

Sistema optoacústico resonante para detección de gases emanados en el almacenamiento de frutas

Resonant photoacoustic system for detection of gases from fruit storage

Laura Sánchez¹, Verónica Slezak¹, Alejandro Peuriot¹ y Guillermo Santiago²

(1) Centro de Investigaciones en Láseres y Aplicaciones (CITEFA-CONICET)
Juan Bautista de La Salle 4397 (1603), Villa Martelli, Buenos Aires, Argentina

(2) Laboratorio Láser, Facultad de Ingeniería, Universidad de Buenos Aires
Paseo Colón 850 (1063), Ciudad de Buenos Aires, Argentina
lsanchez@citefa.gov.ar

Se desarrolló un sistema optoacústico resonante para la medición de concentración de gases relacionados con procesos biológicos, particularmente con la maduración de fruta. Uno de ellos es el etileno, un gas biológicamente activo que regula innumerables procesos de las plantas. Su influencia en la maduración de las frutas es de gran interés económico. El sistema se basa en un láser de CO₂ monomodo sintonizable en las bandas de 9 y 10 μm con una potencia máxima de 5 W. El haz modulado por un obturador mecánico con frecuencia de repetición variable atraviesa una celda de aluminio longitudinal cerrada por ventanas de KCl, con filtros de cuarto de onda en los extremos de un resonador abierto y un micrófono electrete en su punto medio. La señal proveniente de las muestras, a distintas frecuencias de modulación alrededor del pico de resonancia correspondiente al segundo modo longitudinal (~2300 Hz), es procesada por un amplificador lock-in y transferida a una PC. Se calibra el sistema para mezclas de etileno en nitrógeno a presión atmosférica y se determina la constante del dispositivo. Ésta, a su vez, se utiliza para medir la sección eficaz de absorción de otras sustancias relacionadas con la fermentación alcohólica (etanol, acetaldehído) a diferentes longitudes de onda del láser. En base a estos datos se analizan las primeras mediciones de gases emanados de distintas frutas en condiciones aeróbicas.

Palabras clave: *optoacústico, láser de CO₂, etileno, análisis de trazas gaseosas, maduración de fruta.*

A resonant photoacoustic system was developed for detection of gases related to biological processes, particularly to fruit ripening. One of them is ethylene, a gas which regulates several processes in plants. Its influence in fruit ripening is very important from the economical point of view. Our system is based on a single-mode CW CO₂ laser tunable through the 9 and 10 μm band with 5 W maximum power. The beam, chopped at variable repetition rate, crosses an aluminum cell whose resonator is closed at both ends with quarter wavelength filters and KCl windows. A microphone is attached to the wall in the middle-point of the resonator. The signal coming from the samples at different repetition rates around the resonance is processed by a lock-in amplifier and transferred to a computer. The system is calibrated for mixtures of ethylene in nitrogen at atmospheric pressure and the setup constant is determined. This constant is used for measuring the absorption cross sections of other substances related to alcoholic fermentation (ethanol, acetaldehyde) at diverse wavelengths. Based on these data, the first measurements on fruits under aerobic conditions are performed at the lab.

Keywords: *photoacoustic, CO₂ laser, ethylene, gas traces analysis, fruit ripening.*

I. Introducción

La técnica optoacústica (OA) basada en un láser de CO₂ es una herramienta útil para detección de trazas gaseosas ya que es sintonizable en el infrarrojo (IR), lo cual permite analizar mezclas multicomponentes. En el caso de un láser de CO₂ continuo se modula la excitación generalmente con un obturador de velocidad variable a una frecuencia de repetición coincidente con un modo acústico de la cavidad que contiene al gas y se procesa la señal con detección sincrónica. Así se obtienen resultados interesantes respecto de la detección de concentraciones muy pequeñas aún cuando la relación señal a ruido sea muy baja. Sistemas de este tipo, basados en un láser de CO, han sido utilizados para medición de contaminantes atmosféricos y análisis de gases de escapes de vehículos.^{1,2} Un tema de interés actual es la aplicación a la detección de etileno, que es la única hormona

gaseosa de los vegetales, y está ligada al crecimiento y senescencia de los mismos.³ La variación de producción del mismo está influenciada por el *stress* debido a plagas, anegamiento, sequías, contaminación, etc. La detección de dichas variaciones es de sumo interés en la producción de alimentos. Además, el desarrollo de un sistema capaz de medir trazas de etileno, como se muestra en este trabajo, es útil para controlar la atmósfera en galpones de almacenamiento de las frutas durante la cadena de distribución ya que un exceso de acumulación de etileno aceleraría el proceso de maduración.

II. Señal OA en muestras multicomponentes

La aplicación de la espectroscopia OA que se estudia en este trabajo requiere analizar muestras reales provenientes de frutas almacenadas en un ambiente aeróbico. Éstas contienen bajas concentraciones de

etileno, etanol y acetaldehído así como también vapor de agua y dióxido de carbono en mayor cantidad. Todas estas sustancias presentan absorción en la región de emisión del láser de CO₂. El espectro IR del etileno presenta una estructura, o comúnmente denominada *huella digital*, tal que lo hace fácilmente identificable cuando, en forma pura, es excitado ópticamente: en efecto, la absorción en la línea 10P(14) es varias veces mayor (5 a 7 veces) que en las líneas láser vecinas. Sin embargo, la superposición de las bandas de absorción de las otras sustancias diluye este contraste.

La sintonizabilidad de este láser es lo que permite medir señales en tantas longitudes de onda como sea necesario para deducir las concentraciones de n sustancias. Efectivamente, la linealidad del sistema OA para bajas absorbancias permite plantear la siguiente expresión para la amplitud de la señal OA en una línea láser λ_i , $1 \leq i \leq m$, con $m \geq n$:

$$S_i = K_d \cdot P_{0i} \sum_{j=1}^n \sigma_{ij} C_j \quad (1)$$

donde K_d es la constante del dispositivo, σ_{ij} son las secciones eficaces de absorción de la sustancia j para la línea láser i , C_j la concentración de la sustancia j y P_{0i} la potencia del láser en la línea λ_i . El sistema de ecuaciones (1) permite deducir las concentraciones de las distintas sustancias de una muestra si se miden las amplitudes de las señales OA a las distintas longitudes de onda al mismo tiempo que la potencia láser, suponiendo conocidas la constante del dispositivo y las secciones eficaces de absorción de las sustancias a analizar.

La elección de las longitudes de onda es crítica para optimizar sensibilidad y selectividad y está condicionada por el espectro de absorción de las sustancias. Existen distintos criterios para llevarla a cabo⁴; en nuestro trabajo se sobredeterminó el sistema, eligiendo siete líneas láser alrededor de las regiones donde particularmente el etileno y el etanol tienen absorbancia mayor (10P12 a 10P18 para etileno y 9P20 a 9P24 para etanol) ya que son las sustancias cuya producción es interesante del punto de vista biológico.

Luego se estudiaba el resultado de tomar distintos conjuntos de líneas láser para resolver el sistema de ecuaciones para las sustancias nombradas arriba y se estudiaba cómo dependía la solución de dicha elección. Esto se verá con más detalle en la sección IV.

III. Experimento

Se desarrolló un espectrómetro OA en base a un láser de CO₂ adecuado para el estudio de etileno y otros gases emanados de plantas y frutas. Para ello se construyó un láser de CO₂ convencional, monomodo, continuo, de flujo y sintonizable que emite aproximadamente 5 Watts en la línea 10P(20). Para las mediciones se seleccionó la mejor porción del haz mediante un diafragma de 5 mm de diámetro. La radiación era modulada por un obturador mecánico (ThorLabs, Mod. MC 1000) el cual era comandado desde una PC. Un programa permitía realizar un

barrido del pico de resonancia de la cavidad acústica variando la frecuencia de referencia del lock-in y al mismo tiempo acumular y promediar señales provenientes del mismo. Simultáneamente en la PC se registraba para cada frecuencia el valor de la potencia del láser medida con un detector Ophir (mod.20C-A-.1-C) para normalización de la señal OA (Fig.1)

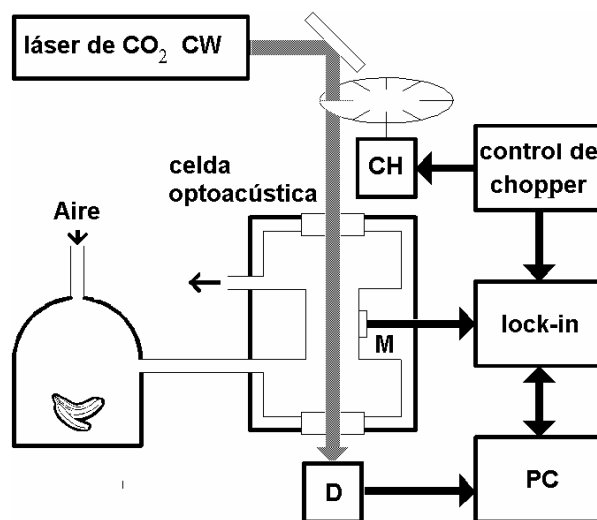


Figura 1. Dispositivo experimental

La cavidad acústica consistía en una celda de aluminio con un resonador central de 1,2 cm de diámetro y 7 cm de longitud, sendos volúmenes amortiguadores en sus extremos, dando 14 cm de longitud total, con llaves de entrada y salida de gas en los extremos del resonador. La relación entre los diámetros de los amortiguadores y del resonador se eligió 2,5 de manera de maximizar el nivel de señal en el micrófono. Los filtros de cuarto de onda permiten minimizar por un lado los ruidos posibles que se originan en el caso de uso de régimen de flujo y, por el otro, la señal proveniente del calentamiento de las ventanas de KCl. En el punto medio de la celda se encuentra un micrófono del tipo electrete para hipoacústicos (Knowles EK-3132) rasante a la pared del resonador. Con un modelo de celda unidimensional⁵ se puede calcular que, para este diseño de celda, mezclas en N₂ a presión atmosférica, temperatura ambiente y excitación uniforme a lo largo del eje, la frecuencia de resonancia con máxima señal en el micrófono es el segundo modo longitudinal de aproximadamente 2250 Hz.

La celda se sometía a un proceso de limpieza en alto vacío y, para calibración del sistema OA, se preparaban las distintas mezclas a partir de una mezcla prefabricada de etileno en nitrógeno (L'Air Liquide, 605 ppm ± 13 ppm) y de etanol (Merck, pureza > 99,8 %) en N₂ (L'Air Liquide, 99,9990 %).

IV Calibración del sistema.

La sección eficaz de absorción IR del etileno ha sido medida con láser de CO₂ por varios autores⁶. Por

lo tanto es muy conveniente para calibrar nuestro sistema OA y determinar la constante K_d . Con ese resultado es posible determinar secciones eficaces de absorción de otras sustancias de interés biológico, como el etanol o acetaldehído.

Se sintonizó el láser en la línea 10P(14) (949,49 cm^{-1}) donde el C_2H_4 tiene su máximo de absorción, siendo el valor de la sección eficaz $1,7 \times 10^{-18} \text{ cm}^2$. Se irradiaron distintas mezclas de C_2H_4 en N_2 de concentraciones entre 18 ppbV (1 ppbV = 10^{-9} partes en volumen) y 300 ppmV. Para cada una de ellas se registró el pico de resonancia con una constante de integración del lock-in de 1 o 3 seg según fuera necesario para optimizar la relación S/N. El factor de calidad de la celda resultó 30, por lo que los cambios de temperatura ambiente normales a lo largo de la experiencia (2 a 3 $^\circ\text{C}$) no producían un corrimiento apreciable de la frecuencia de resonancia. La amplitud del pico normalizado a la potencia del láser vs. concentración de C_2H_4 - N_2 representa la calibración de nuestro sistema (Fig.2). La constante del dispositivo para etileno ($K_d \sigma_{eti}$), pendiente de la recta obtenida, resultó $90 \pm 1 \mu\text{V}/(\text{W.ppm})$. La precisión del método, determinada registrando la señal OA para cinco cargas diferentes de una misma concentración, fue mejor que el 15%.

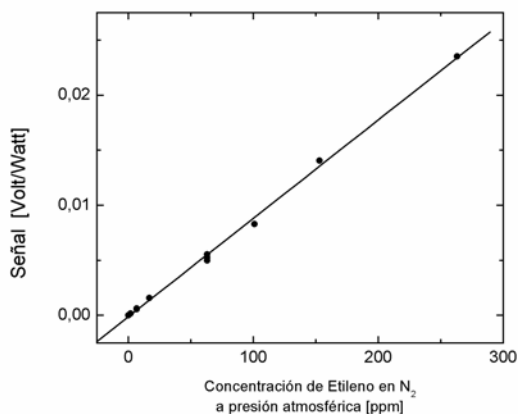


Figura 2. Calibración del sistema para C_2H_4 en la línea 10P(14)

Se comprobó que el reemplazo de nitrógeno por aire del laboratorio, simulando una atmósfera real, no produce cambios en la amplitud de la señal OA y la misma permanece estable en el tiempo.

Utilizando K_d se determinó la sección eficaz de absorción del etanol en N_2 a presión atmosférica, midiendo la amplitud de la señal OA para una concentración dada. En efecto, para baja absorbancia:

$$S_{eta}(\lambda_i) = K_d \sigma_{eta}(\lambda_i) P_o C_{eta} \quad (2)$$

donde los subíndices *eta* y *eti* indican etanol y etileno respectivamente. Para concentraciones entre 240 y 300 ppmV se registraron las amplitudes OA para las líneas láser 10P(12) a 10P(18) y 9P(20) a 9P(24). En base a (2) se despeja el valor de σ_{eta} para las distintas

longitudes de onda. Para las mismas líneas láser se midieron también las secciones eficaces del etileno con nuestro sistema.

Al aplicar el mismo método al acetaldehído en N_2 se encontró un problema de falta de repetibilidad de la carga y de estabilidad de la misma, probablemente debido a problemas de condensación o adsorción. Por lo tanto se calcularon los valores de la sección eficaz de absorción de la base de datos de la EPA⁷. Asimismo los valores para H_2O se dedujeron de Shumate et al.⁸ y para CO_2 de la base de datos HITRAN.

Los espectros IR de interés para las cinco sustancias nombradas se resumen en la Fig.3.

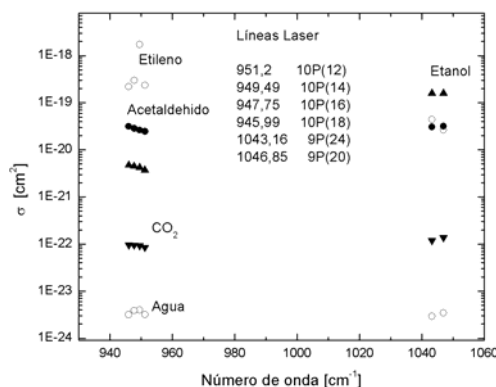


Figura 3. Espectros infrarrojos de las sustancias de interés.

IV Aplicación del espectrómetro OA a un sistema biológico

Se almacenaron tres bananas en un recipiente de vidrio de tres litros, cerrado, durante cinco horas y se tomó una muestra del gas encerrado mediante una simple expansión a la celda previamente evacuada. Se registró la señal OA en condición de celda estanca para seis líneas láser: 10P(12) a 10P(18), 9P(24) y 9P(20). El barrido del pico de resonancia y el cambio de línea del láser, que es manual, requieren algunos minutos, por lo que se investigó si la señal permanecía estable durante ese lapso.

TABLA I: señal OA a distintas longitudes de onda y tiempos.

Línea láser	Tiempo [horas]	Señal [V/W]
10P(14)	0	0,00034
10P(16)	0,42	0,0003
10P(18)	0,77	0,00027
10P(18)	1,08	0,00025
10P(18)	1,62	0,00019
10P(16)	1,87	0,00018
10P(12)	1,27	0,00017
10P(12)	1,4	0,00017
9P(24)	2,15	0,0011

En la tabla I se muestran los resultados de algunas mediciones a distintos tiempos a partir de la primera medición inmediata a la toma de muestra; particularmente se puede observar que en 50 min la

señal OA baja 30 % (Fig.4). Esto impone un límite al tiempo de medición para estar en condiciones de mejorar la precisión de la medida.

Debe notarse que mediciones con la línea 10P(14) sobre muestras de aire ambiente, que contienen típicamente 370 ppmV de CO₂ y 2 % de H₂O, dieron señal OA de $\sim 3 \cdot 10^{-6}$ V/W, mucho menores que las encontradas en esta experimento.

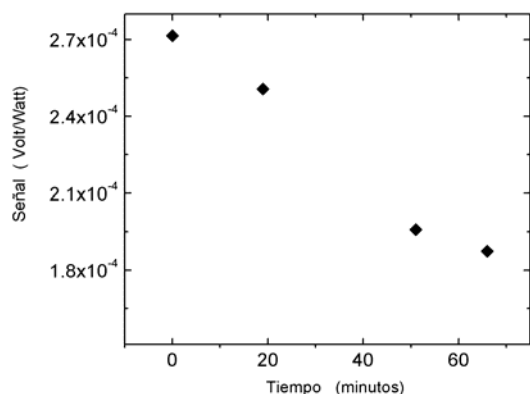


Figura 4. Evolución temporal de la señal para la línea 10P(18).

Se resolvió el sistema de ecuaciones (1) eligiendo distintos conjuntos de líneas láser suponiendo en todos los casos la existencia de etileno y etanol; por ese motivo, debido a la particular *huella digital* IR del C₂H₄, siempre se incluyeron las líneas 10P(14) y sus vecinas. En cuanto al acetaldehído, éste se produce durante la fermentación y se convierte rápidamente en etanol; es por eso que es poco probable que pueda ser detectado. Por otro lado se sabe que se producen abundantes cantidades de CO₂ y H₂O. En base a este criterio se aplicó (1) a las mediciones de amplitud OA como se muestra en la tabla II, donde se resumen los resultados más concluyentes.

TABLA II: resolución del sistema de ecuaciones para distintos conjuntos de líneas láser

	Etileno [ppmV]	Etanol [ppmV]	Acetaldehído [ppmV]	CO ₂ [%]	H ₂ O [%]
1	1,38	156	136	0	0
2	1,33	154	66	2	2,8
3	0,1	$1,1 \cdot 10^4$	$-1,7 \cdot 10^3$	2	2,8
4	1,3	152	0	3,9	2,8

1: 10P(12), P(14), P(16) y 9P(24); sin presencia de CO₂ y H₂O.

2: 10P(12), P(14), P(16) y 9P(24); se fijaron las cantidades de CO₂ y H₂O.

3: 10P(12), P(14) y P(16) ; se fijaron las cantidades de CO₂ y H₂O.

4: 10P(12), P(14), P(16) y 9P(24); sin acetaldehído, se fijó el H₂O.

En ningún caso se toma como variable el vapor de agua ya que la señal máxima posible del mismo

(porcentaje de saturación $\sim 2\%$) se encuentra dentro del error de las mediciones. Se observa en el renglón 3 que no incluir en la resolución del sistema la línea 9P(24) da resultados absurdos. Esto se debe a la *huella digital* del etanol en esta región del espectro (ver Fig.3). Por otro lado, las otras tres alternativas dan como resultado valores de concentración de etanol y etileno muy similares.

V. Conclusiones

El espectrómetro OA en base a láser de CO₂ desarrollado en el laboratorio resulta apropiado para estudios o control de sistemas biológicos a partir de la medición de las cantidades emanadas por los mismos durante un periodo de almacenamiento. Se propone mejorar el mismo automatizando la sintonía, como para conseguir barrido en varias líneas láser en menor tiempo para evitar problemas debidos a inestabilidad de las muestras. También es conveniente y posible realizar las mediciones en tiempo real con un sistema de flujo a través de la celda acústica; en este caso la sensibilidad del sistema debe ser mejorada debido a que las concentraciones de las sustancias de interés serían más bajas. Las interferencias debidas a H₂O y CO₂ se tornarían importantes y, por lo tanto, sería necesario filtrar con catalizadores como CaSO₄ y KOH respectivamente.

Los autores agradecen al Dr. C. Rosito por facilitar numerosos elementos del láser de CO₂ y al Ing. Francisco González por su colaboración en el armado del láser. Este trabajo fue financiado parcialmente por el subsidio PICT 07-14267 de la ANPCyT..

Referencias

1. Sigrist M.W., Air monitoring by laser photoacoustic spectroscopy en Air monitoring by spectroscopic techniques, M.W. Sigrist, Ed., Chemical Analysis, Vol. 127 (John Wiley & Sons), New York (1994).
2. S. Bernegger y M.W. Sigrist, CO-laser photoacoustic spectroscopy of gases and vapours for trace gas analysis, Infrared Phys., **30**, 375-429 (1990).
3. F. B. Abeles, P.W. Morgan, M. E. Saltveit Jr., Ethylene in plant biology, Academic Press, Londres (1992).
4. M. Moeckli, In-situ atmospheric trace gas monitoring by CO₂ laser photoacoustic spectroscopy, tesis doctoral del Swiss Federal Institute of Technology, ETH, Zurich (1997).
5. A. Peuriot, G. Santiago, V. Slezak , Simulación y caracterización de una celda optoacústica unidimensional, Anales de la Asociación Física Argentina **15** (2003) 90-93.
6. M. Muertz, B. Frech, W. Urban, High-resolution cavity leak-out absorption spectroscopy in the 10- μ m region, Appl.Phys.B **68** (1999) 243-249.
7. <http://www.epa.gov/ttn/emc/ffir/data.html>
8. M.S. Shumate, R.T. Menzies, J.S. Margolis, L.-G. Rosengren, Water vapor absorption of carbon dioxide laser radiation, Appl. Opt. **15** (1976) 2480-2488.