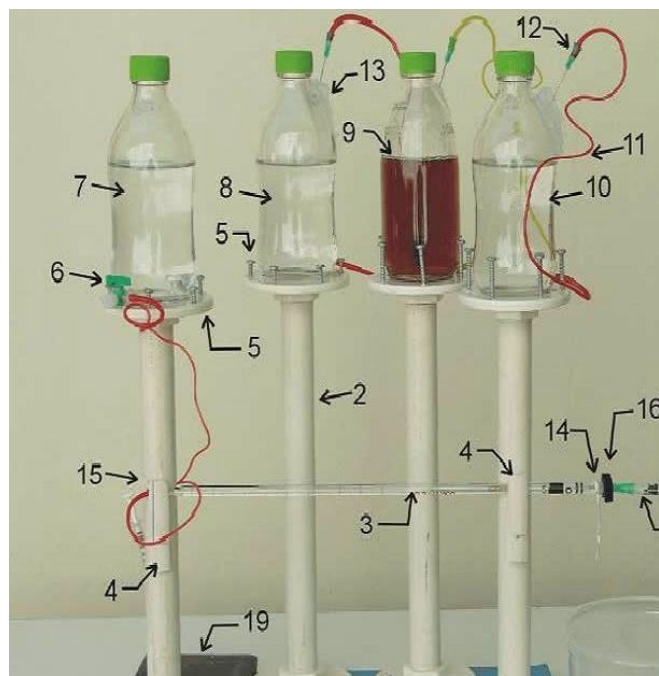


Foto: Adonai G. Calbo



Uso do Equipamento 'Facili' para Medição da Atmosfera Interna de Frutas e Hortaliças

Adonai Gimenez Calbo¹
Celso L. Moretti²
Gilmar P. Henz³

Medições das concentrações de CO₂ e O₂ da atmosfera interna de órgãos vegetais, da atmosfera de embalagens e da atmosfera de ambientes modificados e controlados de armazenamento são necessidades comuns para aqueles que trabalham com fisiologia e patologia de pós-colheita. Em muitas situações, somente é possível aplicar métodos de baixo custo para medir os componentes gasosos em microamostras.

Dentre os vários métodos para medir estes gases, o de Bonnier & Mangin (THODAY, 1913) parece ser o de mais baixo custo. Além disto, trata-se de um método acurado que serve para medir concentrações de CO₂ e O₂ superiores a 1% sem a necessidade de calibração, razão pela qual foi denominado método eudimétrico. Este método foi redescoberto e publicado novamente por SHOLANDER (1947). Nesta comunicado técnico, apresenta-se uma adaptação destes aparelhos, denominada 'Facili', que é de construção simples e se presta para medir amostras gasosas com volume da ordem de 100mL.

Por permitir medições de amostras diminutas, esta adaptação é particularmente valiosa para estudos da composição da atmosfera interna de frutas e hortaliças e pode também ser utilizada para aplicações de atmosfera modificada e controlada.

Montagem do Equipamento

O suporte do aparelho mostrado lateralmente tem altura de 40 cm, largura de 30 cm. A prateleira intermediária onde foi colada a pipeta de medição foi fixada a 20 cm de altura foi feita com uma placa de 17 cm x 30 cm de vidro fumê de 6 mm. A prateleira superior foi uma placa de 6 cm x 30 cm de vidro de 6 mm. O pé foi preparado com uma placa de vidro de 13 cm x 30 cm de vidro de 10mm. As partes foram unidas entre si com cola de silicone e reforços de tiras de vidro de 2 cm x 30 cm nas cantoneiras como pode-se ver na Figura 1.

¹ Eng. Agr., PhD., Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP. E-mail: adonai@cnpdia.embrapa.br

² Eng. Agr., DSc., Embrapa Hortaliças, Brasília-DF. E-mail: moretti@cnph.embrapa.br

³ Eng. Agr., DSc., Embrapa Hortaliças, Brasília-DF. E-mail: Gilmar@cnph.embrapa.br

Foto: Adonai G. Calbo

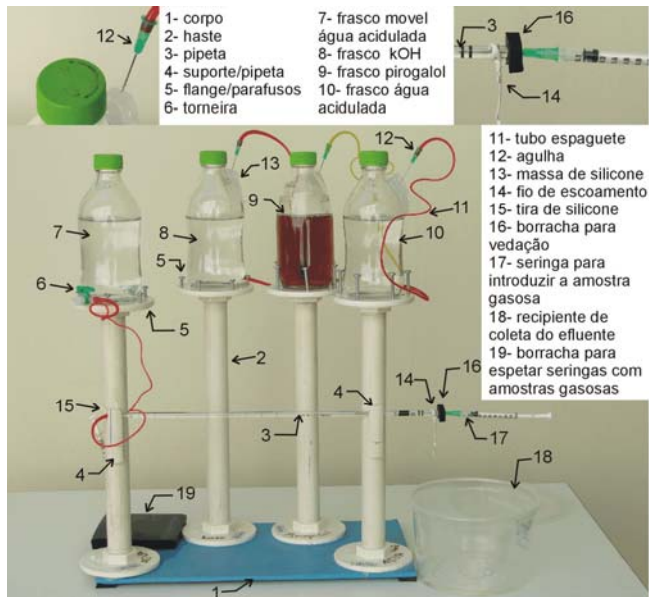


Fig. 1. Esquema básico do equipamento 'Facili'.

A parte principal do aparelho é uma pipeta (cilindro) de 200 mL colada a um suporte horizontal intermediário cuja ponta foi encaixada em um tubo plástico (espaguete de PVC de 5 mm) proveniente da torneira cirúrgica de um frasco, aqui denominado reservatório móvel, com solução de ácido diluído (e.g. H_2SO_4 aproximadamente 0,002 N). A finalidade do ácido diluído é acidificar a superfície interna da pipeta, para minimizar a captura do CO_2 pela água antes da leitura inicial do volume da amostra. Durante alguns dos procedimentos descritos a seguir, o reservatório móvel é segurado com uma das mãos e movimentado para cima e para baixo para causar fluxo de solução na pipeta. Com o movimento a amostra gasosa é exposta às soluções que capturam o CO_2 e depois o O_2 .

Na prateleira superior estão fixados três frascos. O da direita contém ácido diluído (aproximadamente 0,002 N), o frasco central contém NaOH 100 g/L e o frasco da esquerda contém pirogalol 50 g/L dissolvido em NaOH 50 g/L. As soluções destes reservatórios superiores fluem através de tubos plásticos. Cada um destes tubos com diâmetro de 5 mm (tubo *espaguete* de PVC) contém na extremidade uma agulha 25 x 6. A agulha e o tubo de PVC são unidos por um segmento de tubo de silicone com comprimento de 2 cm. O diâmetro da agulha deve propiciar um fluxo de solução da ordem de 1 ml/min, fluxo maior causa desperdício de reagente e fluxo menor pode restringir a velocidade das medições. As agulhas das seringas para injetar a amostra gasosa devem ser 'número 25 x 8', com diâmetro cilíndrico do metálico da ordem de 0,69 mm. Uma borracha inserida na haste metálica proporciona a vedação (V) para injetar a amostra gasosa.

Resumidamente, o aparelho consta de suporte onde são fixados a pipeta de medição e três frasco fixos (Figura 2). O frasco móvel é ligado à entrada da pipeta por um tubo flexível. Cada um dos frascos fixos também possui tubos para a saída de suas respectivas soluções, cujo fluxo é regulado nas agulhas acopladas nas suas extremidades. A tampa de todos os frascos contém dois orifícios. No primeiro passa o tubo de saída, enquanto que o segundo orifício fica aberto (Figura 2). Além do aparelho em si, é conveniente ter também uma seringa de 20 ml com borracha de vedação inserida na agulha. Com esta seringa, injeta-se ar nos frascos para forçar a entrada da solução pelos tubos. Para que a solução não continue a escorrer, agulha contida no final do tubo é enfiada na borracha de um frasco de coleta de efluente.

Foto: Adonai G. Calbo



Fig. 2. Equipamento 'Facili'.

Modo de Usar

Para iniciar a medição, coloca-se as soluções nos frascos e, com a seringa de 20 ml, enche-se os tubos. A extremidade de cada tubo fica enfiada no frasco de coleta de efluente correspondente. Deixa-se o ácido diluído escorrer por gravidade através da pipeta, abrindo-se a torneira do frasco móvel. A amostra gasosa, de 50 a 100 mL, é injetada na

pipeta usando-se uma seringa de 1 ml ou menor, contendo a vedação de borracha (V). Após a injeção, a torneira do frasco móvel é fechada. A água contida na ponta externa da pipeta fica como separador entre a amostra gasosa e o ar. Em seguida, o tubo do frasco superior com solução ácida é acoplado na ponta (direita) da pipeta, de onde a água pinga. O frasco móvel é, então, abaixado até que o seu nível de água fique inferior ao nível da pipeta. Com a abertura de sua torneira, a amostra gasosa movimenta-se para a direita até a posição de medição. Caso a bolha ultrapassar a posição, basta elevar o nível do frasco para trazê-la de volta à posição desejada. Feito isto, a torneira é fechada e volume da amostra gasosa é medido diretamente na escala graduada da pipeta. Alternativamente, pode-se medir apenas o comprimento da bolha com um paquímetro. Esta medição é o volume ou o comprimento inicial da amostra gasosa (V_1) no cilindro graduado que é a pipeta.

Para capturar o CO_2 e medir a sua quantidade na amostra, remova o tubo de solução acidulada e insira o tubo de solução de NaOH, deixe a solução de NaOH gotejar na saída da pipeta. Coloque a água do frasco móvel em nível inferior ao da pipeta e abra a torneira. Isto fará a bolha movimentar-se para dentro (esquerda), em seguida levante o nível do frasco móvel e faça a solução movimentar-se para a direita. Movimente a bolha de amostra gasosa pelo menos três vezes, tudo para a esquerda e tudo para a direita. Volte a bolha gasosa para a posição de medição e faça nova leitura do volume. Esta será a leitura volume da amostra gasosa desprovida de CO_2 (V_2). A primeira medição menos esta é a quantidade de CO_2 contida na amostra gasosa.

Para capturar o O_2 e medir a sua quantidade, remova o tubo de solução de NaOH da saída da pipeta e introduza o tubo de pirogalol. O pirogalol fica gotejando entre a saída da pipeta e a agulha inserida. Coloque o nível da água do frasco móvel abaixo do nível da pipeta e abra a torneira para fazer com que a bolha se mova para dentro (esquerda) até chegar próximo ao fim do tubo, depois levante o nível do frasco móvel e deixe a amostra gasosa se mover para fora (direita), até chegar próximo ao fim da pipeta. Repita esta operação pelo menos três vezes. Meça o volume remanescente na amostra gasosa. Esta será a medida do volume da amostra desprovida de CO_2 e de O_2 (V_3). A quantidade de O_2 na amostra gasosa será esta terceira leitura menos a segunda leitura.

Em suma, no 'Facili' mede-se o volume da amostra gasosa inicial (V_1), depois mede-se o volume gasoso

remanescente após a captura do CO_2 em NaOH (V_2) e, finalmente, mede-se o volume gasoso remanescente após a captura do O_2 em pirogalol (V_3). Com estes dados, calculam-se as porcentagens de CO_2 [$\%CO_2 = (V_1 - V_2)/V_1$] e de O_2 [$\%O_2 = (V_3 - V_2)/V_1$].

As leituras (V_1 , V_2 e V_3) podem ser feitas diretamente nas graduações da micropipeta. Para fazer leituras com maior rapidez e acurácia, no entanto, recomenda-se medir apenas o comprimento das bolhas com um paquímetro digital. O uso do paquímetro é possível sempre que se use pipetas graduadas forem cilíndricas e de diâmetro praticamente constante.

A foto de uma montagem típica do 'Facili' ilustra como o aparelho pode ser montado. No patamar superior do aparelho vê-se três frascos de coleta de efluente. O da esquerda contém água acidulada, o central NaOH e o da esquerda pirogalol. No patamar intermediário esta o frasco de altura ajustável, com sua torneira. Ele está solto logo atrás da pipeta de medição. No patamar inferior do aparelho, vêem-se três frascos com um pedaço de borracha colado internamente em cada um deles. Nestas borrachas ficam enfiadas as agulhas dos tubos superiores para bloquear derramamento das soluções. Ao centro vê-se uma seringa de 20ml com a borracha de vedação inserida na agulha.

Pipeta maior

O volume da pipeta de medição pode ser aumentado 1 ou 2ml para facilitar a visualização da bolha. Esta alteração pode ser conveniente para trabalhar com amostras gasosas extraídas de embalagens plásticas e de ambientes de armazenamento. Quando se troca a pipeta de medição, deve-se também trocar as agulhas que controlam o fluxo de saída dos frascos superiores. Note que quando se troca uma pipeta de 0,2ml por uma pipeta de 1ml o fluxo de solução precisa ser aumentado proporcionalmente de aproximadamente 10ml/min para aproximadamente de 5ml/min.

Quando se puxa a amostra gasosa para dentro da pipeta de medição com velocidade maior que a do fluxo de solução proveniente do frasco superior ocorre entrada de ar e a formação de bolhas de ar na pipeta, o que causa a perda da amostra. Desta forma, pode ser que algum usuário mais rápido possa considerar os fluxos aqui estipulados insuficientes. Se vier a ser o caso, então, use agulhas de diâmetro maior que permitam fluxos maiores. Isto deve ser feito com o cuidado de evitar o desperdício dos reagentes. O rendimento no uso

do equipamento depende da experiência prática dos usuários, sendo que aqueles com um pouco de prática tipicamente lêem cerca de 15 amostras por hora neste aparelho.

Cuidados na Execução

. A folga da haste metálica da agulha que introduz a amostra gasosa na pipeta deve ser pequena, para que a bolha de amostra gasosa fique contínua. A ocorrência de quebra da amostra gasosa em diversas bolhas pequenas é comum quando se injeta a amostra com agulha muito fina. No entanto, há necessidade de uma pequena folga entre a agulha e a parede interna da pipeta para que fique uma quantidade de água na saída da pipeta, suficiente para evitar a ocorrência de mistura entre a amostra gasosa e o ar ambiente.

. O fluxo de solução nos tubos dos frascos fixos é controlado pelo diâmetro das agulhas empregadas. Caso considere o fluxo muito alto, troque as agulhas por outras de diâmetro menor que o especificado.

. A velocidade máxima de movimento da amostra gasosa para dentro da pipeta é igual ao fluxo de solução proveniente do frasco superior. Caso a bolha seja movimentada com velocidade maior que o fluxo do frasco superior, ocorrerá a entrada de ar e a formação de bolhas na pipeta de medição, o que é causa de perda da amostra gasosa.

. O comprimento da bolha de amostra gasosa introduzida na pipeta deve ser menor que 1/2 da escala graduada, para que a amostra gasosa possa ser movimentada para dentro e para fora, sem risco de jogar a amostra gasosa para fora da pipeta.

. Só inicie uma nova medida depois que a pipeta for lavada pela solução ácida contida no frasco móvel. A introdução da amostra gasosa na pipeta ainda impregnada de solução alcalina causa subestimativa da concentração de CO₂.

. Caso prefira fazer as medições com paquímetro, certifique-se de que a pipeta graduada seja uma aproximação razoável de um cilindro de diâmetro constante.

. Prefira usar soluções de NaOH e pirogalol recém preparadas. Se não for possível, tenha o cuidado de armazenar estas soluções em frasco com rolha de borracha até o momento do uso.

. Na construção do aparelho, convém que a altura da primeira prateleira seja ligeiramente maior do que

a do frasco móvel e que o frasco móvel possa ser facilmente colocado atrás da pipeta de medição e abaixo da segunda prateleira. Estes detalhes ergonômicos facilitam os movimentos e a visualização da amostra gasosa.

Agradecimentos

A Eduardo Souza Martins que auxiliou na montagem do primeiro protótipo em 1978 e a Amauri Alves Nery que usou o aparelho em diversos trabalhos e sugeriu algumas das modificações para aumentar a praticabilidade do atual 'Facili'.

Referências

SHOLANDER, P.F. Analyzer for accurate estimation of respiratory gases in half cubic centimeter samples. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 167, p. 235-256, 1947.

THODAY, M.A. On the capillary eudimetric apparatus of Bonnier and mangin for the analysis of air in investigating the gaseous exchanges of plants. **Annals of Botany**, London, v. 27, p. 565-573, 1913.



Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



**Comunicado
Técnico, 48**

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Hortaliças
BR 060 km 9 Rod. Brasília-Anápolis
C. Postal 218, 70359-970 - Brasília-DF

www.cnph.embrapa.br
Telefone: (61) 3385-9110
Fax: (61) 3385-9042
E-mail: sac@cnphembrapa.br

1ª edição
1ª impressão (2007): 500 exemplares

**Comitê de
Publicações:**

Presidente: Gilmar P. Henz
Secretária-Executiva: Fabiana S. Spada
Editor Técnico: Flávia A. de Alcântara
Supervisor Editorial: Sieglinde Brune
Membros: Alice Maria Quezado Duval
Edson Guiducci Filho
Milza M. Lana

Expediente

Normatização Bibliográfica: Rosane M. Parmagnani
Editoração eletrônica: Rafael M. Lobo