

1

Introdução

O homem desempenha atividades que interferem em vários ecossistemas (que incluem evidentemente o ambiente marinho) cujas conseqüências são freqüentemente imprevisíveis. Quem poderia imaginar no início do século XX que a interferência abusiva do homem em processos naturais levaria a catástrofes ambientais que vivenciamos, hoje, nos albores do século XXI! Não há como negar que a voracidade com que o homem explorou e explora os recursos naturais – finitos e, portanto, insubstituíveis – tenha conduzido à destruição da natureza em larga escala. Mas não há como negar também que a conscientização da humanidade ou pelo menos parte dela acerca de sua importância como valioso legado a futuras gerações tenha despertado grande preocupação e interesse em governos de inúmeros países cujas políticas macroeconômicas tentam conciliar, na medida do possível, preservação ambiental e bem-estar social. Isto posto, cabe à comunidade científica desenvolver meios de detecção para monitorar e melhor compreender o delicado equilíbrio ecológico de grandes áreas e recuperá-las quando degradadas. Dentre essas áreas, destacamos os oceanos, que compõem mais de 70 % da superfície terrestre, cujo papel é fundamental no equilíbrio ecológico do planeta.

O quadro de degradação ambiental é fruto também de um planejamento, gerenciamento e fornecimento de energia equivocados. Mas há alternativas. E muitas têm sido propostas (uso intensivo de transportes coletivos nas grandes cidades, uso de energias alternativas, em particular a obtida a partir da biomassa para geração de energia elétrica e combustível automotivo, que não são uma panacéia, mas reduzem substancialmente a poluição atmosférica, etc.) e implementadas (utilização de bicicletas nas grandes cidades quando possível, fazendas eólicas, aquecimento doméstico através de coletores fotovoltaicos, etc.) para um melhor uso da energia gerada. Ironicamente, o mundo vegetal a utiliza de modo mais eficiente, pois a cada ano 7 % de $1,5 \times 10^{18}$ kWh de radiação solar

(Holman, 1999) são capturados e consumidos por organismos vivos que realizam a fotossíntese. Isto é, grosso modo, dez vezes maior (Barbosa, 2003) que o consumo atual anual mundial da energia gerada por combustíveis fósseis (que não deixam de ser produtos da fotossíntese e ação bacteriana ocorrida ao longo de milhões de anos) cuja conversão (de energia química em energia térmica) se dá através de reações de combustão (de baixa eficiência) ao invés de reações fotossintetizadoras.

As células fotossintetizadoras produzem O_2 e carboidratos a partir do CO_2 e H_2O produzidos pelas células heterotróficas, que, por sua vez, consomem O_2 e carboidratos. Esse arranjo evidencia o equilíbrio entre organismos fotossintetizadores e organismos heterotróficos. O ser humano, que faz parte deste meio, depende fundamentalmente de suas interações com os organismos fotossintetizadores para a continuidade de sua sobrevivência. O desenvolvimento de equipamentos e metodologias que quantifiquem a massa orgânica existente, em diferentes escalas, e a sua dinâmica *in vivo* (controlada pela variação de diversos parâmetros) é requisito básico para a compreensão dos processos de produção natural de energia e equilíbrio ambiental.

O monitoramento ambiental pode ser definido como um processo de coleta de dados, estudo e acompanhamento contínuo e sistemático das variáveis ambientais, visando identificar e avaliar qualitativa e quantitativamente as condições dos recursos naturais em um determinado momento, assim como as tendências ao longo do tempo, fornecendo informações sobre os fatores que influenciam no estado de conservação, preservação, degradação e recuperação ambiental. Através do uso de satélites, aeronaves e trabalho terrestre pontual, é desenvolvida uma melhor compreensão de como os processos naturais interferem no ecossistema local bem como suas implicações em nível global. O desenvolvimento recente de potentes fontes laser, com emissão no visível e ultravioleta, conjuntamente com detetores ópticos muito sensíveis, possibilitaram o desenvolvimento de métodos de sensoriamento remoto baseados em espectroscopia laser não-linear. A evolução conjugada de tecnologia nas áreas de óptica, eletrônica e computação, viabilizou a utilização dessas técnicas para monitoramento ambiental por diversas instituições e principalmente por aquelas

responsáveis pela preservação e uso responsável do meio ambiente.

As técnicas de espectroscopia e espalhamento a laser são extremamente poderosas para o monitoramento, em tempo real, de diferentes fenômenos. Diferentes métodos podem ser utilizados na monitoração *in situ* e, em alguns casos, no sensoriamento remoto. Diagnóstico da combustão e monitoramento da poluição atmosférica são exemplos de aplicação de técnicas espectroscópicas em fase gasosa enquanto que estudos de vegetação, câncer em estágios iniciais e metais pesados no solo ou bioacumulados na vegetação são exemplos de aplicação na fase sólida. Na fase líquida destacam-se as aplicações de sensoriamento remoto para o mapeamento da concentração de fitoplâncton e hidrocarbonetos presentes nas camadas superiores da água. As técnicas de monitoração com laser muitas vezes se equiparam, em resolução, com as mais poderosas técnicas de análise laboratorial e podem superá-las em muito no que diz respeito ao trabalho, custo e tempo necessário à obtenção de uma massa de resultados adequada à caracterização de uma região.

Neste trabalho exploraremos o sensoriamento remoto do fitoplâncton, monitorando basicamente a concentração de clorofila *a* presente nestes organismos. Um mapeamento confiável da concentração de clorofila *a* na região costeira é necessário para que se possa estabelecer séries históricas, modelar e prever os impactos ambientais de acidentes e/ou de procedimentos irregulares (vazamentos e/ou derramamentos de hidrocarbonetos) a partir da compreensão dos processos hidrodinâmicos, químicos e ecológicos. Apesar das imagens capturadas por satélites suprirem estas necessidades, suas características espectrais, espaciais e temporais em muitos casos limitam sua aplicação. Para complementar as informações de satélite, aviões têm sido usados com sucesso como plataformas de sensoriamento remoto.

As técnicas de sensoriamento remoto utilizadas hoje em dia estão divididas em sensoriamento passivo semelhante às utilizadas nos satélites (cor dos oceanos e das florestas) e sensoriamento ativo através do LIDAR (Light Induced Detection and Ranging), que funciona como uma espécie de radar laser. No primeiro caso se utiliza uma radiação natural proveniente de duas origens: (i) da radiação solar (do visível ao infravermelho próximo) refletida pela superfície em direção ao ponto de

observação por difusão ou reflexão especular, e (ii) radiação emitida por efeito térmico (infravermelho térmico e microondas) diretamente da superfície observada. No sensoriamento ativo utiliza-se equipamentos (LIDAR) que possuem fonte de emissão própria e um receptor adequado para medir a radiação difusa da superfície observada.

No processo de sensoriamento remoto passivo o espectro de emissão luminosa natural das massas d'água é afetado por um grande número de fatores físico-químicos. A radiação solar, as condições atmosféricas e a latitude, além da própria composição da matéria orgânica e inorgânica presente são alguns dos principais fatores de interferência. A identificação da clorofila *a*, através de seu espectro de absorção é complexa e nem sempre categórica. Diversos trabalhos foram e estão sendo desenvolvidos para modelar o espectro de emissão natural para diferentes aplicações, uma vez que esta medição é atualmente a metodologia mais adequada a ser empregada quando se utiliza equipamentos embarcados em satélites. Em termos gerais, algumas faixas espectrais são convenientemente escolhidas, de acordo com os espectros de absorção da água do mar, da clorofila *a* e, eventualmente, de algum outro pigmento acessório importante. De acordo com esses espectros, é criado um modelo de irradiação correlacionando as faixas selecionadas e os pigmentos. Um grande conjunto de medidas com provas de campo é efetuado e o modelo é ajustado empiricamente, através de métodos de regressão linear, para calcular a quantidade de clorofila. Esta metodologia já se mostra bastante eficiente em seus resultados para águas oligotróficas, onde a composição da matéria orgânica dissolvida é praticamente toda devida à decomposição do próprio fitoplâncton e, portanto, as intensidades das diferentes faixas espectrais apresentam-se de alguma forma correlacionadas com a quantidade da clorofila presente. A detecção da fluorescência naturalmente induzida da clorofila *a* é uma tecnologia promissora para ser embarcada em satélites. Seu maior entrave é a dificuldade de distinguir o baixo sinal decorrente da fluorescência da clorofila *a* em relação ao restante da radiação de fundo.

Neste trabalho abordaremos, no entanto, o sensoriamento remoto ativo utilizando um sistema LIDAR para medir a fluorescência de amostras de clorofila

a *in vivo*. A fluorescência é a denominação que se dá ao espalhamento inelástico de luz gerado pelo decaimento de estados excitados para o estado fundamental em intervalo de tempo menor que 10^{-5} s (Skoog & Leary, 1992). As principais estruturas moleculares que exibem fluorescência são as moléculas com anéis de carbono com ligações dupla. Os aparatos fotossintéticos presentes nas plantas superiores, assim como, no fitoplâncton, incluindo as cianobactérias (são microorganismos com características celulares procariontes, porém com um sistema fotossintetizante semelhante ao das algas), contém proteínas diretamente associadas à captura de fótons (pigmentos-antena), que dispõem de anéis de carbono e que apresentam fluorescência. Dentre estes pigmentos está a clorofila a, pigmento que está presente em todos os seres que executam a fotossíntese (Raven *et alli*, 1978). Segundo Falkowshi & Kolber (1995) o fitoplâncton e as cianobactérias são os únicos organismos em suspensão nos oceanos que contém clorofila, o que torna este pigmento um importante marcador da biomassa fitoplanctônica. Devido à baixíssima concentração de pigmentos na água dos oceanos, a fluorescência da clorofila, que apresenta um máximo em torno de 685 nm, tornar-se um sinal capaz de ser medido em tempo real, tanto *in situ* quanto remotamente, sendo uma medida padrão para se estimar a biomassa nos oceanos.

A utilização de uma fonte artificial de luz gera no meio uma perturbação. Um sistema detector irá registrar a excitação gerada pela fonte artificial superposta à emissão natural. Este sinal de fundo poderá ser subtraído medindo-se com o mesmo detector a emissão em um instante próximo anterior, portanto não submetido à fonte artificial, minimizando os efeitos de uma série dos fatores que alteram a composição da radiação retroespalhada desde a massa d'água até o detector.

Para medir remotamente a fluorescência da massa d'água é desejável uma alta potência de excitação. Lasers pulsados são adequados para esta finalidade. Algumas características dos lasers devem ser levadas em conta na análise de sua utilização no sensoriamento de clorofila a: por um lado, a excitação a partir de fótons com energia bem definida no espectro de excitação gera um espectro de emissão bem definido, associado à frequência (portanto, à energia) desses fótons

e, deste modo, comparável aos dados laboratoriais (ao contrário da luz solar, que excita os fluoróforos – moléculas que emitem fluorescência – com todo o espectro de excitação). Por outro lado, a dificuldade de sintonizar frequências diferentes, com a potência de radiação desejada, é um fator limitante para detectar a fluorescência. A pouca divergência do feixe do laser, fundamental para uma adequada relação de potência por unidade de área excitada, produz medidas pontuais; este fato deve ser levado em conta no tratamento estatístico das informações. O tempo de duração do pulso de luz pode ser um fator importante quando se deseja obter discriminação espacial da emissão da fluorescência.

O monitoramento da fluorescência dos pigmentos contidos em organismos fotossintetizadores para obtenção de informações da produção de energia primária, assim como indicativo de alterações no meio, é particularmente interessante, pois, a fluorescência é percebida externamente ao organismo de forma não destrutiva. Outro fator que favorece o monitoramento da fluorescência deve-se ao fato desta técnica poder ser detectada à distância, permitindo o uso de técnicas de sensoriamento remoto. Medidas em tempo-real são particularmente úteis para entender as respostas fotossintéticas do fitoplâncton uma vez que essas algas não são fixas no espaço. Relacionar seu movimento com a hidrodinâmica dos oceanos requer medições em escala temporal e espacial adequadas.

O desenvolvimento científico e tecnológico aliado à necessidade de se tomar consciência dos riscos ambientais em escala global vêm contribuindo para o crescimento da demanda por sensoriamento remoto das condições ambientais dos oceanos. As conclusões destas pesquisas proporcionam desde a previsão de pequenos incidentes naturais, como um crescimento desordenado de algas e, até mesmo a organização de turismo sustentável destes ambientes.

Um LIDAR, ou radar-laser, é basicamente composto por um laser como fonte emissora de luz, um sistema de detecção, que inclui um telescópio e equipamento optoeletrônico de alta sensibilidade para discriminação/detecção de fótons, e um sistema de *hardware* e *software* para controle e sincronismo do conjunto microprocessado para aquisição de dados. O objetivo deste aparato é analisar os meios atravessados pelo feixe do laser através da medição dos espalhamentos, absorções ou reemissões decorrentes. A utilização de um LIDAR,

instalado em um helicóptero, para monitoramento da clorofila *a* no oceano, data de 1973 (Kim, 1993). Empregou-se, neste caso, um laser de corante (emitindo em 590nm) como fonte de excitação e fotomultiplicadora acoplada a um dos dois filtros (centrados em 685nm e 735nm) utilizados para a seleção da faixa espectral de interesse. Neste primeiro experimento, em que pese os problemas para quantificar a fluorescência e associá-la a alguma referência de concentração de clorofila *a*, a possibilidade de detecção remota da fluorescência foi demonstrada.

Porém, o problema básico do monitoramento remoto com um LIDAR é o fato de ser necessário encontrar algum procedimento de calibração, baseado em parâmetros contidos no próprio sinal detectado, para que se possa obter medidas quantitativas, pois não é possível controlar as condições de propagação da luz, assim como sua interação com o meio. Assim, torna-se necessário algum padrão interno ao próprio sinal para a calibração e todas as medidas quantitativas devem ser extraídas através de razões (ou diferenças) de pelo menos duas bandas espectrais do mesmo sinal, uma delas sendo o sinal de calibração. No caso da fluorescência da água do mar, a normalização do sinal da fluorescência pelo espalhamento Raman da água (Klysko & Fadeev, 1978)(Bristow *et alli*, 1981), decorrente da mesma excitação pelo laser, possibilitou a leitura de um resultado livre de uma série de fatores ópticos não controláveis que alteram a intensidade do espectro de emissão de fluorescência.

A interpretação dos espectros de fluorescência deve levar em conta os processos físicos, químicos e biológicos que alteram este tipo de emissão. A fluorescência é um fenômeno que compete com a conversão fotossintética no aproveitamento dos fótons absorvidos pelos pigmentos-antena; se o mecanismo de aproveitamento de fótons para a fotossíntese sofre alguma mudança, aumentando sua eficiência ou diminuindo-a, a intensidade da fluorescência também se alterará.

Um grande número de fatores altera o processo da fotossíntese, tais como, espécie, idade, temperatura e disponibilidade de luz, água ou nutrientes. Deste modo, o estudo da fluorescência dos pigmentos, entre eles as clorofilas, presentes no aparato fotossintético é um desenvolvimento complexo, porém, revelador da produtividade fitoplancônica (Barbosa, 2003). A utilização simultânea de técnicas passiva e ativa, através de um LIDAR, para obtenção de concentração de clorofila

a já foi realizada (Hoge et *alli*, 1986). A divergência entre as duas medidas pode indicar uma alteração das condições ambientais.

O sistema LIDAR pode, ainda, ser aplicado sobre a vegetação terrestre a fim evidenciar carências metabólicas por meio da fluorescência das clorofilas a e b. Utilizando-se da razão de intensidades de determinadas faixas espectrais (Valentini et *alli*, 1993) foi possível discriminar diferentes espécies vegetais e também identificar estas carências (como falta de água ou deficiência de nutrientes) em partes de plantações (Barbini et *alli*, 1993) (Nunes et *alli*, 1997).

Entre outras aplicações, os sistemas LIDAR foram empregados em estudos sobre a concentração de clorofila a e outros fluoróforos em águas costeiras ou submetidas a influências antropogênicas (Reuter et *alli*, 1993), para validação de dados gerados por satélite (Schmitz-peiffer et *alli*, 1990) e para monitoramento de vazamentos de óleo (Brown et *alli*, 1997).

O sistema LIDAR do laboratório LabMAR da PUC-RJ alcançou resultados bem satisfatórios nos últimos anos trabalhando com um sistema de aquisição de dados parcialmente automatizado. Com o intuito de agilizar o processo de aquisição de dados, além de fornecer maior autonomia ao sistema, foram desenvolvidas algumas modificações no logicial de controle que possibilitaram atender aos objetivos anteriores apresentando, no entanto, espectros mais ruidosos. Desta forma, o objetivo deste trabalho é investigar a equivalência dos novos espectros apresentados pelo sistema aos já consolidados e verificados no método anterior. Este processo conta, ainda, com a verificação da integridade das informações contidas no espectro para o processamento do sinal a fim de tornar mais evidente as bandas de interesse através de estudos de médias móveis ao longo de cada espectro. A base de dados gerada pelo sistema LIDAR é, em geral, bem grande, o que exige certo tempo e capacidade de processamento. Sendo assim, objetivamos, também, verificar a possibilidade de se reduzir significativamente a base de dados fornecida pelo equipamento sem que houvesse qualquer tipo de perda de informação nas bandas de interesse do espectro analisado. Estudamos também a correlação das concentrações de clorofila a,

extraídas através do processo desenvolvido neste trabalho, com processo já verificado e estabelecido anteriormente no laboratório LabMar – PUC-Rio.

Foi desenvolvido, ainda, um estudo a fim de avaliar a repetitividade do máximo do espalhamento Raman da água. Determinar a incerteza de medição desta banda de referência, no sinal de fluorescência, é de extrema importância para aumentar a confiabilidade da concentração de clorofila *a*.

Por fim, analisamos os resultados obtidos para concentração de clorofila *a* a partir da comparação de espectros filtrados com diferentes filtros de média móvel e espectros originais utilizando o processamento desenvolvido neste trabalho, com espectros processados pelo procedimento padrão utilizado no laboratório. Para esta última abordagem, contamos com diferentes amostras, realizando estas verificações para águas costeiras, que apresentam maior concentração de clorofila e MOD (Matéria Orgânica Dissolvida), e águas oceânicas, onde, em geral, encontramos baixas concentrações de clorofila. Esta abordagem nos permite verificar a sensibilidade dos diferentes processos para concentrações bem distintas de clorofila.