

3 Materiais e Métodos

Neste capítulo, faremos uma descrição do funcionamento do sistema LIDAR utilizado na medição da fluorescência da clorofila, em água, assim como, uma descrição das etapas do processamento para extração dessa banda.

O termo LIDAR significa *Laser Induced Detection And Ranging*, mas é conhecido, como radar laser, por desempenhar a mesma função de um radar propriamente dito, ou seja, detectar e mapear. Um laser possui características especiais que o tornam uma ferramenta essencial nesse sistema, sendo elas: um comprimento de onda bem definido – com uma pequena dispersão espectral – e pouca dispersão espacial, podendo concentrar certa energia luminosa em pequenas áreas.

O LIDAR – PUC, adquirido pela PUC-Rio em 1996, a partir de um projeto que envolvia a universidade e pesquisadores da Academia de Ciências da Rússia, utiliza um laser cujos pulsos gerados podem ser utilizados para ativar a fluorescência de pigmentos, como a clorofila e matérias orgânicas a fim de se detectar a emissão fluorescente dessas estruturas, identificando a região e as características da radiação emitida.

A dificuldade encontrada no sensoriamento remoto, nesse sistema, deve-se ao fato de ser necessário encontrar algum procedimento de calibração baseado em parâmetros contidos no próprio sinal detectado, de modo a se obter medidas quantitativas. Essas medidas devem ser extraídas através de razões de duas bandas de um mesmo sinal, utilizando um deles como referência.

3.1. Descrição Geral do LIDAR

O sistema LIDAR é composto, basicamente, por um sistema laser, um sistema óptico, um sistema de detecção e um sistema de controle, que podem ser observados no diagrama apresentado na figura 16.

O sistema laser foi montado junto a um telescópio do tipo newtoniano e o sistema de detecção que consiste em uma câmara linear de 1020 pixels acoplado a um intensificador de imagens e um policromador, que, por sua vez, dispersa o espectro coletado pelo telescópio.

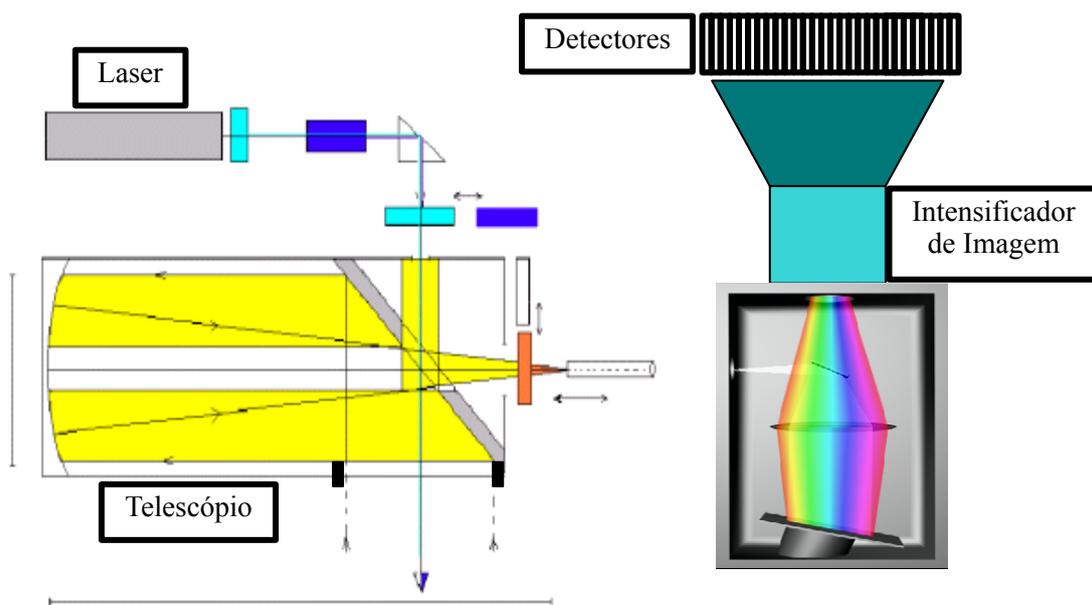


Figura 16 - Diagrama do LIDAR.

Vejamos, a seguir, uma descrição do funcionamento de cada um dos elementos que integram o sistema LIDAR.

3.1.1. Sistema Laser

Fazem parte desse sistema todos os componentes que são responsáveis, direta ou indiretamente, pela geração da radiação laser. O sistema laser, que

compõe o LIDAR, contém uma unidade laser, uma fonte de alimentação, um sistema de refrigeração e um Q-Switch ativo.

3.1.1.1. Unidade Laser

Um laser (**L**ight **A**mplification by **S**timulated **E**mission of **R**adiation) transforma uma forma de energia externa (uma descarga elétrica ou radiação de uma lâmpada de flash) em luz de um só comprimento de onda. O meio ativo do laser pode ser, por exemplo, um gás ou um corpo sólido, daí as designações laser de gás ou laser de estado sólido.

No sistema LIDAR é utilizado um laser de estado sólido de Nd:YAG, que tem como meio ativo um monocristal artificial de YAG (Yttrium Aluminum Garnet) dopado com íons Nd^{+3} (Neodímio) que constitui o elemento ativo. A tabela 2 apresenta as características técnicas da unidade laser aplicada a esse sistema.

Tabela 2 - Características técnicas da unidade laser.

Laser	Nd:YAG
Duração do Pulso	8 ns
Taxa (máxima) de repetição do pulso	5 Hz
Energia do pulso:	
1° harmônico ($\lambda = 1064 \text{ nm}$):	600 mJ
2° harmônico ($\lambda = 532 \text{ nm}$):	280 mJ
3° harmônico ($\lambda = 355 \text{ nm}$):	100 mJ
Divergência de feixe:	5 mrad
Modo de operação:	active Q-switched
Consumo aproximado:	1 kW
Sistema de refrigeração:	Fechado (água)

Utiliza-se o cristal de YAG para obter pulsos de alta repetitividade (mais de um por segundo), isso devido a sua alta condutividade térmica, que permite dissipar mais facilmente o calor gerado.

A lâmpada de flash emite a radiação necessária para levar os elétrons do cristal a níveis de maior energia, que ao decaírem, emitem a radiação característica do laser. Essa radiação é amplificada, pois o meio ativo está localizado entre dois espelhos (um totalmente refletor e o outro parcialmente refletor), assim, a luz produzida pela introdução de energia externa (lâmpada) é refletida entre os espelhos, concentrando-se durante o processo e parte dessa radiação atinge o meio exterior através de um espelho parcialmente refletor (figura 17).

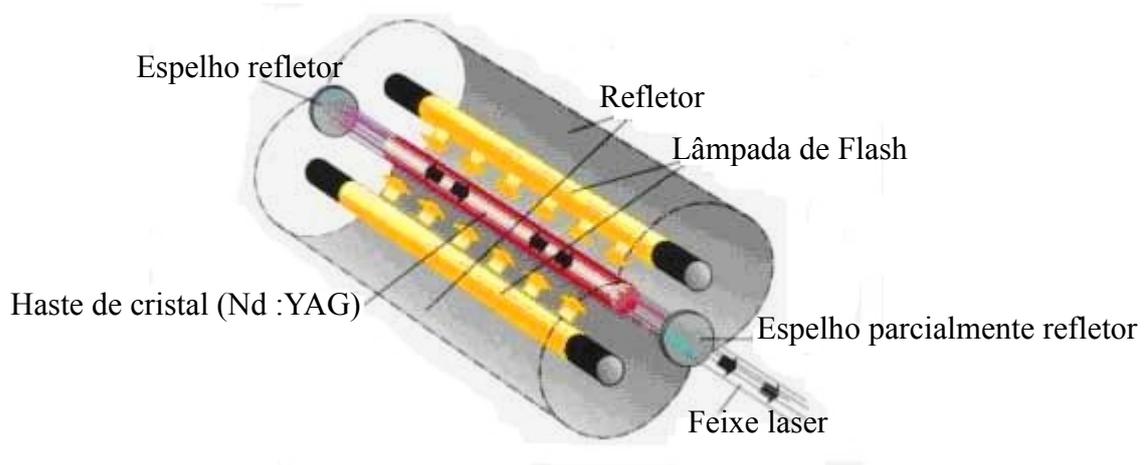


Figura 17 - O esquema de um laser de estado sólido, que consiste, em uma lâmpada, um cristal e espelhos altamente refletores.

3.1.1.2.

Fonte de Alimentação

O sistema laser do LIDAR opera com uma fonte de alimentação que foi especialmente projetada para trabalhar com lasers de Nd:YAG de média e alta potência em regime pulsado.

Esta fonte é composta de um módulo de alta tensão e baixa corrente para iniciar o "flash" da lâmpada e outro módulo de alta corrente e baixa tensão encarregado da manutenção da descarga elétrica. Apresenta três modos de trabalho: automático, manual e de sincronismo externo.

3.1.1.3. Q-Switch

Geralmente lasers contínuos têm baixa potência, e uma opção para se obter uma potência mais elevada é a utilização de um Q-switch a frente do espelho parcialmente refletor. O Q-Switch age absorvendo a radiação, evitando que esta chegue até o espelho parcialmente refletor, impedindo a liberação da energia. Dessa maneira, grande quantidade de energia é armazenada e liberada em intervalos regulares.

O pulso do laser será emitido quando ocorrer saturação (passivo) ou quando ocorrer abertura (ativo), a partir do controle de um circuito externo, do Q-Switch.

3.1.1.4. Sistema de Refrigeração

O sistema de refrigeração é composto por uma bomba mecânica de sucção, um reservatório e um conjunto de dutos, pelos quais, circula o líquido refrigerante, como pode ser mostrado esquematicamente na figura 18. Esse sistema tem a função de remover o calor dissipado pela lâmpada e pelo cristal de Nd:YAG, durante o funcionamento da unidade laser.

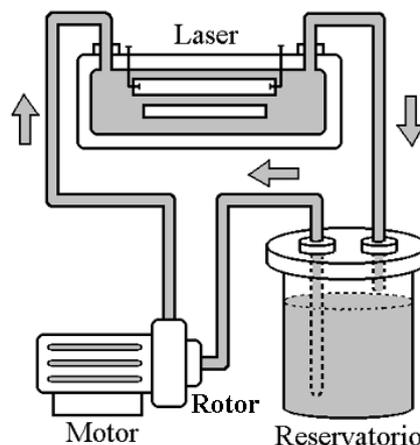


Figura 18 - Esquema do sistema de refrigeração.

É utilizado como líquido refrigerante água, bidestilada e deionizada. As características deste sistema são apresentadas na tabela 3.

Tabela 3 - Dados técnicos do sistema de refrigeração.

Vazão do líquido refrigerante:	$5 \times 10^{-4} \text{ m}^3 / \text{s}$
Resistividade da água:	$1,8 \times 10^9 \Omega / \text{m}$

3.1.2. Sistema Óptico

O sistema óptico, composto por um telescópio newtoniano e um policromador, tem como finalidade focalizar a radiação do laser na amostra e coletar o sinal proveniente desta (gerado a partir da excitação do laser) separando-o em diferentes comprimentos de onda. Na figura 19 apresentamos, em detalhes, o esquema do telescópio newtoniano.

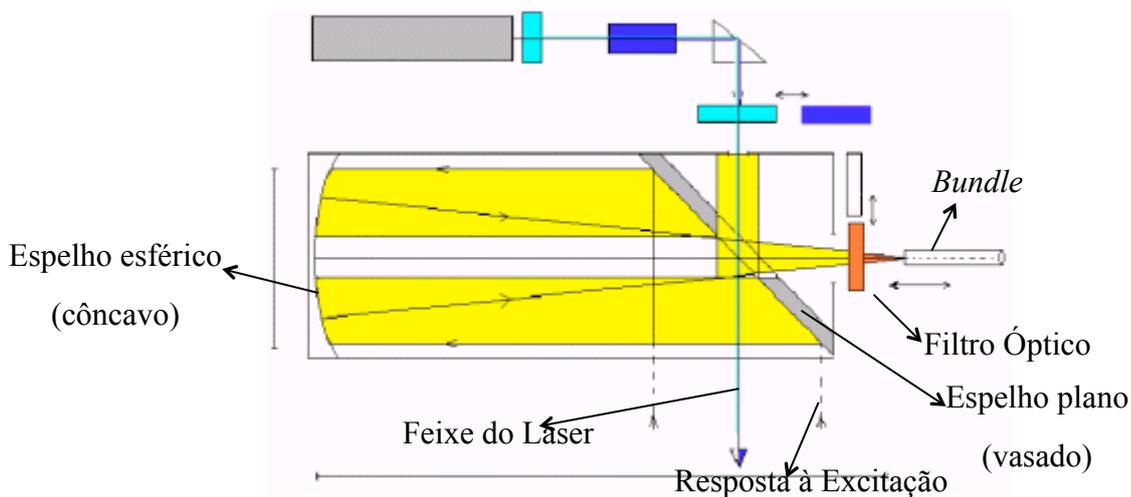


Figura 19 - Esquema óptico do telescópio newtoniano.

O sinal coletado pelo telescópio newtoniano é focalizado e conduzido por um cabo de fibra óptica (*bundle*) até a entrada do policromador, que se encarrega

de separá-lo por comprimento de onda (figura 20). Devemos ressaltar que utilizamos, nesse sistema, um cabo de fibra óptica circular para uma fenda de entrada retangular no policromador. Assim, é necessária a utilização de uma fenda, que pode variar de 50 a 200 μm , antes da entrada do policromador, o que implica na perda de parte do sinal.

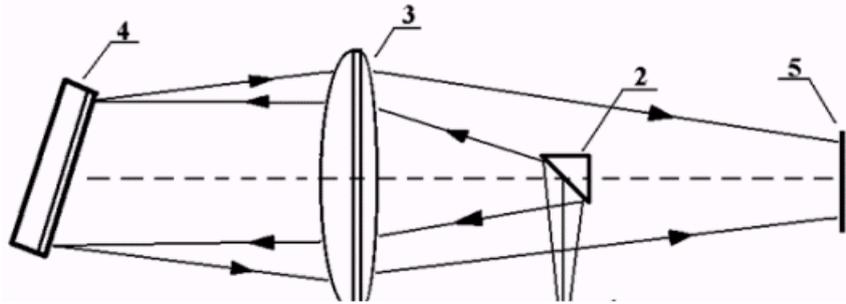


Figura 20 - Esquema óptico do policromador (vista lateral interna): 2. Espelho de deflexão, 3. Lente (autocolimação), 4. Rede de difração, 5. Janela de entrada do intensificador de imagem.

O policromador foi projetado de modo a permitir a utilização de, até, as dez primeiras ordens de difração e foi montado em um esquema de autocolimação⁸. A abertura da fenda de entrada do policromador irá variar a resolução da rede de difração que possui 300 linhas/mm (figura 21). Na configuração operacional do equipamento temos uma dispersão em primeira ordem (40 nm/mm) e em segunda ordem (20 nm/mm).

⁸ Autocolimação: Processo de colimar um telescópio ou outro instrumento com objetiva e fios de retícula, dirigindo-o contra um espelho plano e ajustando a lente e os fios de retícula de modo que estes coincidam com sua própria imagem refletida.

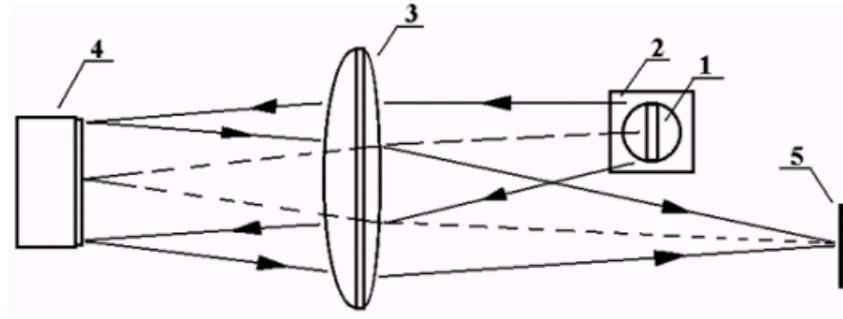


Figura 21 - Esquema óptico do policromador (vista superior interna): 1. Fenda de entrada, 2. Espelho de deflexão, 3. Lente (autocolimação), 4. Rede de difração, 5. Janela de entrada do intensificador de imagem.

Antes de chegar aos detectores o sinal é aumentado por um amplificador optoeletrônico, com um ganho variável, cujo seu fator de amplificação pode atingir até 10^4 dependendo da tensão a ele aplicada, que pode variar de 500 V a 900 V. Cada acréscimo de 100 V corresponde a uma amplificação de cem por cento no sinal original.

3.1.3.

Sistema de Detecção

A câmara CCD é composta por uma rede linear de detectores CCD (Charge Coupled Device) de 1020 pixels e comprimento de 12,5 mm, uma placa de conversão A/D de 14 bits e um microprocessador que garante o controle da comunicação serial e o sincronismo geral de detecção.

A rede linear CCD é responsável por detectar a radiação dispersada pelo policromador; a placa de conversão A/D converte o sinal analógico, de saída dos detectores em digital, para que os mesmos possam ser processados no computador; o microprocessador controla os intervalos de tempo entre os disparos, início e duração da coleta e fornece alimentação do CCD, além da transmissão dos dados e comunicação com um computador externo.

A eficiência quântica de um sensor CCD descreve a resposta deste para diferentes comprimentos de onda do espectro eletromagnético. Se este for

iluminado por uma fonte luminosa uniforme o resultado não é necessariamente uma imagem uniforme, como pode ser observado na figura 22.

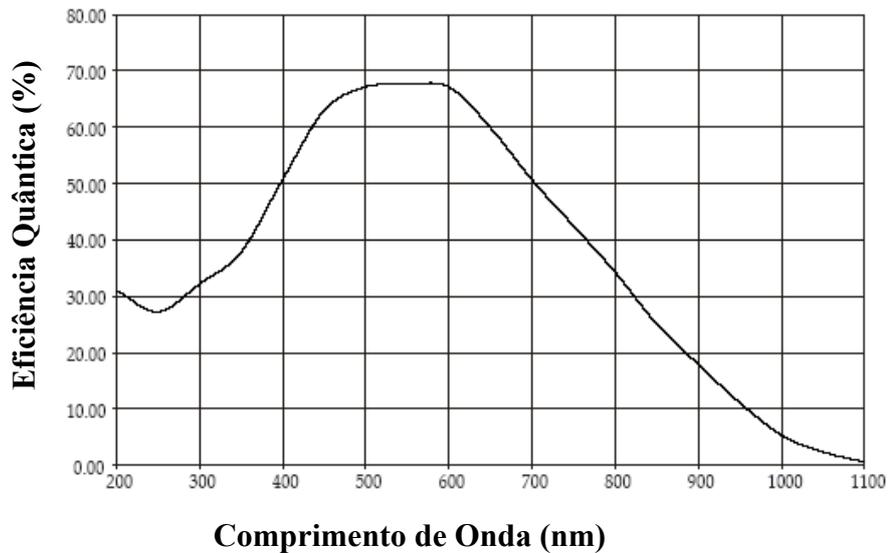


Figura 22 - Eficiência quântica dos detectores CCD.

A cada disparo do laser os detectores realizam duas leituras do sinal (figura 23). Uma antes do disparo, com a finalidade de detectar a radiação de fundo devido a fontes de luz externas ao sistema, e uma segunda leitura após o disparo do laser para detectar a radiação de fundo mais o sinal resultante da excitação do laser.

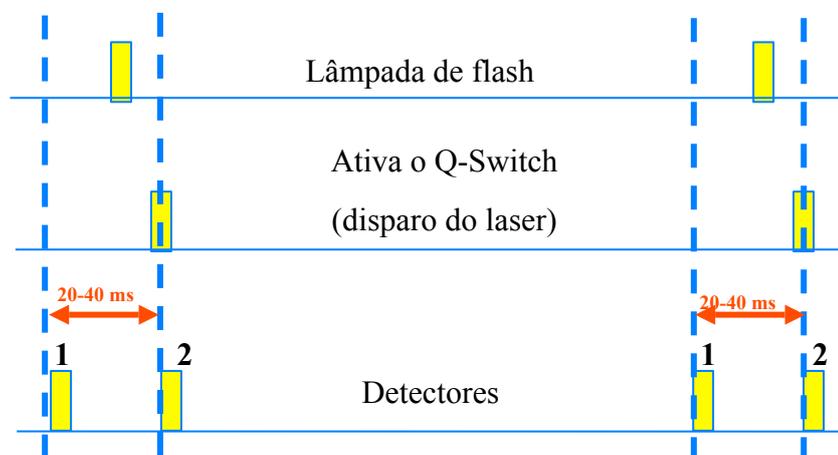


Figura 23 - Diagrama de pulsos (1. mede a *background* antes de disparo do laser e 2. mede *background* mais o resultado da excitação da amostra).

A curva de resposta do equipamento não é uniforme para todos os comprimentos de onda, sendo necessário realizar uma correção no espectro a partir dessa curva. É importante ressaltar que a curva de resposta é uma resultante das curvas de três componentes do sistema: a rede de difração, o intensificador de imagem e os detectores.

3.1.4.

Sistema de Análise e Controle

O sistema de controle do LIDAR consiste em um IBM-PC compatível que opera com um logicial, chamado *SpecScan*, que permite a realização das seguintes operações :

- a) manutenção da interface com o microprocessador da câmara CCD através das portas paralelas LPT1 ou LPT2.
- b) configuração de parâmetros de controle como: disparo da lâmpada do laser, ativação do intensificador de imagem e do Q-Switch (figura 24).

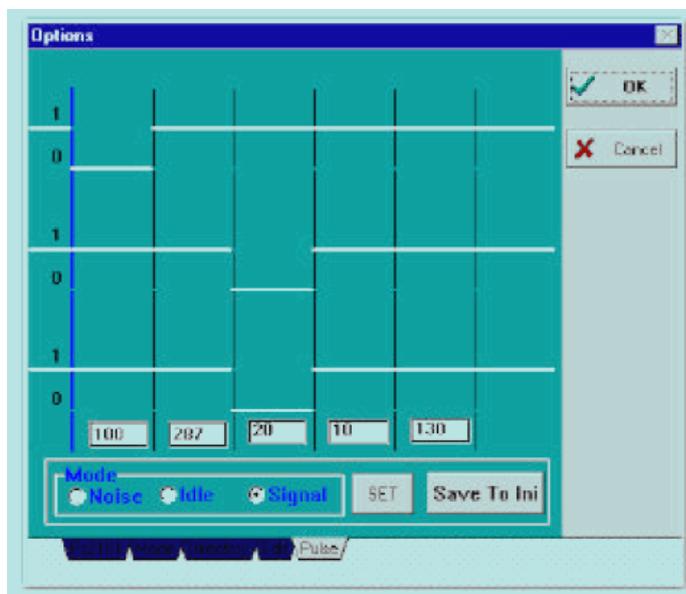


Figura 24 - Parâmetros de Configuração (Linha superior: Controle da lâmpada; linha do meio: controle do Q-switch; linha inferior: controle do intensificador de imagens). Os valores embaixo de cada coluna especificam a duração de cada intervalo de tempo.

- c) controle de temperatura dos sensores CCD.
- d) controle da energia do pulso do laser.
- e) a visualização de espectros medidos.

O espectro apresentado é sempre uma média aritmética realizada, internamente, ao sistema, referente ao número de pulsos pré-estabelecidos pelo usuário (os pulsos são estabelecidos a partir de potências de base dois – 2^n).

3.2.

Calibração do Espectro

Como o conjunto de detectores é capaz, apenas, de identificar a chegada ou não de luz, torna-se necessário estabelecer uma associação entre o comprimento de onda do espectro eletromagnético e o pixel correspondente a uma determinada intensidade luminosa. Para realizar a calibração⁹ do espectro medido utilizamos um LED (Light Emitting Diode) capaz de emitir luz, em dois comprimentos de onda (azul – 472 nm e vermelho – 630 nm), em modo contínuo e pulsado, como padrão¹⁰.

A escolha de um LED para a calibração, deve-se ao fato de que possuem uma faixa espectral bastante estreita com comprimentos de onda (λ) bem definidos, possibilitando a associação de um determinado pixel a um comprimento de onda. O LED é posicionado na entrada do cabo de fibra óptica, ajustado para emitir em modo pulsado luz azul ($\lambda = 472$ nm) e vermelha ($\lambda = 630$ nm) – não foi utilizada a luz verde, pois já foi verificado em trabalhos anteriores

⁹ Calibração: conjunto de operações que estabelece, sob condições especificadas, a relação entre os valores indicados por um instrumento de medição e os valores correspondentes das grandezas estabelecidos por padrões (VIM, 2003).

¹⁰ Padrão: medida materializada, instrumento de medição, material de referência ou sistema de medição destinado a definir, realizar, conservar ou reproduzir uma unidade ou um ou mais valores de uma grandeza para servir como referência (VIM, 2003).

que a resposta da câmara de detectores para a emissão dos LEDs apresenta uma boa linearidade – e o espectro resultante é mostrado na figura 25.

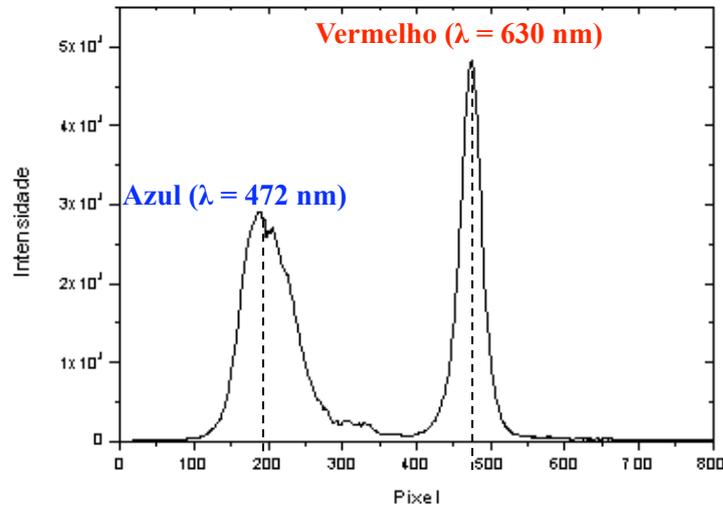


Figura 25 - Espectro de calibração – identifica o pixel correspondente aos comprimentos de onda $\lambda = 472$ nm e $\lambda = 630$ nm.

Para o espectro da figura 25, verificou-se que os comprimentos de onda $\lambda = 472$ nm e $\lambda = 630$ nm tinham seus máximos detectados nos pixels 188 e 473, respectivamente. Através de uma aproximação linear descrita pela equação $\lambda(pixel) = a \times pixel + b$, temos:

$$a = \frac{\lambda_1 - \lambda_2}{pixel_1 - pixel_2} \qquad b = \lambda_1 - a \times pixel_1$$

$$a = 0,55$$

$$b = 367,78$$

Assim, a função $\lambda(pixel) = 0,55 \times pixel + 367,78$ foi utilizada para calibrar todo o sinal. É importante ressaltar que essa calibração é válida se as medições dos espectros forem feitas nas mesmas condições da rede de difração e dos detectores.

3.3.

Processamento do Sinal de Fluorescência de Cl a em Água

A dificuldade encontrada no sensoriamento remoto com um LIDAR deve-se ao fato da necessidade de encontrar algum procedimento de calibração baseado em parâmetros contidos no próprio sinal detectado, de modo a se obter medidas quantitativas. Essas medidas devem ser extraídas através de razões de duas bandas de um mesmo sinal, utilizando um deles como referência. Para isso é necessário conhecer bem as características dessa banda como a posição do máximo e sua largura.

O sinal característico (figura 26) de medições de fluorescência da clorofila, em água, apresenta três bandas básicas: a matéria orgânica dissolvida (MOD), o espalhamento Raman da água e clorofila a, além de apresentar outros pigmentos menos relevantes a esse trabalho.

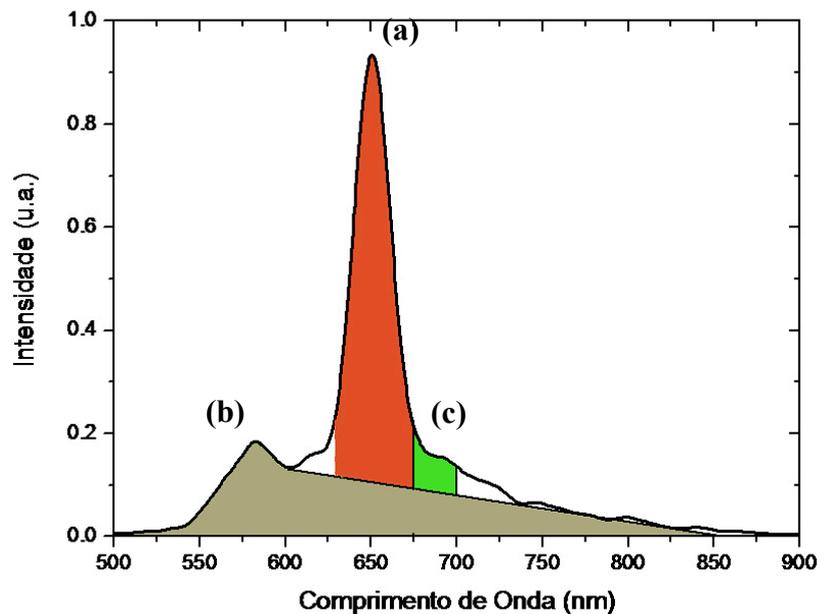


Figura 26 - Espectro de fluorescência do LIDAR águas oceânicas (a – espalhamento Raman da água; b – MOD; c – Clorofila a)

O processamento do sinal de fluorescência adquirido pelo LIDAR, aqui descrito, tem como finalidade extrair a concentração de clorofila a. É importante ressaltar, porém, que essa concentração é relativa, uma vez que, depende de um parâmetro do próprio sinal.

3.3.1. Correção da MOD pelo filtro QC13

Utilizamos o filtro óptico QC13 na entrada do feixe óptico durante a aquisição do sinal, com a finalidade de evitar a saturação do sensor CCD, devido à reflexão da radiação do laser. A curva de transmissão apresentada na figura 27 caracteriza a transparência do filtro para cada comprimento de onda do sinal medido. Podemos observar a opacidade deste filtro para radiações de comprimentos de onda menores que 540 nm.

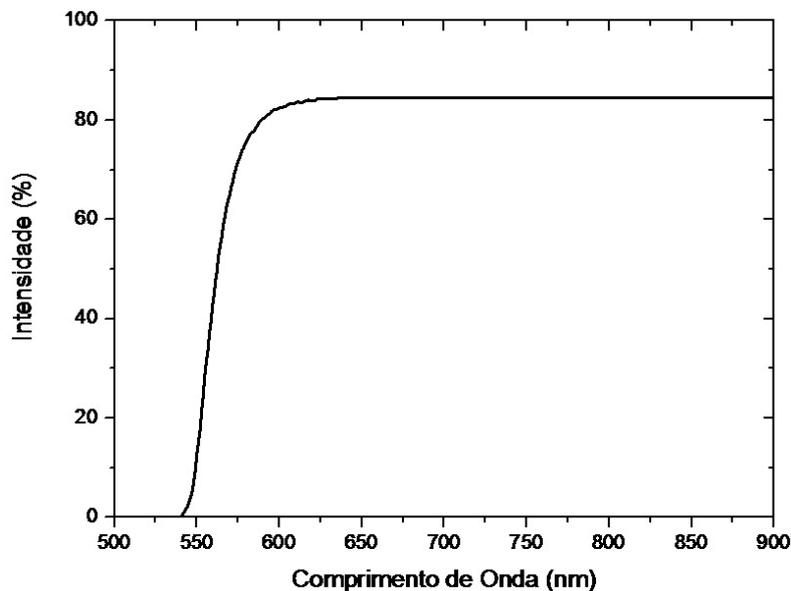


Figura 27 - Curva de transmissão do filtro QC13.

Dividimos todo o espectro medido pela curva do filtro e, deste modo, efetuamos a correção do sinal que chegou até os detectores. Para os comprimentos de onda maiores que 600 nm, onde se encontra a maior parte das bandas de interesse do sinal de fluorescência medido neste trabalho, temos pequenas correções em relação ao sinal original, pois o filtro é bem transparente para estes comprimentos de onda. Porém, na região onde se encontra a banda da MOD podemos observar significativo aumento no sinal, como pode ser visto na figura 28. Após a correção pelo filtro, efetuamos um corte no sinal para comprimentos de

onda menores que 556 nm, pois o sinal corrigido a partir deste ponto satura os detectores.

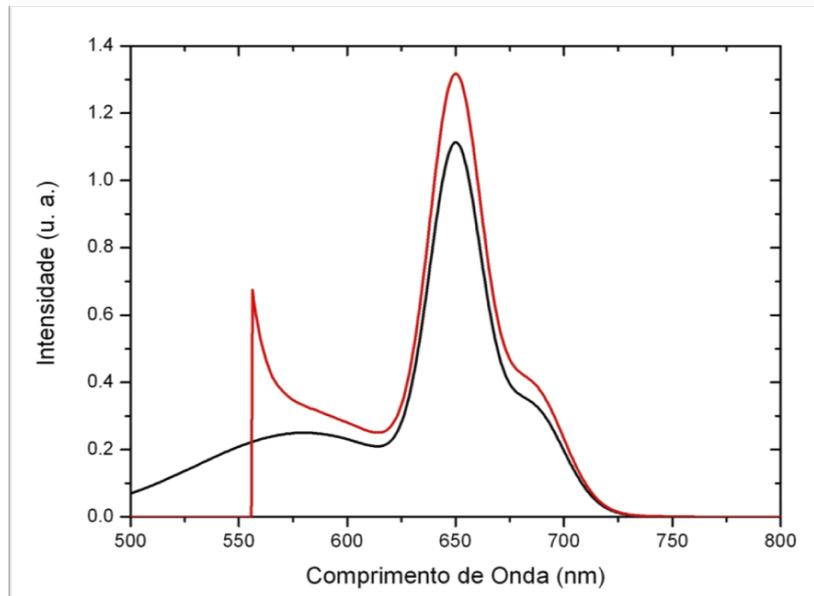


Figura 28 - Matéria orgânica total corrigida pelo filtro QC13.

3.3.2.

Normalização do Espectro

A normalização do sinal é um procedimento que visa possibilitar comparações entre diferentes espectros medidos pelo LIDAR.

A intensidade de fluorescência depende diretamente do número de moléculas excitadas pelo laser e não podemos garantir que esse número seja uniforme, mesmo que as condições ambientais se mantenham. Assim, dividimos todos os pontos do sinal corrigido pelo máximo do espalhamento Raman da água, obtendo o espectro normalizado que mantém as relações entre suas diferentes bandas (figura 29)

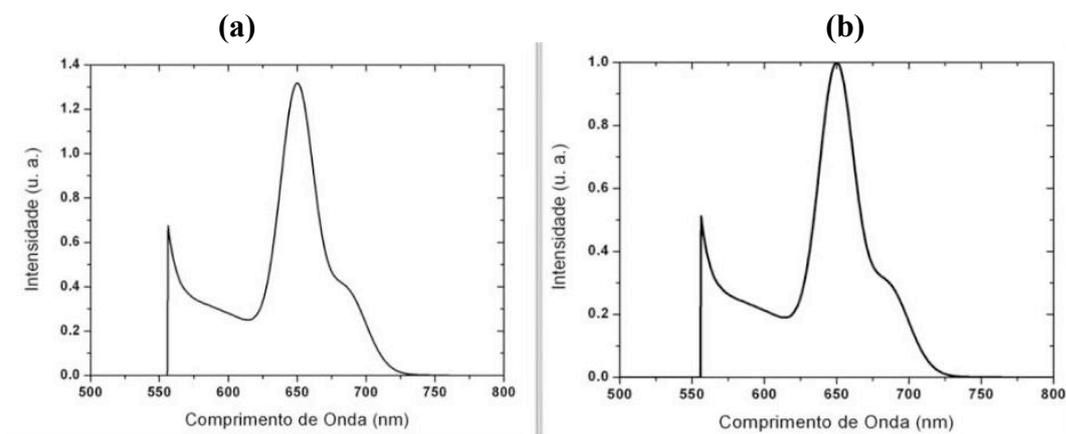


Figura 29 - (a) Espectro original de fluorescência, (b) Espectro normalizado pelo máximo do espalhamento Raman da água.

Portanto, focalizamos a relação entre as bandas no sinal e não a intensidade da fluorescência. Essa relação pode ser obtida de forma simples através da razão entre as bandas de interesse e a banda de referência (Raman).

3.3.3. Extração da Matéria Orgânica Dissolvida

Após a normalização do espectro, extraímos a MOD que tem uma banda de fluorescência muito larga espalhando-se por quase todo o sinal medido. Esse procedimento minimiza a supervalorização da concentração de clorofila *a* e do próprio espalhamento Raman da água.

Traçamos uma gaussiana cujo máximo deve coincidir com o ponto mínimo, entre os comprimentos de onda 585 nm e 610 nm, do espectro normalizado, e, então, subtraímos essa gaussiana do espectro normalizado, obtendo um espectro sem a MOD. A diferença entre o espectro normalizado e o espectro sem a MOD nos fornece a matéria orgânica dissolvida total presente no sinal.

3.3.4. Ajuste da Curva Gaussiana para o Espalhamento Raman da Água

Depois de extraído a banda relativa à MOD, é necessário extrair, também, a banda referente ao espalhamento Raman da água. O ajuste de uma gaussiana, que melhor descreva a curva do Raman, nos permite mensurar os parâmetros dessa banda.

Como podemos perceber na figura 30, a banda do espalhamento Raman da água está muito próximo à banda da clorofila a, contribuindo para superestimar sua concentração.

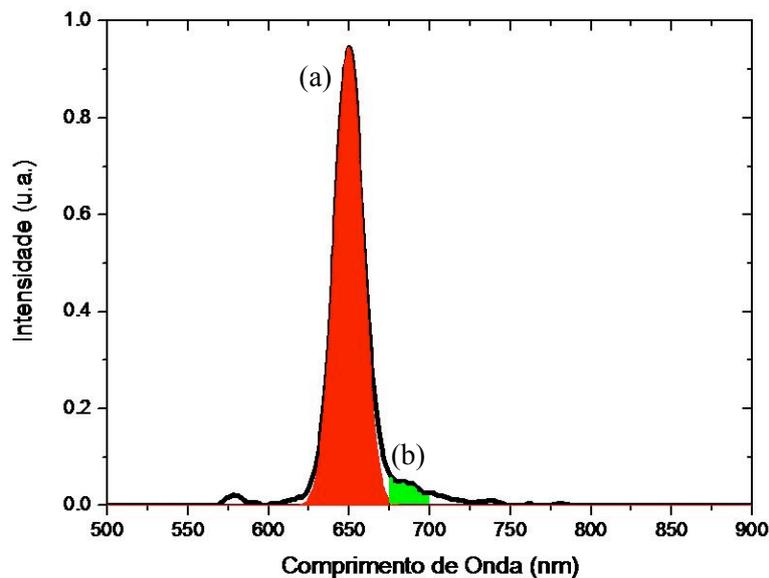


Figura 30 - Curva gaussiana (vermelho) que descreve os parâmetros da banda referente ao espalhamento Raman da água. Em verde temos a banda referente à clorofila a.

Com a finalidade de tentar minimizar essa contribuição, subtraímos do sinal a gaussiana utilizada na descrição do Raman, resultando na visualização da banda da clorofila a (ver figura 31).

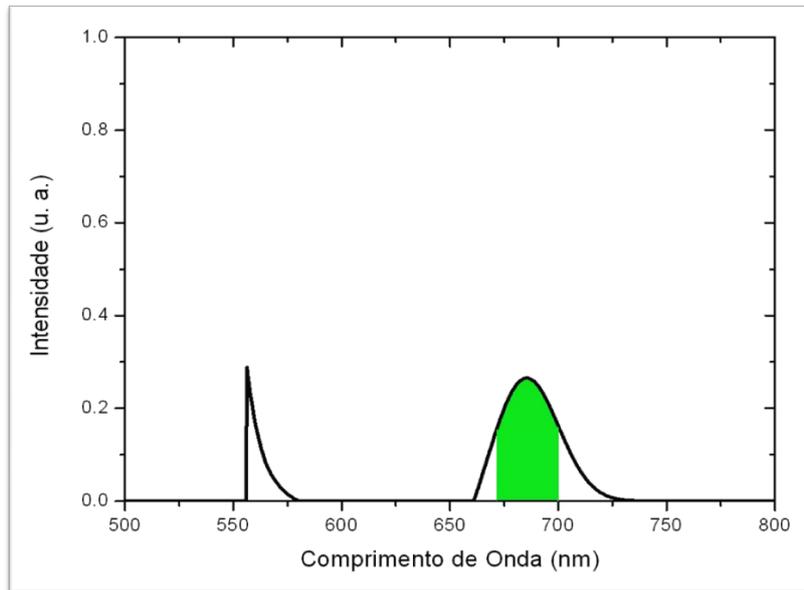


Figura 31 - Espectro após a extração da banda do espalhamento Raman da água – a área verde evidencia a banda referente à clorofila *a*.

3.3.5.

Concentração Relativa de Clorofila

Como primeira alternativa para descrever a banda da clorofila *a* foi utilizada uma curva gaussiana. Porém, diferente da banda do espalhamento Raman da água, a banda da clorofila não é muito bem definida, apresentando grande variação, principalmente quando as algas medidas apresentam grande diversidade. Além desse fator, a proximidade da banda do Raman e a baixa intensidade em relação a esta, também dificultaram o ajuste da gaussiana. Dessa forma, apenas delimitamos o início e o fim da faixa referente à clorofila e calculamos a área compreendida entre esses pontos, como destacado na figura 31, onde a banda referente à clorofila apresenta um $\Delta\lambda = 30$ nm, compreendidos entre 670 nm e 700 nm.

Os limites da banda de clorofila *a* foram estudados nesse trabalho e serão apresentados no próximo capítulo com a finalidade de determinar a faixa de melhor correlação com os resultados de concentração absoluta de clorofila.

3.4. Montagem do Equipamento

O LIDAR foi montado em duas partes a fim de facilitar o transporte de todo o sistema. Em uma primeira bancada foram montados o laser com o telescópio newtoniano, o subsistema óptico de detecção e a eletrônica de controle. Na segunda bancada, foram montados a fonte de alimentação e o sistema de refrigeração.

As medidas apresentadas neste trabalho foram realizadas com o LIDAR em laboratório e em campo utilizando sempre a excitação do 2º harmônico do laser (532 nm). As diferentes iluminações dos ambientes de medição são compensadas, pois, o sinal de fluorescência é subtraído da leitura da radiação de fundo, ou seja, leitura da radiação que chega aos detectores sem a excitação do laser.

3.4.1. Medições em laboratório

As medições no laboratório foram realizadas com o equipamento a uma distância de aproximadamente 3 metros da amostra, posicionado de modo que o feixe do laser fosse disparado horizontalmente até atingir um espelho, suspenso por um suporte, cuja função foi refletir a radiação perpendicularmente ao feixe incidente, como mostrado esquematicamente na figura 32 a seguir. O sinal de fluorescência, proveniente da amostra, e a radiação retroespalhada seguem o mesmo caminho em sentido inverso até ser capturado pelo telescópio newtoniano, e focalizado na entrada do cabo de fibra óptica.

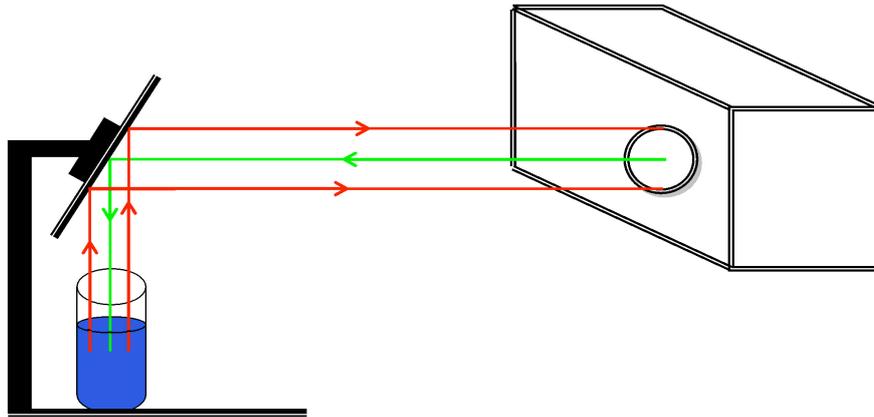


Figura 32 - Esquema do LIDAR no laboratório.

Utilizamos em uma das medições em laboratório uma amostra de água pura, com o objetivo de estudar parâmetros do sinal característico do espalhamento Raman da água. Realizamos, também, medições, com o LIDAR, de diferentes concentrações de clorofila a fim de estabelecer uma correspondência entre estas concentrações e o resultado obtido através do processo descrito neste capítulo.

3.4.2. Medições de campo

As medições em campo foram realizadas a partir da instalação do LIDAR em uma embarcação com a finalidade de se obter medidas de fluoróforos presentes em uma coluna de água do mar, definida pela profundidade de penetração e pelo diâmetro do laser.

O LIDAR foi instalado dentro da cabine de comando, sendo o feixe do laser direcionado para a superfície do mar e, a radiação emitida pelo mar e a retroespalhada, para o telescópio newtoniano. Isto foi possível devido à utilização de um espelho externo como mostrado na figura 33.

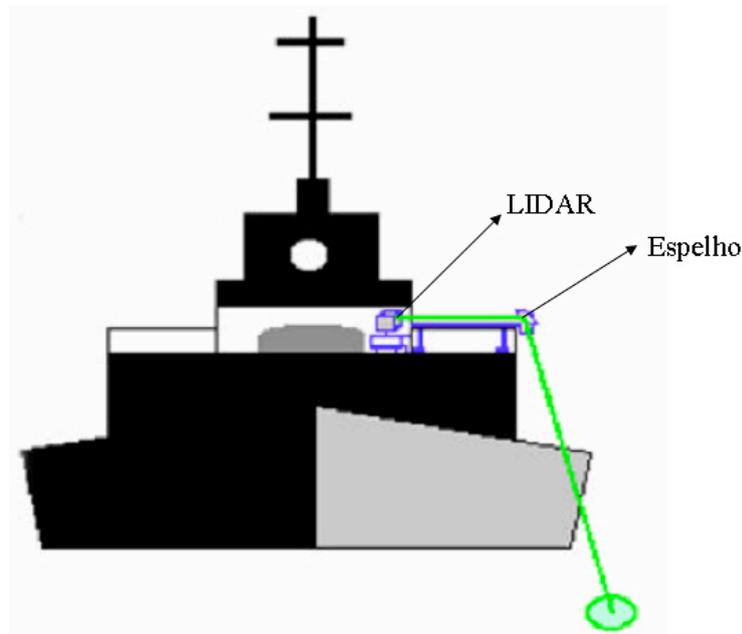


Figura 33 - Esquema da instalação do LIDAR e da posição de incidência do laser na superfície do mar em relação a embarcação (Barbosa, 2003).

A posição do espelho foi ajustada de modo que o feixe do laser não fosse afetado pela pluma produzida pelo movimento da embarcação, incidindo na superfície do mar com uma angulação média de 45° . Como a divergência do feixe do laser é de 5 mrad e a distância percorrida pelo feixe até a superfície do mar foi de, aproximadamente, 20 m, podemos estimar que o diâmetro do feixe do laser ao atingir a superfície do mar era em torno de 10 cm.

Para esta medição, em campo, o LIDAR operou em modo automático armazenando espectros médios a cada intervalo de 4 pulsos (disparos) do laser, adicionando aos dados a leitura da posição feita por um receptor GPS (*Global Positioning System*).