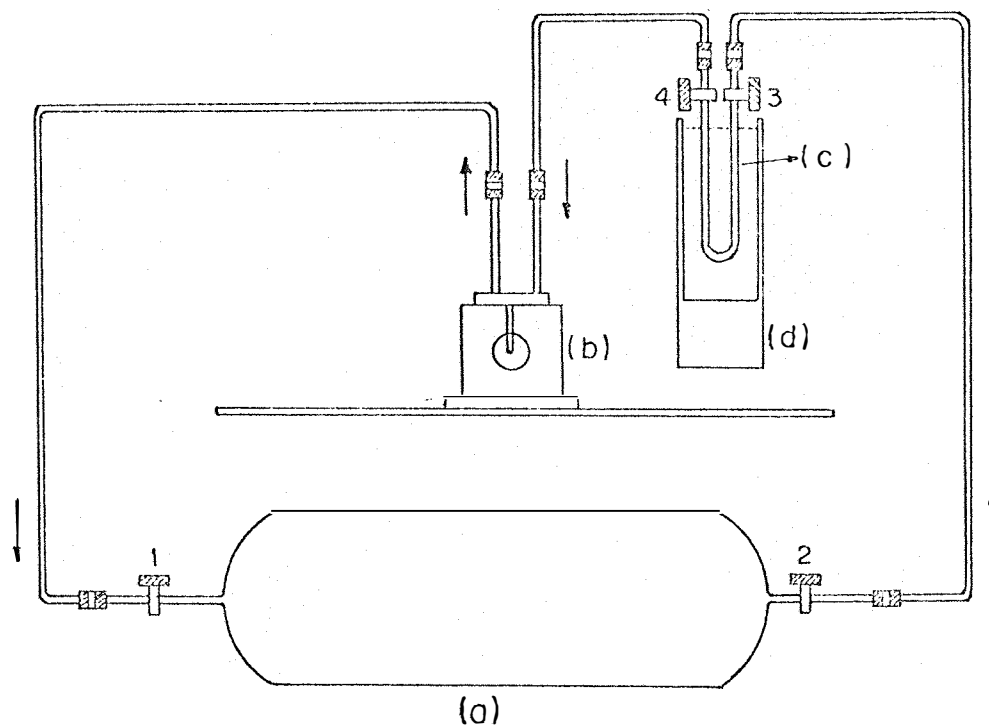
A operação de extração e purificação, tem a mesma sequência que a anterior. A principal diferença, é que o "Trap" com "molecular sieve", após ser adaptado ao sistema é envolvido por um forno elétrico e o tempo de extração é de 5 horas. No instante da extração, o "Trap" (a) é aquecido à 480^oC para que ocorra uma liberação total dos gases e vapor d'água nele contido. O CO₂ extraído e armazenado no balão de amostra é transportado para análise no MAT-230.

3.2.4. Extração e purificação do CO₂ do ar atmosférico coletado em recipiente de aço inoxidável

O sistema de coleta do ar atmosférico em recipientes de aço (10 ℓ) é mostrado na figura 6. Após a coleta, realiza-se a extração de CO₂ do ar contido no recipiente de aço, através do sistema mostrado na figura 10.

A operação do sistema, é a seguinte:

- Montado o sistema, abrem-se as torneiras 1, 2, 3 e 4, liga-se a bomba de circulação (b) e coloca-se o frasco de Dewar (d) com N₂ líquido envolvendo o tubo (c).
- Após 2 horas, desliga-se a bomba de circulação (b), fecham-se as torneiras 1, 2, 3, 4, retira-se o tubo (c) mantendo-o mergulhado em N₂ líquido e transporta-o ao sistema



- (a) Recipiente de aço inoxidável (10 ℓ)
(b) Bomba de circulação (fluxo = 300 mL/min.)
(c) Tubo em "U" para retenção do CO₂ e outros gases.
(d) Frasco de Dewar com N₂ líquido (-190°C)
1 e 2 - Torneiras do recipiente de aço
3 e 4 - Torneiras do sistema de extração.

Figura 10 - Sistema de extração de CO₂ do ar contido no recipiente de aço inoxidável.

ma de extração e purificação de CO₂, Figura 9.

A extração e purificação do CO₂ tem a aproximadamente a mesma sequência utilizada para a extração do "Trap" refrigerado com N₂ líquido. O tempo de extração é de 30 minutos.

3.3. Medida da variação natural da razão isotópica ¹³C/¹²C em amostras de plantas

A obtenção de CO₂, através da combustão total da matéria orgânica, para análise da razão isotópica ¹³C/¹²C é realizada num sistema de combustão sob fluxo contínuo de oxigênio (Figura 11) (DUCATTI et alii, 1979). O sistema foi modificado a partir do sistema proposto por MOOK (1968), e utiliza reagentes segundo os critérios adotados por STEIMARK (1961) e MOOK (1968).

A quantidade de CO₂ necessária para análise da razão isotópica ¹³C/¹²C por espectrometria de massa, é obtida através da combustão total de 10 mg de material orgânico seco e moído.

Para se realizar a combustão total de uma amostra de material orgânico no sistema mostrado pela Figura 11, procede-se da seguinte forma:

- Ligam-se os fornos (c), (h), (i) e aguarda-se até que os mesmos atinjam as temperaturas 750^oC, 800^oC e 480^oC respectivamente.
- Ligam-se as bombas (p) e (0).

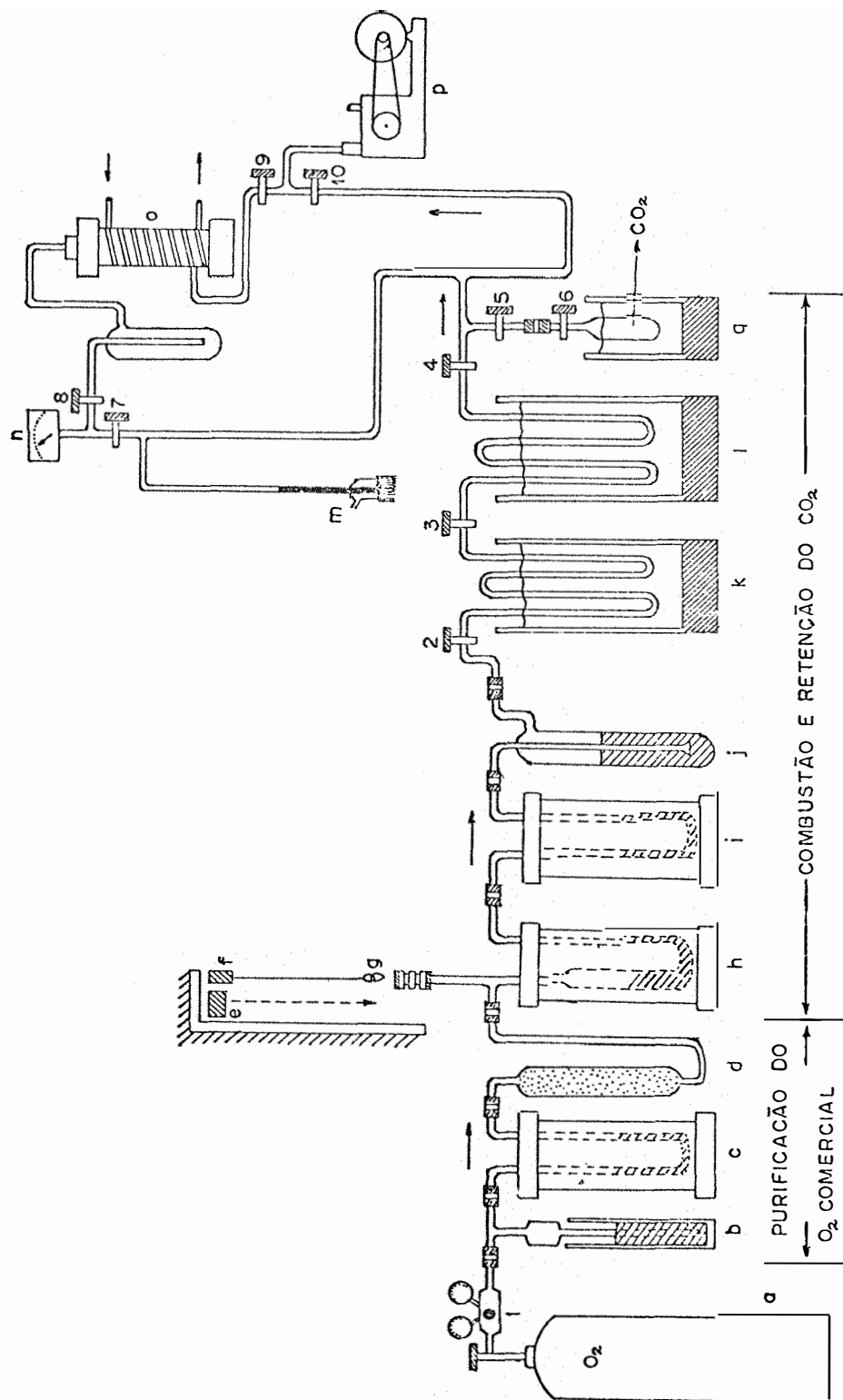


Figura 11 - Sistema para obtenção de CO_2 por combustão total de material orgânico para análise da razão isotópica $^{13}C/^{12}C$ (DUCATTI et alii, 1979).

- Faz-se pré-vácuo, abrindo-se as torneiras 10, 5, 4, 3 e 6, observando-se o manômetro (m). Em seguida, faz-se alto vácuo, fechando-se a torneira 10 e abrindo-se as torneiras 9, 8 e 7 observando-se o vacuômetro (n) até atingir 1×10^{-3} torr.
- Coloca-se o frasco de Dewar (l) contendo gelo seco + alcohol (-80°C).
- Fecham-se as torneiras 7, 9, 5 e abre-se a 10.
- Em seguida, abre-se a torneira 1 e regula-se a pressão de saída no manômetro do cilindro de O_2 . Em seguida, abre-se a torneira 2 e o O_2 fluirá até a bomba de vácuo (p), fazendo-se limpeza no sistema.
- Coloca-se 10 mg de amostra na naveta (g) que é sustentada por um fio de níquel cromo à ferrita (f).
- Fecha-se a torneira 2 e coloca-se o frasco de Dewar (k) com N_2 líquido (-190°C).
- Coloca-se a naveta (g) na parte superior do forno (h), de maneira que ela fique suspensa pelo imã (e) e fecha-se a parte superior do forno (h).
- Em seguida, abre-se a torneira 2, e abaixa-se a naveta (g), com auxílio do imã (e), ao forno (h) para ocorrer a combustão.

- Após 5 minutos, fecha-se a torneira 2, retira-se a nave-ta, fecha-se a torneira 10 e retira-se o "Trap" (k). Nes-sas condições, o CO₂ produzido, pela combustão total da matéria orgânica, irá se expandir e sua pressão é medida pela escala do manômetro (m).
- Em seguida, coloca-se o frasco de Dewar (g) envolvendo o balão de amostra, abre-se a torneira 5 e recolhe todo o CO₂ no balão de amostra.
- O passo seguinte, é fechar as torneiras 5 e 6, retirar o balão de amostra com CO₂ e transportá-lo para análise no espectrômetro de massa.

Observando-se o sistema de combustão da Figura 11, nota-se que a obtenção de CO₂ através da queima da matéria orgânica, é na realida-de feita em três etapas distintas:

Purificação de oxigênio comercial

O gás O₂, após sair do cilindro (a), passa pelo forno (c) à 750°C que contém CuO granulado. Se o O₂ contiver alguma substância or-gânica, esta será queimada, transformada em CO₂ e este será retido no tu-bo (d) que contém "ASCARITE". Portanto, o O₂ entra no forno de combustão da amostra (h) livre de qualquer substância que interfira no CO₂ produzi-do pela queima da amostra.

Combustão da matéria orgânica

A combustão da amostra vegetal, é realizada no forno (h) à

800^oC, sendo transformada principalmente em CO₂, vapor d'água, óxidos de enxofre e alguns halogêneos. Os gases e o vapor d'água, formados durante a combustão, são arrastados pelo fluxo de O₂ em direção à bomba de vácuo (p). No forno (i), a prata metálica aquecida à 480^oC retém os halogêneos formados durante a combustão. E (j), o purificador de CO₂ com solução de KMnO₄, retém os compostos de enxofre e de nitrogênio, deixando passar somente O₂, CO₂ e vapor d'água.

Retenção do CO₂

O fluxo de O₂ continua o seu caminho pelo sistema, deixando no "Trap" envolvido por N₂ líquido do frasco de Dewar (k), o vapor d'água e o CO₂. Durante a expansão do CO₂, quando se retira o frasco de Dewar (k), o vapor d'água fica retido no "Trap" envolvido por gelo seco + álcool (-80^oC) contido no frasco de Dewar (l). Em seguida, o CO₂ proveniente da combustão da amostra vegetal é retido no balão de amostra, envolvido por N₂ líquido, contido no frasco de Dewar (g).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Cálculo da concentração de CO₂ nos diferentes padrões e curva padrão de análise

A metodologia de preparo dos gases padrões encontra-se no ítem 3.1.3., cuja relação molar é dada pela seguinte equação:

$$\frac{n_1}{n_2} = \frac{P_1 V_1 T_2}{P_2 V_2 T_1}$$

Durante o preparo dos padrões verificou-se que as pressões atmosféricas P₁ e P₂ eram iguais, portanto P₁ = P₂ = p, sendo que a concentração de CO₂ (C) será dada por:

$$C = \frac{n_1}{n_1+n_2} = \left[\frac{V_1 T_2}{(V_1 T_2) + (V_2 T_1)} \cdot 10^6 \right] \text{ ppm}$$

Os diferentes parâmetros para o cálculo da concentração de CO₂ (C) nas misturas padrões, encontram-se na tabela 1.

Na Tabela 2, encontram-se os desvios em milímetros entre os padrões e a estimativa da concentração de CO₂ para o padrão de referência G-1. Para esse cálculo, utilizou-se a seguinte equação:

$$G-1 = P-11 - \frac{[(P_1 - R) \text{ mm}] \cdot [(P_2 - P_1) \text{ ppm}]}{[(P_2 - P_1) \text{ mm}]}$$

onde: G-1 = concentração de CO₂ (ppm) para o padrão referência G-1.

P₁ e P₂ = padrões 1 e 2 respectivamente.

Tabela 1 - Concentração de CO₂ dos diferentes padrões de análise preparados em laboratório.

Padrão	p (atm.)	V ₁ (cm ³ ±0,01)	V ₂ (cm ³ ±0,1)	T ₁ (°K±0,1)	T ₂ (°K±0,1)	C _{CO₂} (ppm±0,5)
P-11	0,943	6,53	19.785,3	298,3	297,5	329,2
P-11	0,947	6,53	19.785,3	298,8	299,4	330,7
P-11	0,948	6,53	19.785,3	298,8	302,1	333,7
P-11	0,943	6,53	19.785,3	297,4	307,2	339,7
P-11	0,943	6,53	19.785,3	300,0	303,8	334,2
P-11	0,947	6,53	19.785,3	299,0	296,0	326,7
P-11	0,947	6,53	19.785,3	299,3	303,7	334,9
P-11	0,945	6,53	19.785,3	299,4	301,6	332,5
P-13	0,943	6,53	19.721,1	297,7	298,7	332,2
P-13	0,941	6,53	19.721,1	298,5	307,7	341,3
P-13	0,951	6,53	19.721,1	297,9	297,7	331,0
P-13	0,947	6,53	19.721,1	297,5	302,3	336,4
P-13	0,943	6,53	19.721,1	298,3	302,9	336,2
P-13	0,945	6,53	19.721,1	298,8	303,4	336,2
P-12	0,949	6,53	19.168,8	298,5	292,6	333,9
P-22	0,950	7,07	19.168,8	297,9	295,2	365,5
P-22	0,949	7,07	19.168,8	298,6	302,7	373,9
P-22	0,947	7,07	19.168,8	298,7	303,1	374,3
P-22	0,939	7,07	19.168,8	297,3	296,7	368,1
P-22	0,943	7,07	19.168,8	300,0	303,1	372,6
P-22	0,946	7,07	19.168,8	299,3	306,9	378,2
P-22	0,943	7,07	19.168,8	301,0	307,7	377,0
P-22	0,943	7,07	19.168,8	299,4	304,1	374,6
P-21	0,949	7,07	19.785,3	298,5	294,1	352,1
P-33	0,945	8,36	19.721,1	299,6	302,9	428,6

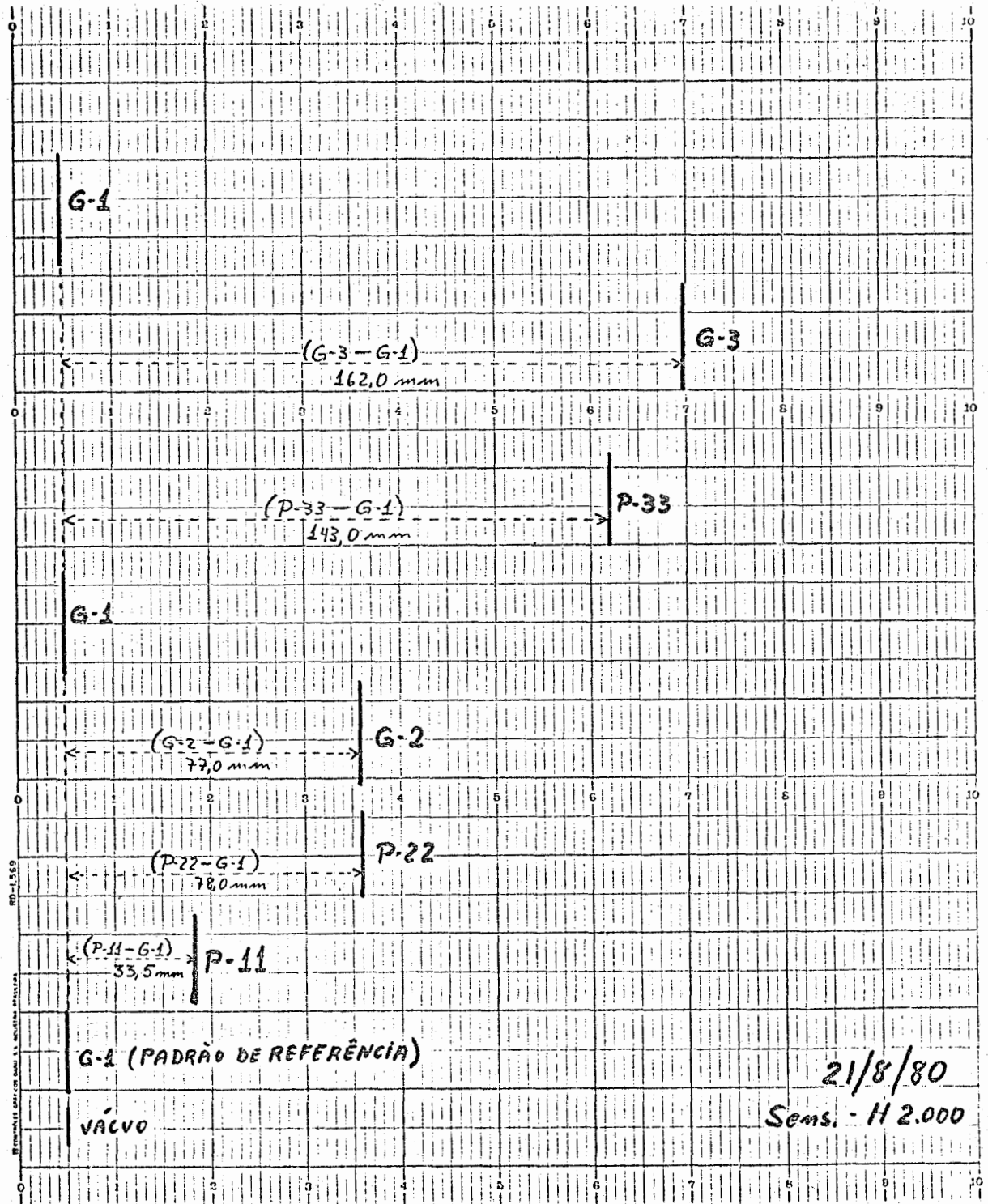


Figura 12 - Registro de uma análise conjunta dos padrões para a determinação da concentração de CO_2 dos padrões G-1, G-2 e G-3.

A Figura 12, mostra uma análise de calibração dos padrões de CO_2 tomando-se como referência o padrão G-1. A linha básica (zero) para as medidas, é obtida preenchendo-se as células de referência e analítica do analisador IRGA-20 com a mesma mistura padrão G-1. Em seguida compara-se os diferentes padrões com o padrão de referência G-1, que permanece na célula de referência até o final da análise. Durante o período de análise, o padrão G-1 é analisado várias vezes para verificar se existe algum desvio. A velocidade do papel onde são registradas as análises é de 12 cm/h, de maneira que o tempo para análise de cada padrão é de aproximadamente 10 minutos.

Após a análise, medem-se as distâncias dos desvios de cada padrão em relação ao padrão de referência G-1.

Conhecendo-se a concentração de CO_2 dos padrões P-11 e P-22, determina-se a concentração do padrão de referência G-1 (Tabelas 2 e 3) e em seguida os demais padrões G-2 e G-3 (Tabela 4).

Tabela 2 - Resultados obtidos na análise dos padrões, e estimativa da concentração de CO₂ do padrão referência G-1.

Padrão-1 (ppm)	Padrão-2 (ppm)	P ₂ - P ₁ (ppm)	P ₂ - P ₁ (mm)	P ₂ - R* (mm)	P ₁ - R* (mm)	R*-calculado (ppm)
P-11 (334,2)	P-22 (372,6)	38,4	91,5	162,5	71,0	304,4
P-13 (341,3)	P-22 (372,6)	31,3	80,5	162,5	82,0	309,4
P-11 (326,7)	P-22 (372,6)	45,9	105,0	167,5	62,5	299,4
P-11 (326,7)	P-22 (372,6)	45,9	105,0	165,5	60,5	300,2
P-13 (336,4)	P-22 (372,6)	36,2	98,0	165,5	67,5	311,5
P-11 (334,9)	P-22 (378,2)	43,3	81,0	140,0	59,0	303,4
P-13 (336,2)	P-22 (378,2)	42,0	76,0	135,5	59,5	303,3
P-11 (334,9)	P-22 (377,0)	42,1	80,5	142,0	61,5	302,7
P-13 (336,2)	P-22 (374,6)	38,4	79,5	142,0	62,5	306,0
* Mistura padrão utilizada como referência R* = (G-1)						$\bar{R} = 304,5 \pm 0,8$

Os desvios entre os diferentes padrões e a referência G-1, encontram-se nas tabelas 3 e 4, cujos resultados médios foram obtidos em seis dias diferentes de análise com três repetições por dia.

Tabela 3 - Desvios em milímetros dos padrões P-11 e P-22 e a determinação da concentração do padrão referência G-1.

P-22 (ppm)	P-11 (ppm)	P-22 - P-11 (ppm)	P-22 - G-1 (mm)	P-11 - G-1 (mm)	P-22 - P-11 (mm)	G-1 (ppm)
377,0	335,2	41,8	78,5	30,5	48,0	308,6
377,0	335,2	41,8	78,0	32,5	45,5	305,3
374,6	335,2	39,4	77,5	31,5	46,0	308,2
374,6	335,2	39,4	78,5	33,5	45,0	305,9
374,6	332,7	41,9	78,0	33,7	44,3	300,8
374,6	332,7	41,9	77,0	33,7	43,3	300,1
Média =						304,8
S =						3,62
σ =						1,48

A partir dos valores calculados de P-11 e P-22, e dos desvios em milímetros, calculou-se a concentração de CO₂ do padrão referência G-1, utilizando-se a seguinte equação:

$$G-1 = (P-11)_{ppm} - \frac{(P-22-P-11)_{ppm} \times (P-11-G-1)_{mm}}{(P-22-P-11)_{mm}}$$

Conhecendo-se a concentração média de CO₂ de G-1, e aplicando-se as equações (2) e (3), determinaram-se as concentrações dos padrões G-2 e G-3, Tabela 4.

$$G-2 = (G-1)_{\text{ppm}} + \frac{(G-2-G-1)_{\text{mm}} (P-22-G-1)_{\text{ppm}}}{(P-22-G-1)_{\text{mm}}} \dots\dots\dots (2)$$

$$G-3 = (G-1)_{\text{ppm}} + \frac{(G-3-G-1)_{\text{mm}} \times (P-22-G-1)_{\text{ppm}}}{(P-22-G-1)_{\text{mm}}} \dots\dots\dots (3)$$

Tabela 4 - Desvios em milímetros dos padrões G-2 e G-3 em relação ao padrão referência G-1 e suas concentrações de CO₂.

P-22 (ppm)	G-1 (ppm)	P-22-G-1 (ppm)	P-22-G-1 (mm)	G-2-G-1 (mm)	G-3-G-1 (mm)	G-2 (ppm)	G-3 (ppm)
377,0	304,6	72,4	78,5	78,2	164,7	376,7	456,5
377,0	304,6	72,4	78,0	76,0	160,5	375,1	453,6
374,6	304,6	70,0	77,5	76,0	161,5	373,2	450,5
374,6	304,6	70,0	78,5	79,0	163,5	375,0	451,3
374,6	304,6	70,0	78,0	77,0	162,0	373,7	450,0
374,6	304,6	70,0	77,0	77,0	162,5	374,6	452,3
					Média =	374,7	452,4
					S =	1,22	2,40
					σ =	0,50	0,98

As concentrações dos padrões são:

G-1 $\approx 305 \pm 2$ ppm

G-2 $\approx 375 \pm 2$ ppm

G-3 $\approx 452 \pm 2$ ppm

A partir da concentração desses padrões, juntamente com P-11 e P-22, determinou-se uma curva analítica padrão, figura 13.

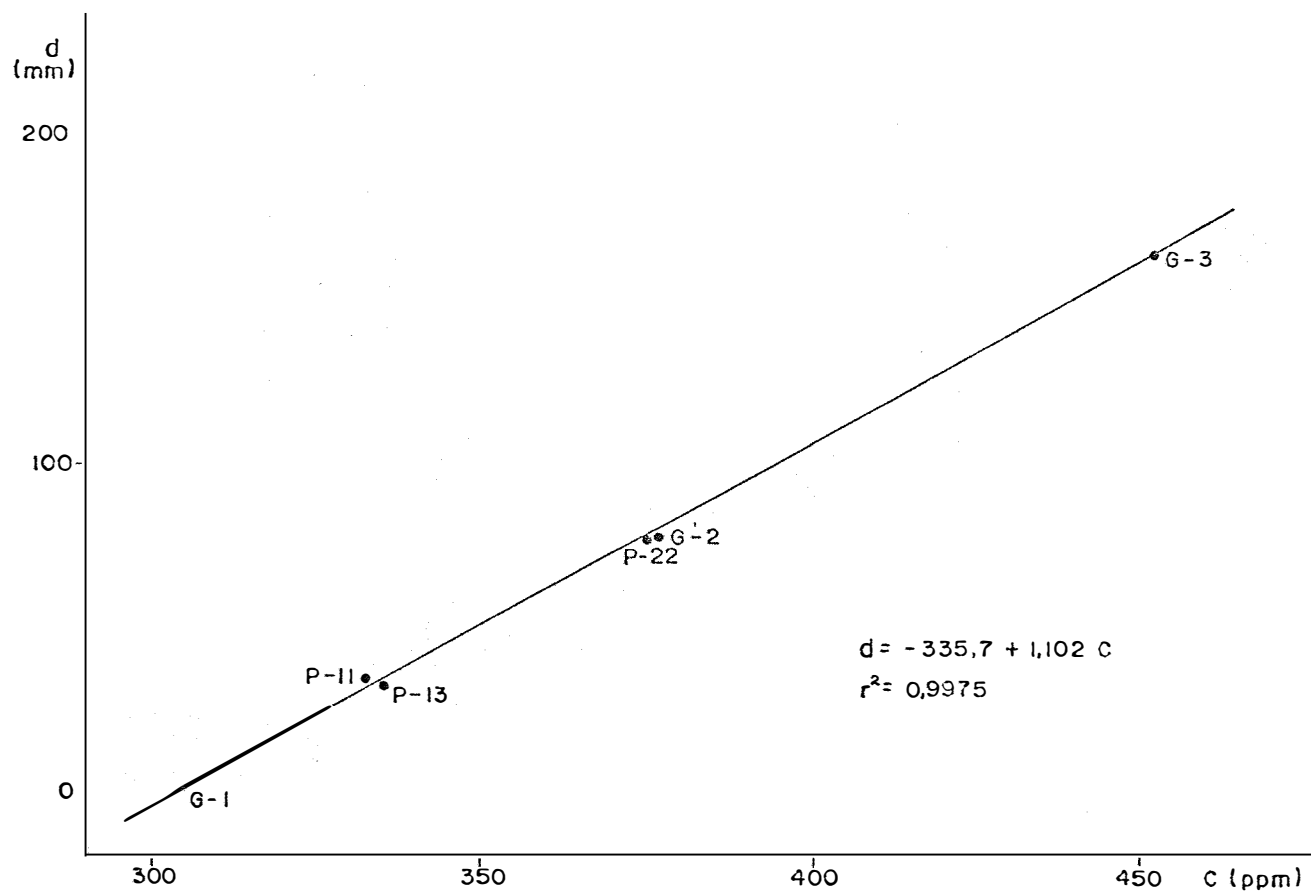


Figura 13 - Curva padrão para as determinações de concentrações de CO₂ no analisador infravermelho de gás IRGA-20.

A equação da curva padrão do analisador IRGA-20 é:

$$d = -335,7 + 1,102 C \quad r^2 = 0,9975$$

onde:

d = desvio em milímetros da amostra ao padrão G-1

C = concentração de CO₂, em parte por milhão, na amostra analisada.

No cálculo para a determinação da concentração de CO₂ utiliza-se a equação da curva padrão na forma:

$$C = \frac{335,7 + d}{1,102}$$

4.2. Determinação da concentração de CO₂ em diferentes horários do dia

Na análise da concentração de CO₂ num fluxo de ar, proveniente do interior de um talhão de pinus localizado junto ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, obtiveram-se os resultados, os quais foram calculados com intervalos de 5 minutos e encontram-se plotados nas figuras 14, 15 e 16 obtidos em três dias distintos de análises.

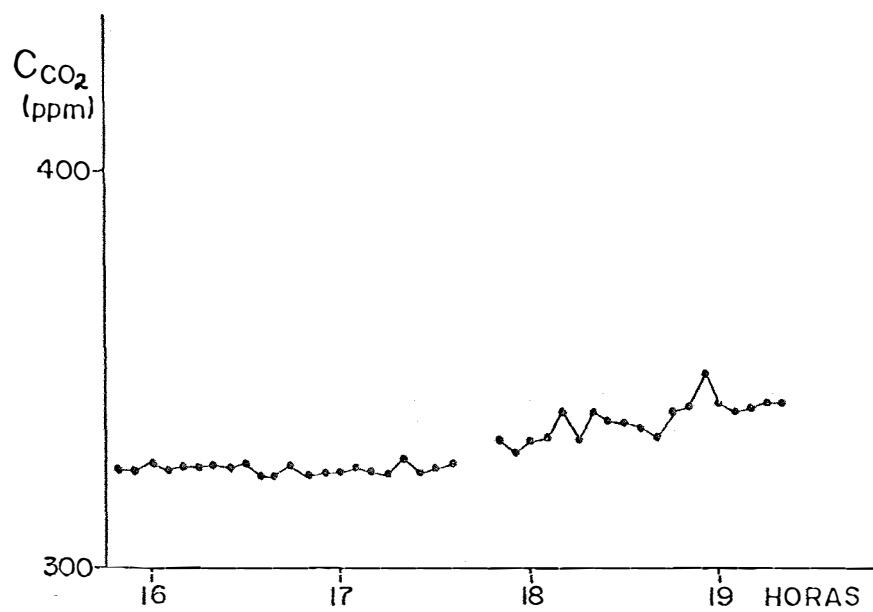


Figura 14 - Variação da concentração de CO₂.
CENA - 16/05/80.

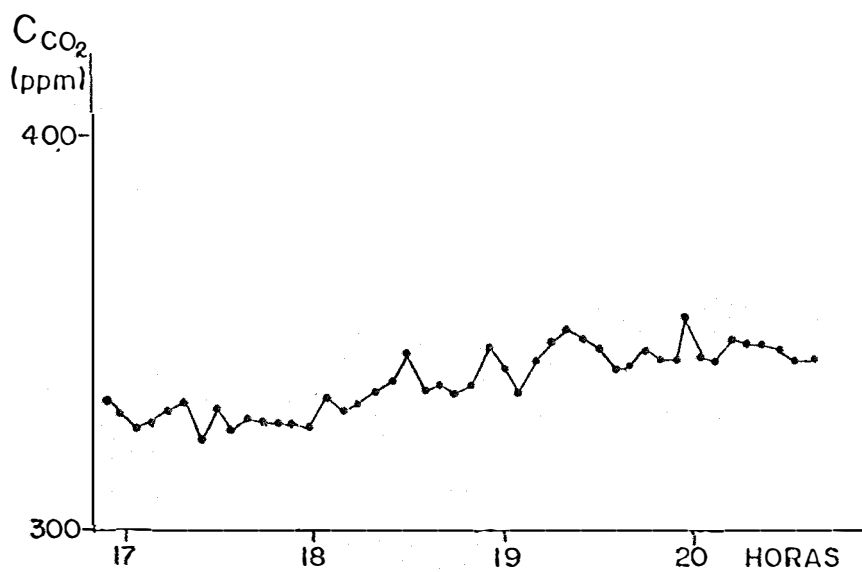


Figura 15 - Concentrações de CO₂ no início da noite.
CENA - 27/05/80

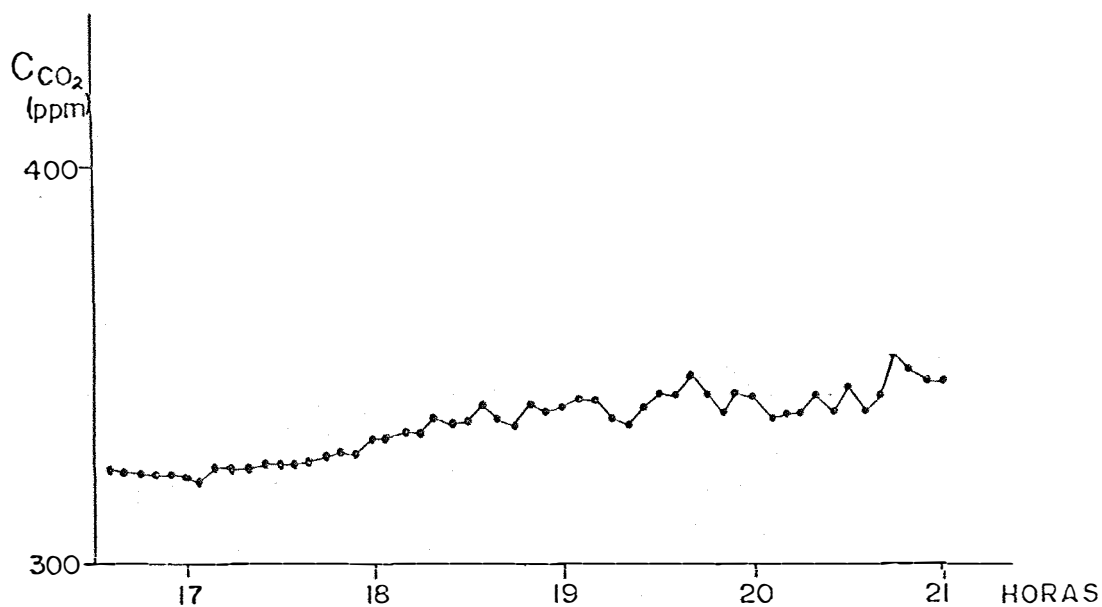


Figura 16 - Oscilações na concentração de CO₂ no ar atmosférico.
CENA - 12/06/80.

Nota-se, nas figuras 14, 15 e 16, que após as 18 horas a concentração de CO₂ tende a aumentar, fato este provocado pela interrupção da fotossíntese e acúmulo de CO₂ no ar atmosférico pelas respirações das plantas e do solo.

Após as determinações das variações da concentração de CO₂ em pequenos períodos, realizou-se medidas durante 24 horas ininterruptas para se conhecer o comportamento do CO₂ nesse período.

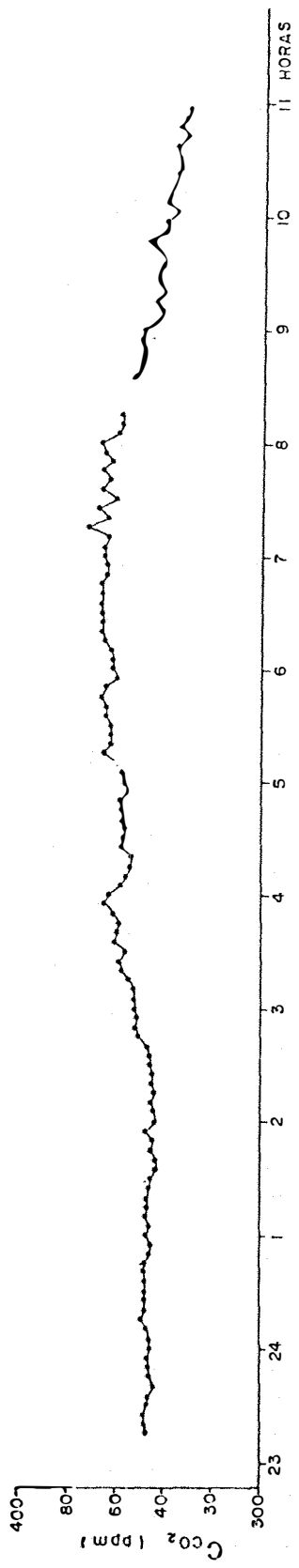
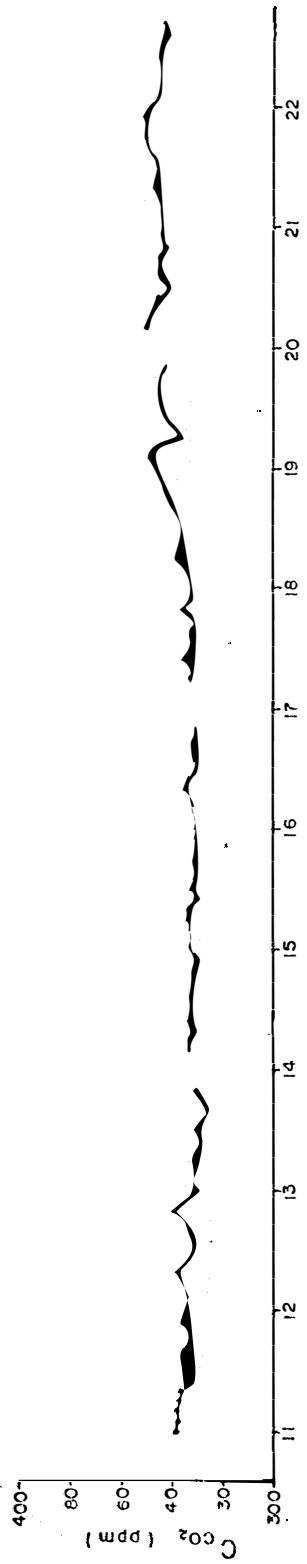


Figura 17 - Concentração de CO₂ no ar atmosférico calculados a cada 5 minutos num período de 24 horas, CENA 14-15/06/1980.

Através da figura 17, pode-se avaliar o comportamento da concentração de CO_2 durante o período de medida. As menores concentrações de CO_2 encontram-se no intervalo das 13 às 18 horas. Essa redução da concentração é provocada pela retirada de CO_2 do ar atmosférico através do processo fotossintético. No período das 18 às 7 horas existe um acúmulo de CO_2 na atmosfera resultante principalmente da respiração das plantas e da atividade biológica do solo.

Após a obtenção de resultados satisfatórios na medida de concentração de CO_2 num fluxo contínuo de ar atmosférico, fêz-se algumas modificações no sistema de admissão do analisador IRGA-20, que permitissem as análises de concentrações de CO_2 em amostras de ar atmosféricos coletados em recipientes especiais, de acordo com a metodologia descrita no ítem 3.1.4..

A figura 18, ilustra um dos testes realizados onde se compararam os resultados das determinações das concentrações de CO_2 num fluxo contínuo de ar atmosférico e nas amostras de ar coletadas em recipientes especiais. As amostras foram coletadas com repetição, em intervalos de aproximadamente 30 minutos, junto à extremidade do tubo de captação de ar, no interior do talhão de pinus. Os resultados foram considerados excelentes, podendo-se notar através da figura 18, que as concentrações de CO_2 determinados nas amostragens de ar realizadas, acompanharam as concentrações determinadas através do fluxo de ar atmosférico.

A técnica de análise da concentração de CO_2 em amostras coletadas em recipientes pré-evacuados, facilitou em muito, pois permite a análise em locais distantes evitando o deslocamento do analisador.

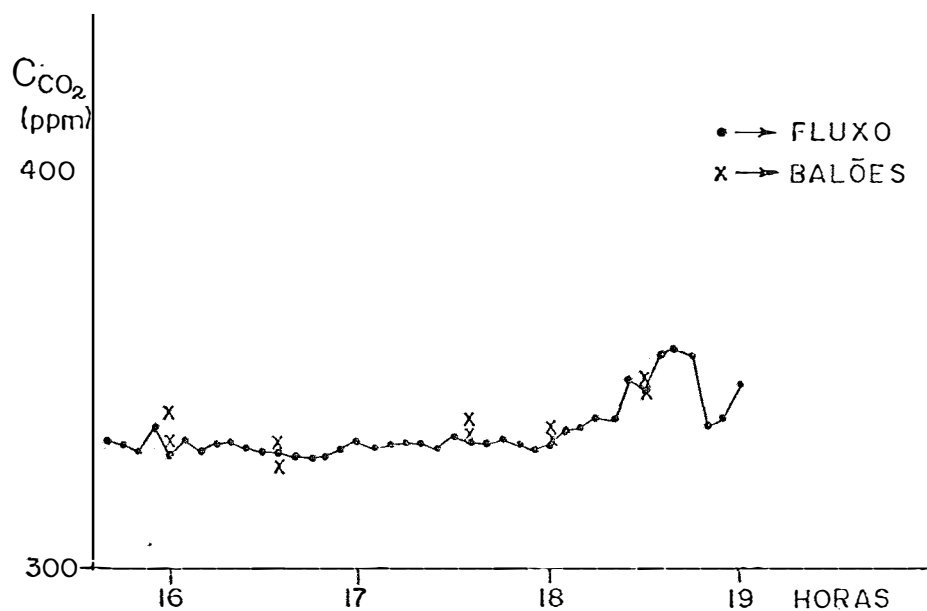


Figura 18 - Comparação analítica da determinação de concentração de CO_2 num fluxo contínuo de ar atmosférico e em amostras de ar coletadas em recipientes especiais - CENA.

4.3. Medidas da concentração de CO₂ em amostras de ar

Amostras de ar atmosférico foram coletados numa pequena mata localizada no campus da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", junto ao Departamento de Engenharia Florestal. A cada duas horas, foram coletadas duas amostras no interior da mata e duas amostras fora da mata num período de 24 horas. Após a coleta, as amostras foram transportadas até o CENA onde realizou-se a análise de concentração de CO₂ das mesmas, cujos resultados encontram-se na figura 19.

As concentrações de CO₂ no interior e fora da mata, variaram harmonicamente durante o período estudado. Nota-se, entretanto, que em alguns pontos existe uma diferença entre as medidas, provocada provavelmente por contaminação durante a coleta da amostra. Por outro lado, o fato de não haver diferença entre as concentrações de CO₂ no interior e fora da mata, deve-se provavelmente ao fato de os dois pontos de coleta estarem muito próximos. As curvas mostram também que a menor concentração de CO₂ no ar atmosférico, ocorre no período das 12 às 16 horas em plena atividade fotossintética; e a concentração máxima é atingida no período que antecede a aurora, com um aumento de aproximadamente 70% da concentração mínima do dia.

4.4. Correlação entre a concentração de CO₂ e razão isotópica ¹³C/¹²C no ar atmosférico.

A amostragem foi realizada no mesmo local descrito no item 4.3.. As amostras foram coletadas em recipientes de aço inoxidável com capacidade para 10 litros, em intervalos de 4 horas durante 24 horas. As

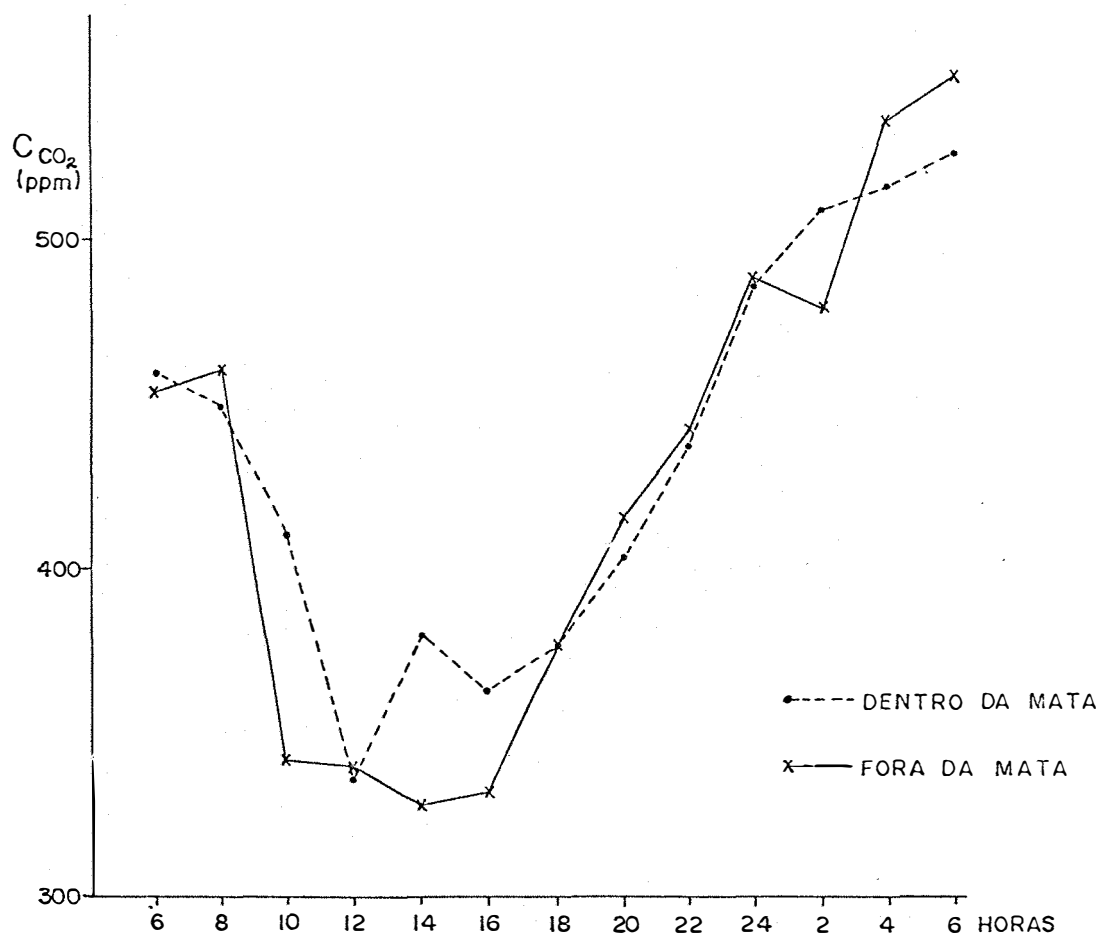


Figura 19 - Variação da concentração de CO₂ no ar atmosférico nas diferentes horas do dia, dentro e fora da mata localizada no campus da ESALQ.

metodologias de coleta e preparo das amostras de ar atmosférico, encontram-se descritas nos itens 3.1.4. e 3.2.4..

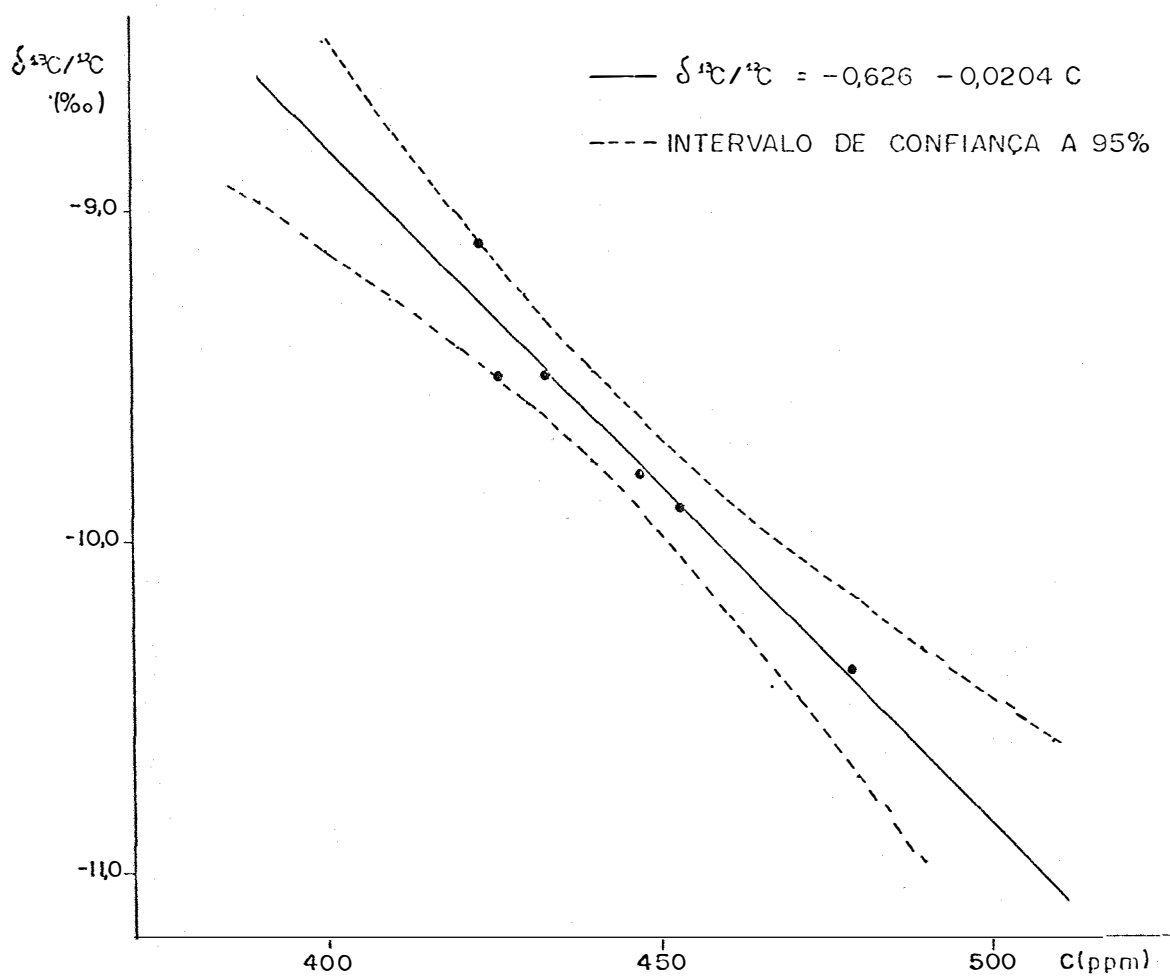


Figura 20 - Concentração de CO₂ e variação natural da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ no ar atmosférico (campus da ESALQ).

Os resultados analíticos da concentração de CO₂ e razão isotópica ¹³C/¹²C nas amostras de ar atmosférico, mostraram uma correlação linear, com a seguinte equação:

$$\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = -0,626 - 0,0204 C \quad r^2 = 0,94^{**}$$

onde: $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ = razão isotópica ¹³C/¹²C em relação ao padrão internacional PDB (‰).

C = concentração de CO₂ no ar atmosférico em partes por milhão (ppm).

Os valores de concentrações de CO₂ plotados na figura 20, são relativamente elevados, devido principalmente ao acúmulo de CO₂ no ar atmosférico, ocasionado possivelmente pela pequena intensidade de fotossíntese devido ao dia se apresentar relativamente escuro e completamente encoberto.

Essa equação é característica de ambientes semelhantes, sofrendo modificações em seus parâmetros à medida que as fontes de CO₂ para o ar atmosférico sejam diferentes. RODRIGUES e EPSTEIN (1974), fazendo a mesma correlação numa atmosfera urbana, encontraram valores para 395ppm de CO₂ $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = -12,5$ ‰ sendo que o baixo teor de $\delta^{13}\text{C}$ no CO₂ do ar

atmosférico urbano é atribuído principalmente à queima de combustíveis fósseis com valores estimados de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C} \approx -32^{\circ}/\text{oo}$.

4.5. Concentração de CO_2 no ar atmosférico nas proximidades da Manaus e no INPA

Foi realizado uma série de amostragens de ar atmosférico, para uma determinação preliminar da concentração de CO_2 na região Amazônica. As amostras foram coletadas no bosque do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia em Manaus; na Reserva Florestal Ducke, localizada a 60 Km de Manaus e na bacia Modelo distante 80 Km da cidade, no interior da floresta.

Tabela 5 - Concentração de CO_2 no ar atmosférico nas proximidades de Manaus (AM)

Local de amostragem	Horário	Concentração de CO_2 (ppm)
INPA	21:00	527
INPA	23:00	373
INPA	6:00	493
INPA	9:00	348
INPA	12:00	331
INPA	15:00	325
INPA	18:00	341
INPA	21:00	515
INPA	23:00	385
INPA	6:00	426
INPA	9:00	370
INPA	12:15	344
INPA	23:00	411
RESERVA DUCKE	10:00	338
RESERVA DUCKE	12:30	335
BACIA MODELO	13:00	340
BACIA MODELO	16:00	378

Através dos resultados da tabela 5, verifica-se que existe uma variação na concentração de CO₂ no ar atmosférico, principalmente na série de amostragens realizadas no INPA. As altas concentrações ocorrem à noite, por motivos já discutidos, e os valores mínimos encontram-se no período da tarde próximo às 15:00 horas. A amostragem foi realizada sem repetições, pois destinava-se apenas como um teste da metodologia desenvolvida e reconhecimento prévio das áreas destinadas às pesquisas na região Amazônica.

4.6. Determinação da concentração de CO₂ e razão isotópica ¹³C/¹²C em diferentes localidades do Brasil

Foram realizadas amostragens de ar atmosférico em diferentes locais com a finalidade de tomar conhecimento da concentração de CO₂ e da variação da razão isotópica ¹³C/¹²C nas diferentes regiões.

As determinações das razões isotópicas ¹³C/¹²C nas amostras coletadas em Belém e Manaus, seguiram as metodologias descritas nos itens 3.2.2. e 3.2.3.. Para as amostras coletadas no Nordeste utilizou-se a metodologia descrita no item 3.2.4.. Os resultados encontram-se na tabela 6.

A coleta de amostras no Nordeste, foi realizada num voo entre as cidades de Porto Nacional (GO) e Recife (PE), adotando-se como ponto de referência a cidade mais próxima no instante da coleta.

Os valores das concentrações de CO₂ das amostras de ar atmosférico coletadas na região Nordeste do Brasil, podem ser considerados

Tabela 6 - Resultados analíticos de amostras de ar atmosférico coletadas no Norte e Nordeste do Brasil.

Local	Altitude (m)	CO ₂ (ppm)	$\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (‰)
BELÉM (PA)	0	-	-7,7
BELÉM (PA)	1000	375	-
BELÉM (PA)	3000	315	-
SANTARÉM (PA)	0	352	-
SANTARÉM (PA)	1000	385	-
SANTARÉM (PA)	3000	369	-
MANAUS (AM)	0	365	-9,2
MANAUS (AM)	1000	361	-
MANAUS (AM)	3000	319	-
PORTO NACIONAL (GO)	1500	337	-7,4
GILBUÉS (PI)	1500	338	-7,4
PETROLINA (PE)	2100	338	-7,7
GRAVATÁ (PE)	2400	339	-7,5
OCEANO ATLÂNTICO	1500	341	-7,1

semelhantes entre si. Entretanto, os resultados de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, evidencia uma tendência de se tornarem mais negativos comparados com o resultado obtido na amostragem feita sobre o Oceano Atlântico a 300 km da costa. Como a região não é muito industrializada, tudo nos leva a crer que o fenômeno deve-se mais à respiração e decomposição da matéria orgânica das matas litorâneas.

Na região Amazônica, a diferença entre a razão isotópica $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ entre Belém (PA) e Manaus (AM) torna-se mais evidente, demonstrando que a floresta participa intensamente na composição isotópica do CO₂ atmosférico.

Análises de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, também foram realizadas em Ubatuba (SP) mostrando os valores característicos de uma região que se encontra entre um grande centro industrializado e o Oceano Atlântico, tabela 7.

Tabela 7.- Resultados analíticos de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do ar atmosférico em Ubatuba (SP).

Data	$\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (‰)
20/04/80	-8,7
09/05/80	-8,4
10/06/80	-9,1
15/07/80	-8,7
16/07/80	-8,7

4.7. Medidas de concentração de CO_2 e razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ na Floresta Amazônica

O local escolhido para a amostragem foi a bacia modelo, localizada à 80 Km de Manaus, no interior da Floresta Amazônica. As amostras foram coletadas a 5, 15 e 30 metros de altura do solo, junto a uma torre metálica de 42 m de altura.

A amostragem realizada, cujos resultados analíticos encontram-se na tabela 8, teve como objetivo principal verificar a existência de gradiente de concentração de CO_2 e razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ num microclima de floresta tropical pluvial. Comparando-se as concentrações de CO_2 nos diferentes horários, percebe-se que existe uma tendência de dimi-

nuição do período da manhã para a tarde; fato este, devido ao acúmulo de CO₂ durante o período noturno (pela respiração das plantas e do solo) e o consumo do mesmo pela fotossíntese durante o período diurno. Entre as diferentes alturas não houve uma diferença significativa mostrando que existe uma homogeneização do ar atmosférico no espaço estudado. As razões isotópicas ¹³C/¹²C, de uma maneira geral, também mostraram pequenas oscilações, mas sempre menores que -8⁰/oo; demonstrando mais uma vez a influência da floresta na composição isotópica do CO₂ atmosférico.

Tabela 8 - Valores de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e concentração de CO₂ do ar atmosférico na floresta Amazônica.

Data	Hora	Altura (m)	CO ₂ (ppm)	$\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (‰)
01/09/80	14:00	5	330	-8,9
	14:45	15	332	-9,3
	15:30	30	331	-8,4
03/09/80	12:00	5	338	-9,1
	12:45	15	333	-8,6
	13:30	30	333	-8,9
05/09/80	9:00	5	349	-9,1
	9:45	15	348	-8,5
	10:30	30	347	-8,5

4.8. Comparação entre as razões isotópicas $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ no carbono fixado pelas plantas e no CO_2 atmosférico

No período em que se realizavam as medidas da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ no CO_2 do ar atmosférico de diferentes localidades do Brasil, técnicos da Divisão de Ciências Ambientais do CENA, realizaram plantio de várias espécies vegetais em diversas localidades do país. O plantio, bem como a colheita do material vegetal para análise, foram realizados simultaneamente em todos os locais; MATSUI et alii (1981).

Tabela 9 - Resultados analíticos da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ em amostras de plantas cultivadas em diferentes partes do Brasil

Vegetal	Piracicaba (SP)	Ubatuba (SP)	Belém (PA)	Manaus (AM)	R.Branco (AC)	Recife (PE)
Milho	-13,0	-12,3	-12,6	-13,7	-13,1	-12,5
Crotalária	-28,1	-27,7	-29,3	-29,7	-30,4	-25,6
Vigna	-27,3	-27,4	-28,8	-28,1	-30,5	-26,9
Soja	-28,9	-28,9	-30,1	-29,5	-	-
Sorgo	-13,0	-	-11,9	-13,7	-13,0	-14,3

Fonte: Divisão de Ciências Ambientais/CENA

O preparo das amostras vegetais para análise da razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, foi realizado seguindo as instruções descritas no item 3.3..

Numa primeira observação dos resultados contidos na tabela 9, notam-se valores de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ em torno de $-12^{\circ}/\text{oo}$ e valores próximos a $-29^{\circ}/\text{oo}$. Os valores menos negativos referem-se às amostras de plantas C-4 e os mais negativos às plantas C-3, mostrando claramente que existe

uma absorção diferencial de CO_2 durante a fotossíntese. Pode-se notar também, que existem pequenas oscilações no valor de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ em plantas de mesmo ciclo fotossintético, cultivados em diferentes locais. Isso é devido principalmente às diferenças na composição isotópica do CO_2 atmosférico onde a planta está sendo cultivada.

Comparando-se os resultados analíticos entre Belém e Manaus, percebe-se que existe uma leve tendência dos resultados serem menores em Manaus; relacionando-se com os resultados de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ da tabela 6, evidencia-se que em Manaus o valor de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ no ar atmosférico também é menor. Esse fato, sugere que quando a planta absorve o CO_2 da atmosfera, ela o faz absorvendo preferencialmente ^{12}C ao ^{13}C o que resulta num fracionamento isotópico. Admitindo-se que o valor de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ no CO_2 do ar atmosférico seja $-8^0/00$, nas plantas C-4 a relação será em torno de $-12^0/00$; mas se para o ar atmosférico o valor de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ for $-9^0/00$, nas plantas será ao redor de $-13^0/00$. Os valores mais negativos de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ no CO_2 do ar atmosférico no interior da floresta Amazônica, deve-se principalmente ao retorno à atmosfera do CO_2 fixado nas plantas, pela morte e decomposição das mesmas e pela respiração.

Para uma conclusão mais segura, as determinações de concentração e razão isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ do CO_2 atmosférico devem ser realizadas com maior frequência durante o período de desenvolvimento das diferentes espécies vegetais do experimento.

5. CONCLUSÕES

Baseando-se nos resultados obtidos, evidenciam-se as seguintes conclusões:

5.1. Desenvolveu-se uma metodologia, relativamente simples, para obtenção de padrões com a concentração de CO₂ desejada para calibração de analisadores infravermelho de gás, com uma precisão média de 0,5 ppm.

5.2. Com a construção do sistema de admissão, o analisador IRGA-20 tornou-se versátil, pois permite análises de concentrações de CO₂ em amostras de ar coletadas em recipientes especiais (análise estática), e num fluxo contínuo de ar (análise dinâmica). Pelo sistema estático, podem-se obter valores de concentrações de CO₂ de locais onde é impossível a utilização de energia elétrica; e através do sistema dinâmico de análises pode-se estudar com detalhes as oscilações da concentração de CO₂ no ar atmosférico em períodos longos.

5.3. Através das técnicas utilizadas neste trabalho, podem-se medir as variações de concentrações de CO₂ no ar atmosférico, com desvios meno-

res do que 2 ppm.

5.4. Os métodos desenvolvidos para coleta de ar ou CO₂ atmosférico, demonstraram ser eficientes, precisos e de fácil operação, podendo, conforme a necessidade, escolher o mais prático.

5.5. A correlação obtida entre a concentração de CO₂ (C) e os valores de $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (PDB) do ar atmosférico coletado em Piracicaba (SP) foi:

$$\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = -0,626 - 0,0204\text{C}.$$

6. LITERATURA CITADA

ADAMS, J.A.S.; M.S.M. MANTOVANI; L.L. LUNDELL, 1977. Wood versus Fossil Fuel as a Source of Excess Carbon Dioxide in the Atmosphere: a preliminary Report. Science 196:54-56.

ARRHENIUS, S., 1896. On the influence of carbonic acid in the air upon the temperature of the ground. London, Edinburgh and Dublin Philosophical Magazine, 41:237-276.

BOLIN, B., 1974. O ciclo do carbono. In: Scientific American ed. A Biosfera. São Paulo, Editora Polígono, cap. 5, p.51-61.

CALLENDAR, G.S., 1958. On the Amount of Carbon Dioxide in the Atmosphere. Tellus, 10(2):243-248.

CARPENTER, T.M., 1937. The constancy of the atmosphere with respect to carbon dioxide and oxygen content. Journal of American Chemical Society, 59:358-360.

CLOUD, P. e A GIBOR, 1974. O ciclo do oxigênio. In: Scientific American ed. A Biosfera. São Paulo, Editora Polígono, cap. 6, p. 65-76.

CRAIG, H., 1953. The geochemistry of the stable carbon isotopes. Geochimica et Cosmochimica Acta, 3:53-92.

CRAIG, H., 1957. Isotopic standards for carbon and oxygen and connection factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. Geochimica et Cosmochimica Acta, 12:133-149.

DUCATTI, C.; E. SALATI; E. MATSUI, 1979. Método de análise da razão $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ em carbonatos. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 51(2):275-286.

FONCELIUS, S. e K.E. WÄRME, 1960. A method to make standard CO_2 samples for Infrared Gas Analysis and the operation of an IRGA analyser for air samples from Scandinavian Network. Tellus, 12(2):227-230.

HALDANE, J.S., 1936. Carbon dioxide content of atmospheric air. Nature 137, p. 575.

JENKINS, F.A. e L.S. ORNSTEIN; 1932. On the relative abundance of the carbon isotope, ^{13}C . Amsterdam, Koninkl. Akad. Wetenschap. Proc. Sect. Science, 35:1212.

KANWISHER, J., 1960. $p\text{CO}_2$ in Sea Water and its Effect on the Movement of CO_2 in Nature. Tellus, 12(2):209-215.

KAPLAN, L.D., 1960. The influence of carbon dioxide variation on the atmospheric heat balance. Tellus, 12(2):204-208.

KEELER, J.E., 1884. On the absorption of radiant heat by carbon dioxide. American Journal of Science, 128(165):190-198.

KEELING, C.D., 1961. The concentration and isotopic abundances of carbon dioxide in rural and marine air. Geochimica et Cosmochimica Acta, 24:277-298.

KEELING, C.D.; R.B. BACASTOW; A.E. BAINBRIDGE; C.A. EKDAHL; P.R. GUENTHER Jr. e L.S. WATERMAN, 1976a. Atmospheric carbon dioxide variations at Mauna Loa Observatory, Hawaíi. Tellus, 28:538-551.

KEELING, C.D.; J.A. ADAMS; C.A. EKDAHL e P.R. GUENTHER Jr., 1976b. Atmospheric carbon dioxide variations at the South Pole. Tellus, 28:552-564.

LÉWY, B.K., 1850. Sur la composition Chimic de l'air. Académie des Sciences, Paris, Comptes Rendus, 31:725-726.

MATSUI, E.; E. SALATI e M.N.G. RIBEIRO, 1981. Alguns aspéctos de $\delta^{13}\text{C}$ do CO_2 atmosférico na Amazônia e no Estado de São Paulo (em publicação).

- MATTOS, J.N.B., 1920. A análise do ar. Boletim de Agricultura. Série 21, 3:591-846.
- MÈNE, C., 1851. Note sur la quantité d'acide carbonique dans l'air à différentes hauteurs. Première série d'expériences faites au Panthéon, les 8, 10 et 11 juillet, 1851. Académie des Sciences, Paris, Comptes Rendus, 33: p.39.
- MÈNE, C., 1863. Dosage de l'acide carbonique de l'air. Académie des Sciences, Paris, Comptes Rendus, 57:155-156.
- McBRIDE, D., 1964. Experimental assays. Apud STEPANOVA, N.A. (1952). Part II. A Selective Annotated Bibliography on Carbon Dioxide in the Atmosphere. Meteorological Abstracts and Bibliography: 3(2):137-170.
- McKINNEY, C.R.; J.M. McCREA; S. EPSTEIN; H.A. ALLEN; H.C. UREY, 1950. Improvements in mass spectrometers for the measurements of small differences in isotope abundance ratios. Review of Scientific Instruments. 21(8):724-730.
- McLEAN, D., 1978. A terminal mesozoic "Greenhouse" lessons from the past. Science, 201(4):401-406.
- MOOK, W.G., 1968. Geochemistry of the stable carbon and oxygen isotopes of natural waters in the Netherlands. Groningen, Rijksuniversiteit te Groningen, 156 p. (Tese de Doutorado).

- MUNTZ, C.A. e E. AUBIN, 1884. Determination d'acide carbonique de l'air effectuée par la Mission du Cap. Horn. Academic des Sciences, Paris, Comptes Rendus, 98:487-494.
- NIER, A.O. e E.A. GULBRANSEN, 1939. Variations in the relative abundance of the carbon isotopes. Journal of American Chemical Society, 61: 697-698.
- NIER, A.O., 1950. A redermination of the relative abundances of the isotopes of carbon, nitrogen, oxygen, argon and potassium. Physical Review, 77(6):789-793.
- PARK, R. e S. EPSTEIN, 1961. Metabolic fractionation of C^{13} & C^{12} in plants. Plant Physiology 36(2):133-138.
- PEARMAN, G.I. e J.R. GARRAT, 1972. Global aspects of carbon dioxide. Search, 3(3):67-73.
- PLASS, G.N., 1956. The carbon dioxide theory of climatic change. Tellus, 8(2):140-154.
- REISET, J., 1879. Recherches sur la proportion de l'acide carbonique dans l'air. Academie des Sciences, Paris, Comptes Rendus, 88:1007-1011.
- RIGAUD, A., 1974. Revue des méthodes de dosage du dioxyde de carbone. La Meteorologie, 5(33):46-52.

- RODRIGUES, C. e S. EPSTEIN, 1974. Variations in the isotopic compositions of carbon and oxygen in CO₂ and hydrogen in H₂O vapor in an urban atmosphere. Pasadena, California, Institute of Technology, Division of Geological and Planetary Sciences, 16 p.
- SCHLOESING, J.J.T., 1880. Sur la constance de la proportion d'acide carbonique dans l'air. Academie des Sciences, Paris, Comptes Rendus, 90:1410-1430.
- SLADE, D.H., coord. 1978. A comprehensive plan for carbon dioxide effects research and assesment. Part I: The global carbon cycle and climatic effects of increasing carbon dioxide. United States Department of Energy, 53p.
- SMITH, B.N. e S. EPSTEIN, 1971. Two categories of ¹³C/¹²C ratios for higher plants. Plant Physiology 47:380-384.
- STEYMARK, A., 1961. Microdetermination of carbon and hydrogen. In: STEYMARK, A. Quantitative Organic Microanalyses. 2a. ed., New York, Academic Press, cap. 9, p. 221-273.
- TRABERT, W., 1894. Absorption und diffuse reflexion der atmosphäre. Meteorologische Zeitschrift, 11:236-238. Apud: Stepanova, N.A.. Part II. A seletive annotated bibliography on carbon dioxide in the atmosphere. Meteorological abstrats and bibliography, 3(2):137-170, 1952.

TROUGHTON, J.H.; K.A. CARD e C.H. HENDY, 1974. Photosynthetic pathways and carbon isotope discrimination by plants. In: Carnegie Institution of Washington. Annual report of the director Department of plant biology. Stanford, California, p.768-780.

TRUCHOT, P., 1873. Sur la proportion d'acide carbonique existant dans l'air atmosphérique. Academie des Sciences, Paris. Comptes Rendus, 77:675-678.

WHELAN, T.; W.M. SACKETT; C.R. BENEDICT, 1973. Enzymatic fractionation of carbon isotopes by phosphoenolpyruvate carboxylase from C-4 plants. Plant Physiology 51:1051-1054.

WHITFIELD, D.W.A., 1980. Accurate calibration of an absolute IRGA over a wide range of CO₂ concentrations. Photosynthetica, 14(2):171-176.

WOODWELL, G.M.; R.H. WHITTAKER; W.A. REINERS; G.E. LIKENS; C.C. DELWICHE e D.B. BGTKINS, 1978. The Biota and the World Carbon Budget. Science, 199:141-145.