Teresa Filomena Vieira Nunes

EMISSÕES BIOGÉNICAS DE HIDROCARBONETOS NÃO METANO

Contribuição para a determinação das taxas de emissão de compostos orgânicos voláteis (COVs) pelos ecossistemas florestais.

UNIVERSIDADE DE AVEIRO
Departamento de Ambiente e Ordenamento
1996

OFERTA
84372

UNIVERSIDADE DE AVEIRO
SERVIÇOS DE DOCUMENTAÇÃO

EMISSÕES BIOGÉNICAS DE HIDROCARBONETOS NÃO METANO

Contribuição para a determinação das taxas de emissão de compostos orgânicos voláteis (COVs) pelos ecossistemas florestais.

TESE

Apresentada por

Teresa Filomena Vieira Nunes

para a concessão

do grau de Doutor
pela Universidade de Aveiro

Ramo: Ciências Aplicadas ao Ambiente
Especialidade: Química da Poluição Atmosférica

1996

106388

Às minhas filhas
Marta, Iolanda e Sofia

Ao Adriano

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor **Casimiro Adrião Pio** do Departamento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro, o meu especial agradecimento pela orientação crítica científica e construtiva ao longo deste projecto, e pela procura constante de melhores condições para a realização do mesmo. Quero ainda manifestar-lhe o meu reconhecimento pela referência que é como docente e investigador, e pelo seu dinamismo e competência que coloca em tudo o que assume e que se faz comunicar àqueles que consigo colaboram.

Ao Doutor **António R. Valente**, com quem tive o prazer de colaborar, pelo apoio contínuo, generoso e amigável, e pela discussão de ideias que contribuíram para o evoluir deste trabalho.

Aos ex-alunos de Engenharia do Ambiente, **Sofia, Maria João e Pedro**, que colaboram na execução do trabalho experimental e sem a ajuda dos quais eu não poderia ter chegado onde cheguei;

A todo o Grupo de Investigação em Química da Poluição Atmosférica do Departamento de Ambiente e Ordenamento, a **Linha 2**, que me proporcionaram um excelente ambiente de trabalho e apoio técnico e prático, permitindo realizar com gosto e alegria as diversas etapas deste projecto;

Ao Doutor **Angelo Correia** e Doutora **Rosa Pinho**, do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro, pela colaboração amiga e desinteressada com que se colocaram ao meu dispor para a classificação taxonómica das espécies vegetais estudadas;

À Professora Doutora **Adalcina Casimiro** do Departamento de Biologia Vegetal da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, pela amizade, ajuda na pesquisa bibliográfica e ideias com que sempre colaborou para o evoluir deste meu trabalho;

À **TECNOCEL**, nas pessoas do Eng. Valente e da Eng. Maria Leonor Pinho e Melo pelas facilidades concedidas no uso de equipamento e cedência de uso do espaço da Quinta de S. Francisco para recolha de amostras, assim como da oferta de eucaliptos do seu viveiro;

À **CELBI**, na pessoa da Eng. Clara Araújo, pelas facilidades concedidas para uso da sua propriedade Quinta das Corgas onde decorreu parte do trabalho experimental de campo;

Ao Projecto **EUROTRAC**, subprojecto **BIATEX** e projectos **STEP 90-0060** e **FIELDVOC** das **Comunidades Europeias** que promoveram e financiaram o desenvolvimento deste estudo.

O meu sincero agradecimento a todos aqueles com quem fui privando ao longo destes anos e que de algum modo contribuíram para o êxito do trabalho que aqui apresento.

SUMÁRIO

Os hidrocarbonetos não metano emitidos pela vegetação constituem um conjunto de compostos muito reactivos que interferem no ciclo do carbono e na capacidade de oxidação da atmosfera. Um contínuo acompanhamento das concentrações, taxas e fluxos de emissão dos principais hidrocarbonetos biogénicos (isopreno e monoterpenos) é essencial para compreender o seu impacto na química-física da atmosfera.

O objectivo deste trabalho consistiu em desenvolver e adaptar métodos que permitissem identificar e quantificar as emissões de isopreno e monoterpenos pela vegetação e aplicá-los ao estudo das espécies mais representativas do país. Foi efectuada uma caracterização sumária da composição e intensidade de emissão de COVs para um total de 53 espécies vegetais incluindo árvores, arbustos e herbáceas.

A aplicação do método dinâmico do saco associada com o método de análise desenvolvido (amostragem por adsorsão em Tenax-TA e posterior análise por cromatografia gasosa) permitiu estudar a influência de variáveis, como a temperatura e a radiação, na taxa de emissão de compostos terpénicos pelo pinheiro bravo e pelo eucalipto.

Os resultados obtidos conjuntamente com dados existentes na bibliografia permitiram estimar as emissões para a atmosfera em Portugal pelas florestas de pinheiro e eucalipto.

As emissões anuais de isopreno e monoterpenos pelo eucalipto e pinheiro (76,1 Kton/ano) representam em média metade das emissões de COVs de origem antropogénica em Portugal. No verão durante o dia as emissões biogénicas pelo eucalipto são em regiões do país onde esta espécie predomina, como no centro do país (distritos de Aveiro e Coimbra), uma ordem de grandeza superiores às emissões resultantes das actividades humanas.

ABSTRACT

Non methane hydrocarbons emitted from vegetation are a group of reactive compounds that interfere in the carbon cycle and oxidation capacity of the atmosphere. A constant monitoring of atmospheric concentrations, emission rates and fluxes for the main biogenic hydrocarbons (isoprene and monoterpenes) is essential in order to understand their impact on atmospheric physic-chemistry.

The aim of this project was to developed and adapt methods that be able to identify and quantify the isoprene and monoterpene emission rates from vegetation and to apply them to study the more representative vegetation species in the country. A brief characterisation of the emission VOC composition and intensity was done for 53 different vegetation species including trees, shrubs and herbaceous.

The dynamic bag enclosure method associated with the analytical developed method was applied to study the influences of variables, like temperature and radiation, on the isoprene and monoterpenes emission rates for maritime pine and eucalyptus.

The data obtained in this study together with information from the bibliography allowed to estimate the VOC emissions to the atmosphere from pine and eucalyptus forest in Portugal.

Annual isoprene and monoterpenes emissions from eucalyptus and pine forests (76,1 Kton./year) constituted half of the annual anthropogenic VOC emissions in Portugal. During daylight periods, in summer, biogenic emissions from eucalyptus, in areas where this tree specie is dominant, like in the centre of the country (Aveiro and Coimbra regions), are an order of magnitude greater than for emissions resultant from human activities.

ÍNDICE

I - INTRODUÇÃO 1

II- FONTE E REACTIVIDADE DOS HIDROCARBONETOS BIOGÉNICOS NÃO METANO NA ATMOSFERA. 4

II.1 - Síntese e emissão dos compostos terpénicos 4
II.1.1 - Generalidades sobre os terpenos 5
II.1.2 - Biossíntese dos compostos terpénicos 7
II.1.3 - Compartimentação celular da biossíntese dos terpenos 9
II.1.4 - Emissão de isopreno e monoterpenos para a atmosfera 15
II.1.4.1 - Modelização da taxa de emissão 17
II.1.4.2 - Fluxos de emissão de COVs 22
II.2 - Química da atmosfera dos hidrocarbonetos biogénicos 25
II.2.1 - Isopreno 29
II.2.1.1 - Reacção com o radical OH 30
II.2.1.2 - Reacção com o O_3 33
II.2.1.3 - Reacção com o radical NO_3 36
II.2.1.4 - Oxidação dos compostos de carbonilo 38
II.2.1.5 - Processos heterogéneos 39
II.2.1.6 - Observação dos produtos de oxidação do isopreno na atmosfera 40
II.2.2 - Monoterpenos 41
II.2.2.1 - α-pineno 42
II.2.2.1.1 - Reacção com o radical OH 42
II.2.2.1.2 - Reacção com o ozono 44
II.2.2.2 - β-pineno 45
II.2.2.2.1 - Reacção com o radical OH 45
II.2.2.2.2 - Reacção com o O_3 46
II.2.2.2.3 - Oxidação da nopinona 47
II.2.2.3 - Reacção com o radical nitrato 48
II. 2.3 - Implicações da presença dos COVs biogénicos na química da atmosfera 49

III - MÉTODOS ANALÍTICOS E EXPERIMENTAIS 52

III.1 - Colheita e análise de compostos orgânicos voláteis no ar 52
III.1.1 - Regeneração dos tubos Tenax 57
III.1.2 - Análise de hidrocarbonetos voláteis por cromatografia gasosa e detecção por ionização de chama (GC/FID) 59
III.1.2.1 - Condições de análise 59
III.1.2.2 - Identificação 62
III.1.2.3 - Quantificação dos compostos orgânicos voláteis - Calibração 64

III.1.2.4 - Limite de detecção 67
III.1.3 - Amostragem de compostos orgânicos voláteis 68
III.1.3.1 - Capacidade do Tenax-TA para amostragem de isopreno 69
III.1.3.2 - Remoção do vapor de água 73
III.1.3.3 - Influência do ozono na amostragem e análise de COVs 76
III.1.3.4 - Amostragem de isopreno e monoterpenos atmosféricos 78
III.2 - Método de amostragem para avaliação das emissões de isopreno e monoterpenos pela vegetação 79
III.2.1- Método de amostragem semi-quantitativo 80
III.2.1.1 - Incubação e amostragem 80
III.2.1.2 - Colheita e armazenamento do material biológico 82
III.2.2 - Método dinâmico do Saco 83
III.2.2.1 - Amostragem de isopreno e/ou monoterpenos no laboratório em plantas jovens 84
III.2.2.2 - Amostragem de isopreno e/ou monoterpenos no campo em árvores adultas 89
III.2.3 - Medição da biomassa 90

IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1 - Avaliação da composição e da taxa de emissão de COVs emitidos pela vegetação dominante - método semi-quantitativo 93
IV.2 - Avaliação da composição e da taxa de emissão de HCNM pelo *Pinus pinaster*, e pelo *Eucalyptus globulus*. 102
IV.2.1 - *Pinus pinaster* 103
IV.2.1.1 - Composição de terpenos na emissão 103
IV.2.1.2 - Taxa de emissão de terpenos 116
IV.2.1.2.1 - Efeito da humidade/água 118
IV.2.1.2.2 - Efeito da radiação 121
IV.2.1.2.3 - Efeito da temperatura 123
IV.2.1.2.4 - Variação diária e sazonal 127
IV.2.1.2.5 - Validação dos algoritmos 130
IV.2.2 - *Eucalyptus globulus* 132
IV.2.2.1 - Composição de terpenos na emissão 132
IV.2.2.2 - Variação diária da taxa de emissão de isopreno e monoterpenos 138
IV.2.2.3 - Influência das condições ambientais na taxa de emissão de isopreno e monoterpenos 143
IV.2.2.4 - Normalização da taxa de emissão de isopreno 147
IV.3 - Campanha FIELDVOC - Concentração atmosférica de hidrocarbonetos não metano num eucaliptal 150
IV.3.1 - Descrição do local 151
IV.3.2 - Variação diária da concentração de isopreno e monoterpenos 152
IV.3.3 - Perfis de emissão de isopreno versus perfis de concentração 163

V - FLUXOS DE COVs PELA FLORESTA DE PINHEIRO E EUCALIPTO EM PORTUGAL 167
V.1 - Metodologia de cálculo 168
V.2 - Emissões de COVs pela floresta de pinheiro e eucalipto a nível nacional

VI - CONCLUSÂO 176

VII - REFERÊNCIAS 181

APÊNDICES

Apêndice A - Resultados individuais das taxas de emissão foliares de compostos terpénicos pelas várias espécies investigadas.

Apêndice B - Radiação PAR - curvas de ajuste a dados experimentais para obtenção dos perfis de radiação média mensal.

Apêndice C - Temperaturas médias mensais mínima e máxima a nível distrital (SNM - Normais Climatológicas 1930-1960).

I - INTRODUÇÃO

Os compostos orgânicos voláteis (COVs) são uma importante classe de poluentes atmosféricos presentes frequentemente na baixa atmosfera. Existem várias centenas de compostos que pertencem a esta categoria. Estritamente falando , o termo composto orgânico volátil refere-se a compostos orgânicos que aparecem na atmosfera na forma de gases, mas que nas condições de pressão e temperatura ambiente podem existir nas fases líquida ou mesmo sólida. Um COV é por definição uma substância cuja pressão de vapor a 20°C é inferior à pressão atmosférica normal ($1{,}013 \times 10^5$ Pa) e maior do que 130 Pa (Hester e Harrison, 1995). O uso do termo COV por vezes também é estendido aos compostos semivoláteis e engloba não só os compostos de carbono-hidrogénio, mas também os que contêm grupos de substituição de oxigénio, cloro e enxofre, entre outros. Por vezes também se usa o termo hidrocarboneto não metano (HCNM), ou mesmo COVNM (composto orgânico volátil não metano), para distinguir esta classe de compostos. O metano é de um modo geral abordado e estudado separadamente na problemática da poluição atmosférica, aparecendo como o segundo composto de carbono mais abundante na atmosfera (1,6 a 1,7 ppm) a seguir ao CO_2, não tendo sido objecto de estudo no presente trabalho.

Os COVs só muito recentemente foram reconhecidos como classe de poluentes. Algumas das razões deste tardio despertar deve-se ao facto de por um lado ser constituído por um elevado número de compostos e, por outro, só nos últimos anos as técnicas de análise terem sofrido avanços que permitiram a sua detecção e quantificação.

Os compostos orgânicos voláteis estão presentes em todos os organismos vivos. As concentrações de mais de 40 000 COVs presentes no interior de células vegetais (Harbornne, 1991) variam largamente, entre as centenas de milhar de espécies de plantas. No entanto ao nível das emissões de COVs apenas um pequeno número de compostos sobressaem, assumindo particular destaque o hemiterpeno isopreno (C_5H_8) e vários monoterpenos ($C_{10}H_{16}$), quer pela elevada reactividade química que apresentam na atmosfera, quer pela quantidade com que são emitidos principalmente pelas espécies florestais (Guenther *et al.*, 1995). Não é ainda de todo conhecido o papel desempenhado por estes compostos nas plantas que os emitem, mas em alguns casos sabe-se que a sua produção está associada a mecanismos de defesa contra situações ambientais adversas e contra predadores, competitividade entre espécies, etc.

(Harborne 1988, 1991; Lewinsohn *et al.*, 1991a e 1991b). Estimativas apontam para que cerca de metade das emissões totais de COVs para a atmosfera nos EUA (Lamb *et al*, 1987) e aproximadamente 2/3 para o resto do mundo (Mueller, 1992) provenham da vegetação.

A capacidade de oxidação da atmosfera é influenciada fortemente pela presença de hidrocarbonetos reactivos (Chameides *et al.*, 1988; 1992). Actualmente os modelos numéricos da Química da Atmosfera têm demonstrado que as concentrações de ozono e outros oxidantes na troposfera são extremamente sensíveis às concentrações de COVs biogénicos (Liu *et al*, 1987; Trainer *et al.*, 1987). Os hidrocarbonetos biogénicos podem também ser uma fonte de ácidos orgânicos, contribuindo assim para a deposição ácida a nível regional (Fehsenfeld *et al.*, 1992). À escala global os COVs interferem com o ciclo do carbono e desempenham um papel determinante nas concentrações de radicais hidróxilo na troposfera.

A importância dos COVs na química da atmosfera tem sido avaliada através de modelos que têm sofrido uma enorme evolução nos últimos anos. Os actuais modelos de transporte e transformação química na atmosfera necessitam de bases de dados com capacidade de resolução espacial e temporal, nomeadamente ao nível das emissões biogénicas. A necessidade do aumento da compreensão destes fenómenos passa também pelos esforços endereçados no sentido de desenvolver modelos que expliquem as interacções entre as alterações climáticas a nível global, o uso do solo e a química da atmosfera.

Os inventários de emissões biogénicas à escala regional e global que têm sido efectuados (Lamb *et al.*, 1987; Luebkert e Tilly, 1989; Luebkert e Schoepp, 1989; Mueller, 1992), apesar de representarem um enorme esforço de avanço na estimativa das emissões de COVs em larga escala, contêm imprecisões nos dados e/ou nos algoritmos aplicados (Guenther *et al.*, 1995). Um aumento da capacidade de resolução e de precisão das estimativas de COVs biogénicos tem que passar por:

- maior precisão na estimativa do tipo de fonte e respectiva densidade;
- maior precisão na estimativa das taxas de emissão para cada tipo de fonte;
- compreensão e conhecimento dos factores que influenciam a emissão de COVs tais como temperatura, radiação e humidade;
- estimativa da variação de cada um dos factores em termos espaciais (grelha) e temporais (intervalo de tempo).

A investigação apresentada neste trabalho pretende ser uma contribuição para aumentar o conhecimento sobre as emissões de COVs biogénicos para a atmosfera, nomeadamente

isopreno e monoterpenos, por espécies com significado em Portugal. Deste modo foram aplicadas e desenvolvidas diferentes metodologias de amostragem e análise para avaliação das taxas de emissão de COVs pela vegetação com representatividade no coberto nacional. As espécies florestais, eucalipto e pinheiro, foram alvo de um estudo mais aprofundado de modo a compreender o modo como o estado de desenvolvimento da planta e os factores ambientais influenciam a taxa de emissão de COVs.

Este trabalho encontra-se dividido genericamente em três partes. A primeira refere-se ao estado de conhecimentos sobre as fontes naturais e impacto dos COVs na química da atmosfera. A segunda descreve as metodologias de medição e análise desenvolvidas, que permitiram a quantificação das concentrações e das taxas de emissão de hidrocarbonetos não metano. A terceira apresenta os resultados e sua discussão, e ainda uma metodologia para a elaboração de inventários de emissões de HCNM em Portugal com base nos resultados experimentais obtidos. Por último faz-se uma avaliação ao trabalho no seu todo referindo os aspectos mais relevantes alcançados.

II - FONTES E REACTIVIDADE DOS HIDROCARBONETOS NÃO METANO BIOGÉNICOS NA ATMOSFERA

II.1 - Síntese e emissão de compostos orgânicos voláteis

As plantas sintetizam e contêm nos seus tecidos um elevado número de compostos orgânicos voláteis incluindo mono e sesquiterpenos, álcoois, aldeídos, cetonas e éteres. Individualmente as diferentes espécies apresentam combinações particulares dos diferentes compostos que consequentemente lhes confere um comportamento de emissão também específico. A formação de quantidades significativas de monoterpenos está limitada a aproximadamente 50 famílias de plantas superiores (Croteau, 1987). A síntese de isopreno, em resultado da exposição das folhas à radiação solar, já foi observada em mais de 200 espécies de plantas (Sanadze, 1991). A maior parte das espécies emissoras de isopreno são florestais, com especial destaque para as folhosas. Espécies herbáceas e arbustivas e mesmo fetos também figuram neste grupo heterogéneo de plantas que sintetizam e emitem isopreno (Evans et al, 1982; Tingey et al, 1987; Hewitt e Street, 1992; Pio *et al.*, 1993; Arey *et al.*, 1991b e 1995).

A importância biológica dos compostos orgânicos voláteis para as plantas continua ainda por clarificar. Em muitas situações os COVs sintetizados pelas plantas, como por exemplo o grupo dos monoterpenos, actuam como mecanismos de defesa contra herbívoros e competição intra-espécies (Harborne, 1988, Lewinsohn *et al.*, 1991a e 1991b). O papel do isopreno ainda é menos claro do que o dos monoterpenos, sendo avançado por Sharkey e Singsaas (1995), em função das suas observações, que a principal razão porque as plantas emitem isopreno se prende com a sua tolerância à temperatura, em que o isopreno funciona como um regulador térmico.

Outros compostos orgânicos voláteis que têm sido assinalados nas emissões foliares são o metanol (MacDonald e Fall, 1993; Nemecek-Marshall *et al.*, 1995) e ainda uma série de compostos oxigenados, formaldeído e acetaldeído (Steinbrecher *et al.*, 1992a), o n-hexanal (Tingey *et al.*, 1991), o (Z)-3-hexen-1-ol e o acetato de (Z)-3-hexenilo (Arey *et al.*, 1991a, Winer *et al.*, 1992). A contribuição destes compostos para as emissões de COVs pode para algumas espécies, nomeadamente em algumas herbáceas, ser dominante. Os estudos efectuados até à data são no entanto reduzidos e não se conhece bem a sua extensão. As

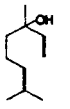
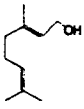
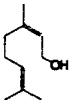
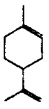
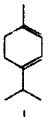
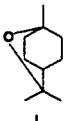
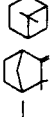
emissões de metanol, se se confirmarem as medições de MacDonald e Fall (1993) que apontam para taxa de emissão média de metanol 5,4 $\mu g\ C.g^{-1}.h^{-1}$ (entre 0,2 e 18,4 $\mu g\ C.g^{-1}.h^{-1}$ para 14 diferentes espécies), podem ser uma fonte adicional de COVs para a atmosfera. Segundo Nemecek-Marshall *et al.*, (1995) as emissões foliares poderão ser a principal fonte do metanol encontrado na atmosfera de zonas florestais, que por sinal pode ser o COV mais abundante em certas atmosferas como foi observado durante o Verão numa floresta de pinheiro no sudeste dos EUA (Fehsenfeld *et al.*, 1992)

II.1.1 - Generalidades sobre os compostos terpénicos

Os compostos terpénicos constituem uma família que tem por base uma unidade isoprénica de 5 átomos de carbono. Os terpenos são classificados em função do número de unidades isoprénicas que os constituem: hemiterpenos (compostos em C_5) representados apenas por um composto, o isopreno, monoterpenos (compostos em C_{10}), sesquiterpenos (compostos em C_{15}), diterpenos (compostos em C_{20}), sesterpenos (compostos em C_{25}), triterpenos (compostos em C_{30}) e politerpenos. Em cada classe as moléculas podem ser acíclicas, ou cíclicas com um ou mais anéis. A cada esqueleto terpénico podem ainda corresponder compostos oxigenados como por exemplo álcoois, aldeídos, cetonas, esteres, etc.. Entre os compostos enumerados anteriormente apenas o isopreno (C_5H_8) e os monoterpenos ($C_{10}O_{16}$), devido à sua maior volatilidade e produção, têm impacto na atmosfera. Os monoterpenos podem ser acíclicos, mono ou bicíclicos. Na tabela I.1 dão-se exemplos de alguns destes compostos sendo apresentadas também algumas propriedades fisicas. O p-cimeno (p-metil-isopropil benzeno), hidrocarboneto aromático, aparece incluído no grupo dos monoterpenos pois está relacionado com os monoterpenos monocíclicos dos quais pode derivar por desidrogenação.

À temperatura ambiente os monoterpenos encontram-se na generalidade no estado líquido, apresentando baixa ou moderada pressão de vapor. Os seus pontos de ebulição estão compreendidos entre os 154 e os 185°C. Os derivados oxigenados têm pontos de ebulição acima dos 200°C e normalmente menores pressões de vapor. Os valores de detecção olfactiva variam muito podendo ir desde o 0,1 ppb para o citral até às centenas de ppb. O limoneno, α-pineno e 1,8-cineol são detectados pelo olfacto para concentrações ambiente inferiores à

Tabela II.1 - Estrutura e algumas propriedades fisicas dos principais terpenos

Composto	estrutura	$P_{vapor\ a\ 20°C}$ (kPa)	Ponto eb. (°C)	densidade	solubilidade	Limite odor (ppb)
isopreno		74,6	34	0,681	insolúvel	
mirceno		0,22	167	0,813	pouco solúvel	13
ocimeno			177		pouco solúvel	
linalol		0,053	198		pouco solúvel	
geraniol		0,013	229		insolúvel	
nerol		0,013	224			
limoneno		0.27	178,6	0,842	insolúvel	10
terpinoleno		0,08	185		insolúvel	
α-terpineno			177,2	0,850	insolúvel	
γ-terpineno			183	0,849		
p-cimeno		0,25	177,1	0,857		
1,8-cineol		0,25	176,4	0,927	0,2 $g.l^{-1}$ (frio)	1,3
α-pineno		0,60	156,2	0,858	pouco solúvel	6
β-pineno		0,40	164	0,865	pouco solúvel	140
canfeno		0,41	160	0,845	insolúvel	
Δ_3-careno			168	0,859	pouco solúvel	

dezena de ppb. A maior parte dos monoterpenos são insolúveis ou muito pouco solúveis em água. Os monoterpenos fazem parte dos constituintes maioritários dos óleos essenciais ou essências das plantas e são normalmente os responsáveis pelo seu cheiro intenso e característico. As essências abundam nos grupos vegetais mais evoluídos, principalmente entre as coníferas e em várias dezenas de famílias de dicotiledóneas (labiadas, umbelíferas, lauráceas, rutáceas, rosáceas, compostas e outras mais). As essências localizam-se em células ou grupo de células que se particularizam pela forma e conteúdo, e normalmente designado por aparelho secretor. Os aparelhos secretores podem apresentar diferente graus de complexidade. Podem ser células isoladas distintas das dos elementos parenquimatosos que as rodeiam, pelas suas dimensões e pelo seu conteúdo (idioblastos). São exemplos de estruturas secretoras internas mais evoluídas as bolsas e canais. Os óleos essenciais podem também acumular-se externamente em tricomas glandulares. A forma e localização dos aparelhos secretores constituem características próprias de cada grupo taxonómico. Um dos sistemas secretores mais elaborado encontra-se entre as pináceas que apresentam uma rede complexa de canais que percorre toda a árvore.

Ao nível das emissões, apesar de terem sido identificados centenas de compostos monoterpénicos nas plantas, apenas um número reduzido de monoterpenos é frequentemente assinalado, com particular destaque para o α- e β-pineno. O mirceno, limoneno, β-felandreno, canfeno, terpinoleno, Δ_3-careno e 1,8-cineol são também referidos vulgarmente nas emissões por diferentes espécies vegetais.

II.1.2 - Biossíntese dos compostos terpénicos

A síntese dos compostos terpénicos tem em comum o seu percursor geral, o acetil coenzima A (Ac-CoA). Os primeiros passos envolvem a fusão catalítica de 3 moléculas de Ac-CoA que levam à formação de pirofosfato de isopentenilo (IPP) via ácido mevalónico, por intermédio da participação de vários enzimas, como é exemplifiacdo na figura II.1 segundo o esquema síntese apresentado por McGarvey e Croteau (1995).

O IPP representa o ponto chave de toda a síntese de compostos terpénicos a partir do qual por acção de várias preniltransferases se podem construir os diferentes blocos terpénicos

de ordem superior, pirofosfato de geranilo (blocos em C_{10}), o pirofosfato de farnesilo (blocos em C_{15}) e o pirofosfato de geranilgeranilo (blocos em C_{20}).

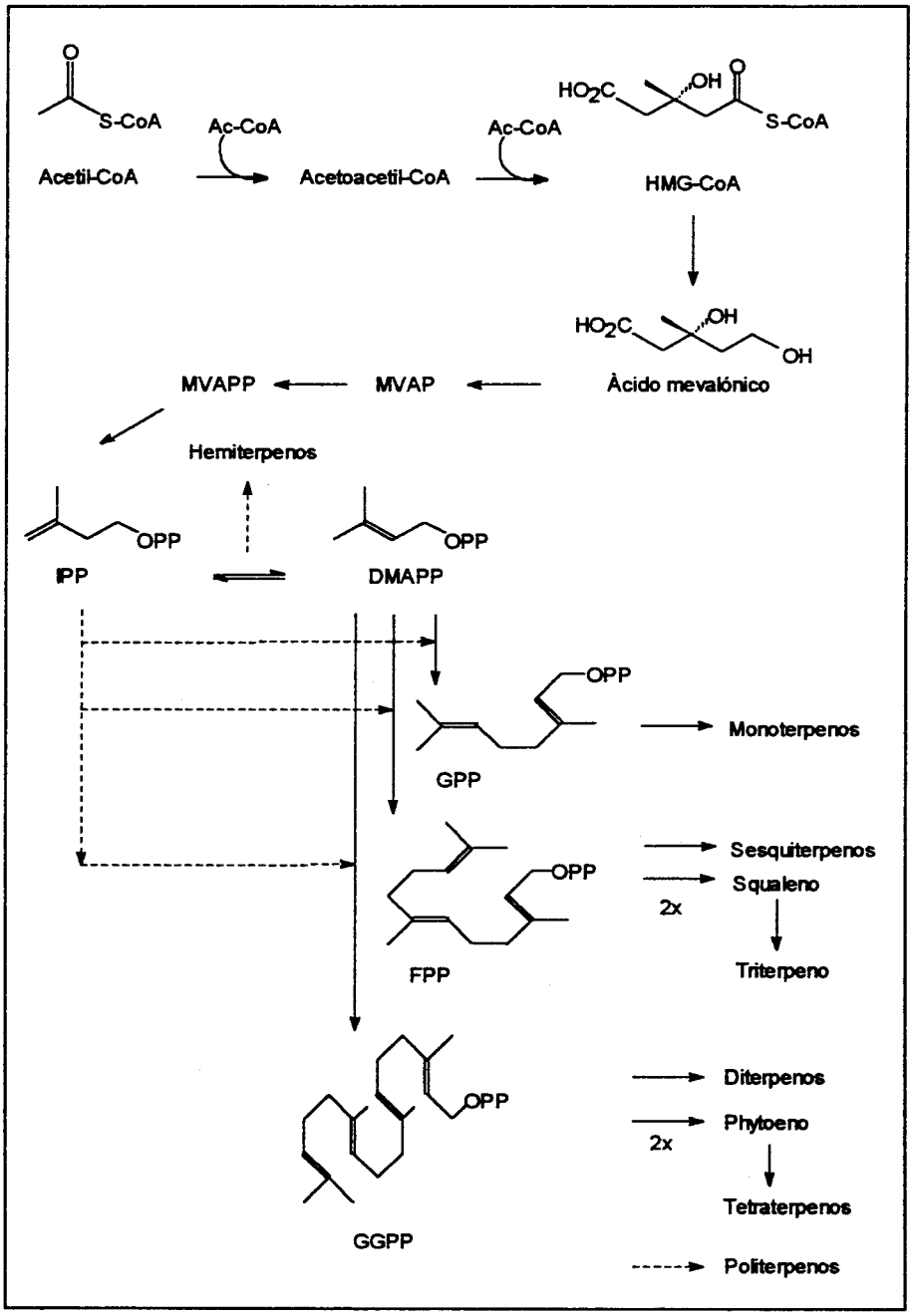


Figura II. 1 - Representação esquemática da biosíntese dos compostos terpénicos a partir do acetil coenzima A (Ac-CoA- acetil coenzima A; HMG-CoA- 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA; MVAP- ácido fosfomevalónico; MVAPP- ácido pirofosfomevalónico; IPP- pirofosfato de isopentenilo; DMAPP- pirofosfato de dimetilalilo; GPP- pirofosfato de geranilo; FPP- pirofosfato de farnesilo; GGPP- pirofosfato de geranilgeranilo) (McGarvey e Croteau, 1995).

O IPP por si não é suficientemente reactivo para iniciar a condensação de compostos terpénicos de nível superior sendo isomerisado por acção do IPP isomerase a pirosfofato de dimetilalilo (DMAPP).

O isopreno, o composto terpénico mais simples é sintetizado directamente do DMAPP por eliminação do difosfato. A reacção é catalisada pelo enzima isopreno sintase descoberta por Silver e Fall (1991). Este enzima para se manter activo requer catiões Mg^{2+} ou Mn^{2+} e localiza-se provavelmente nos cloroplastos.

Os terpenóides de nível superior são formados por acção de preniltransferases as quais executam uma série de passos que se iniciam com o DMAPP e IPP. No caso da série que conduz à formação de monoterpenos ela resulta da condensação do DMAPP com o IPP que leva à formação de pirosfofato de geranilo (GPP). Este segue reacções de isomerização e ciclização catalítica originando os diferentes compostos em C_{10}. Os sesquiterpenos são formados por sua vez por condensação de IPP com GPP. Tal como o enzima isopreno sintase, as preniltransferases também requerem a presença de catiões metálicos bivalentes, Mg^{2+}e Mn^{2+}, para se manterem activas (McGarvey e Croteau, 1995).

II.1.3 - Compartimentação celular da biossíntese dos terpenos

A compartimentação da síntese dos terpenos e percursores, assim como o seu transporte na planta ainda não é de todo conhecido. A multiplicidade de funções desta família de metabolitos e os diferentes controles que actuam na síntese destes compostos, quer no espaço, quer no tempo, ao longo do desenvolvimento das plantas dificultam o seu estudo. De um modo geral as plantas que produzem e acumulam grandes quantidades de compostos terpénicos apresentam estruturas secretoras especializadas que se podem encontrar no interior dos tecidos ou à superficie. Entre as coníferas é comum o aparecimento de canais resínicos e vesículas, e a relativa complexidade destas estruturas encontra correspondência com a produção potencial de monoterpenos. Por exemplo existe uma estreita correspondência entre o grau de especialização das diferentes coníferas, *Abies*, *Piceas* e *Pinus* e o aumento dos níveis internos de monoterpenos e dos enzimas activos que estão na sua génese (monoterpeno ciclases).

A localização ao nível subcelular dos primeiros passos da biossíntese dos compostos terpénicos continua por esclarecer. A origem do IPP pode depender do tipo de tecido e do estado de desenvolvimento. Gray (1987) defende o modelo de que o IPP é sintetizado no citosol sendo transportado para outros compartimentos celulares. Outros autores , tal como é referido em McGarvey e Croteau (1995), admitem que o IPP é sintetizado no compartimento celular onde vai ser utilizado.

Em contraste com a controvérsia relativa à localização das reacções iniciais da biossíntese dos compostos terpénicos , o conhecimento da compartimentação das etapas subsequentes já é melhor conhecido. Para os monoterpenos os plastos estão claramente implicados como local exclusivo de síntese (McGarvey e Croteau, 1995). Por exemplo as células epiteliais dos canais de *Pinus pinaster* durante a fase em que são capazes de sintetizar os monoterpenos são caracterizadas por possuírem leucoplastos amiboides de grandes dimensões (Bernard-Dagan *et al.*, 1982 e Charon *et al.*, 1987). Cheniclet e Carde (1985) encontraram uma relação estreita entre a presença de leucoplastos em células secretoras e os teores de monoterpenos nos óleos essenciais das 45 espécies de plantas superiores com estruturas secretoras especializadas que investigaram. No caso de plantas que não apresentam estruturas secretoras, como o *Quercus ilex*, a síntese dos monoterpenos emitidos parece estar localizada nos cloroplastos das células (Loreto *et al.*, 1996b). A síntese dos sesquiterpenos ocorre no citosol e no retículo endosplasmático.

No caso do *Pinus pinaster* cujo aparelho secretor se encontra relativamente bem estudado é possível observar diferenciações na capacidade de síntese em diferentes estádios ontogenéticos dos canais (Bernard-Dagan *et al.*, 1979 e 1982). Por exemplo só os aparelhos secretores com origem em meristemas primários (rebentos e agulhas) têm capacidade de sintetizar o conjunto de monoterpenos vulgarmente encontrados nos óleos e essenciais. Os leucoplastos de células de um aparelho de origem secundária (formação a partir da zona cambial dos ramos e tronco) apenas são capazes de sintetizar α e β-pineno. Consequentemente o Δ_3-careno, limoneno e mirceno só podem ser secretados pelas agulhas e tecidos corticais dos orgãos jovens enquanto o α e β-pineno são elaborados por todos os orgãos. Por outro lado a elaboração de monoterpenos pelas agulhas dá-se unicamente na base, na parte escondida pela bainha num período de tempo relativamente curto durante a fase de alongação. À medida que nos afastamos da base, as células epiteliais secretoras desorganizam-se e perdem progressivamente a sua actividade secretora. Deste modo observa-se uma diminuição

progressiva no teor de monoterpenos ao longo da agulha assim como a percentagem de monoterpenos decai ao longo da estação vegetativa. A biossíntese de monotepenos nas agulhas de pinheiro é um processo fortemente fotodependente e tem lugar unicamente em agulhas inteiras (Gleizes *et al.*, 1980a) o que leva a admitir que deverá existir uma relação estreita entre as células clorofilinas e o sistema secretor. No tronco e ramos, após a fase de síntese, observa-se uma diferenciação dos leucoplastos das células secretoras que deixam de ser funcionais mas que podem vir mais tarde a ser reactivadas. Uma vez sintetizados e exudados para o canal resínico, os monoterpenos circulam por toda a planta.

Os ramos e o tronco de pinheiro são percorridos, quer por canais verticais, os de maiores dimensões, quer por canais horizontais, que podem comunicar entre si. A contribuição para as emissões dos diversos canais no *Pinus pinaster* não é idêntica sendo o seu conteúdo em monoterpenos voláteis muito diferente. Nos ramos novos, são os tecidos exteriores (ritidoma e liber) que apresentam maior riqueza em produtos voláteis, enquanto nos ramos mais velhos e no tronco as essências acumulam-se no lenho secundário (Bernard-Dagan, 1971).

Tudo isto faz com que a composição das essências de pinheiro bravo apresente uma grande variação no seio dos órgãos dum mesmo indivíduo.

Na figura II.2 e II.3 apresentam-se secções transversais de uma agulha, ou pseudoblasto, e do renovo apical de *Pinus pinaster* onde é possível observar os canais resínicos nos diferentes tecidos. As agulhas de pinheiro são percorridas por dois canais resínicos principais no sentido longitudinal desde a base até ao ápice. As agulhas apresentam ainda outros canais de menores dimensões dispersos no mesófilo que aparecem na base da agulha e terminam a diferentes níveis. No ápice já só aparecem os dois canais resínicos principais. De notar que a epiderme da parte basal da agulha que se encontra revestida pela bainha não apresenta estomas. No corte transversal efectuado ao renovo terminal os canais resínicos de maiores dimensões aparecem distribuidos no parênquima cortical, mas estende-se uma rede de pequenos canais para o interior até à medula. À medida que o ramo envelhece as células mais exteriores do parênquima cortical dá origem a uma grossa casca fendilhada na qual se encontram igualmente os canais secretores.

De igual modo na figura II.4 aparecem exemplos de bolsas secretoras que são muito abundantes nas folhas das mirtáceas. No caso do *Eucalyptus globulus*, que possui dimorfismo foliar, as bolsas secretoras nas folhas de ramos jovens aparecem a pontilhar a página superior enquanto nas folhas dos ramos mais idosos os nódulos secretores são pouco visíveis.

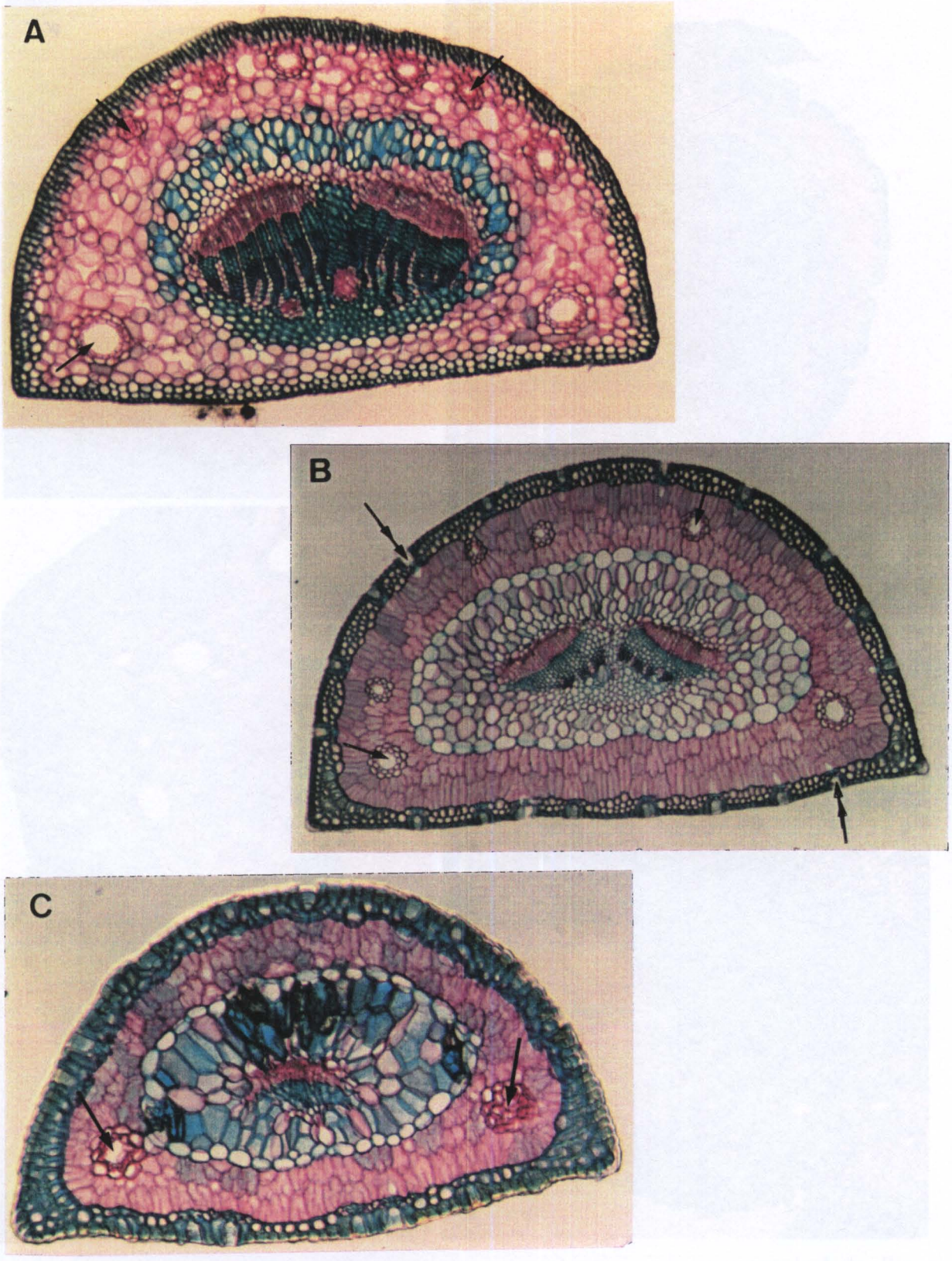


Figura II.2 - Imagens em lupa de secções transversais de uma agulha de *Pinus pinaster*.
A - secção obtida de um corte realizado na base da agulha (os canais resínicos secundários não estão todos igualmente diferenciados); B- secção da zona média da agulha; C - secção do ápice da agulha (apenas se observam dois canais resínicos); → - canal resínico; →→ - estoma; A e B- Ampl. 60x, C- ampl. 100x.
(com a colaboração de H. Ferraz e Prof. Drª C. Gil, Dep. Biologia, Univ. Aveiro)

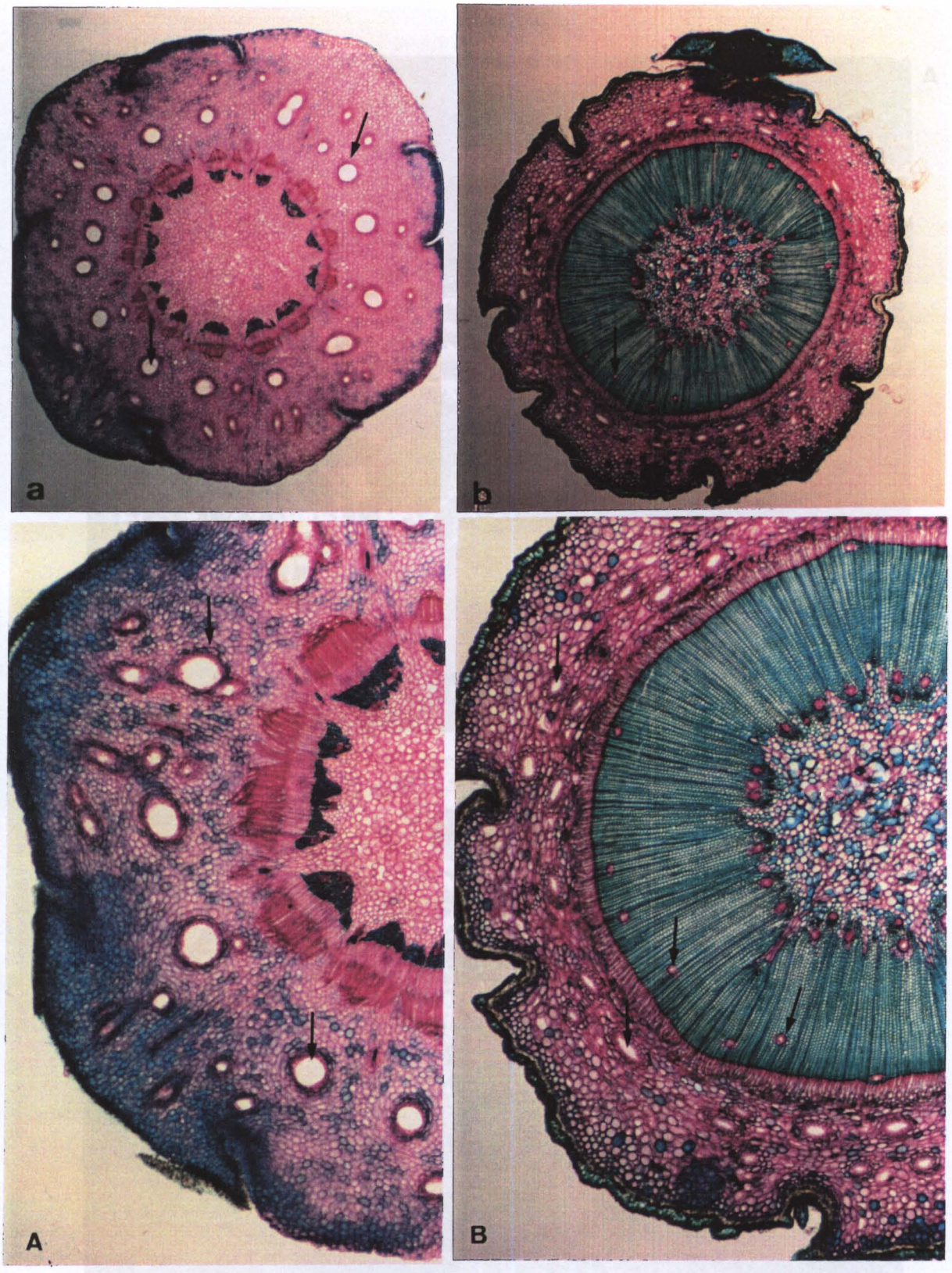


Figura II.3 - Imagens em lupa de secções transversais de um renovo terminal de *Pinus pinaster*.

a e A - secção obtida de um corte realizado na zona de estrutura primária; notar a abundância de canais resínicos no parênquima (setas); b e B - secção da zona mais velha que já desenvolveu estrutura secundária. Notar a atrofia dos canais resínicos ao nível do parênquima e do aparecimento de canais dispersos no lenho secundário (setas). a e b- ampl. 10x, A e B- ampl. 20x.

(com a colaboração de H. Ferraz e Prof. Drª C. Gil, Dep. Biologia, Univ. Aveiro)

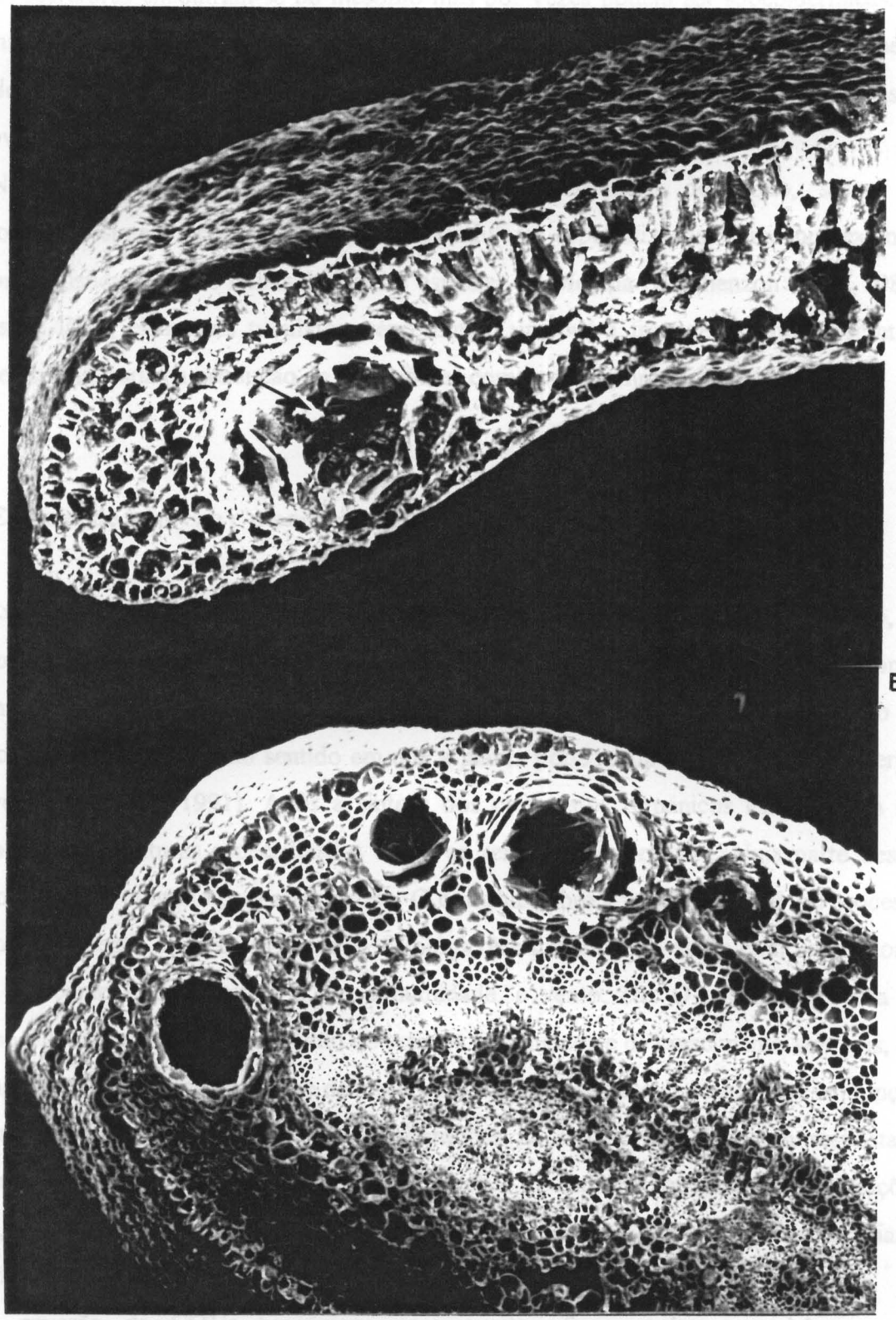


Figura II.4 - Exemplos de bolsas secretoras em *Eucalyptus globulus* obtidas em microscopia de varrimento.

A- Corte de uma secção transversal da zona média de uma folha adulta (260x); B- Corte de uma secção transversal de um pecíolo (176 x). Notar a presença de bolsas secretoras distribuídas no parênquima próximo da superfície. (fotografias cedidas por cortesia de L. Ascensão, FCUL)

As bolsas secretoras encontram-se no mesófilo mas por vezes podem ser subepidérmicas. As folhas mais velhas apresentam ainda maciços de células suberosas, dispostas regularmente simulando lentículas, que se formaram nos nódulos secretores esvaziados, sendo as folhas de ramos jovens revestidas por uma fina camada de cera.

Nas angiospérmicas que produzem elevadas quantidades de mono, sesqui ou diterpenos, a biossíntese ocorre em estruturas glandulares especializadas, como por exemplo nos tricomas glandulares das folhas das várias espécies de Mentha (Gershenzon *et al.*, 1989). Os vasos de látex, elementos tubulares, representam um outro tipo de estrutura secretora altamente especializada na produção de terpenóides como por exemplo a borracha.

II.1.4 - Emissão de isopreno e monoterpenos para a atmosfera

Excluindo o isopreno, que apesar de ser emitido pelas plantas não é armazenado, os monoterpenos são em geral armazenados em tecidos especializados e catabolizados ao longo de caminhos específicos. Os processos catabólicos fazem dos monoterpenos um grupo de compostos de defesa móveis, no sentido em que a planta pode recuperar o carbono e energia neles investida (Lerdau, 1991). Após a síntese dos compostos terpénicos estes podem ser armazenados em estruturas especializadas como se referiu anteriormente. Uma parte destes compostos perde-se contudo para a atmosfera. O controle sobre a volatilização é um processo complexo que depende de factores internos, fisiológicos e metabólicos, assim como de factores externos tais como a temperatura, a luz, a humidade, o vento, etc. O aumento na taxa de biossíntese de compostos como resultado de estados fenológicos e de crescimento sazonais, ou por exemplo, como resposta ao ataque de insectos, à variação na taxa de biossíntese em função dos recursos de azoto e água no solo, a alterações na síntese de COVs em resposta à queda/corte de folhas e ramos, e às solicitações internas de carbono fotoassimilado, variações genéticas, etc., representam todo um conjunto de ajustamentos biológicos que vão influenciar a emissão de COVs para a atmosfera pelas plantas.

A emissão de COVs biogénicos para a atmosfera resulta essencialmente da volatilização através das folhas onde a maior parte dos compostos são sintetizados e cuja superficie, comparativamente com outras partes da planta, é muito superior.

As várias observações efectuadas até ao momento indicam que as influências ambientais controlam a emissão de COVs a dois níveis: um que vai influenciar a capacidade inerente à planta para emitir um conjunto de compostos e que se reflecte na taxa de emissão basal (medida em condições "standard" de temperatura, 30 °C, e radiação, 1000 $\mu mol_{fotões}.m^{-2}.s^{-1}$), e o outro que influencia a taxa de emissão instantânea, determinada pela interacção das condições ambientais prevalecentes com a taxa de emissão basal. Na figura II.5 apresenta-se um esquema adaptado de Monson *et al.* (1995) com relações entre os factores determinantes da taxa de emissão de isopreno e monoterpenos nas plantas.

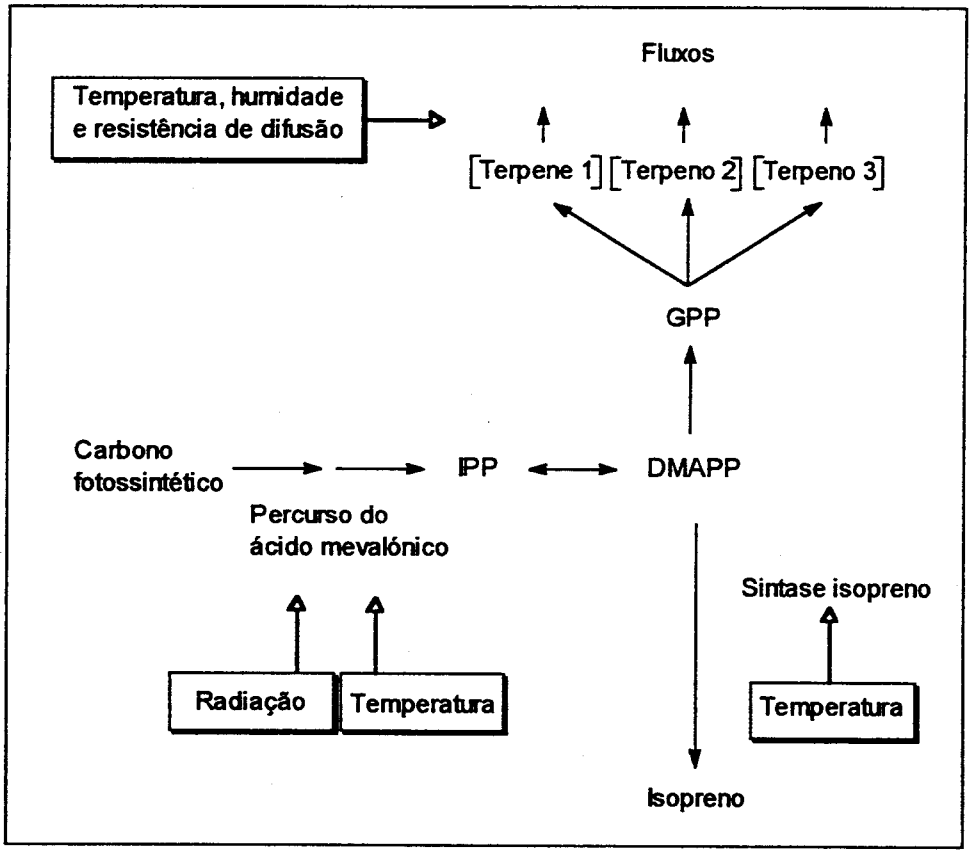


Figura II.5 - Representação esquemática das relações entre os factores determinantes da taxa de emissão de isopreno e monoterpenos.

Segundo este modelo a taxa de emissão basal de monoterpenos é função principalmente das reservas de compostos nos tecidos vegetais enquanto a do isopreno é função da concentração de enzima que o sintetiza assim como da capacidade das células sintetizarem

DMAPP. Os principais factores que vão influenciar a taxa de emissão instantânea são a temperatura e a radiação, e ainda a resistência à difusão no interior dos mesófilos para os monoterpenos. Para o isopreno, devido à sua elevada volatilidade, a resistência de difusão é desprezável.

Estudos recentes efectuados com *Quercus ilex* trouxeram um novo dado a esta problemática visto esta espécie apresentar taxas de emissão de monoterpenos relativamente elevadas e marcadamente fotodependentes, análogas às taxas de emissão de isopreno, e não se conhecerem estruturas secretoras especializadas nesta espécie. Os estudos efectuados até ao momento indicam que neste caso o comportamento da taxa de emissão é comparável à taxa de emissão do isopreno (Kesselmeier *et al.*, 1996, Loreto *et al.*, 1996a) sendo o carbono emitido resultante de carbono fotoassimilado recentemente (Loreto *et al.*, 1996b).

II.1.4.1 - Modelização da taxa de emissão

Como se referiu anteriormente vários factores influenciam a taxa de emissão de COVs para a atmosfera, quer actuando ao nível da taxa de emissão basal, quer da taxa de emissão instantânea. A modelização destes factores é de extrema importância para a quantificação das emissões.

No caso de monoterpenos armazenados nas folhas só uma pequena parte se perde diariamente para a atmosfera. O percurso dos monoterpenos do interior das estruturas onde se acumulam até ao exterior será diferente consoante o tipo de estrutura secretora, tendo que vencer diferentes resistências, sendo contudo os processos físicos a controlar largamente as emissões. A taxa de emissão é neste caso fortemente dependente da temperatura e apresenta uma variação análoga à da pressão de vapor, isto é um aumento exponencial com o aumento de temperatura.

Outros factores como a humidade relativa, hidratação da folha e a luz também afectam a taxa de emissão de monoterpenos, mas o seu papel no controle das taxas de emissão instantânea não é claro. Entre estas três variáveis a que parece ter um peso maior na taxa de emissão instantânea é a hidratação da folha (cutícula) que pode levar a aumentos significativos, não existindo contudo nenhuma descrição quantitativa deste efeito. Lamb *et al.* (1985) observaram taxas de emissão de monoterpenos em ramos de pseudotsuga molhados pela chuva ou nevoeiro cerca de 10 vezes superiores a taxas obtidas em idênticas condições de

temperatura mas com tempo seco. Para as outras duas variáveis o impacto sobre a taxa de emissão a curto prazo tem um peso muito pequeno, pelo menos, para algumas plantas (Tingey, 1981; Juuti *et al.*, 1990, Guenther *et al.*, 1991) No caso do *Quercus ilex* a radiação afecta sobremaneira a taxa de emissão, de modo semelhante ao efeito sobre a taxa de emissão do isopreno. Os estudos até ao momento não permitem por enquanto a sua modelização e saber se por exemplo, a formulação usada por Guenther e colaboradores para descrever a taxa de emissão de isopreno se poderá adaptar à emisssão de monoterpenos por esta espécie.

Na modelização da taxa de emissão de monoterpenos pelas plantas usa-se tipicamente uma equação do tipo

$$M = M_s \cdot exp\,(\beta(T - T_s))$$

onde M é a taxa de emissão à temperatura T, M_s é a taxa de emissão "standard" medida à temperatura T_s, também designada por taxa de emissão basal, e β é o coeficiente empírico que traduz a dependência com a temperatura, obtido experimentalmente. Esta equação permite descrever as variações diárias da taxa de emissão mas não tem em conta as variações sazonais. O termo M_s pode entretanto vir a integrar diferenças devidas a genotipos, disponibilidade de nutrientes no desenvolvimento, estado fenológico, hidratação ou "stress", etc..

Um outro factor que pode afectar a taxa de emissão de monoterpenos é a agressão mecânica provocada, por exemplo, pelo vento ou pelo ataque de insectos que causam um aumento significativo na síntese de terpenos na proximidade dos locais afectados (Croteau *et al.*, 1987, Marpeau *et al.*, 1987, Lewinsohn *et al.*, 1991b). Este aspecto não tem sido quantificado podendo assumir proporções significativas. Valente (1995) com base em trabalho de campo desenvolveu um algoritmo para quantificação das emissões de terpenos devidos a agressões derivadas da prática de resinagem. Foi estimado um aumento de aproximadamente 45% nas emissões anuais de monoterpenos resultantes desta actividade.

O coeficiente β entre as diferentes espécies de plantas investigadas varia entre 0,057 e 0,144 $°C^{-1}$ (Guenther *et al.*, 1993). As diferenças encontradas não são ainda completamente compreendidas. Tanto se têm encontrado diferenças no valor de β entre espécies como dentro da mesma espécie. Ao nível apenas de um monoterpeno, α-pineno por exemplo, o valor de β varia entre 0.067 e 0,14 para dez espécies diferentes. Vários factores podem contribuir para esta dispersão de valores:

- variações na taxa de emissão basal de folha para folha e de estação para estação:

- diferenças na pressão de vapor e na solubilidade para os diferentes monoterpenos;
- diferentes estruturas de armazenamento e consequentemente diferentes percursos, e resistências, dos monoterpenos até deixarem a folha;
- erros experimentais.

A mistura de valores de taxas de emissão obtidos em diferentes plantas (valores de M_s diferentes) ou, para a mesma planta, mistura de valores de diferentes estações, podem contribuir para a dispersão de β.

Para minimizar o efeito da variabilidade da taxa de emissão, de folha para folha ou de planta para planta, no cálculo de β, Guenther et al (1991, 1994) normalizaram as medições efectuadas em cada folha para diferentes condições ambientais com a taxa de emissão de cada uma obtida em condições "standard" (30 °C e 1000μmol.m^{-2}.s^{-1}). Nestas condições os valores encontrados para β para diferentes folhas ou diferentes espécies apresentaram uma pequena dispersão à volta do valor 0,09.

Tingey *et al.* (1991) propuseram um modelo que não é baseado apenas na temperatura. O modelo apresentado para descrever a taxa de emissão de monoterpenos depende da morfologia da folha, do teor de resina ou monoterpenos armazenados, e das condições ambientais. Alguns resultados de simulação confirmam o papel preponderante da temperatura na regulação da taxa de emissão. O modelo permite prever as variações da dependência da taxa de emissão com a temperatura, de espécie para espécie e dos monoterpenos emitidos. Este modelo contudo é de difícil aplicação e não tem sido possível avaliá-lo porque requer uma série de dados de entrada que não se encontram disponíveis á escala regional.

De acordo com os dados estimados até ao momento não parece haver uma relação estreita entre β e os diferentes monoterpenos ou o tipo de espécie. Este aspecto continua a precisar de uma investigação sistemática para uma melhor clarificação da variabilidade deste termo.

A modelização da taxa de emissão do isopreno é mais complexa do que a dos monoterpenos devido à influência simultânea da radiação e da temperatura na taxa de emissão instantânea. Segundo o estado actual de conhecimentos pensa-se que o processo de emissão de isopreno é controlado a curto e longo prazo pela actividade do enzima que o sintetiza (Kuzma e Fall, 1993; Monson *et al.*, 1992) e que variações na humidade, concentração de CO_2 e condutância estomática têm um papel menor nas variações de curto prazo na taxa de emissão de isopreno (Guenther *et al.*, 1991; Fall e Monson, 1992). A idade das folhas também

influencia a taxa de emissão de isopreno o que pode estar relacionado com o nível do enzima (Kuzma e Fall, 1993; Monson *et al.*, 1992). A taxa de emissão de isopreno de um modo geral aumenta com a idade das folhas mas declina com o aproximar da queda destas (Monson *et al.*, 1994).

Os primeiros algoritmos que relacionaram a taxa de emissão de isopreno com a intensidade de radiação e a temperatura foram obtidos por Tingey *et al.* (1979) para o carvalho americano (*Quercus virginiana*). A interdependência da radiação e temperatura foi expressa então por um conjunto de equações em que era representada a variação da taxa de emissão com a temperatura para quatro níveis diferentes de radiação. Do mesmo modo a variação da taxa de emissão com a radiação foi expressa para quatro diferentes níveis de temperatura. Os algoritmos que surgiram posteriormente em que a taxa de emissão de isopreno era expressa em função da temperatura e da radiação (Lamb *et al.*, 1993, Pierce e Walldruff ,1991) basearam-se nos trabalhos de Tingey e colaboradores, mas não conseguiram ultrapassar as descontinuidades que vinham de início.

Em 1991 surge uma nova formulação a partir das medições efectuadas em *Eucalyptus globulus* em que a interdependência da taxa de emissão de isopreno com a temperatura e a radiação é apresentada de modo contínuo (Guenther *et al.*, 1991). Nesta formulação a taxa de emissão é função essencialmente de dois factores, C_L e C_T, que variam com a intensidade de luz e com a temperatura, respectivamente. O primeiro factor relaciona a dependência da taxa de emissão do isopreno com a radiação e foi desenvolvido com base no algoritmo de Farquhar *et al.* (1980) para descrever o transporte de electrões no modelo bioquímico da assimilação fotossintéctica de CO_2, dada a analogia entre os dois processos. Este factor sofreu reajustamentos e em 93 é apresentado com a seguinte configuração:

$$C_L = (\alpha . c_{L1} . L) / (1+\alpha^2 . L^2)^{1/2} \qquad \text{(Guenther } et\ al.\text{, 1993)}$$

onde α (= 0,0027) e c_{L1} (= 1,066) são coeficientes empíricos que foram determinados pelo ajuste dos mínimos quadrados, a partir de medições de taxas de emissão efectuadas em 4 espécies diferentes, incluindo o eucalipto, e L é o fluxo de radiação PAR ($\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$). Este factor simula o aumento quase linear da taxa de isopreno até ao ponto de saturação e é análogo às equações que modelizam a dependência da fotossíntese com a luz.

O factor que descreve a influência da temperatura na taxa de emissão de isopreno (C_T) foi derivado das equações que descrevem a influência da temperatura na actividade enzimática, em que a taxa de emissão aumenta exponencialmente com a temperatura até um valor máximo a partir da qual entra em ruptura. Esta equação tem a seguinte forma:

$$C_T = exp\{c_{T1}.(T-T_S) / R.T.T_S\}/\{1+exp(c_{T2}.(T-T_M) / R.T.T_S)\}$$

em que R é a constante dos gases perfeitos (= 8,314 $j.mol^{-1}.K^{-1}$), c_{T1} (= 95 000 $J.mol^{-1}$), c_{T2} (=230 000 $J.mol^{-1}$) e T_M (= 314 K) coeficientes empíricos, e T_S a temperatura "standard" (= 303 K) e T a temperatura da folha (Guenther *et al.*, 1993). O valor de T_M nos processos enzimáticos representa a temperatura limite a partir da qual os enzimas entram em desnaturação. Este valor é muito variável pois as condições de crescimento de cada planta vão condicionar a sua resistência a elevadas temperaturas e consequentemente a temperatura e o tempo que resistem a esses valores máximos (Monson *et al.*, 1992). No modelo sugere-se o valor de 38°C (314 K) para T_M. Em plantas que crescem em regiões sujeitas a temperaturas elevadas durante períodos longos, este valor pode ser superior. O inverso também pode ocorrer, ou seja plantas criadas a temperaturas inferiores podem sofrer inibição a temperaturas mais baixas que os 38°C.

A taxa de emissão de isopreno é então dada por

$$E_{isopreno} = I_S. C_T.C_L$$

sendo I_S a taxa de emissão normalizada à temperatura de 30 °C e radiação PAR de 1000 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$.

A aplicação deste modelo a resultados experimentais obtidos com outras espécies emissoras de isopreno tem permitido melhores ajustes do que para os modelos anteriormente desenvolvidos (Guenther *et al.*, 1993; Fuentes *et al.*, 1995, Kempf *et al.*, 1996). Uma das razões apontadas ao bom desempenho do modelo de Guenther deve-se a que este, apesar de empírico, suporta-se na sua génese em mecanismos bioquímicos. Em termos computacionais este modelo não implica maiores meios do que os já aplicados em modelos anteriores (Lamb *et al.*, 1993; Pierce e Waldruff, 1991).

Tal como para os monoterpenos as variações sazonais podem vir a ser incluídas no algoritmo apresentado, através de um coeficiente que afectará a taxa de emissão basal. Por exemplo a taxa de emissão basal de isopreno máxima normalmente só é atingida numa fase tardia, relativamente ao aparecimento das folhas (Grinspoon *et al.*, 1991; Kuzma e Fall, 1993). No caso de árvores de folha caduca este aspecto assume particular destaque na demarcação do *período de emissão. A indução da síntese/emissão de isopreno por algumas plantas também* parece afectada pela temperatura ambiente. Por exemplo as folhas de "kudzu" a maior espécie emissora de isopreno no Sudeste Americano, perdem a capacidade de sintetizar/emitir isopreno quando cresce a temperaturas inferiores a 19°C (Sharkey e Loreto, 1993).

A disponibilidade de água e nutrientes também pode afectar significativamente a taxa de emissão basal. A taxa de emissão de isopreno é maior em plantas fertilizadas do que em plantas que não receberam fertilização (Harley *et al.*, 1994). Segundo as observações de Sharkey e Loreto (1993) no kudzu a resposta ao "stress" hídrico é mais complexa. Após a quebra do "stress" hídrico imposto a plantas envasadas de kudzu a taxa de emissão de isopreno dispara, atingindo níveis cerca de dez vezes superiores aos níveis anteriores à fase de entrada em "stress", mantendo posteriormente esses níveis elevados. Estas observações são extremamente importantes para a compreensão e modelização da taxa de emissão de isopreno pelas diferentes espécies.

II.1.4.2 - Fluxos de emissão de COVs

Os fluxos de hidrocarbonetos voláteis biogénicos são definidos pela quantidade de composto(s) que atravessam uma unidade de superficie por unidade de tempo, expressos normalmente em massa (ou moles) de composto (ou de C - carbono) por m^2 e por hora (ou segundo).

Os fluxos de emissão de hidrocarbonetos biogénicos são normalmente avaliados por três técnicas: método do gradiente (métodos micrometeorológicos), método do "tracer" e método do saco, requerendo este último o conhecimento do factor de biomassa vegetal para extrapolação da emissão obtida com uma folha ou ramo de uma árvore para a emissão total da área rural e/ou florestal.

Os dois primeiros métodos, método do gradiente e método do "tracer", não são de aplicação simples, sendo necessário uma série de requisitos para produzir resultados fiáveis

(Knoerr *et al.*, 1981; Arnts *et al.*, 1982; Allwine *et al.*, 1985, Lamb *et al*, 1986). Por outro lado estes métodos raramente permitem a avaliação da taxa de emissão individual de cada espécie a não ser que a área estudada seja de monocultura. O método do "tracer" consiste em libertar o elemento traçador no interior de um povoamento, a um caudal conhecido e controlado, em vários pontos distribuidos regularmente na área em estudo e usualmente à altura da copa, de modo a simularem as emissões foliares. Amostras de ar são colhidas a montante e jusante do povoamento, na direcção do vento dominante, em uma ou mais linhas de amostragem perpendiculares à direcção do vento para quantificação das concentrações de "tracer" e de compostos orgânicos voláteis emitidos pela vegetação. Medições complementares de parâmetros meteorológicos como direcção e velocidade do vento, temperatura, radiação e humidade relativa permitirão avaliar as características do transporte turbulento e de diluição do "tracer", que se admite serem idênticas para os compostos emitidos pela vegetação. A aplicação deste método só é viável em povoamentos isolados e as condições meteorológicas durante o ensaio devem permanecer estáveis. O método do gradiente é talvez mais exigente do que o anterior requerendo a determinação dos perfis verticais de temperatura, vento e radiação, assim como das concentrações dos compostos em estudo. Os fluxos de HCNM pela vegetação são obtidos por comparação com o fluxo turbulento de um parâmetro controlado com uma frequência elevada, como por exemplo a temperatura ou o vapor de água, assumindo-se igualdade de mecanismos no transporte atmosférico de ambos. Estes dois métodos tem em comum o facto de não alterarem as características naturais de emissão.

O método do saco em termos gerais consiste em confinar a atmosfera que rodeia a planta ou parte desta, e quantificar as trocas gasosas nesse espaço. Este método pode ter várias variantes, incluindo desde os sistemas estáticos aos sistemas dinâmicos, passando pelas câmaras de pequenas dimensões "cuvettes" que permitem o estudo ao nível da folha até câmaras abertas usadas em estudos de campo. As câmaras de troca aberta são normalmente de dimensões maiores e consistem resumidamente num invólucro transparente, rígido ou não, de forma cilíndrica, que é colocado à volta da planta com o topo aberto para a atmosfera. A taxa de emissão é avaliada por um balanço de massa, um pouco mais complexo do que o do método do saco fechado, aplicado ao sistema. A aplicação destas câmaras a espécies florestais limita-se contudo aos primeiros anos de vida das árvores devido às dimensões que estas atingem. Estas câmaras apresentam algumas vantagens em relação às outras variantes do método do saco, pois reproduzem melhor as condições ambientais, não têm o problema do manuseamento que

pode intensificar a taxa de emissão e permitem igualmente determinar e quantificar os compostos emitidos assim como os factores ambientais que afectam a taxa de emissão. Quer num caso, quer no outro, nunca se consegue reproduzir as condições de ventilação e turbulência atmosférica dos sistemas reais, embora nas câmaras de troca aberta as diferenças sejam atenuadas. Os materiais de construção destes sistemas mais comuns são o filme de "Teflon" e o vidro. A escolha destes materiais deve-se ao facto de serem inertes e transparentes em quase toda a gama do espectro solar. As câmaras de vidro tem contra si o facto de serem frágeis e mais pesadas. Os sacos de "Teflon" são leves e de manuseamento simples, podendo-se adaptar ao tamanho da planta. As limitações apontadas a este material residem nas trocas por permeação pelas paredes, libertação de CO quando exposto directamente ao sol e reacção com o ozono (Kelly, 1982, 1983). A utilização de outros materiais como o "mylar", silicone ou polietileno não são indicados pois apresentam maior reactividade e instabilidade para com os hidrocarbonetos.

A conjugação dos diferentes métodos permite no entanto uma melhor compreensão dos diferentes factores que regulam os fluxos de emissão.

A estimativa dos fluxos de hidrocarbonetos não metano de origem biogénica, numa base de tempo e espaço alargada faz-se normalmente recorrendo aos algoritmos de emissão apresentados no capítulo anterior e à emissão potencial de cada espécie obtida por medições experimentais ou por estimativa a partir de relações taxonómicas. As taxas de emissão são então convertidas em fluxos de emissão conjugando os algoritmos com a informação meteorológica de pelo menos temperatura e radiação e com a informação relativa à distribuição e densidade de biomassa da área em avaliação. Os modelos de cálculo dos fluxos de COVs biogénicos podem ainda introduzir outras formulações mais complexas de modo a contabilizar a atenuação de luz no interior da canópia (modelos de copa), para cálculo da temperatura da folha e da radiação recebida pelas folhas nos diferentes níveis, a partir dos dados normalmente disponíveis nas bases de dados (Pierce e Waldruff, 1991; Lamb *et al.*, 1993; Fuentes *et al.*, 1995; Guenther *et al.*, 1995). Os modelos mais simples usam directamente a temperatura do ar e a radiação mas de um modo geral subestimam as emissões. O efeito da estrutura da canópia coloca-se essencialmente nos modelos de cálculo de inventariação de emissões que usam dados obtidos por medições experimentais ao nível da folha. O efeito da estrutura da canópia na atenuação da luz pode vir a tornar-se desnecessário nas florestas mais densas, em que o isopreno virá predominantemente das folhas exteriores e o

nível de emissão de isopreno da canópia será o mesmo que o medido ao nível da folha como referem Monson et al (1995). Neste caso a emissão de isopreno por um dado povoamento florestal pode talvez ser estimada pela simples multiplicação da área total da floresta pela taxa de emissão foliar (expressa por unidade de área e por unidade de tempo) obtida em folhas individuais. Caso esta suposição se venha a confirmar o cálculo das emissões tornar-se-ia muito mais simplificado.

Na quantificação dos fluxos de COVs biogénicos as incertezas associadas ainda são muito grandes. Pontualmente têm-se dado grandes avanços no melhoramento dos modelos de cálculo dos fluxos, mas como esses mesmos trabalhos indicam, esse melhoramento passou por um trabalho de campo intensivo desde a análise da distribuição da vegetação até à medição da emissão característica de cada espécie. As incertezas associadas à emissão potencial de cada espécie no espaço e no tempo continuam a ser uma das principais fontes de erro nos modelos de estimativa de emissões. Um outro problema resulta das características das bases de dados de cobertura de solo não se encontrarem adaptadas às necessidades dos modelos.

As incertezas na estimativa dos fluxos biogénicos nos Estados Unidos da América calculam-se em média num factor de três mas para a Europa cujo conhecimento das emissões de COVs pelas diferentes espécies é inferior, as incertezas em alguns locais podem atingir 5 a 10 factores (Simpson *et al.* (1995).

II.2 - Química da Atmosfera dos Hidrocarbonetos Biogénicos

A troposfera pode ser considerada como um reactor químico de grandes dimensões onde os compostos emitidos não entram necessariamente de imediato em contacto com os agentes oxidantes. Ao abordar a química da atmosfera não nos podemos também alhear que ela está por sua vez intimamente ligada à dinâmica dos fluidos. A escala dos processos químicos na atmosfera deve por isso ser analisada como que uma combinação entre as escalas microscópica e macroscópica. A capacidade de oxidação da atmosfera é fortemente influenciada pela presença de hidrocarbonetos voláteis (Chameides *et al.*, 1988, 1992). No grupo dos hidrocarbonetos voláteis são incluídos os compostos terpénicos biogénicos que assumem um papel relevante quer pela quantidade em que são emitidos (Lamb *et al.*,1993;

Isidorov *et al.*, 1993; Simpson *et al.*, 1995) quer pelas numerosas reacções químicas em que participam na atmosfera (Graedel, 1979; Atkinson, 1990; Roberts, 1990). Os modelos fotoquímicos da atmosfera têm demonstrado que as concentrações de ozono e outros oxidantes na troposfera são extremamente sensíveis às concentrações de compostos orgânicos voláteis (COVs) biogénicos (Liu *et al.*, 1987; Trainer *et al.*, 1987; Hough *et al.*, 1991; Lin *et al.*, 1992). Os hidrocarbonetos biogénicos podem também ser uma fonte de ácidos orgânicos contribuindo por sua vez para a deposição ácida a nível regional (Jacob e Wofsy, 1988, Fehsenfeld *et al.*, 1992). A uma escala global os COVs interferem no ciclo do carbono e desempenham um papel determinante nas concentrações de radicais na atmosfera (Fehsenfeld *et al.*, 1992).

Os tempos de vida do isopreno e de uma série de compostos terpénicos são muito curtos, em muitos casos da ordem de algumas horas ou mesmo inferiores, reagindo preferencialmente com o ozono e radicais *OH* e NO_3. Na tabela II.2 apresentam-se alguns valores das constantes de reacção e tempos de vida para vários compostos terpénicos assim como para alguns produtos da sua oxidação. Os valores apresentados reportam-se à literatura citada, tendo-se encontrado algumas variações mesmo entre publicações do mesmo grupo; optou-se por referir nestes casos o valor da publicação mais recente. O tempo de vida dos diferentes compostos foram calculados pela seguinte expressão:

$$t = 1/[k_x[X]]$$

em que [*X*] pode ser a concentração de O_3, *OH* ou NO_3 e k_x a constante cinética da respectiva reacção. Para este cálculo usaram-se as seguintes concentrações de O_3= 30ppb ($7{,}5.10^{11}$ moleculas.cm^{-3}), *OH*=0,04 ppt (10^{6} moleculas.cm^{-3}) e NO_3=10 ppt ($2{,}5.10^{8}$ moleculas.cm^{-3}), referidas como concentrações típicas de atmosfera limpa (Shu e Atkinson, 1995). A concentração de ozono representa a concentração média de 24h enquanto a concentração de *OH* se refere apenas à concentração média diurna (12h) e a do radical nitrato a concentração média nocturna (12h). Como se pode avaliar pelos tempos de vida calculados para condições de atmosfera limpa a remoção destes compostos pelas espécies referidas é potencialmente importante na troposfera. De um modo geral os tempos de vida da maior parte dos produtos de oxidação dos diferentes compostos são superiores aos dos seus precursores. Concentrações significativas de compostos terpénicos apenas são observadas na proximidade das fontes, não

Tabela II. 2- Constantes de reacção e tempos de vida para hidrocarbonetos biogénicos

Composto	Reacção com *OH*		Reacção com O_3		Reacção com NO_3	
	$k_{(OH + RH)}$ ($10^{-11}cm^3.molécula^{-1}.s^{-1}$)	τ	$k_{(O3 + RH)}$ ($10^{-17}cm^3.molécula^{-1}.s^{-1}$)	τ	$k_{(NO3 + RH)}$ ($10^{-12}cm^3.molécula^{-1}.s^{-1}$)	τ
Hemiterpeno						
Isopreno	10,1 [4]	2,8 h	1,43 [4]	1,1 dia	0,59 [4]	1,9h
Monoterpenos						
α-pineno	5,37 [1]	5,2 h	8,7 [1]	4,3 h	5,8 [4]	11 min
β-pineno	7,89 [1]	3,5 h	1,5 [1]	1 d	2,4 [4]	28 min
limoneno	17,1 [1]	1,6 h	20 [1]	1,9 h	13 [4]	5 min
mirceno	21,5 [1]	1,3 h	125 [8]	18 min	11 [8]	6 min
Δ^3-careno	8,8 [4]	3,2 h	3,7 [1]	10 h	10 [4]	7 min
2-careno	7,95 [7]	3,5 h			19,4 [7]	3 min
α-terpineno	3,63 [1]	7,7 h	$8,8.10^3$ [8]	15 s	194 [8]	20 s
γ-terpineno	1,77 [1]	15,7 h	28 [8]	1,3 h	31 [8]	2,1 min
α-felandreno	3,13 [1]	8,9 h	$1,2.10^3$ [8]	1,9 min	91 [8]	44 s
β-felandreno	16,8 [1]	1,7 h	4,7 [1]	7,8 h	7,96 [2]	8,4 min
canfeno	5,3 [1]	5,2 h	0,09 [1]	17,1 h	0,66 [3]	1,7 h
sabineno	11,7 [1]	2,4 h	8,6 [1]	4,3 h	10,1 [3]	6,6 min
c/t-ocimeno	25,1 [1]	1,1 h	200 [8]	11 min	24 [8]	2,8 min
p-cimeno	1,73 [1]	16,1 h	$<10^{-2}$ [8]	>4,4anos	$9,9.10^{-4}$ [7]	47 d
terpinoleno	22,5 [1]	12,3 h	138 [1]	16 min	96,2 [7]	42 s
1,8-cineol	1,11 [7]	1 dia			$1,7.10^{-4}$ [7]	272 d
Sesquiterpenos						
α-cedreno	6,7 [9]	4,1 h	2,78 [9]	13,3 h	8,2 [9]	8 min
α-copreno	9,0 [9]	3,1 h	15,8 [9]	2,3 h	16 [9]	4 min
β-cariofileno	20 [9]	1,4 h	1160 [9]	1,9 min	19 [9]	4 min
α-humeleno	29 [9]	57 min	1170 [9]	1,9 min	35 [9]	2 min
longifoleno	4,7 [9]	5,9 h	<0,07 [9]	>22 d	0,68 [9]	1,6 h
Produtos						
metilvinilcetona	1,88 [4]	15 h	0,16 [5]	10 d		
metacroleina	3,35 [4]	8,3 h	3,63 [5]	10,2 h		

Continuação

nopinona	1,43[10]	19 h		>4,5anos		>90 d[10]
canfenilona	0,52[10]	2,2 d		>4,5anos		>90 d[10]
4-acetil-1-metilciclohexeno	12,9[10]	2,1 h	15[10]	2,5 h	10,5[10]	5,4 min

O tempo de vida foi calculado com: OH = 10^6 moleculas.cm^{-3}, O_3 = 7,5.10^{11} moléculas.cm^{-3} (30 ppb), NO_3 = 2,5.10^8 moléculas..cm^{-3}.

Referências: [1] Hakola H., Arey J., Aschmann S.M. e Atkinson R. (1994) [2] Shorees B., Atkinson R., e Arey J. (1991) Int. J. Chem. Kinet. 23, 897-906; [3] Atkinson R., Aschmann S. M. e Arey J. (1990) Atmos. Environm. 24A, 2647-2654; [4] Atkinson R. (1990) Atmos. Environm. 24A, 1-41; [5]Lloyd *et al.* (1983) Atmos. Environ.,17, 1931-1950. [6] Atkinson R. (1991) J. Phys. Chem. Ref. Data, 20, 459-507; [7] Corchnoy S. B. e Atkinson R. (1990) Environ. Sci. Technol. 24, 1497-1502. [8] Atkinson R. *et al.* (1985) Environ. Sci. Technol. 19, 159-163. [9] Shu Y e Atkinson R. (1995), J. Geophys. Res. 100, 7275-7281; [10] Atkinson R.e Aschmann S. M. (1993) J. Atmosph. Chemistry, 16, 337-348.

excedendo as dezenas de ppb. A remoção durante o dia ocorrerá predominantemente por processos de fotoxidação que envolvem o ozono e o radical *OH*, enquanto que de noite a remoção pelo radical NO_3 poderá dominar. Para alguns hidrocarbonetos como o 1,8-cineol e p-cimeno a remoção será sobretudo por reacção com o radical *OH*.

Em termos globais a fotodegradação do isopreno emitido pela vegetação parece ter um peso significativo na produção local de ozono troposférico (Lin *et al.*, 1992; Chameides *et al.*, 1988) enquanto as emissões de terpenos não parecem influenciar significativamente os níveis de ozono (Roberts *et al.*, 1983, Hough *et al.*, 1991); a degradação dos terpenos na troposfera tem no entanto uma contribuição acentuada na produção de aerossóis orgânicos (Hatakeyama *et al.*, 1989; Pandis *et al.*, 1991). Tanto o isopreno como os monoterpenos têm um efeito considerável sobre o balanço de radicais na atmosfera. Os produtos de degradação dos compostos terpénicos podem ainda representar uma fonte importante de deposição ácida principalmente em regiões rurais (Fehsenfeld *et al.*, 1992).

A química dos hidrocarbonetos biogénicos na atmosfera tem sido essencialmente estudada em laboratório, em condições ideais, normalmente na fase gasosa. Estes estudos têm por objectivo encontrar os mecanismos de reacção em que os compostos são envolvidos e relacioná-los com observações de campo. Os processos de transformação dos hidrocarbonetos biogénicos na fase gasosa só conseguem explicar parte do que realmente ocorrerá na troposfera, atribuindo-se uma parte significativa das transformações aos processos heterogéneos, gás-partícula (Yokouchi e Ambe, 1985; Kotzias *et al.*, 1989a e b; Isidorov *et al.*, 1993). Os estudos laboratoriais em fase heterogénea são no entanto escassos dada a complexidade dos sistemas experimentais e de análise e identificação dos produtos reaccionais. A química da atmosfera do isopreno e alguns monoterpenos, à luz dos conhecimentos actuais será de seguida analisada em maior detalhe.

II.2.1 - Isopreno

As moléculas de isopreno emitidas pela vegetação reagem rapidamente na atmosfera na presença de O_3 e de radicais *OH* e NO_3. Vários estudos laboratoriais têm sido conduzidos nos últimos 20 anos com o objectivo de conhecer os possíveis caminhos de oxidação a que pode

estar sujeita a molécula de isopreno na atmosfera. Os resultados destes estudos embora em muitos casos não se possam transpor linearmente para as situações que ocorrem na atmosfera são no entanto extremamente importantes na construção de modelos que posteriormente podem ser validados por observações de campo.

II.2.1.1 - Reacção com o radical *OH*

Nas condições vigentes na troposfera a degradação dominante do isopreno durante o dia dever-se-á à adição do radical *OH*. De modo análogo à reacção de adição com os alcenos, espera-se que o radical *OH* na fase gasosa se ligue a uma das ligações duplas de *C-C*. No caso da molécula de isopreno a adição pode ocorrer em quatro lugares distintos, sendo no entanto a adição aos carbonos terminais que dá origem a radicais alquilo secundário e terciário mais estáveis (Paulson *et al.*1992a). Uma vez formado o radical alquilo considera-se que este é atacado imediatamente pelo oxigénio molecular, formando espécies do tipo *ROO·*.

Os radicais alquilperoxilo resultantes apresentam dois locais reactivos: a ligação (*C-O-O*) e a ligação (*C-OH*). Como a ligação (*C-O-O*) é muito mais reactiva considera-se que é por esta via que o mecanismo prossegue por reacção com o *NO*. O *NO* reage com o radical alquilperoxilo por dois canais: um que leva à formação de novo radical, alcoxilo, e o outro resultando num nitrato orgânico. Parte dos radicais hidroxialcoxilo decompõe-se originando compostos de carbonilo. Os estudos de laboratório de Tuazon e Atkinson (1990) e Paulson *et al.* (1992a), permitiram identificar a maioria dos produtos resultantes da adição de *OH* ao isopreno. O rendimento da reacção (relativamente à molécula de isopreno) com o radical hidroxilo leva ao aparecimento de 61% de compostos de carbonilo (36±4% de metilvinilcetona (MVC) e 25±3% de metacroleína (MACR)), 5±1% de 3-metil furano (3-MFUR) e 12±5% de organonitratos, ficando um grupo de 23±5% em que os produtos não foram individualmente identificados. Neste grupo são englobados uma série de produtos de carbonilo multissubstituídos, dos quais 2 a 4% condensam (aerossol). Na figura II.6 está representada a cadeia de reacções desencadeada pela adição do radical *OH* à molécula de isopreno, segundo o modelo proposto por Paulson *et al.* (1992a).

Da adição do radical *OH* ao isopreno ainda resulta 67% de formaldeído, quantidade esta que tem uma boa correspondência com a soma de metilvinilcetona e metacroleína.. Gu *et al.* (1985) observaram a formação dos mesmos produtos, MVC, MACR e 3-MFUR, com

rendimentos de 17, 23 e 5% respectivamente, à temperatura ambiente e pressão atmosférica do ar.

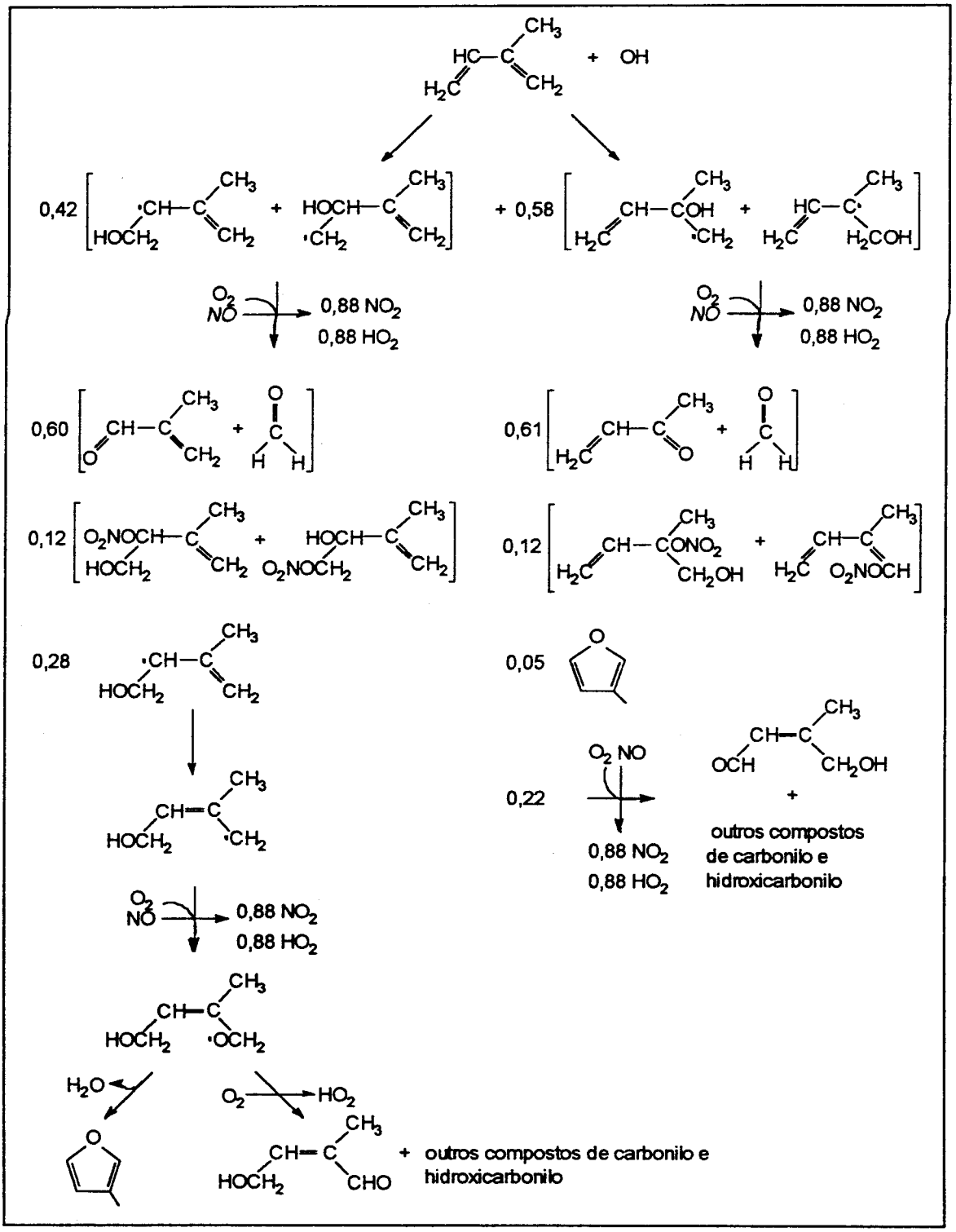


Figura II.6 - Mecanismo reaccional do isopreno com o radical *OH* (Paulson *et al.*, 1992a).

Na tabela II.3 apresenta-se um resumo dos produtos de oxidação do isopreno pelo *OH* em estudos de câmara obtidos por diferentes investigadores, quer na presença de NO_x, quer na sua ausência. Deduções efectuadas por Warneck (1994) a partir do estudo da oxidação de 3-metil e 2-metil 1-buteno, para os produtos de oxidação do isopreno pelo radical *OH*, conduzem a 50% de MVC e 36% de MACR, na presença de NO_x, e de 39% de MVC e 21% de MACR na ausência de óxidos de azoto, ou seja razões de MVC/MACR de 1,38 e 1,85, respectivamente. A síntese e caracterização de uma série de produtos menores, bi-funcionais, continua a ser um dos problemas não resolvidos nesta área; sem eles não é possível estabelecer um mecanismo quantitativo preciso da oxidação do isopreno.na atmosfera.

Tabela II.3 - Produtos de oxidação do isopreno pelo radical *OH*

Produto	Tuazon e Atkinson,1990	Paulson *et al.* 1992a	Gu *et al.* 1985	Becker *et al* 1993	Becker *et al* 1993
NO_x presente	sim	sim	sim	não	sim
MVC	0,29±0,07	0,36±0,04	0,23	0,15±0,02	0,24±0,06
MACR	0,21±0,05	0,25±0,03	0,17	0,016±0,02	0,17±0,03
formaldeído	0,50±0,10	0,67±0,07	-	0,33±0,03	0,53±0,05
3-MFUR	0,044±0,006	0,05±0,01	0,032	0,015±0,003	

Ao longo da cadeia de reacções desencadeada pela adição do radical *OH* ao isopreno forma-se ainda NO_2 e HO_2. Vários dos passos descritos anteriormente criam formaldeído (*HCHO*). A fotodecomposição do *HCHO* pelos raios solares e a reacção com o *OH* na troposfera são ambas muito rápidas. A fotólise conduz a um conjunto de reacções em cadeia com formação de H_2 e *CO* e ainda uma série de radicais livres *HCO* e *H*, que por sua vez originam $2HO_2$ e *CO* por cada molécula de formaldeído fotolisada (Moortgat e Warneck, 1979). A oxidação do formaldeído pelo *OH* dá origem a uma molécula de *CO* e um radical HO_2.

II.2.1.2 - Reacção com o O_3

A reacção do isopreno com o ozono na fase gasosa é significativamente mais lenta do que a reacção do isopreno com o *OH*, com excepção do período nocturno. Esta reacção leva à formação de um ozonídeo, tal como acontece com outros alcenos. O ataque inicia-se pela adição de O_3 à ligação dupla da qual resulta um ozonídeo rico em energia que se decompõe de imediato num composto de carbonilo e num bi-radical muito energético. O bi-radical pode estabilizar por colisão ou por decomposição unimolecular. Os passos subsequentes à formação dos bi-radicais não são ainda perfeitamente conhecidos. Na tabela II.4 sintetizam-se alguns dos resultados obtidos experimentalmente. Com base nestes trabalhos têm sido desenvolvidos alguns mecanismos reaccionais, os quais não conseguem explicar simultaneamente o aparecimento de elevada quantidade de *OH*, a formação de compostos de carbonilo (metacroleína e metilvinilcetona), propeno e epóxidos (2-etenil-2-metiloxirano e 2-(1-metileteniloxirano)).

Tabela II.4 - Produtos de oxidação do isopreno pelo ozono (fracção produzida por cada mole de isopreno oxidado).

Produto	Paulson *et al.* (1992b)	Paulson *et al.* (1992b)	Aschmann e Atkinson (1994)	Grosgean *et al.* (1993)	Niki *et al.* (1983)
Remoção de *OH*	não	sim	sim	sim	não
MVC	0.17	0,26±0,06	0,159±0,013	0,17	0,15
MAC	0,37	0,67±0,09	0,387±0,030	0,44	0,34
formaldeído				0,90±0,04	0,85

Na tentativa de integrar os dados disponíveis até à data, Paulson *et al.* (1992b) propõem o mecanismo apresentado na figura II.7.

Este mecanismo pressupõe que o ataque inicial do O_3 ocorre preferencialmente sobre as ligações duplas menos substituídas. Segundo estes autores, devido à maior estabilidade do bi-radical Criegee mais longo (C_4), será este que se formará em maior quantidade determinando a

formação de elevado número de radicais *OH* por reacção com moléculas de vapor de água (figura II.8). A reacção do bi-radical Criegee com o HO_2, reacção termodinamicamente favorável, também conduz à formação do radical *OH*. Contudo, a probabilidade de ocorrência será menor visto requerer concentrações relativamente altas de HO_2.

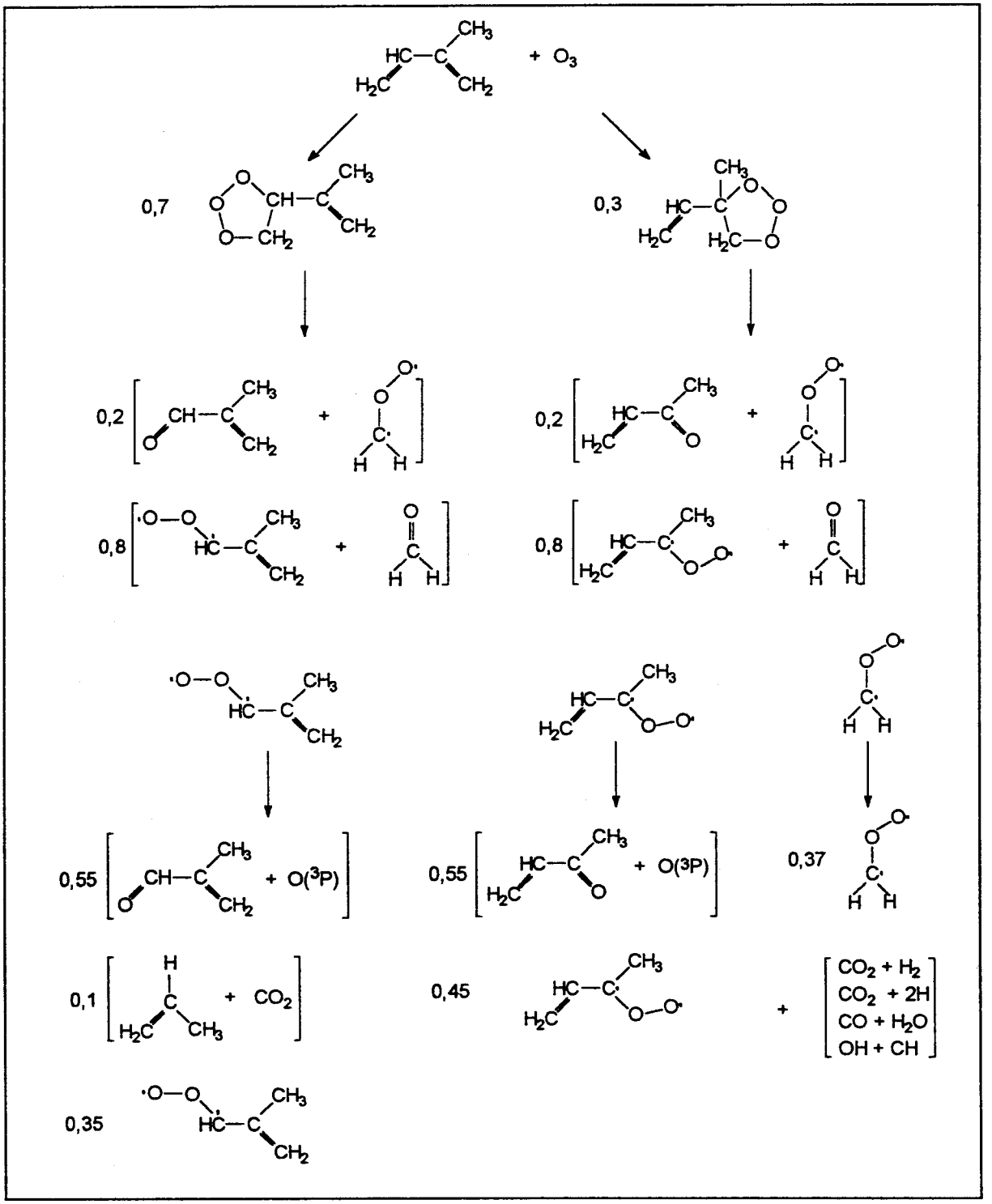


Figura II.7 - Mecanismo reaccional do isopreno com o ozono (Paulson *et al.*, 1992b).

Neste modelo o rendimento de formação de MVC e MACR é de 19 e 45 %, respectivamente. Com base no modelo a estimativa do rendimento de produção de formaldeído é apenas de 68% o qual está abaixo dos valores medidos por Grosgean *et al.*, 1993 e Niki *et al.*, 1983..

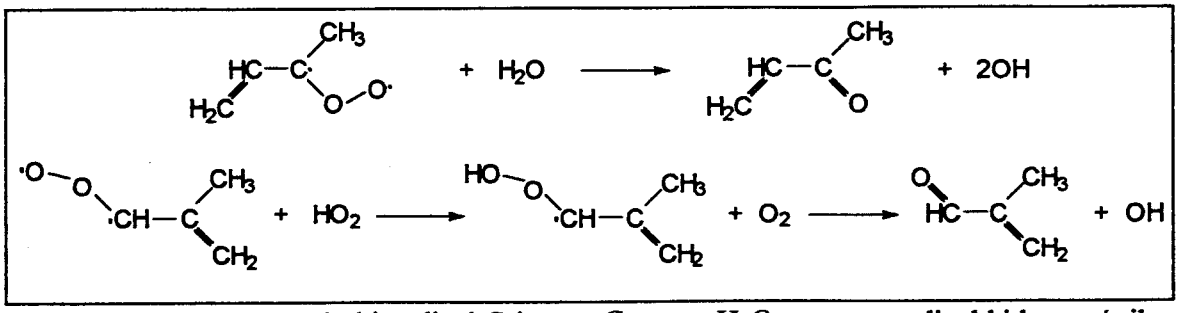


Figura II.8 - Reacções do bi-radical Criegee, C_4, com H_2O e com o radical hidroperóxilo.

A diferença de rendimentos de formação de MACR e MVC entre os trabalhos de Paulson *et al.* (1992b) e os de Aschmann e Atkinson (1994) (um factor de 1,6 e 1,7 entre os resultados de ambos) dever-se-á segundo estes últimos autores, à estimativa de um excessivo rendimento de formação do radical *OH* assim como de $O^{(3P)}$ por parte dos primeiros. Segundo Aschmann e Atkinson (1994) a origem dos radicais *OH* observados pelas diferentes equipas de investigação, deve-se à reacção dos bi-radicais Criegee via canal hidroperóxilo (figura II.9) e não maioritariamente da reacção do bi-radical C_4 com H_2O como admitem Paulson *et al.* (1992b). Por esta via forma-se ainda formaldeído e um radical vinilo que reage com O_2 originando uma segunda molécula de *HCHO*. Uma pequena parte dos radicais *OH* pode ainda dever-se à decomposição do bi-radical (CH_2OO).

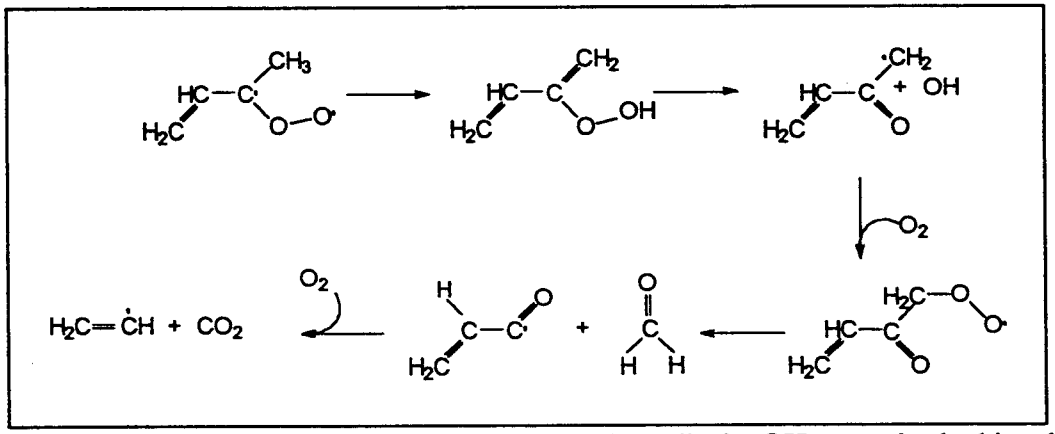
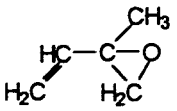
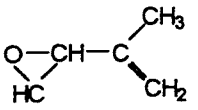


Figura II.9 - Mecanismo que conduz à formação de radicais *OH* a partir do bi-radical de maior cadeia, via canal hidroperóxilo (Aschmann e Atkinson, 1994).

Da reacção do isopreno com o ozono também se forma uma pequena quantidade de epóxidos (2-etenil-2-metil oxirano e 2-(1-metiletenil) oxirano):





Os radicais estabilizados podem reagir com uma série de compostos na atmosfera: aldeídos, SO_2, CO, H_2O, NO_2 e NO. A remoção dos bi-radicais nas condições que prevalecem na atmosfera parece ser devida principalmente à reacção com o vapor de água (Atkinson, 1990).

II.2.1.3 - Reacção com o radical NO_3

A reacção de adição do NO_3 dá-se sobre as ligações duplas de *C-C*, preferencialmente sobre o primeiro carbono (Skov *et al.*, 1992). Nas condições atmosféricas a adição de O_2 sucede-se de imediato, conduzindo à formação de radicais nitrato de β-alquilperoxilo.

O radical nitrato ocorre normalmente durante a noite quando as concentrações de NO são baixas; nestas condições o radical nitrato de β-alquilperoxilo tanto poderá reagir com HO_2 como com outros radicais peroxilo ou ainda reagir reversivelmente com NO_2, formando um nitrato de peroxilo termicamente instável. Este nitrato de peroxilo funciona como que um reservatório temporário do radical nitrato de β-alquilperoxilo. Na presença de concentrações suficientemente elevadas de NO para reagir com os radicais peroxilo, formar-se-ão os correspondentes radicais alcoxilo. Estes radicais podem reagir com o O_2, decompor-se ou isomerizar-se, ou podem ainda reagir com o NO e o NO_2.

Skov *et al.*, (1992) sugerem o esquema de caminhos reaccionais para o isopreno com o radical nitrato apresentado na figura II.10. Segundo os autores o produto principal da reacção de adição do radical nitrato ao isopreno é o 3-metil-4-nitroxi-2-butenal. Outros produtos detectados foram o 2-metil-4-nitroxi-2-butenal, o 3-metil-1-nitroxi-3-buten-2-ona, o 3-metil-1-nitroxi-3-buten-2-ol e o 3-metil-4-nitroxi-2-buten-1-ol. Tal como em outros estudos o mecanismo avançado baseia-se em observações laboratoriais. A transposição destes mecanismos para as condições troposféricas não pode ser aplicada directamente, onde os níveis de concentração são diferentes e onde existe uma grande diversidade de outras espécies

reaccionais que podem reagir com os produtos intermédios formados na reacção entre o radical NO_3 e o isopreno.

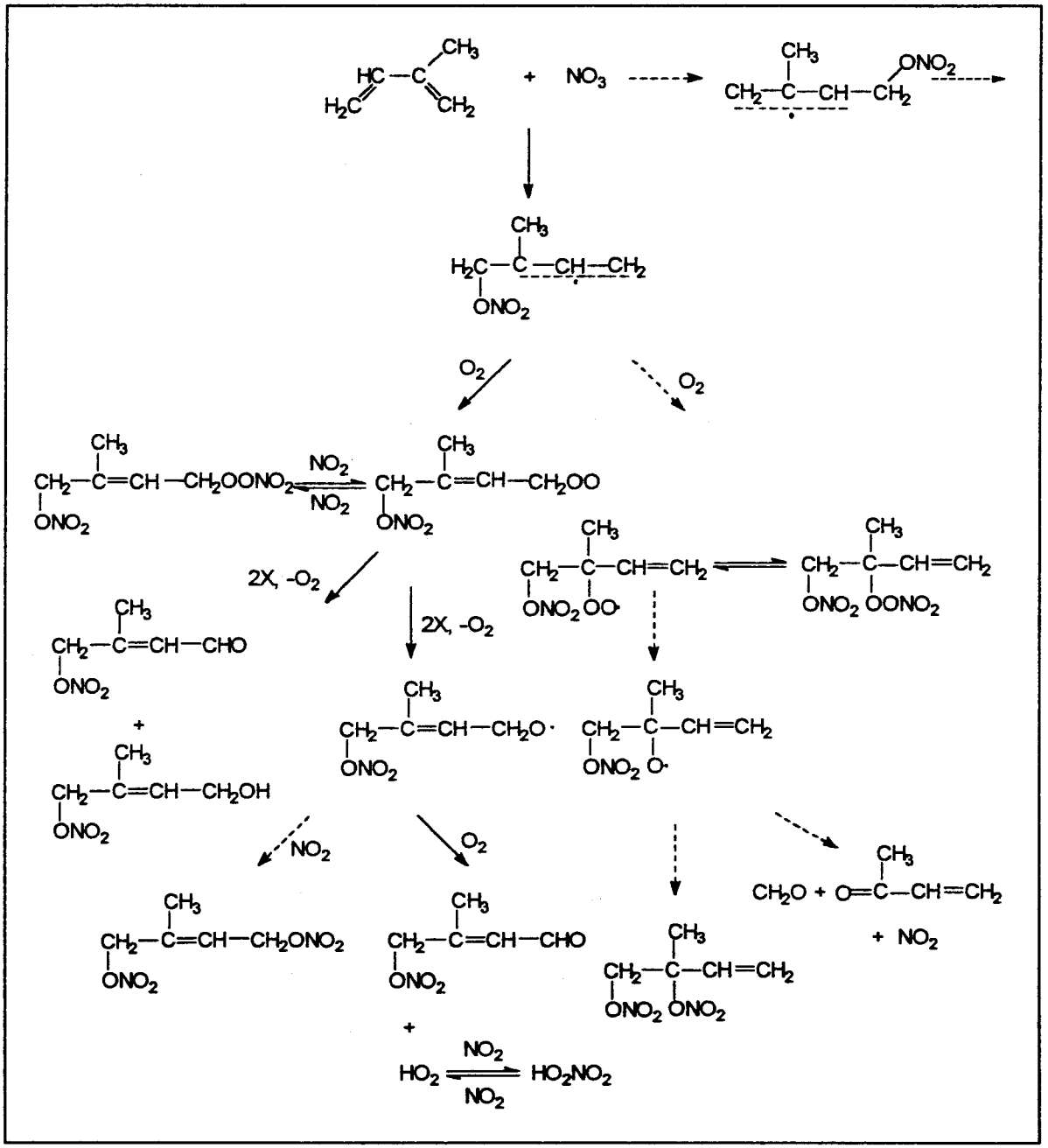


Figura II.10 - Mecanismo de reacção do isopreno com o radical NO_3 proposto por Skov *et al.* (1992). As setas a tracejado referem-se a caminhos reaccionais menos importantes.

Contrariamente à degradação do isopreno durante o dia pelo radical *OH*, a oxidação nocturna pelo radical nitrato conduz à formação de quantidades apreciáveis de nitratos

orgânicos. Estes compostos tanto podem ser depositados sobre a vegetação como podem ser transportados até que se liberte de novo o NO_x armazenado, quer por fotólise, quer por oxidação iniciada pelo *OH*. No primeiro caso (deposição sobre a vegetação) o processo será um consumidor de NO_x troposférico, enquanto no segundo caso os nitratos orgânicos funcionam como um reservatório temporário de NO_x. Os radicais HO_2 formados na reacção do O_2 com os radicais alcoxilo, podem ter mais que um destino na troposfera: podem colidir entre si, originando H_2O_2 que será depositado subsequentemente por via húmida ou podem reagir com o radical NO_3 numa reacção que conduz por um lado à formação de ácido nítrico e por outro à regeneração de *OH*, travando a química nocturna associada (Platt *et al.* 1990).

II.2.1.4 - Oxidação dos compostos de carbonilo

Os compostos de carbonilo formados durante a oxidação do isopreno, quer pelo radical hidróxilo, quer pelo ozono, são por sua vez atacados pelo radical *OH* com subtracção de um átomo de hidrogénio, embora nos aldeídos a reacção inicial possa envolver também a adição de *OH* à ligação dupla C=O. Então,

$$OH + HCHO \rightarrow H_2O + HCO\cdot$$

$$OH + RCHO \rightarrow H_2O + R\dot{C}O$$

O radical *HCO* reage imediatamente com o O_2

$$HCO + O_2 \rightarrow CO + HO_2,$$

enquanto aos radicais *RCO* rapidamente se adiciona O_2 para formar o correspondente radical acilperoxilo *(RC(O)OO)*.

No caso da oxidação da MVC forma-se um radical peroxilo secundário o qual conduz a um radical hidroxialcoxilo, seguido de oxidação pelo *NO*. Em teoria vários caminhos são possíveis: decomposição com formação de metilglioxal $(CH_3C(=O)C(=O)H)$ e formaldeído; reacção com O_2, com formação de hidroxibiacetilo $(CH_3C(=O)C(=O)CH_2OH)$ e ainda um outro canal envolvendo a fragmentação do radical alcoxilo, com formação de hidroxiacetilaldeído e um radical acetilo. De momento não se conhece ainda qual a contribuição de cada um dos caminhos apresentados. Pensa-se contudo que o caminho que leva à formação de metilglioxal seja o mais importante, podendo os restantes ocorrer com alguma extensão (Fehsenfeld *et al.*, 1992).

A oxidação da *MACR* pelos radicais *OH* tem dois caminhos distintos. O ataque pode ocorrer com subtracção do átomo de *H* ao grupo acilo, como na reacção do acetaldeído, ou adição de *OH* à ligação dupla *C-C*. A remoção do átomo de hidrogénio leva à formação potencial de PAN (nitrato de peroxiacetilo - $CH2=C(CH_3)C(O)O_2NO_2$) com terminação da cadeia de reacções e armazenamento temporário de NO_x. Em teoria ambos os caminhos têm como produto terminal o metilglioxal (Fehsenfeld *et al.* , 1992). A oxidação atmosférica do metilglioxal é assunto de considerável especulação. Dados cinéticos e fotoquímicos disponíveis sugerem que o provável decaímento do metilglioxal na atmosfera acontece por fotólise ou por reacção com o radical *OH*, sendo o primeiro caminho cerca de 5 vezes mais rápido. Quer por fotólise, quer por reacção com *OH*, formar-se-á o radical acetilperoxilo ($CH_3C(O)O_2$), que na presença de NO_2 levará à formação de *PAN*.

Vários dos passos descritos anteriormente criam formaldeído. A fotodecomposição deste composto pelos raios solares e a reacção com o *OH* na troposfera são ambos muito rápidos. A reacção do HCHO com o radical *OH* dá origem a uma molécula de *CO* e um radical HO_2 como se viu anteriormente. A fotólise conduz a um conjunto de reacções com formação de H_2 e *CO* e ainda uma série de radicais livre *HCO* e *H*. Estes radicais por sua vez reagem no ar dando exclusivamente $2HO_2$ e *CO*, por cada molécula de *HCHO* fotolisada (Atkinson, 1990).

A fotodecomposição dos compostos de carbonilo, MVC e MACR, é também uma via possível de remoção durante o dia, mas o seu peso comparativamente com a adição do radical *OH* é reduzido. Por exemplo a MACR apresenta um rendimento quantum de apenas 0,0065 a 1atm e 313nm (Fehsenfeld *et al.*, 1992). A remoção da MVC e MACR, por reacção com o ozono também representa uma via minoritária (ver Tabela I.1). As baixas constantes cinéticas das reacções da MVC e MACR com o ozono, combinadas com o baixo rendimento de formação do radical OH através destas mesmas reacções, tornam este processo de remoção dos principais produtos de oxidação do isopreno da atmosfera de menor importância (Aschmann *et al.*, 1996).

II.2.1.5 - Processos heterogéneos

A oxidação do isopreno por processos heterogéneos não é tão bem conhecida como para as reacções na fase gasosa. Isidorov *et al.* (1993a) investigaram a oxidação fotocatalítica

do isopreno por vários materiais que constituem o aerossol natural. Produtos comuns à oxidação em fase gasosa são também aqui encontrados, mas em proporções muito inferiores. Deste estudo, talvez o aspecto mais importante a referir é a obtenção de uma oxidação mais extensa, por comparação com os processos homogéneos, sendo o produto de oxidação mais abundante o CO_2. Na oxidação do isopreno na fase gasosa, quer pelo ozono, quer pelo radical *OH*, o rendimento de formação de CO_2 é muito pequeno.

II.2.1.6 - Observações de campo dos produtos de oxidação do isopreno

Do exposto anteriormente podemos admitir que o processo de remoção de isopreno da atmosfera durante o dia ocorrerá preferencialmente por reacção com o radical hidróxilo, cuja constante cinética é muito superior à da reacção com o ozono. Medições de campo de *MVC* e *MACR* parecem confirmar esta hipótese. Martin *et al.* (1991) observaram em áreas florestais, que as concentrações de *MVC* eram de um modo geral superiores às de *MACR*. Os seus estudos laboratoriais indicam que a adição de *OH* à molécula de isopreno origina maiores quantidades de *MVC* do que de *MACR*. Por sua vez a velocidade de reacção da *MACR* com o *OH* é mais rápida do que a da *MVC*. Durante a tarde e primeiras horas da noite estes autores observaram uma inversão da situação descrita anteriormente, sendo as concentrações de *MACR* ligeiramente superiores às de *MVC*, o que poderá estar associada á remoção de isopreno e seus produtos por ozonólise já que as concentrações de *OH* são limitadas ao período luminoso.

Tabela II.4 - Razões de concentração entre *MVC* e *MACR* observadas em diferentes partes do mundo.

Local	*MVC/MACR*		Referência
	dia	noite	
Japão - semi-rural	2-2,5	1-1,5	Yokouchi (1994)
Alabama - EUA- rural/florestal	2-2,5	~1	Montzka *et al.* (1995)
Tábua - Portugal - florestal	~2	-	Lewis *et al.* (1995)
Califórnia - EUA - florestal	0,5-0,63	-	Pierotti *et al.* (1990)
Pensylvania - EUA - florestal	~2	<1	Martin *et al.* (1991)

A oxidação de isopreno pelo O_3 não só produz mais *MACR* do que *MVC*, como a reacção da *MVC* com o ozono é muito mais rápida do que a reacção do O_3 com a *MACR* (Paulson *et al.*, 1992). Observações similares foram efectuadas por outros autores (Montzka *et al.* 1995; Yokouchi 1994; Aschmann e Atkinson; 1994, Lewis *et al.*, 1995) em ambientes florestais e rurais (tabela II.5). Pierotti *et al* (1990) na Califórnia encontraram, contudo, uma razão inversa das concentrações de *MACR/MVC* (1,6-2,0). Algumas das contradições destes dados podem também ser devidos a problemas de amostragem e análise dos vários compostos (Rodier e Birks, 1994).

II.2.2 -Monoterpenos

Tal como para o isopreno a decomposição dos monoterpenos na atmosfera, é dominada pelas reacções com o ozono e radicais *OH* e nitrato. A oxidação de monoterpenos por radicais *OH* ou ozono conduz sensivelmente aos mesmos produtos (Hakola *et al.*, 1994). Em geral os monoterpenos com ligações duplas no anel reagem com formação de ceto-aldeídos enquanto os compostos com ligações duplas externas ao anel originam cetonas. Hakola *et al.*(1994) estudaram as reacções com o ozono e o radical *OH* para 8 monoterpenos tendo identificado e quantificado os produtos de carbonilo mais conhecidos; contudo a maior parte dos produtos de reacção não foram identificados sendo sugerido pelos autores que estes produtos seriam constituídos por compostos com grupos funcionais mais polares, tais como hidroxicarbonilos e hidroxinitratos, das reacções com o radical *OH*, e ceto ácidos e ceto ésteres, das reacções com o ozono. Os produtos de carbonilo identificados foram os esperados pela clivagem oxidativa da ligação dupla *C-C*. O estudo da oxidação dos monoterpenos é mais complexo que para o isopreno, estando por vezes limitado pela não existência de compostos químicos puros que possam ser usados para confirmação dos produtos de oxidação dos monoterpenos. Tal como para o isopreno a maior parte dos estudos laboratoriais têm sido efectuados essencialmente na fase gasosa. Contudo contrariamente ao observado na oxidação do isopreno uma grande parte dos produtos de oxidação dos monoterpenos, principalmente os de maior peso molecular, aparecem associados a matéria particulada, o que não é de estranhar dada a menor pressão de vapor destes compostos. Uma fracção significativa dos produtos de oxidação de monoterpenos pode ficar retida na forma de PAN. Os produtos de maior peso

molecular, principalmente nitratos de alquilo e nitratos de peroxilo, encontrar-se-ão na fase particulada. Como produtos de oxidação de monoterpenos que têm sido observados na atmosfera destacam-se as cetonas com nove carbonos (C_9), como a nopinona, resultante da oxidação do β-pineno pelo radical *OH* e pelo O_3.

Dos estudos mais recentes de oxidação de monoterpenos na fase gasosa ressaltam os trabalhos de Hatakeyama *et al.* (1989) e (1991) que investigaram as reacções do α- e β-pineno com o radical *OH* e com o ozono, os de Grosgean *et al.* (1992) que para além de incluírem os dois monoterpenos referidos anteriormente, ainda consideram a oxidação do limoneno assim como a oxidação dos principais produtos de oxidação destes três terpenos, e ainda o trabalho recente de Hakola *et al.* (1994) em que foi investigado o rendimento de formação e identificados os produtos de oxidação de sete monoterpenos.

Nalguns casos os produtos de oxidação de monoterpenos, tais como compostos de carbonilo de 1ª geração, são menos reactivos, com tempos de vida superiores, podendo atingir concentrações atmosféricas mensuráveis. Tornam-se assim num bom traçador das emissões biogénicas e também da extensão das transformações em que foram envolvidos os seus parentes terpenos. Por exemplo, a canfenilona é formada com um rendimento elevado na reacção do canfeno com o ozono (Hakola *et al.*, 1994); por outro lado este caminho de remoção de canfeno da atmosfera é minoritário comparado com a remoção através do radical *OH*. Em contraste, a nopinona é formada com rendimentos da ordem de ~25%, através da reacção do β-pineno, tanto com o ozono como com o *OH* (Hakola *et al.*, 1994), tornando este produto um bom indicador. O mesmo se poderá dizer para o produto de oxidação do sabineno, o 4-isopropilbiciclo(3.1.0)hexan-1-ona (Hakola *et al.*, 1994).

A acumulação de produtos de carbonilo de 2ª geração é pouco provável visto serem facilmente oxidáveis, conduzindo à formação de *CO* e radicais livres (Hatakeyama *et al.*, 1991)

De acordo com os trabalhos consultados os mecanismos reaccionais, na fase gasosa com o radical *OH* e ozono para os monoterpenos mais estudados, α- e β-pineno, são apresentados de seguida em maior detalhe.

II.2.2.1 - α-Pineno

II.2.2.1.1 - Reacção com o radical *OH*

A reacção do α-pineno com o radical *OH* conduz à formação de pinonaldeído como produto principal da reacção. O pinonaldeído pode ser fotolisado e reagir com o *OH*. A

reacção do pinoaldeído com o *OH* pode seguir mais do que um caminho , conduzindo à formação de pequenos fragmentos que incluem o CH_2CHO o qual leva à formação de glioxal e CH_3CO que conduz à formação de PAN.

O mecanismo reaccional entre o α-pineno e o radical *OH* e reacções posteriores encontram-se sintetizadas na figura II.11.

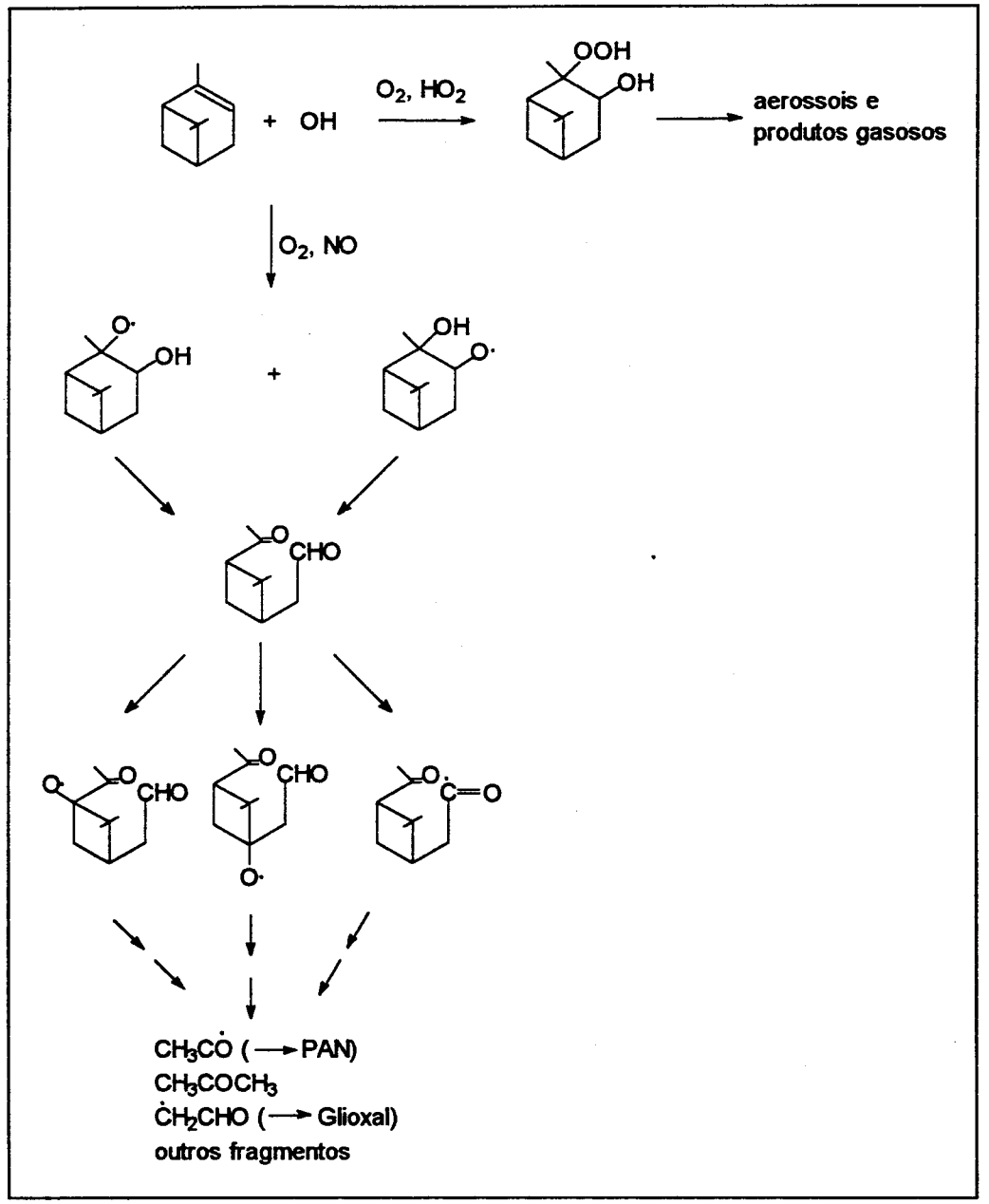


Figura II.11 - Mecanismo de reacção α-pineno com o *OH* e reacções subsequentes do pinonaldeído com o radical *OH*

II.2.2.1.2 - Reacção com o ozono

A reacção do ozono com o α-pineno leva à formação de dois bi-radicais Criegee, assinalados na figura II.12 por caminho *I* e caminho *II*. A reacção pelo caminho *I*, pode levar á formação, em parte, de ácido pinónico, formando-se também compostos em C_9. O ácido norpinónico e o norpinonaldeído poder-se-ão formar por esta via (Grosgean *et al.*, 1992 e Hatakeyama *et al.*, 1989).

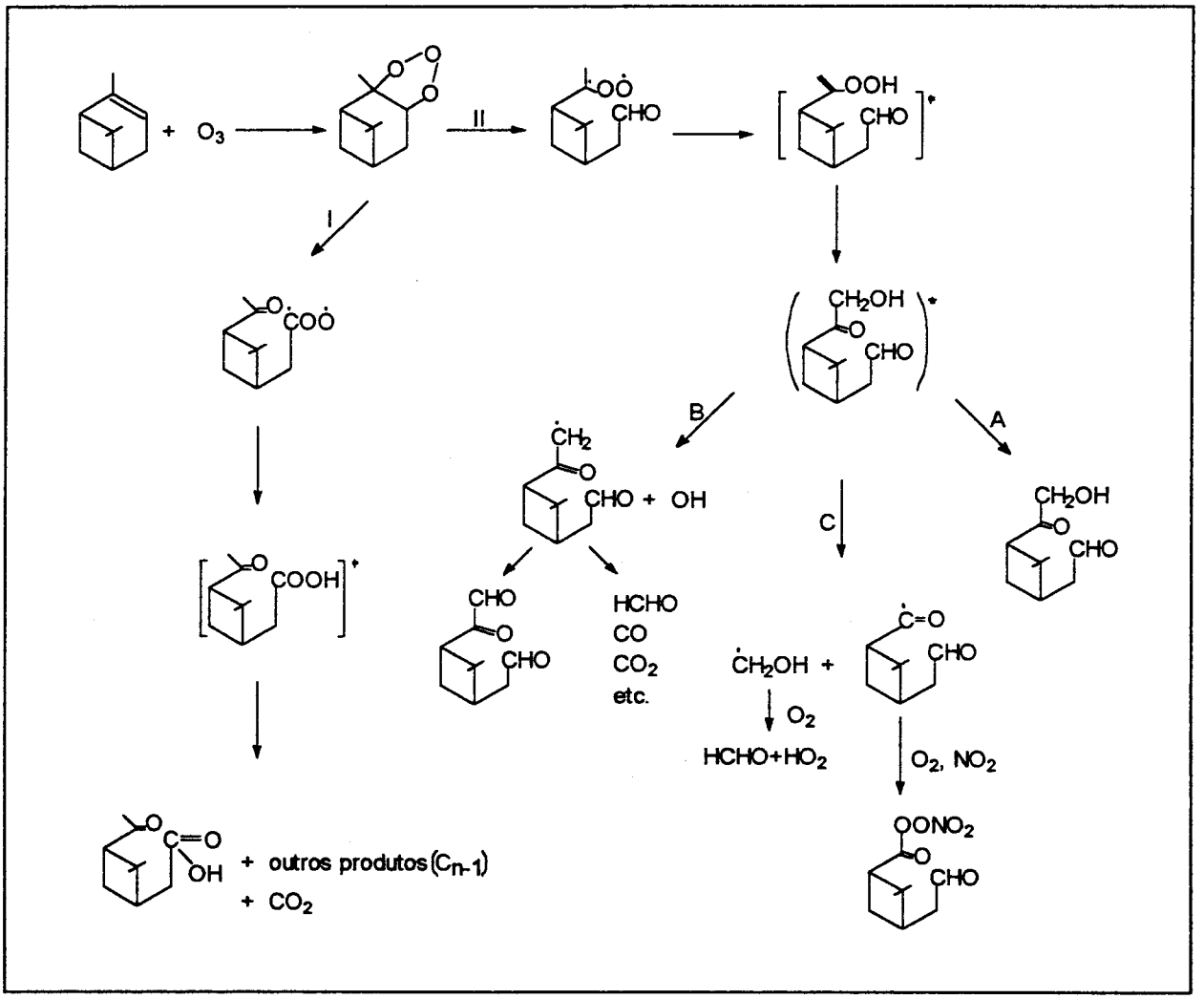


Figura II.12 - Mecanismo de reacção do α-pineno-ozono,

As reacções subsequentes à formação do bi-radical originado pelo caminho *II*, ainda são pouco claras. Um dos caminhos sugeridos passa pela migração intramolecular do hidrogénio, dando um hidroperóxido instável, seguida de decomposição, o que está de acordo

com os produtos observados por Hull *et al.* (1981) e Yokouchi e Ambe (1985), e referidos na figura II.12 pelas vias *A* e *B*. Também recentemente foi demonstrado por Grosgean (1990) que o grupo metilo do bi-radical Criegee de alcenos simples podia formar produtos de carbonilo, dicarbonilo e hidroxicarbonilo. No seguimento destas observações o aparecimento de formaldeído e nitrato de peróxilo nas experiências de oxidação do α-pineno pelo ozono são justificadas por esta via que aparece na figura identificado por *C* (Grosgean *et al.*, 1992).

II.2.2.2 - β-pineno

II.2.2.2.1 - Reacção com o radical *OH*

A reacção do β-pineno com o radical *OH* envolve a adição à ligação de carbono insaturado. Os principais produtos desta reacção são a nopinona (6,6-dimetilbiciclo (3,1,1)-heptan-2-ona) e formaldeído, os quais são formados por decomposição unimolecular dos dois radicais β-hidroxialcoxilo e referidos no lado direito da figura II.13.

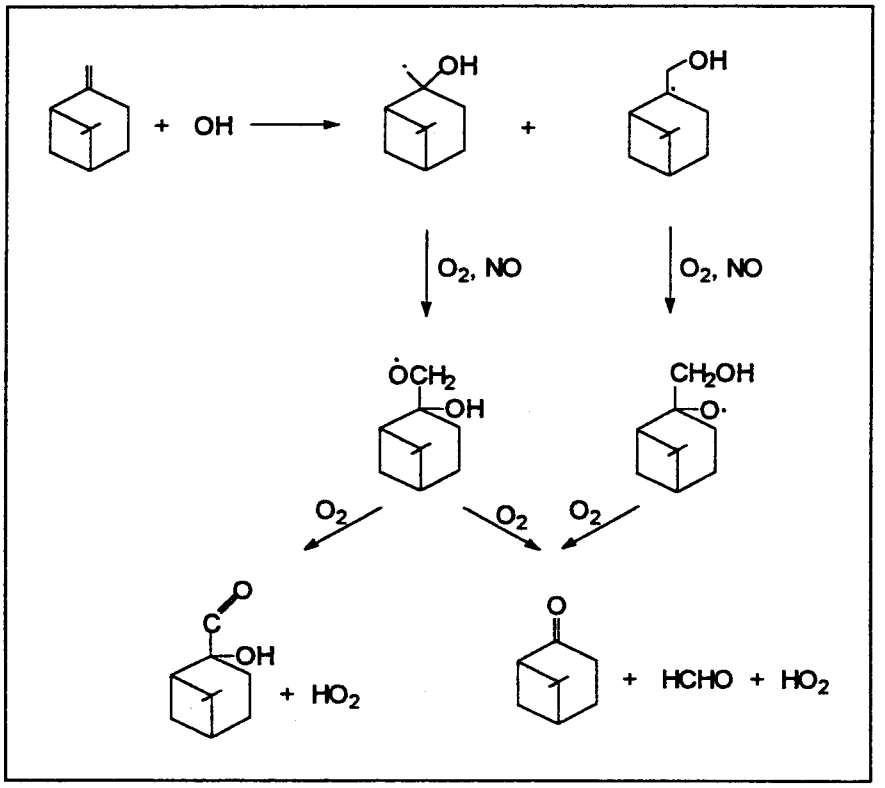


Figura II.13 - Mecanismo de reacção do β-pineno com o radical *OH*

Grosgean *et al.* (1992) ainda admitem um outro caminho que pode concorrer com a decomposição unimolecular dos radicais, e que leva à formação de um composto de hidroxicarbonilo por reacção de um dos radicais com o O_2 como está representado à esquerda na figura II.13.A nopinona por sua vez decompõe-se principalmente por reacção com o radical *OH* conduzindo a uma série de compostos de carbonilo como é referido adiante.

II.2.2.2.2 - Reacção com o O_3

Os produtos principais da reacção do β-pineno com o ozono são os mesmos referidos anteriormente: nopinona e formaldeído. Após o ataque do ozono à ligação dupla de *C-C*, dois caminhos são possíveis para a evolução das reacções subsequentes como se ilustra na figura II.14, considerando Hatakeyama *et al.* (1989) que o caminho *II* será dominante. Os produtos resultantes por esta via não são de todo concordantes entre este grupo de autores e Grosgean *et al.* (1992). Os primeiros apontam os caminhos *A* e *B* como preferenciais enquanto os segundos consideram a formação de nopinona por perda de um átomo de oxigénio, caminho *C*, como dominante.

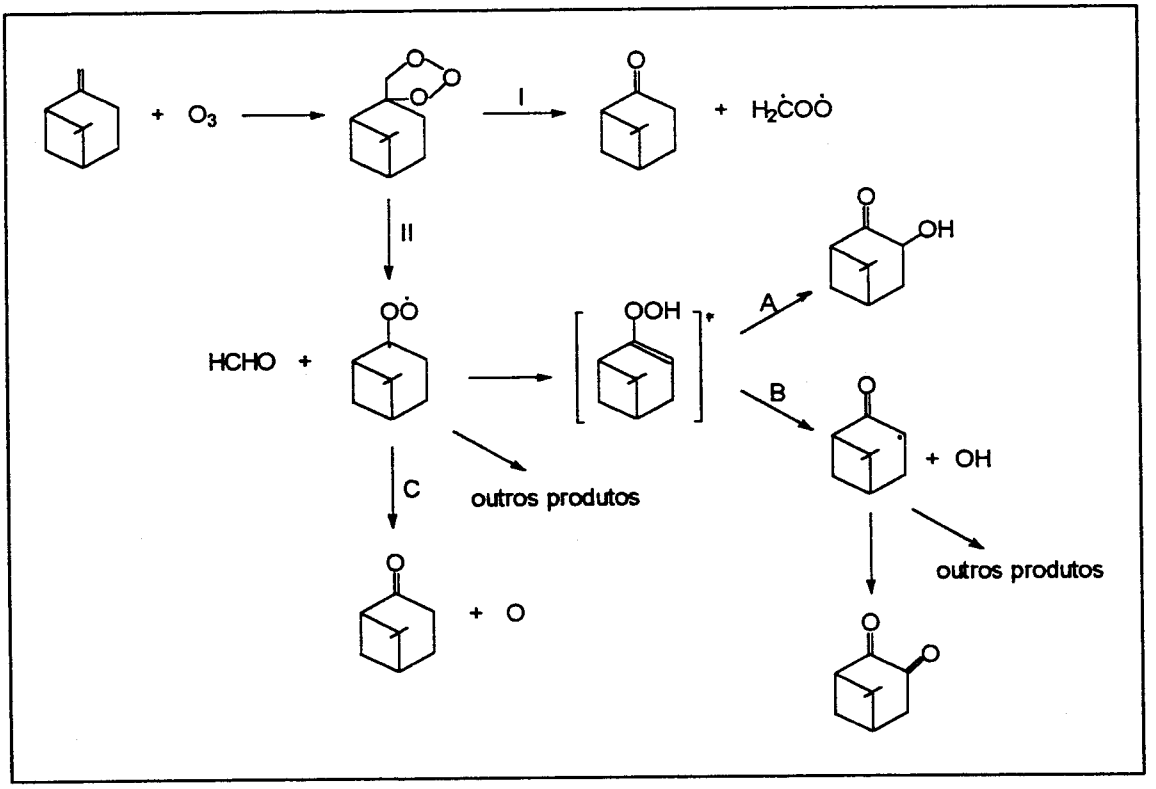


Figura II.14 - Mecanismo de reacção do β-pineno com o ozono.

II.2.2.2.3 - Oxidação da nopinona

Reacções subsequentes da nopinona passam principalmente pela adição do radical *OH* que conduz a uma série de compostos de carbonilo, figura II.15. Dois radicais alcoxilo são formados pelo ataque do radical *OH* à nopinona, seguindo-se uma série de reacções que envolvem decomposição unimolecular e/ou reacção com o oxigénio. Daqui resultam uma série de compostos de carbonilo, em C_6, cíclicos (Grosgean *et al.*, 1992), acetona e formaldeído. A acetona será um potencial precursor de PAN.

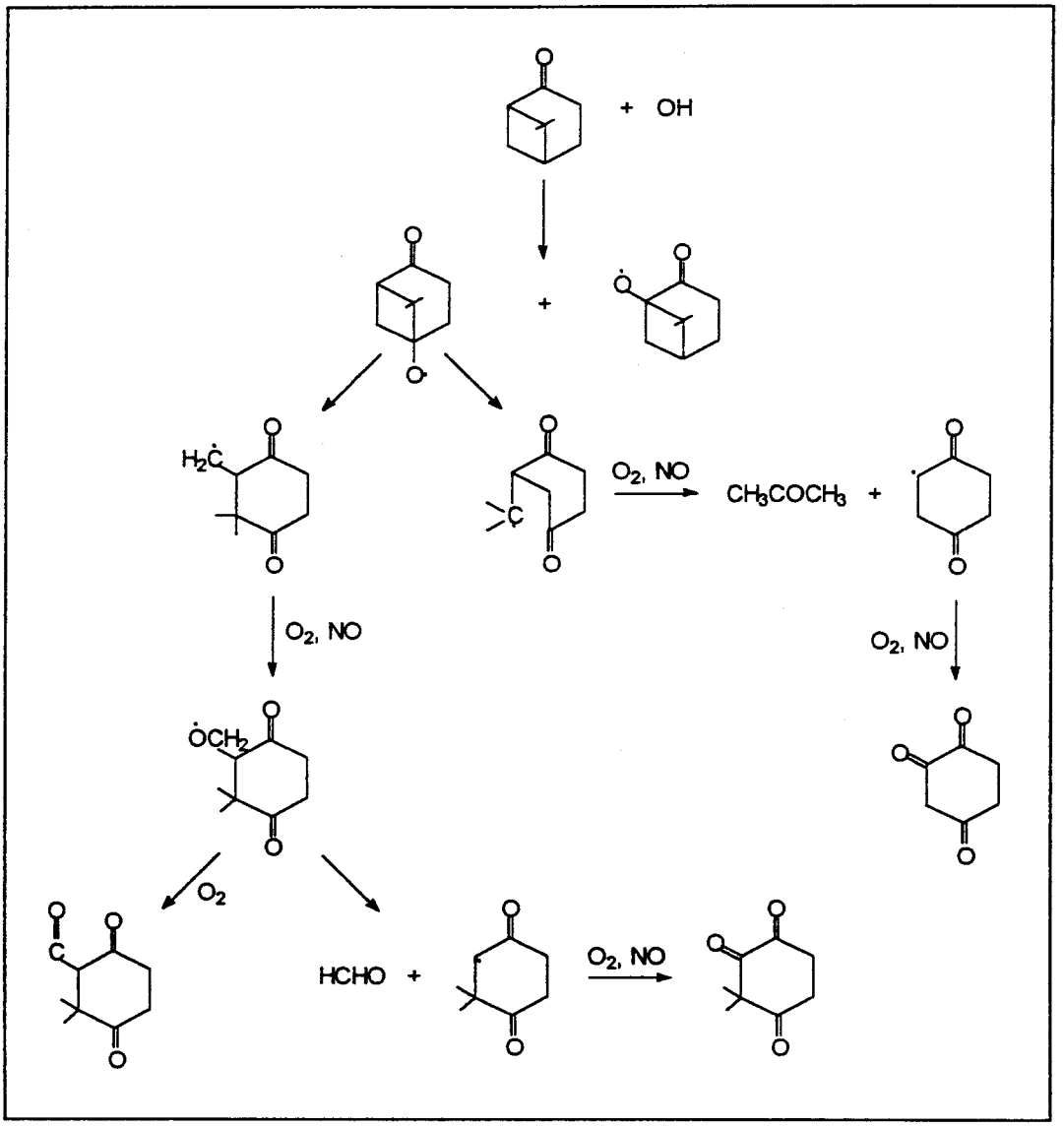


Figura II.15 - Reacção da nopinona com o radical *OH*. Apenas dois dos três caminhos possíveis de decomposição unimolecular para um dos dois radicais alcoxilo são apresentadas.

II.2.2.3. - Reacção com o radical nitrato

O mecanismo reaccional que envolve a oxidação dos monoterpenos pelo radical nitrato é ainda menos conhecido do que os mecanismos descritos anteriormente, mas de acordo com as previsões teóricas e alguns estudos cinéticos passa na maior parte dos casos pela adição à ligação dupla de *C-C*, seguida de imediato da adição de oxigénio molecular, resultando daqui a formação de radicais nitrato de β-alquilperoxilo, como se viu no caso do isopreno. Quando os radicais nitrato atingem concentrações atmosféricas que favorecem este tipo de reacção, as concentrações de *NO* são muito baixas e a continuação da reacção atrás descrita deverá prosseguir pela combinação com um radical hidroperóxilo (HO_2), ou outro radical RO_2, ou ainda pela adição reversível de NO_2, originando um nitrato de peróxilo termicamente instável que devido ás suas características actuará como um reservatório temporário de radicais nitrato β-alquilperoxilo.

Na presença de concentrações suficientemente elevadas de *NO*, formar-se-ão radicais alcoxilo. Estes radicais alcoxilo podem seguir vários caminhos possíveis: reacção com o O_2, isomerização ou polimerização, tal como se viu anteriormente para as reacções com o isopreno. No caso do p-cimeno e do 1,8-cineol, compostos monoterpénicos oxigenados, o mecanismo reaccional passa pela subtracção de um átomo de hidrogénio de modo análogo ao que se passa com os alcanos e hidrocarbonetos aromáticos (Corchnoy e Atkinson, 1990). Observações directas dos produtos de oxidação de monoterpenos pelo radical nitrato são escassas e em muitos casos a identificação e quantificação dos produtos é muito difícil e complexa, pois uma parte considerável encontrar-se-á na fase particulada.(Hatakeyama *et al.*, 1991; Schueltze e Rasmussen, 1986).

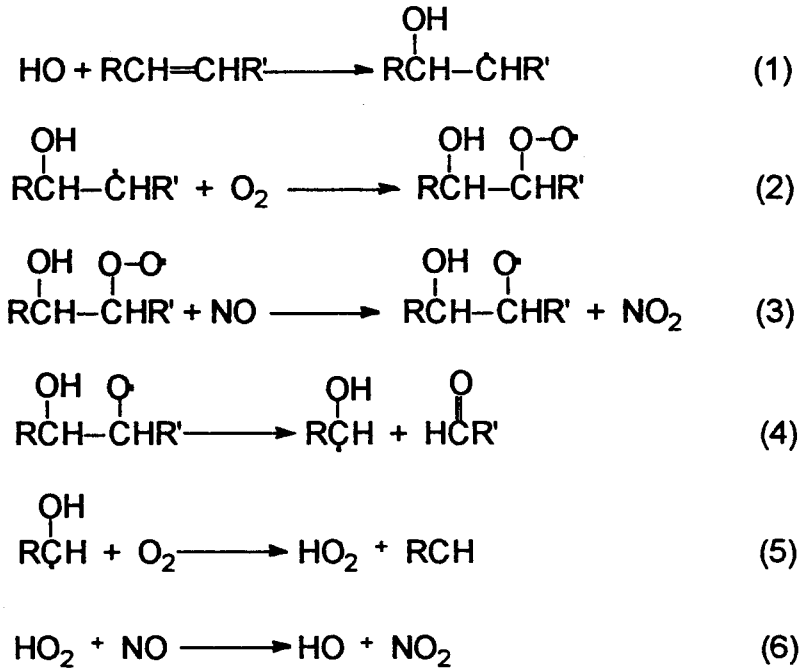
Winer *et al.* (1984) mostraram que o efeito da reacção entre os monoterpenos e o radical nitrato dependia fortemente da intensidade das fontes de cada um dos intervenientes. Em condições em que a taxa de emissão de monoterpenos seja superior à taxa de formação de radical nitrato as concentrações deste último descem acentuadamente, comparativamente com os níveis de NO_3 na ausência de emissão de monoterpenos. Reciprocamente em situações em que se observasse a situação inversa, isto é taxa de formação de radical superior à taxa de emissão de monoterpenos, as concentrações de monoterpenos decaíam 100 a 150 vezes, relativamente à ausência de radicais nitrato.

As reacções de monoterpenos com o radical nitrato na atmosfera nocturna, quando as concentrações deste radical atingem valores da ordem dos 10 ppt (10^{-6} moleculas.cm^{-3}) ou superiores, são um caminho adicional de remoção de monoterpenos, principalmente para o α-felandreno, α-terpineno e terpinoleno (ver Tabela II.2)

II.2.3 - Implicações da presença dos COVs biogénicos na química da atmosfera

A contribuição das emissões de isopreno e terpenos para o aumento das concentrações de O_3 na troposfera durante o dia pode ser entendido qualitativamente pelas reacções apresentadas de seguida. Os radicais *OH* presentes na atmosfera ao nascer do dia iniciam a oxidação dos hidrocarbonetos biogénicos, aqui representados genericamente por *RCH=CHR'*.

O radical *OH* é adicionado à ligação dupla de *C-C* (1), da qual resulta um radical hidroxialquilo que na presença de O_2 origina um radical orgânico peroxilo (2). Este radical na presença de *NO*, oxida-o a NO_2 (3), resultando um radical alcoxilo que se fragmenta (4). Desta fragmentação resulta um composto de carbonilo e um radical livre. O radical leva à formação de HO_2 por reacção com o oxigénio molecular (5); o HO_2 por sua vez pode oxidar outra molécula de *NO* e regenera o radical *OH* inicialmente consumido (6).



UNIVERSIDADE DE AVEIRO
SERVIÇOS DE DOCUMENTAÇÃO

Cada vez que este ciclo de reacções ocorre leva à formação de NO_2, que durante o dia na presença de luz se fotodissocia (7), originando átomos de oxigénio que por combinação com o O_2 molecular dão ozono (8).

$$NO_2 + h\nu \rightarrow NO + O \qquad (7)$$

$$O + O_2 \rightarrow O_3 \qquad (8)$$

A cadeia de reacções desencadeada pela oxidação das moléculas de isopreno, ou outras do mesmo tipo (alcenos), leva à conversão de $NO \rightarrow NO_2$, por cada radical OH formado, até que os radicais OH, HO_2 e RO_2 sejam removidos por reacção entre 2 espécies reactivas; a remoção do OH dá-se principalmente por reacção com o NO_2, formando $HONO_2$.

A eficiência de regeneração do OH é uma função complexa da concentração de NO_x na atmosfera. Quando as concentrações de NO_x na atmosfera são baixas, os radicais HO_2 reagem entre si ou com RO_2, originando peróxido de hidrogénio e RO_2H que serão removidos da atmosfera por deposição seca ou húmida. Para baixas concentrações de NO_x na atmosfera, a presença de hidrocarbonetos biogénicos tende a reduzir as concentrações de OH, com aumento consequente das concentrações de radicais HO_2 e RO_2. Como se pode depreender a formação de O_3 na atmosfera é um processo não linear, complexo e acentuadamente dependente da razão HC/NO_x, da intensidade luminosa, temperatura e da natureza e concentração dos hidrocarbonetos presentes.

A oxidação dos hidrocarbonetos na atmosfera é também uma fonte importante de CO (Zimmerman *et al.*, 1978, Graedel, 1979, Brewer *et al.*, 1984, Hatakeyama *et al.*, 1991), cuja magnitude é rodeada de incertezas. Os resultados experimentais conduzidos com o intuito de quantificar o rendimento de produção de CO a partir dos compostos orgânicos emitidos pela vegetação nem sempre apresentam uma boa correspondência com as observações reais na atmosfera. O conhecimento do reservatório de CO é de extrema importância pois é ele o maior controlador de radicais OH na atmosfera (Warneck, 1988). Hatakeyama *et al.*, 1991 estimaram que aproximadamente 224Tg.ano^{-1} de CO resultam da oxidação de terpenos e 336 Tg.ano^{-1} da oxidação do isopreno, o que representa em média aproximadamente 1/6 ou mais das estimativas globais de produção de CO na atmosfera (Warneck, 1988). Os compostos orgânicos emitidos pela vegetação , com especial relevo para os terpenos, são uma fonte importante de aerossóis orgânicos, reconhecida, quer por observações de campo (Lopez *et al.*,

1983, Yokouchi e Ambe, 1985, Pandis *et al.*, 1992), quer por estudos laboratoriais (Kamens *et al.*, 1981, Hooker *et al.*, 1985 Hatakeyama *et al.*, 1989, Pandis *et al.*, 1991).

III - MÉTODOS ANALÍTICOS E EXPERIMENTAIS

III.1 - Colheita e análise de compostos orgânicos voláteis no ar

A análise de compostos orgânicos voláteis na atmosfera é efectuada vulgarmente por cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama ou espectrometria de massa. A medição de compostos orgânicos voláteis sem concentração prévia só é possível com detectores com uma sensibilidade muito elevada. Os detectores comuns de ionização de chama (FID) ou de espectrometria de massa (MS) apresentam sensibilidades da ordem dos 2-3 pg $C.s^{-1}$, ou seja a sua aplicação à quantificação directa de COVs só se pode fazer para concentrações atmosféricas da ordem do ppm. Os detectores por fotoionização de chama têm uma sensibilidade cerca de 100-1000 vezes superior à dos detectores referidos anteriormente. Contudo a sua utilização na quantificação de COVs na atmosfera tem sido restrita pois requerem uma pureza muito elevada dos gases utilizados e por outro lado deterioram-se rapidamente. Pontualmente este tipo de detector associado a um cromatógrafo já foi experimentado no campo para medição de isopreno, α e β-pineno, com sucesso (Das, 1992). O volume de amostra usado neste caso pode variar entre as dezenas e as centenas de μl de ar. Dos três detectores referidos apenas o MS apresenta especificidade.

Os métodos mais frequentes de colheita de vapores orgânicos do ar ambiente são: borbulhamento num solvente, concentração criogénica, adsorsão num adsorvente sólido ou ainda a colheita em "canisters", recipientes em aço ou alumínio passivado, podendo ou não ser pressurizados para aumentar o volume de amostra colhida. No caso de amostragem no ar de compostos orgânicos voláteis que ocorrem em concentrações da ordem dos ppb ou inferiores, o uso de solventes tem a desvantagem de diluir a amostra tornando a análise química pouco sensível. As técnicas criogénicas apesar de permitirem a colheita de grandes quantidades de amostra têm o inconveniente de também concentrar grandes quantidades de água que frequentemente interfere com a integridade dos compostos químicos e com a posterior análise por cromatografia gasosa. Problemas análogos ocorrem com a colheita em "canisters". Nesta técnica deve-se ter em atenção o revestimento interior do recipiente que pode ser um factor importante de degradação/alteração dos compostos amostrados (McMlenny *et al.*, 1991). A

colheita de amostras por adsorsão em sólidos tem recebido larga atenção, pois permite a concentração dos voláteis orgânicos, separando-os muitas vezes do vapor de água e de gases atmosféricos, CO_2, O_2, NO_2, etc. (Ciccioli *et al.*, 1986 e 1992; Riba *et al.*, 1985, Jüttner, 1988; Rothweiler *et al.*, 1991, Yokouchi *et al.*, 1986). Por vezes tem-se associado a condensação criogénica com a concentração dos compostos voláteis por adsorsão, de modo a aumentar a capacidade de retenção do adsorvente (Jüttner, 1988; Buffler e Wengmann, 1991). A amostragem de COVs em adsorventes tem ainda a vantagem de permitir um fácil transporte e armazenagem.

Três tipo base de adsorventes são usados para a colheita de vapores: polímeros orgânicos, substâncias inorgânicas e carvões (Clements e Lewis, 1988). A selecção do tipo de adsorvente é condicionada pela afinidade do adsorvente para com os compostos a colher, capacidade de adsorsão e estabilidade da amostra. Em alguns casos a recuperação das substâncias adsorvidas faz-se por meio de solventes que originam diluição. A desadsorsão térmica é usada para compostos com ponto de ebulição <275°C enquanto a extracção por solvente é usada para compostos semi-voláteis com ponto de ebulição >150°C (Pellizzari, 1991). Na amostragem de compostos orgânicos voláteis na atmosfera tem sido largamente usados os polímeros orgânicos baseados no óxido de 2,6-difenil-p-fenileno, conhecidos por Tenax GC e por Tenax TA, e cuja estrutura básica se apresenta na figura III.1.

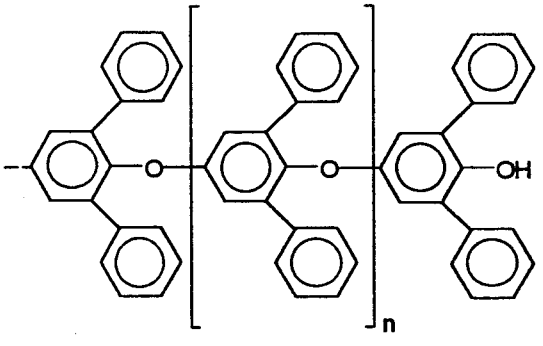


Figura III.1- Estrutura química da unidade polimérica do Tenax

O Tenax TA em termos de adsorsão tem um comportamento análogo ao Tenax GC, sendo no entanto termicamente mais estável e possuindo menor teor de impurezas (MacLeod e

Ames, 1986). Estes dois materiais apresentam elevada estabilidade térmica quando comparados com outros adsorventes (Ciccioli *et al.*, 1986, Riba *et al.*, 1985; Cao e Hewitt, 1993) permitindo a completa desadsorsão térmica dos compostos voláteis colhidos. Uma outra vantagem apontada a estes adsorventes é a baixa afinidade para com a água, o que permite uma interface mais simples da amostra colhida com a técnica de análise. A temperatura máxima de operação permitida para estes polímeros é de 375°C. A principal desvantagem apontada ao Tenax é a pequena capacidade para com os compostos muito voláteis (< C_7), ou polares. Por vezes para aumentar a capacidade de adsorsão são preparados tubos com mistura de adsorventes selectivos. Por exemplo os adsorventes à base de carbono são mais efectivos na colheita de compostos orgânicos muito voláteis do que os polímeros orgânicos, podendo ser usados em combinação com o Tenax (Averill e Purcell, 1978; Hoffman e Klockow, 1993; Heavner *et al.*, 1992; Corchnoy *et al.*, 1992; Larsen *et al.*, 1996).

Na colheita de compostos orgânicos voláteis na atmosfera por meio de adsorsão o princípio de funcionamento é equivalente a um processo cromatográfico gás-sólido, sendo o procedimento de amostragem função do ponto de saturação. O adsorvente representa a fase estacionária e o ar amostrado é o gás de arraste. O(s) composto(s) a medir, o(s) analito(s), migra(m) lentamente no tubo com um perfil de concentração característico (figura III.2).

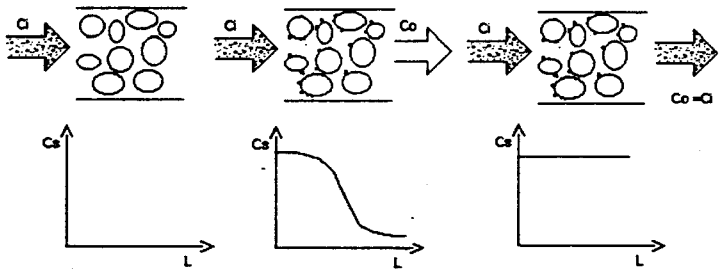


Figura III.2 - Perfis de concentração característico num processo cromatográfico.

A utilização desta técnica implica o conhecimento do volume de amostragem de segurança, isto é, o volume de ar que pode ser amostrado, sob uma grande diversidade de circunstâncias, sem perda do composto em causa por passagem através do tubo e consequente saída para o exterior. Para determinar o volume de amostragem de segurança normalmente é

determinado previamente o "breakthrough volume" (BTV) para um composto específico, que é definido como um ponto para o qual uma dada atmosfera que passa continuamente pela cama do adsorvente não transporta consigo à saída a substância que se pretende separar. O BTV varia com as condições de amostragem tais como a concentração do composto volátil, a velocidade de amostragem, a temperatura e a humidade. Por conseguinte o volume de amostragem de segurança deve ter em conta as variações em qualquer um dos parâmetros referidos anteriormente. No caso do Tenax-TA para concentrações de α e β-pineno até 100 ppb, o BTV é de 12 l/g (Yokouchi *et al.*, 1981). Valores semelhantes, até 3 litros de ar amostrado em 200 mg de Tenax-TA, são referidos por Janson e Kristensson (1991) para caudais de amostragem entre 100 e 300 ml/min. As principais desvantagens apontadas ao Tenax TA são a baixa afinidade para compostos orgânicos voláteis $<C_7$, como já se havia referido, e de poder introduzir artefactos por oxidação e rearranjo do próprio adsorvente, com produção de compostos como o benzaldeído, a acetofenona e uma série de aldeídos alifáticos. Stömvall e Petterson (1992) sugerem o tratamento do Tenax TA com tiossulfato e hidrogenocarbonato para reduzirem este tipo de interferências, funcionando o primeiro como antioxidante e o segundo como tampão, visto em meio ácido os monoterpenos poderem sofrer rearranjos e alterar a sua composição relativa na amostra.

O Tenax é considerado um polímero com um tempo de vida considerável podendo ser usado 600-800 vezes sem alteração segundo os fabricantes (Riba, 1991). Contudo a capacidade e as características de adsorsão variam com o envelhecimento do adsorvente (Fabri *et al.*, 1987., Riba *et al.* 1985, Rothweiler *et al.*, 1991). A decomposição contínua do Tenax e os choques térmicos que sofre ao longo dos ciclos de regeneração e desadsorsão conduzem à abertura dos poros e a uma diminuição progressiva da capacidade de adsorsão. Riba *et al.* (1985) detectaram uma pequena diminuição da capacidade de adsorsão do Tenax, ao fim de 10 amostragens com o mesmo tubo. Rothweiler *et al.* (1991) por exemplo já referem que o Tenax acusa alterações na capacidade de adsorsão ao fim de 5 utilizações, contrariamente ao que é referido pelos fabricantes.

Durante a amostragem, concentrações de ozono elevadas também podem alterar a integridade da amostra, principalmente para compostos como o limoneno, o cis e o trans-ocimeno. A alteração da amostra pelo ozono pode não ocorrer somente durante a amostragem;

o ozono que fica retido no tubo de colheita pode ainda causar problemas durante a fase de desadsorsão térmica (Janson e Kristensson, 1991). O problema de alteração significativa da integridade da amostra na presença de concentrações de ozono superiores a 50 ppb é comum a outros sistemas de amostragem (McClenny *et al.*, 1991; Lonneman *et al.*, 1978). A dimensão das interferências causadas pelo ozono durante a amostragem de terpenos não é ainda de todo conhecida, pois vários estudos relativos a esta problemática apresentam resultados contraditórios. Alguns autores não observam diferenças significativas, com perdas inferiores a 5% para volumes de amostra inferiores a 1,5 l (Steinbrecher *et al.*, 1992; Ciccioli *et al.*, 1984; Roberts *et al.*, 1983). Entre os que observam diferenças os resultados obtidos são muito díspares. Por exemplo as interferências na amostragem de α-pineno em atmosferas com concentrações de ozono relativamente elevadas podem representar uma redução de 86% (55 ppb de O_3) (Juttner, 1988), 6% (Stromvall e Petersson, 1992), 8 % (50 ppb de O_3) (Peters *et al.*, 1994), 25-30 % para concentrações de ozono superiores a 40ppb (Hofmann e Klockow., 1993),. Janson e Kirstensson (1991) efectuaram uma série de ensaios em laboratório e no campo para avaliar o efeito do ozono na redução da capacidade de retenção do Tenax para com os monoterpenos, assim como da possibilidade de perdas de terpenos durante a fase de armazenamento, não tendo detectado perdas nem alterações significativas para o α e β-pineno. No entanto para o limoneno e Δ_3-careno, terpenos mais reactivos com o ozono do que os anteriores, já encontraram perdas de 50% e 10-20%, respectivamente. Uma das explicações para esta diversidade de resultados parece ter a ver com o modo como o adsorvente é carregado de monoterpenos (Calogirou *et al.*, 1996), embora não se consiga explicar como é que ensaios conduzidos de modo similar e em atmosferas com concentrações elevadas de ozono conduzem a resultados tão diferentes. Se por um lado o uso de "scrubbers" de ozono pode melhorar as condições de amostragem para alguns monoterpenos, para outros compostos, COVs oxigenados, ele pode ser um problema, destruindo-os ou retendo-os parcialmente (Juttner, 1988a). Janson e Kristensson (1991) observaram que o uso de filtro de ozono de MnO_2 levava a perdas de ~30% de terpenos. Resultados que contrariam estes foram encontrados por Calogirou *et al.* (1996).

De entre as várias substâncias usadas para remoção do ozono, tubo de níquel, sulfito de sódio anidro, tiossulfato de sódio, iodeto de potássio, carbonato de potássio e rede de cobre

revestida por óxido de manganês, parece ser esta última a mais promissora (Calogirou *et al.*, 1996). Segundo estes autores para uma remoção eficiente de ozono e amostragem de monoterpenos sem perdas significativas no filtro de ozono são necessárias 8 pequenas redes de Cu/MnO_2 em série. As interferências atribuídas ao ozono, durante a amostragem e armazenagem podem ainda ser agravadas pela presença de NO_2 e vapor de água, cujo efeito parece ser uma combinação cumulativa dos efeitos individuais de cada um (Peters *et al.*, 1994).

No presente trabalho, a colheita de compostos orgânicos voláteis emitidos pela vegetação para a atmosfera foi efectuada por meio de adsorsão em tubos de vidro silanizado cheios com Tenax TA, visto na literatura ser referido como um dos adsorventes com melhores qualidades para o conjunto de compostos que pretendíamos analisar (isopreno e monoterpenos). Inicialmente usaram-se tubos com ~100 mg de Tenax-TA pré-acondicinados, preparados e vendidos pela Chrompack (Tenax TA 30-45 mesh). Posteriormente passámos a preparar os tubos com Tenax Ta (60-80 mesh) da Crompack, ~110 mg de granulometria mais fina que os primeiros. O Tenax TA é um polímero orgânico que com o tempo se vai degradando, mas que pode ser regenerado através de tratamento térmico. Na literatura são citadas várias técnicas de regeneração, mais ou menos prolongadas, mas que têm em comum o facto de a regeneração ser efectuada por aquecimento, a temperaturas que variam entre os 200 e 300°C, e com varrimento por um gás inerte, azoto ou hélio, com elevado grau de pureza, a um caudal de alguns ml por minuto. O tempo de regeneração é variável de autor para autor, desde algumas horas até 24h (MacLeod e Ames, 1986; Steinbrecker, 1990, Rothweiller *et al.*, 1991; Janson e Kristensson, 1991). Alguns autores antes do acondicionamento do adsorvente nos tubos de vidro ou aço lavam-no com hexano (Venema *et al.*, 1983) ou com hexano e diclorometano (Rothweiler *et al.*, 1991) para remoção de impurezas.

III.1.1- Regeneração dos tubos Tenax

A regeneração dos tubos Tenax foi feita num pequeno forno cilíndrico em alumínio, construído para o efeito que permite a regeneração simultânea de pelo menos 15 tubos, figura

III.2. A temperatura do forno é regulável e controlada por um sistema construído no Departamento. Os tubos eram varridos por um caudal de azoto U, de 15-20 $ml.min^{-1}$ durante 6 horas, no mínimo (normalmente uma noite), a 250 °C. Aquando da 1ª utilização a regeneração era mais prolongada (>48 horas) e eram efectuadas análises de tubos recém regenerados para controle (2 a 3 por cada grupo de 15). O caudal de varrimento nos tubos era verificado através de um medidor de bolha de sabão.

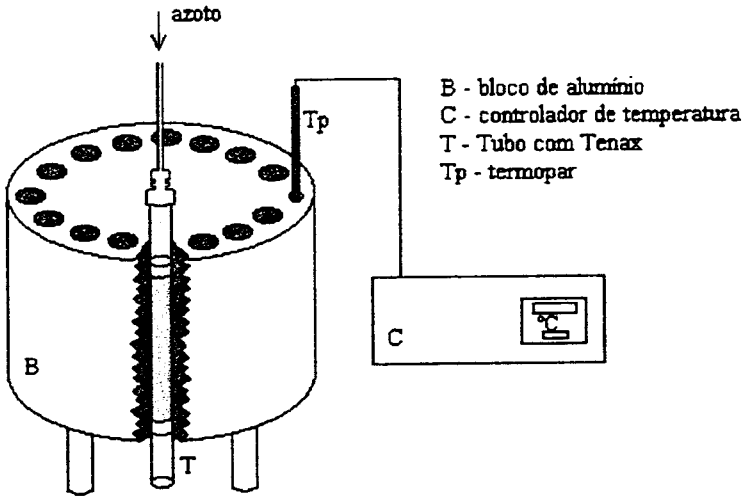


Figura III.3 - Representação esquemática do sistema de regeneração dos tubos Tenax.

Após regeneração os tubos eram selados nas extremidades e acondicionados em frascos individuais de vidro (tubos de ensaio longos) com sílica gel, a -20°C, no congelador. Quando os tubos não eram usados num intervalo inferior a 2 dias, procedia-se a uma regeneração curta, que podia ir de 10 min a 2 horas, consoante o tempo de armazenamento, antes da sua utilização. Com este procedimento reduzia-se o nível dos brancos, que apresentavam sempre um pequeno ruído.

III.1.2- Análise de hidrocarbonetos voláteis por cromatografia gasosa e detecção por ionização de chama

A análise de isopreno e monoterpenos foi conduzida num cromatógrafo gasoso, Chrompack CP 9000, com sistema de injecção TCT (Thermal Control Temperature), que permite a desadsorsão térmica controlada dos compostos voláteis adsorvidos nos tubos com Tenax-TA, seguida de criofocagem num pequeno "trap", tubo capilar com Tenax-TA (35 cm de coluna CP-Sil 8 CB, DI= 0.32 mm DF= 5μm + 1.5 cm de Tenax-TA 60-80 mesh), e detecção por ionização de chama. A coluna usada para a separação dos compostos orgânicos voláteis que se pretendiam analisar foi uma coluna de 25 metros de comprimento e 0.25 mm de diâmetro interno, e filme de 0.25μm, CP-Sil 19 CB da Chrompack.

III.1.2.1- Condições de análise

Os compostos voláteis adsorvidos no Tenax-TA, padrões e/ou amostras, eram "injectados" no cromatógrafo a partir de uma unidade de desadsorsão com criofocagem da Chrompack conhecida por TCT. Esta unidade é constituída por dois corpos com controle de temperatura individual, figura III.4, por onde passa o gás de arraste. O tubo Tenax com padrão ou amostra é colocado no corpo A e aquecido à temperatura desejada para desadsorsão dos compostos voláteis. Em simultâneo o corpo B, que se encontra ligado à coluna por um tubo capilar de ~35 cm, "trap", é arrefecido a uma temperatura negativa por acção de azoto líquido. Após o tempo necessário de desadsorsão, cessa o aquecimento do corpo A, e o corpo B que se encontrava a uma temperatura negativa é então sujeito a um aquecimento rápido (taxa de 15 $°C.s^{-1}$), até à temperatura de injecção. Durante a fase de desadsorsão/concentração criogénica o caudal que passa no TCT é de ~11ml.min^{-1}, sendo ~1ml.min^{-1} o caudal que vai para a coluna e o restante é o denominado caudal de purga que transporta os compostos volatilizados do corpo A para o corpo B. O sistema permite ainda, numa primeira fase antes de iniciar a desadsorsão um período de arrefecimento do corpo B, denominado por "pre-cool". Deste modo garante-se que os compostos que se volatilizam nos primeiros instantes quando chegam ao corpo B, já este se encontra à temperatura desejada para aí ficarem retidos. As condições de

operação da unidade de desadsorsão/concentração, TCT, estão sintetizadas na figura III.5, juntamente com os programas de temperatura desenvolvidos para análise de isopreno e/ou terpenos. A unidade de desadsorsão/concentração criogénica está sincronizada com o cromatógrafo, iniciando-se a análise cromatográfica simultaneamente com a fase de aquecimento da unidade B do TCT, a qual substitui a injecção tradicional. A partir deste momento os analitos são transportados para a coluna iniciando-se a sua separação de acordo com a respectiva volatilidade, afinidade para com a coluna e com o programa de temperaturas aplicado.

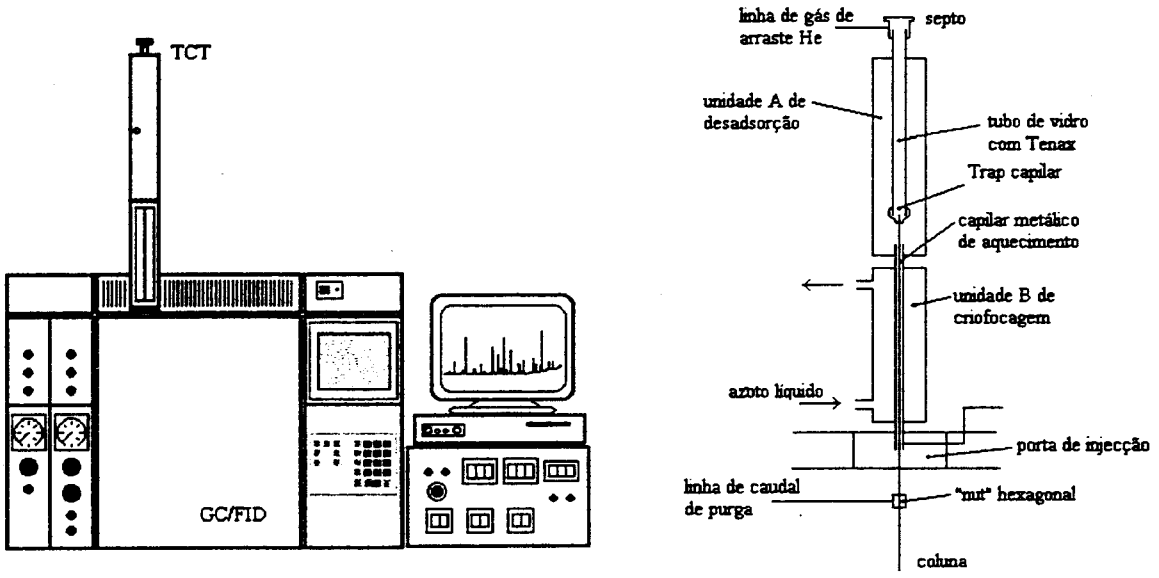


Figura III.4 - Representação esquemática do sistema de análise e pormenor da unidade de desadsorsão/concentração criogénica (TCT)

Dada a diferença de volatilidade entre o isopreno e os monoterpenos, foram desenvolvidos dois programas de temperatura para o forno do cromatógrafo (Programa A e Programa B), consoante se pretendia analisar somente monoterpenos ou monoterpenos e isopreno em conjunto. Deste modo foi possível economizar tempo de análise e de azoto líquido, que é consumido em maior quantidade no Programa B de temperaturas, dado o programa se iniciar a -20 °C.

TCT

Tempo de arrefecimento ("precool")	1 min.
Tempo de desadsorsão	10 min
Temperatura do bloco A	250 °C
Temperatura do bloco B	-100 °C
Tempo de injecção	3 min.
Temperatura de injecção	220°C

GC/FID

Temperatura injector	250 °C
Temperatura detector	300 °C

Programas de Temperatura do Forno

	Programa A	Programa B
Temperatura inicial	35 °C	-20 °C
Tempo inicial	3 min.	3 min
1ª rampa de aquecimento I	8 °C.min^{-1}	10 °C.min^{-1}
Temperatura final de I	55 °C	75 °C
Patamar II	3 min	1 min
2ª rampa de aquecimento III	10 °C.min^{-1}	6 °C.min^{-1}
Temperatura final de III	95 °C	100 °C
3ª rampa de aquecimento IV	15 °C.min^{-1}	15 °C.min^{-1}
Temperatura final de IV	200 °C	200 °C
Patamar V	3 min	3 min
Tempo final	25 min	27,32 min

Gases e Caudais

Gás de arraste	1,1 ml.min^{-1} (He)
Gás "make up"	30 ml. min^{-1} (He)
Gás FID	35 ml.min^{-1} (H_2)
	250 ml.min^{-1} (Ar K)
Gás de purga (TCT)	10 ml.min^{-1} (He)

Figura III.5 - Programas de temperatura e condições de análise dos compostos terpénicos.

A optimização dos programas desenvolvidos, programas com multi-rampas e patamares de aquecimento, teve em atenção a capacidade de separação relativamente a um conjunto largo de compostos terpénicos (14) e o tempo total de análise.

Os programas de CG desenvolvidos permitem uma boa separação dos terpenos seleccionados, com excepção do Δ_3-careno e α-felandreno, em ambos os programas, e do sabineno e β-pineno no programa B, que eluem praticamente em simultâneo. A separação destes compostos poderia ser possível à custa dum prolongamento do tempo de cada ciclo de análise. A pressão na coluna foi seleccionada de modo a que a velocidade linear na coluna, que varia com a temperatura do forno, estivesse dentro ou muito próximo dos valores recomendados para este tipo de coluna ao longo do período de análise.

Na figura III.6 apresentam-se dois cromatogramas típicos, obtidos com uma mistura de terpenos, para cada programa de temperatura. Um ciclo de análise completo engloba 3 fases: desadsorsão da amostra ou padrão do tubo Tenax-TA (1+10 minutos), separação dos analitos na coluna cromatográfica em função da evolução de temperatura do forno e respectiva detecção pelo FID (25 ou 27,34 minutos consoante o programa de temperaturas do forno), e por fim a fase de arrefecimento do forno até à temperatura inicial. O tempo desta 3ª fase é variável consoante a temperatura do laboratório. Em média cada ciclo de análise consome 45 minutos. O sinal de saída do detector FID foi adquirido por computador através de um sistema de aquisição e tratamento de dados cromatográficos conhecido por PCI.

III.1.2.2- Identificação

Em cromatografia gasosa com detecção por ionização de chama usa-se normalmente um dos dois métodos referidos adiante para identificação de compostos: o método baseado no tempo de retenção absoluto ou o método baseado no tempo de retenção relativo. Quer com um método quer com o outro não é possível descriminar compostos que acusem o mesmo tempo de retenção. No primeiro caso comparam-se os tempos de retenção absolutos dos compostos da amostra com os tempos de retenção absolutos de substâncias conhecidas à priori, obtidos nas mesmas condições analíticas. No segundo caso utiliza-se o tempo de retenção relativo, isto é o quociente entre o tempo de retenção absoluto de um composto relativamente a um outro. Contudo este composto tem de estar presente em todas as amostras, deve ter um tempo de retenção compreendido entre os tempos do conjunto de compostos que

se pretende identificar e ser bem diferenciado de outros compostos que possam ocorrer na mesma região.

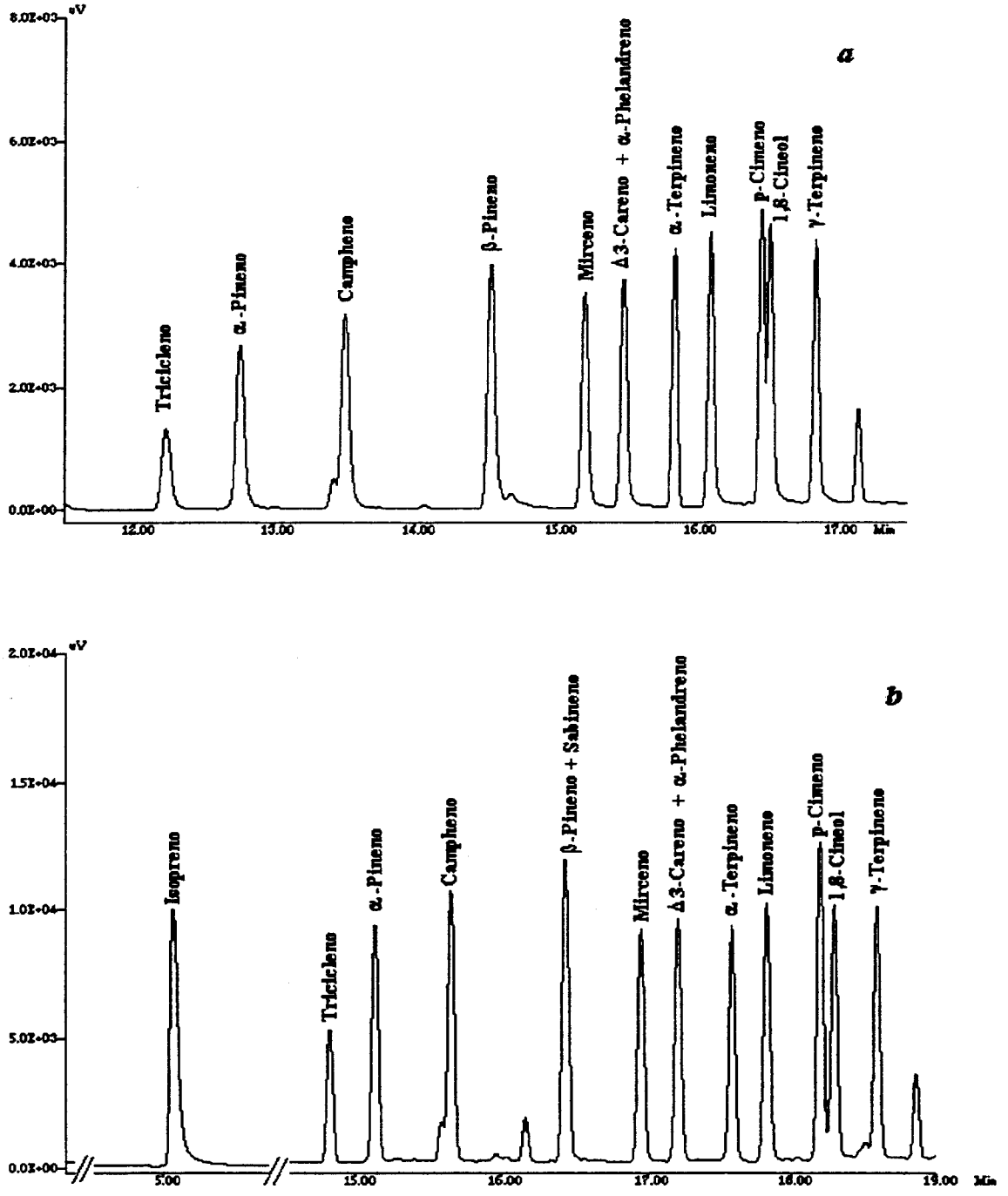


Figura III.6 - Cromatogramas típicos de um padrão de terpenos: ***a*** - programa A de temperatura; ***b*** - programa B de temperatura.

Os diversos compostos analisados foram identificados por comparação dos tempos de retenção, absolutos e/ou relativos, dos diversos picos com tempos de retenção de compostos conhecidos, num total de 16, analisados pelo mesmo sistema. Foram efectuadas injecções de padrões com composição conhecida e determinados os tempo de retenção médios absolutos para cada composto, assim como o tempo de retenção relativo em cada um dos programas de análise desenvolvido. A variabilidade dos tempos de retenção dos compostos nas amostras e padrões deve-se essencialmente a variações no caudal de gás de arraste, hélio, o qual é regulado através da pressão na coluna. Quer para o programa A quer para o programa B os tempos de retenção relativos foram calculados a partir de picos do sistema, isto é, recorreu-se em cada programa a um pico do sistema que ocorre na região de saída dos monoterpenos. Para o programa B usou-se ainda um outro pico do sistema na proximidade de saída do isopreno. O uso do tempo de retenção relativo para identificação de compostos reduz em cerca de 40% o desvio padrão relativamente ao tempo de retenção absoluto, permitindo uma identificação mais segura.

III.1.2.3- Quantificação dos compostos orgânicos voláteis - Calibração

A quantificação dos compostos pode ser efectuada por calibração absoluta ou recorrendo ao uso do padrão interno. Foram feitas várias tentativas de adaptar o método de calibração através do padrão interno ao sistema por nós usado, visto esta técnica minimizar os erros de análise devidos por exemplo a fugas que podem ocorrer durante a análise, e o próprio padrão interno poder funcionar como pico de referência para identificação dos diferentes picos dos compostos na amostra. Contudo esta técnica não se mostrou viável dada a complexidade das amostras de ar ambiente com numerosos picos não identificáveis e por outro lado porque a introdução do padrão interno nas amostras não era fácil como se verá pelo modo como foram preparados os padrões.

Sendo os compostos orgânicos voláteis no ar colhidos em Tenax TA, o sistema de calibração a usar foi concebido tendo em conta a reprodução, ao máximo, das condições de análise em que eram feitas as amostras. Por conseguinte preparam-se tubos Tenax TA com quantidades conhecidas de terpenos com elevado grau de pureza. Tentou-se a técnica de

atmosferas padrão por permeação (Riba *et al.*, 1985) para preparação de padrões de isopreno e terpenos, a qual na prática não resultou devido a não existirem condições no laboratório para conduzir os ensaios. Os dois principais factores foram a dificuldade em controlar a temperatura da câmara de permeação, a temperatura constante mas inferior a 30°C, a qual era afectada pela temperatura ambiente do laboratório, e a sensibilidade da balança para medir as variações de peso dos tubos de permeação. O uso de uma temperatura superior a 30°C na câmara de permeação leva, por exemplo, à alteração do isopreno ao fim de aproximadamente um mês. Para aplicação desta técnica, dada a variação do peso dos tubos de permeação ao longo do tempo ser pequena torna-se necessário o uso de uma balança com sensibilidade até às 0.01 mg, de modo a permitir quantificar com rigor a taxa de permeação, sem o conhecimento da qual é impossível conhecer com exactidão a massa de padrão; é exigido também o controle rigoroso da temperatura de permeação pois a taxa de permeação é fortemente dependente dela. A variação de 1 °C na temperatura conduz a uma variação na pressão de vapor de monoterpenos (α-pineno e β-pineno) de sensivelmente 6%. Como se referiu anteriormente não foi possível aplicar esta técnica com regularidade, embora pontualmente se tenham conseguido resultados com sucesso. Com base na informação recolhida na literatura optou-se então pela preparação de padrões de substâncias puras em metanol (Jutner 1988, Janson, 1991; Rothweiller *et al.*, 1991), apesar dos efeitos nocivos para a saúde, pois a sua elevada volatilidade e pureza eram factores a favor.

Prepararam-se padrões individuais de diversos monoterpenos e outros compostos orgânicos, por pesagem e diluição em metanol e a partir destes, várias misturas. Como não era possível a injecção directa dos padrões no cromatógrafo por saturação da coluna com metanol, era necessário a prévia remoção deste mas sem perda das substâncias a analisar. Deste modo os padrões foram preparados a partir da injecção de um volume conhecido de padrão numa das extremidades de um tubo com Tenax, sobre a lã de vidro silanizada, seguida da passagem de uma corrente de azoto para varrer o metanol e deixar os analitos ao longo da cama de adsorvente. Como o metanol é muito mais volátil, este era praticamente todo removido pela corrente de azoto, permanecendo os analitos no adsorvente. Foram efectuados vários ensaios com dois tubos adsorventes em série, em que só o primeiro tinha recebido padrão para avaliar a influência do caudal e do tempo de varrimento, do volume e respectiva concentração de

terpeno(s) na preparação quantitativa dos padrões. O uso do segundo tubo Tenax serviu para certificar se ocorria eluição dos analitos e em que quantidade, quer com padrões individuais quer com padrões mistos. Estes ensaios permitiram definir as seguintes condições de operação na preparação de padrões:

- volume de padrão - até 10 µl de padrão simples ou misto em metanol
- massa de saturação (α-pineno) - 2 µg/tubo Tenax-TA (~100 mg)
- caudal de azoto - 60-80 ml/min
- tempo de varrimento 8-10 min

A resposta do detector para a gama de padrões usada manteve-se linear.

A quantificação de monoterpenos por esta técnica apresenta uma elevada reprodutibilidade. Foram preparados vários padrões de monoterpenos em duplicado e triplicado com massas de ~10, 100 e 1000 ng por tubo, com coeficientes de variação do factor de resposta inferiores a 5%.

Os padrões mistos usados na calibração foram preparados apenas a partir de compostos com grau de pureza superior a 98%. Compostos com grau de pureza inferior introduziam contaminação na quantificação de outros monoterpenos. Os diversos monoterpenos foram obtidos da Fluka, com excepção do mirceno e 2-careno que foram adquirido à Aldrich. No entanto foram usados outros compostos, apenas para identificação, cujo grau de pureza era inferior. O metanol usado como solvente foi obtido da Lab-Scan com grau HPLC. Inicialmente tinha-se optado pelo metanol da Merck para HPLC (Lichrosolv) mas este apresentava impurezas na zona de identificação dos monoterpenos, coeluindo uma delas com o β-pineno, no programa B de temperaturas. No programa A este pico só se sobrepunha parcialmente com β-pineno. O metanol da LabScan também apresentava vestígios de impurezas só que os picos não coincidiam com nenhum dos compostos para o qual se conhecia o tempo de retenção.

Para a preparação de padrões de isopreno usou-se ainda uma outra técnica, pois não se conseguia separar convenientemente o metanol do isopreno. Como a capacidade do Tenax-TA para com o isopreno à temperatura ambiente é muito inferior à dos monoterpenos não era possível a remoção parcial do metanol sem perda de isopreno. Por outro lado o tempo de retenção do metanol era muito próximo do tempo de retenção do isopreno. A calibração do

isopreno foi efectuada então através de gás de garrafa. Adquiriu-se uma garrafa com uma concentração de isopreno em azoto de 9.93 ppm, com certificado de garantia. Neste caso tanto era possível a injecção directa de um pequeno volume do gás de calibração através do septo do TCT, como a concentração prévia em tubos Tenax, usando um sistema de diluição e efectuando a amostragem em condições análogas às amostragens de campo. A injecção directa de um dado volume de gás de calibração foi a técnica usada para obtenção da curva de calibração do isopreno visto ser a mais expedita. Réplicas de injecções de quantidades conhecidas de isopreno no TCT em tubo oco ou em tubo com enchimento não apresentaram diferenças significativas. Com seringas Hamilton "gas-tight" foram injectados volumes de 100 a 5000 µl do gás de garrafa (2,8 a 140,4 ng de isopreno). O coeficiente de variação do factor de resposta do detector para esta técnica foi idêntico ao obtido para os monoterpenos e inferior a 5%.

A técnica de diluição do gás de garrafa e posterior concentração de isopreno em tubos com Tenax TA foi usada para desenvolver o método de colheita quantitativa de isopreno em Tenax TA, com arrefecimento.

A sensitividade ou factor de resposta do sistema de CG/FID, definida como a área de pico por unidade de massa de composto, foi em média de 7000-8000 unidades de área por nanograma de terpeno, ao longo do trabalho experimental. O factor de resposta para os diversos monoterpenos avaliados e isopreno foi muito semelhante, não diferindo mais do que 5% tomando como referência o α-pineno, com excepção do 1,8-cineol. Esta variação ou erro é da mesma ordem da observada na preparação dos padrões pela técnica de pesagem e diluição em metanol. assim os compostos desconhecidos presentes nas diversas amostras com tempos de retenção na região de saída dos monoterpenos, foram quantificados com base no factor de resposta do α-pineno.

III.1.2.4 - Limite de Detecção

O limite de detecção do aparelho CG/FID foi obtido a partir do ruído da linha de base de cromatogramas relativos a brancos do sistema para cada um dos programas de temperatura, na região de saída dos compostos que se pretendiam analisar. Os brancos do sistema foram

obtidos usando na unidade de injecção, TCT, um tubo de vidro oco. O limite de detecção foi então calculado como sendo duas vezes a razão entre o desvio padrão do ruído da linha de base e a sensitividade, apresentando o mesmo valor para os dois programas, ou seja de 0,02-0,03 ng de carbono, para a generalidade dos compostos terpénicos analisados.

O limite de detecção da técnica de análise foi em média 5 a 8 vezes superior devido ao ruído introduzido pelo adsorvente. Considerando volumes de amostragem de 3 litros, o limite de análise em termos de concentração de terpenos na atmosfera é de aproximadamente 0.02 ppb.

III.1.3 - Amostragem de Compostos Orgânicos Voláteis

A amostragem de COVs, isopreno e monoterpenos, foi efectuada por adsorsão dos compostos terpénicos em tubos de vidro com Tenax-TA. O uso de tubos com enchimentos selectivos nem sempre resolve os problemas de amostragem representativa. O uso de diferentes adsorventes limita por exemplo a temperatura de desadsorsão a usar; por outro lado é preciso conciliar no mesmo tubo quantidades de adsorvente específico, suficientes para cada grupo de compostos que se pretende quantificar. Por exemplo o "carbotrap" ou "carbopack B", adsorventes de carbono grafítico, apresentam melhores características para a colheita e análise de isopreno do que o Tenax. Contudo, no caso de colheita de monoterpenos, este adsorvente introduz decomposição dos compostos durante a desadsorsão a temperatura elevada (Rothweiler *et al.*, 1991; Cao e Hewitt, 1993). Por conseguinte ao usar-se um tubo com mistura de adsorventes Tenax-TA e Carbotrap ou Carbopack B é preciso combinar bem a dosagem de cada um dos adsorventes de modo a garantir que não haja migração de monoterpenos para o segundo. Qualquer que seja o sistema que se conceba, seja constituído por um ou mais adsorventes é preciso conhecer muito bem as condições de aplicabilidade e limitações ao sistema de análise no seu todo.

Em virtude do baixo valor de "breakthrough volume" (BTV) à temperatura ambiente do Tenax-TA para com o isopreno, 0.3 l de ar por 100 mg de adsorvente (Riba *et al.*, 1991), foram efectuados ensaios de amostragem a baixa temperatura para avaliar a possibilidade de

aplicação deste mesmo adsorvente à amostragem quantitativa de isopreno e monoterpenos em simultâneo.

III.1.3.1 - Capacidade do Tenax-TA para amostragem de isopreno.

As amostragens efectuadas no laboratório à temperatura ambiente, 17-22°C, a partir de um sistema de permeação, confirmaram que o Tenax-TA não poderia ser usado com sucesso para a quantificação de isopreno mesmo para pequenos volumes de amostra, 300 ml ou menos, sendo a eficiência de retenção muito variável. Foram então efectuadas amostragens com dois tubos adsorventes em série e arrefecidos. Para arrefecer os tubos foi pensado um sistema simples e barato. Este sistema era constituído por um pequeno acumulador térmico, cilíndrico, construído em latão e cheio com fluido refrigerante dos vulgares acumuladores térmicos, com um pequeno furo longitudinal de diâmetro ligeiramente superior ao diâmetro externo dos tubos de vidro. O comprimento do cilindro de latão era o suficiente para envolver a parte do tubo de vidro com enchimento. Os acumuladores térmicos eram colocados numa câmara frigorífica a 18°C negativos e retirados um pouco antes da amostragem. Infelizmente este sistema, mesmo com os acumuladores envolvidos por espuma isolante, não permitiam um controle muito apertado da temperatura, assistindo-se a um aumento progressivo desta ao longo do período de amostragem. Os ensaios efectuados com este sistema de arrefecimento, apesar das suas limitações permitiu averiguar que as amostragens efectuadas a temperaturas inferiores a 4°C apresentavam eficiências de retenção de isopreno muito elevadas. No entanto quando a temperatura do acumulador subia aos 6-8°C , a eficiência decaía para valores variáveis de 68-93%, para condições de operação similares. Estes ensaios foram efectuados a um caudal de amostragem de 40-60 ml por minuto e tempo de amostragem inferior a 15 minutos. A massa de isopreno concentrada nos tubos variou desde algumas dezenas de ng até 500 ng. A temperatura dos acumuladores térmicos era registada através de um termopar de contacto.

A partir destas observações foi desenhado um novo sistema de arrefecimento para ultrapassar as limitações do anterior. Este novo sistema para arrefecimento dos tubos adsorventes é constituído por um bloco de alumínio perfurado, dividido em 3 partes, onde são colocados os tubos. Este bloco é por sua vez colocado num pequeno frigorífico portátil. Este

sistema foi desenhado para permitir efectuar até 4 amostragens consecutivas com um ou dois tubos em série, sem ser preciso mexer no sistema, a não ser para abrir ou fechar as válvulas que conduzem o ar para cada tubo. Uma descrição mais detalhada do mesmo é apresentada mais adiante, integrada no sistema de amostragem final para o isopreno. A temperatura do bloco de arrefecimento é controlada (2±2°C) por um termopar inserido no interior do bloco de alumínio. Quando o sistema de arrefecimento é aberto por períodos longos (10-15 minutos) para troca de tubos a sua recuperação térmica pode ser acelerada pela colocação de acumuladores térmicos mais frios no seu interior até se atingir a temperatura desejada, sendo depois retirados se necessário. Este sistema também evita problemas de contaminação dos tubos adsorventes que poderiam ocorrer no sistema anterior por contacto das extremidades dos tubos com as paredes interiores do acumulador térmico, apesar de protegidas com parafilme.

As atmosferas de isopreno utilizadas para testar o sistema de amostragem foram preparadas como se referiu atrás, quer a partir de um sistema de permeação, quer a partir de uma garrafa com uma concentração conhecida de isopreno em azoto R (150 bares), de acordo com os esquemas apresentados na figura III.7. O ar de diluição em ambos os sistemas provinha de um gerador de ar puro AADACO 737 tendo-se usado azoto como gás de arraste na câmara de permeação. Os caudais eram regulados por válvulas de agulha, "Hooke" e controlados por medidores de caudal mássico Aalborg 1700. Os ensaios efectuados tentaram abranger as diferentes concentrações de isopreno com que se poderia deparar no trabalho de campo para quantificação das concentrações atmosféricas, ou então para medição dos fluxos de isopreno pela vegetação pelo método do saco. Os resultados obtidos para caudais de amostragem entre 40 e 100 ml por minuto e tempos de amostragem até 60 minutos estão resumidos na tabela III.1.

Os ensaios de laboratório não foram exaustivos em termos de avaliação da capacidade máxima do Tenax-TA para com o isopreno. Optou-se por verificar se as condições obtidas no laboratório eram confirmadas no campo dada a presença de outras espécies que concorrem igualmente com o isopreno para os locais de adsorsão e que eram extremamente difíceis de simular em laboratório. Foram então efectuadas várias amostragens com dois tubos em série ao longo do dia para diferentes tempos de amostragem e concentração, a qual era função da hora

do dia. A variável caudal não foi estudada pois os vários testes de laboratório aconselhavam um caudal inferior a 100 ml/min como segurança. De acordo com os perfis de concentração e emissão de isopreno diários há maior necessidade de volume de amostra durante a noite, quando as concentrações são mais baixas. O volume máximo de ar amostrado nas condições de campo não foi superior a 2,5 litros. A amostragem de grandes volumes de ar com baixas concentrações de COVs tem o inconveniente de aumentar o ruído provocado pela decomposição do próprio Tenax.

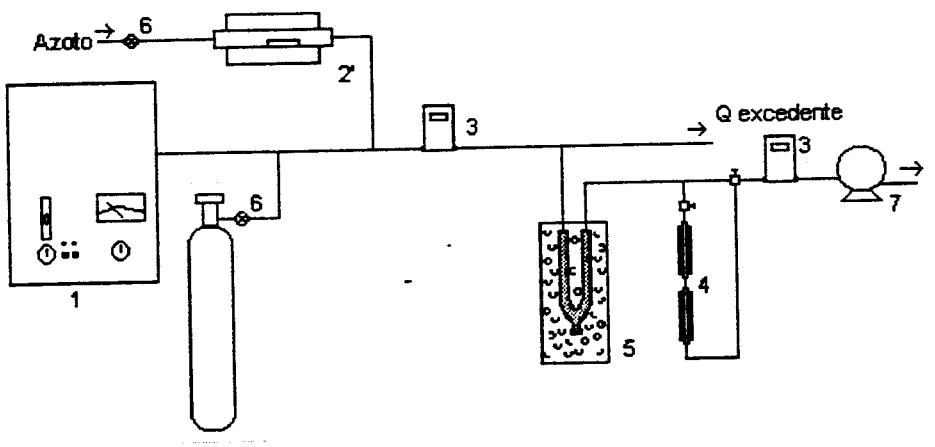


Figura III.7 - Representação esquemática do sistema usado para preparação de atmosferas de isopreno e respectivo dispositivo de amostragem em série (1- gerador de ar puro; 2- garrafa com isopreno; 2'- câmara de permeação (alternativa a 2); 3- medidores de caudal mássico; 4- tubos Tenax com acumulador térmico de arrefecimento; 5- sistema de remoção de vapor de água; 6- válvulas de regulação de caudal: 7- bomba de diafragma).

Os resultados de campo obtidos, num total de 34 amostras, apresentaram eficiências de retenção de isopreno superiores a 95%, para massas de isopreno concentradas nos tubos que variaram entre 3 e 570 ng, tempos de amostragem de 5 a 30 minutos, e caudais entre 50 e 85 ml por minuto, tabela III.2. A eficiência de retenção de monoterpenos, cujas concentrações atmosféricas não excederam algumas unidades de ppb, para as mesmas condições de amostragem foram superiores a 98%.

Tabela III.1- Eficiência de retenção de isopreno em tubos de vidro com Tenax TA arrefecidos a 2-4ºC

Caudal ml.min^{-1}	Tempo de amost. minutos	massa de C_5H_8 ng/tubo	número de ensaios	Eficiência %
50-70	5	300-500	6	100
50-55	5	1500-2000	4	>99,6
50-70	10	40-80	4	100
40-70	10	100-500	20	>99
50-60	10	1800-2000	3	>99,4
60-70	15	3-5	3	100
50-60	15	30-60	4	>98
50-60	15	100-500	8	>95
50-60	20	1800-2000	4	>97,8
60	30	30-60	3	>96
60	30	250-300	3	>85
60-70	60	3-5	3	>98
60-70	60	20-100	4	>96
100-105	10	40-60	6	>98
100	10	100	2	>97
100	20	150-200	3	>75

Tabela III.2- Eficiência de colheita dos tubos Tenax TA arrefecidos a 2-4ºC em amostras de campo

Caudal ml.min^{-1}	Tempo de amost. minutos	massa de C_5H_8 ng/tubo	número de amostras	Eficiência %
74	5	2-3	2	100
54-83	5	125-140	3	>96
68-78	5	253-274	2	100
57-76	5	350-570	4	>97
60-80	10	10-20	3	100
60-80	15	10-20	4	>98
70	20	15-30	2	>95
50-80	30	3-6	8	>97
75-80	30	15-30	4	>95
80-85	30	50-100	5	>96

A partir destes ensaios, os quais mostraram que à temperatura de 2-4°C o isopreno era colhido com elevada eficiência nos tubos de vidro com Tenax-TA para uma série de condições foram então definidas as seguintes condições de amostragem :

- temperatura do tubo de amostragem: 2-4°C
- caudal de amostragem: ≤100ml/min
- tempo de amostragem: ≤ 30min

III.1.3.2 - Remoção de vapor de água

Uma das consequências do arrefecimento dos tubos Tenax-TA para colheita de isopreno e monoterpenos foi a necessidade de remover o vapor de água previamente, caso contrário este condensaria no tubo de amostragem com as consequências que são conhecidas na análise por GC/FID.

A remoção da água da amostra foi efectuada por um sistema simples que consiste num tubo em U, ~1,5 cm de diâmetro interno e 18 cm de comprimento, cheio com esferas de vidro, e mergulhado num recipiente com gelo fundente. Na parte inferior do tubo foi deixado um pequeno reservatório para acumulação da água que condensava e ao mesmo tempo facilitava a sua remoção e limpeza.

O efeito de remoção de vapor de água da corrente gasosa, na amostragem de isopreno, foi então avaliado efectuando amostragens em paralelo, uma com e outra sem unidade de remoção de vapor de água. Como se usava ar seco para diluição a unidade de remoção de vapor de água foi previamente carregada com um pouco de água para aproximação a condições de amostragem de campo. Estes ensaios confirmaram que a condensação do vapor de água não interferia com a amostragem de isopreno (figura III.8). O coeficiente de variação (CV) dos ensaios em paralelo, num conjunto de 25, foi inferior a 7%, tendo-se registado 50% das ocorrências com um CV inferior a 4%, análogo a réplicas de amostragens nas mesmas condições. Estas amostragens foram efectuadas a caudais entre 50-80 $ml.min^{-1}$ e períodos de amostragem entre os 5 e 20 minutos.

Ensaios análogos foram efectuados para avaliar das possíveis perdas de monoterpenos, compostos menos voláteis que o isopreno, na unidade de condensação de vapor de água. Neste

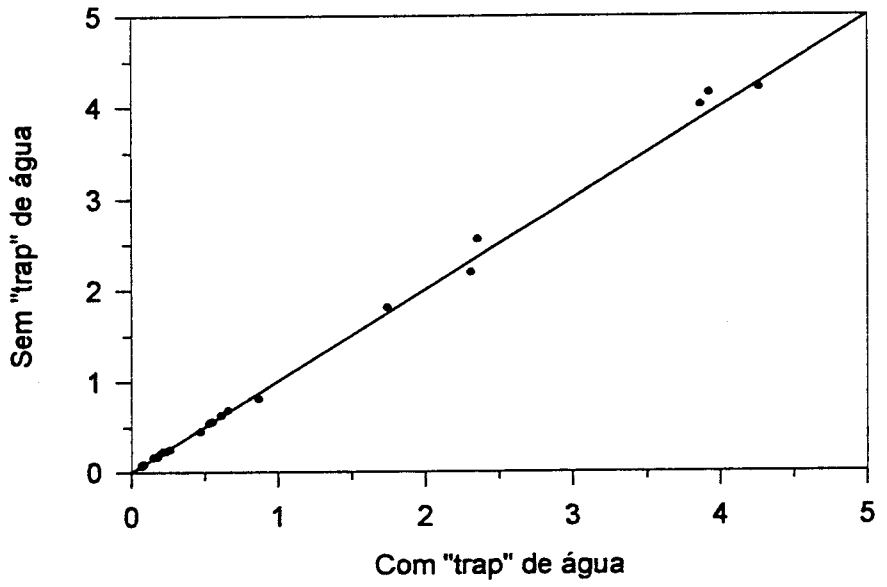


Figura III.8 - Amostragens em paralelo de isopreno com e sem remoção do vapor de água (unidades - $mg_{isopreno}.m^{-3}$).

caso efectuaram-se amostragens em paralelo no campo, associadas à medição da taxa de emissão de monoterpenos pelo pinheiro bravo, uma em que o ar era amostrado directamente para o tubo Tenax e uma outra em que o ar era feito passar primeiro pela unidade de condensação do vapor de água, quer com elevadas concentrações de monoterpenos, quer com baixas. Os resultados obtidos, num conjunto de 17 amostragens em paralelo, mostraram que a existência da unidade de remoção de vapor de água não introduz alterações significativas à quantificação de monoterpenos. Nestes ensaios foi possível efectuar a comparação para os quatro terpenos mais abundantes, α- e β-pineno, mirceno e Δ_3-careno e ainda para o limoneno e outros dois compostos não identificados. Na figura III.9 são apresentados apenas os gráficos dos 5 compostos mais abundantes e total de monoterpenos.

As diferenças observadas são da mesma ordem de grandeza da reprodutibilidade da técnica de análise, notando-se uma ligeira superioridade na concentração das amostras que foram efectuadas com remoção prévia do vapor de água. Esta superioridade pode reflectir uma maior eficiência do sistema de adsorsão nestas condições de amostragem, visto o ar ser arrefecido.

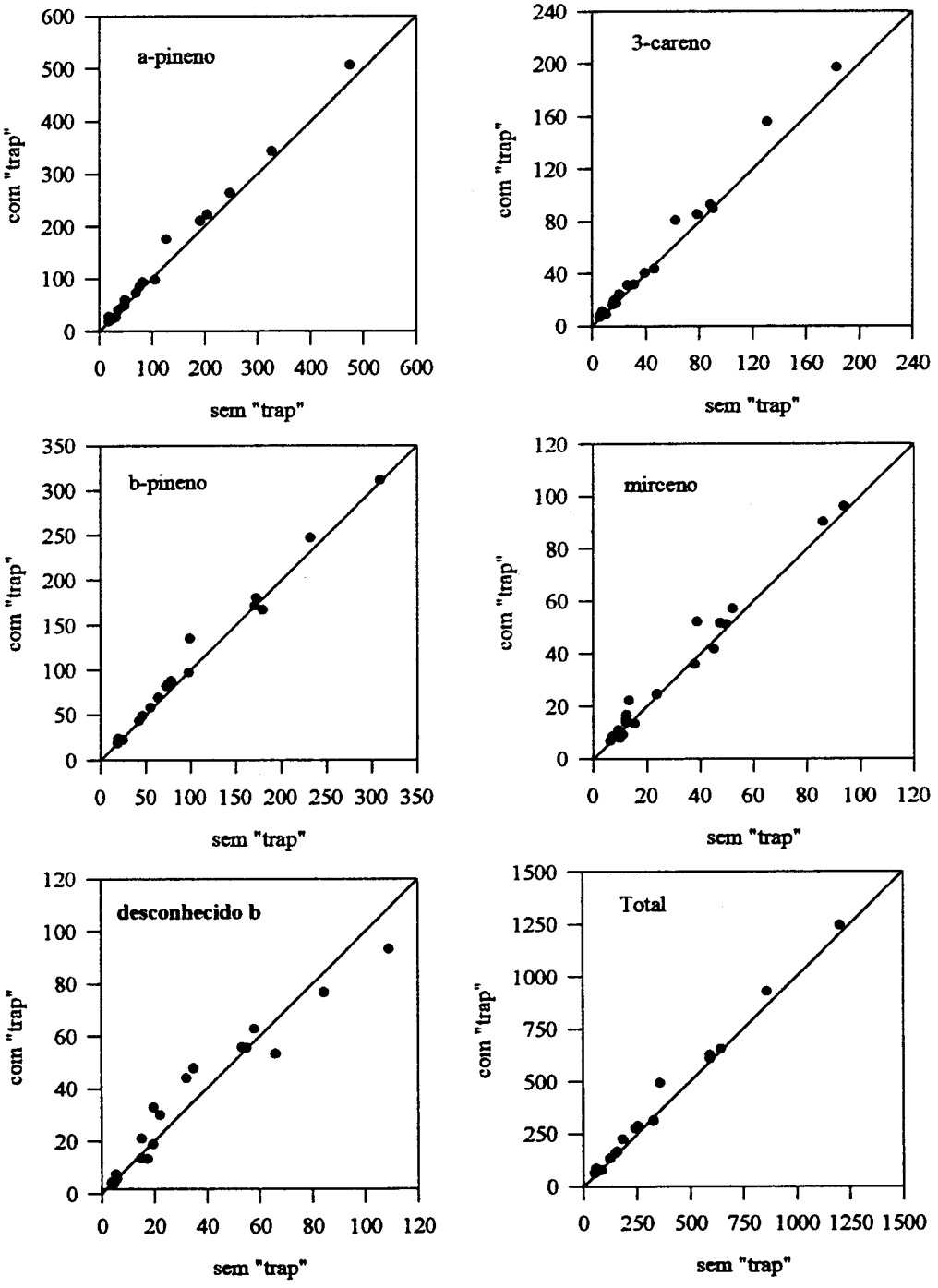


Figura III.9 - Amostragens em paralelo de terpenos, com e sem sistema de remoção de vapor de água (escala em unidades de $ug.g^{-1}h^{-1}$).

Os compostos existentes em menor quantidade, limoneno e desconhecido *b*, acusaram maior variabilidade mas na maior dos casos as suas concentrações estavam muito próximas do limite de detecção. Jüttner (1988) na amostragem de monoterpenos em condições de humidade elevadas também usou um sistema de remoção de vapor de água por condensação, não tendo observado perdas para os monoterpenos estudados. A remoção do vapor de água pode trazer problemas na amostragem de compostos orgânicos mais polares que podem ser arrastados com a água (Larsen *et al.*, 1996; Jüttner, 1991)

Numa 1ª fase foi tentado também o uso de uma membrana selectiva de "nafion" (Perma pure Dryer - Mod. MD - 250-48) para remoção do vapor de água. Este processo conduzia a alterações da amostra tendo sido por isso posto de lado. A remoção de vapor de água por condensação pode ser efectuada a temperaturas inferiores à do gelo fundente mas também pode arrastar consigo alguns hidrocarbonetos mais polares ou com pontos de ebulição superiores. O sulfato de cálcio também tem sido usado para remoção do vapor de água (Peters *et al.*, 1994). No entanto em cada caso é preciso averiguar se o uso do exsicante interfere com a amostragem ou não dos compostos que se pretendem quantificar.

A técnica de colheita desenvolvida para amostragem quantitativa de isopreno mostrou-se também aplicável à amostragem simultânea de monoterpenos. Embora a colheita de monoterpenos em Tenax-TA, quer para medição das concentrações atmosféricas, quer para determinação de taxas de emissão de COVs pela vegetação, possa ser efectuada à temperatura ambiente, no caso de temperaturas ambiente elevadas, que se observam no nosso país durante o Verão, ou de atmosferas com elevada humidade, o uso do sistema de amostragem desenvolvido garante uma maior eficiência e segurança da técnica de amostragem para os compostos avaliados.

III.1.3.3- Influência do ozono na amostragem e análise de COVs.

O ozono é um interferente potencial na amostragem de compostos orgânicos voláteis na atmosfera, dada a elevada reactividade destes compostos na sua presença. As interferências serão tanto mais significativos quanto maior for a concentração de ozono na atmosfera (Juttner, 1988; Hoffman, 1994; Peters *et al.*, 1994; Calogirou *et al.*, 1996). Devido à

discrepância de opinião sobre as potenciais interferências do ozono durante a amostragem de terpenos em Tenax-TA foram efectuadas algumas amostragens no campo, em paralelo, em que num dos casos se usou um "scruber" de ozono igual ao que acompanha os analisadores de O_3 para produzir o ar zero. Estes filtros de ozono são constituídos por redes de cobre impregnada de óxido de manganês.

Estes ensaios foram efectuados num eucaliptal, em dois períodos em que à partida as concentrações de ozono no ar seriam superiores a 35-40 ppb, tendo em linha de conta o período do dia em que foram feitas as amostragens. Um dos períodos de amostragem foi num dia de Junho de 93, entre as 11h30 e as 15 h, com temperatura do ar entre os 19 e 24°C , céu praticamente limpo e vento relativamente forte. O outro período foi num dia bastante quente de Setembro, muito calmo, com temperaturas do ar superiores a 34°C e céu com uma pequena neblina alta.

No primeiro período foram efectuados 6 ensaios em paralelo em que as concentrações de monoterpenos observadas de α-pineno, β-pineno limoneno e cineol foram relativamente baixas, menores que 0,1 ppb, e não se observaram diferenças significativas entre as amostragens com e sem filtro de remoção de ozono. No segundo período em que as condições atmosféricas foram completamente diferentes, foram efectuados 4 ensaios em paralelo. Observaram-se nos cromatogramas numerosos picos ao longo de todo o registo o que pode ser justificado pela ocorrência de um grande incêndio naquela área há menos de um mês sendo perceptível mesmo pelo olfacto um cheiro intenso a voláteis. Neste período observaram-se concentrações de isopreno elevadas, 15-20 ppb e nas amostras colhidas sem filtro de ozono as concentrações medidas foram sempre mais baixas, entre 5 e 10%, do que no sistema de amostragem com filtro de ozono. Relativamente a outros compostos identificados, α-pineno, β-pineno, limoneno e cineol, cujas concentrações máximas atingidas não ultrapassaram 1,5 ppb não se observaram diferenças significativas para o α-pineno e β-pineno, mas para o limoneno observou-se uma diminuição em todos os ensaios de 10-30% quando não se usava filtro de ozono; o cineol apresentou sempre uma concentração ligeiramente superior nas amostras colhidas sem filtro de ozono, sendo a diferença inferior a 6%. De um modo geral neste grupo de 4 testes verificou-se que para a maior parte dos picos presentes, estes apresentavam maior área nas amostras colhidas sem filtro de ozono. Relativamente aos resultados obtidos para os

terpenos identificados eles devem ser interpretados com certa reserva devido ao sistema de identificação dos compostos não ser absoluto e, por outro lado, também desconhecermos a concentração de ozono naquele período de amostragem. Pelas características do dia pressupomos que as concentrações de O_3 seriam relativamente elevadas por comparação com dados para o mesmo local em condições análogas (resultados Campanha FIELDVOC).

Os resultados obtidos nestas amostragens confirmam algumas das observações referidas anteriormente não se tendo conseguido clarificar mais esta problemática. O assunto não está esgotado e precisa ainda de mais investigação.

III.1.3.4 - Amostragem de isopreno e monoterpenos atmosféricos

A amostragem de isopreno e/ou monoterpenos na atmosfera foi efectuada por adsorsão em tubos Tenax-TA, com aproximadamente 100 mg de polímero e arrefecidos a 2-4 °C. O equipamento de amostragem era composto por:

- frigorífico portátil:
- unidade de condensação de vapor de água;
- unidade de arrefecimento dos tubos;
- tubos adsorventes;
- medidor de caudal mássico (Aalborg 1700);
- válvula de regulação de caudal (Hooke, 1335 MAY);
- bomba de vácuo (Thomas CDC-18 ou Charles Austen, Capex 2z).

O trem de amostragem está representado esquematicamente na figura III.10. A tubagem e válvulas usadas para efectuar as ligações entre os vários componentes do sistema de amostragem até ao tubo com Tenax eram de Teflon para reduzir ao mínimo possíveis interferências durante a amostragem. Antes de se efectuar qualquer amostragem era feita uma purga ao circuito que conduzia o ar desde a entrada até ao tubo adsorvente. Visto os compostos que se estão a colher poderem reagir fotoquimicamente a tubagem de teflon exterior foi revestida por papel de alumínio para protecção contra a acção dos raios solares. Os

caudais de amostragem variaram entre 60 e 85 $ml.min^{-1}$, com períodos de amostragem de 15-30 minutos. As amostras foram analisadas dentro de um período inferior a 36 horas.

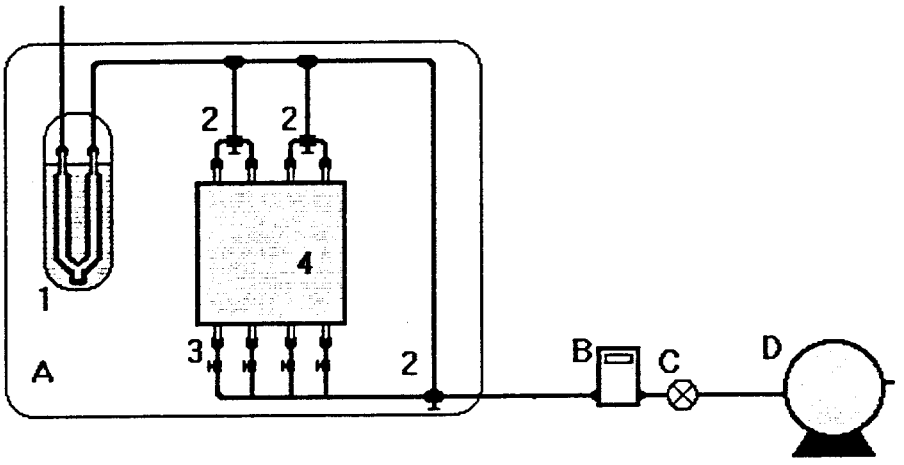


Figura III.10 - Representação esquemática do trem de amostragem de isopreno e monoterpenos na atmosfera.
(A- frigorífico, B- medidor de caudal mássico, C- agulha de regulação de caudal, D- bomba de vácuo, 1- unidade de remoção de vapor de água, 2- válvulas de três vias (teflon), 3- válvulas, 4- bloco de alumínio).

III.2 - Método de amostragem para avaliação das emissões de isopreno e monoterpenos pela vegetação.

Dada a escassez de informação relativa às emissões de compostos orgânicos voláteis por parte de espécies vegetais que ocorrem no sul da Europa, numa primeira fase do trabalho foi desenvolvida uma metodologia que permitisse sem grande investimento, equipamento e tempo, obter informação que colmatasse esta lacuna. A técnica desenvolvida teve como objectivo o levantamento das emissões potenciais de COVs e a identificação dos compostos emitidos maioritariamente. Procurou-se uma técnica que permitisse pelo menos uma avaliação semi-quantitativa.

Uma outra metodologia foi adaptada e desenvolvida para avaliar as emissões de COVs pelo pinheiro bravo e pelo eucalipto tentando investigar quais as variáveis que afectam a taxa

de emissão de COVs por estas duas espécies. A medição das emissões de isopreno e/ou monoterpenos pelo pinheiro e eucalipto foi efectuada quer no laboratório, quer no campo, por aplicação do método dinâmico do saco.

Em ambos os métodos, no final de cada série de ensaios o material vegetal estudado era quantificado em termos de área e/ou peso seco.

III.2.1- Método de amostragem semi-quantitativo

III.2.1.1 - Incubação e Amostragem

Com o auxílio de um bisturi separaram-se folhas inteiras, agulhas no caso de coníferas, dos ramos e colocaram-se num frasco lavador de gases, 200-400 ml, ao qual tinha sido previamente adicionado 1 ml de água destilada. O número de folhas ou agulhas por frasco dependia das dimensões das mesmas (em termos de peso seco a quantidade de material biológico variou entre 0.1-0.8 gr.). No caso de plantas com "folhas" de pequenas dimensões utilizaram-se pequenos ramos terminais. A separação das folhas ou agulhas do ramo foi sempre efectuada com o máximo cuidado, evitando o prolongado manuseamento e com a parte que vai ser sujeita a corte bem humedecida de modo a evitar a ocorrência de variações significativas de pressão no interior das folhas, a qual pode levar à ruptura dos tecidos.

Os frascos com o material vegetal, preparados sempre em duplicado, eram colocados então numa estufa, com controle de temperatura e luminosidade, e ligados a um sistema que permitia o varrimento permanente do interior dos frascos por um caudal constante de ar proveniente de um gerador de ar puro (AADACO 737), como se ilustra na figura III.11.

O ar do gerador era previamente humedecido, por borbulhamento em água destilada, antes de ser conduzido para o frasco com o material biológico. Deixava-se o sistema a estabilizar durante 30 minutos ao fim dos quais se procedia à recolha da amostra. Durante o período de estabilização, para se manter a circulação ininterrupta de ar no interior dos frascos usava-se o desvio pelo "by-pass". O caudal de arraste variou entre 65 e 150 $ml.min^{-1}$, e foi coincidente com o caudal de amostragem nos tubos Tenax-TA. A humidade do ar de saída

dos frascos, após estabilização, era da ordem dos 80%, ou superior, consoante a taxa de transpiração das folhas. O tempo de amostragem variou entre 3 e 30 min, dependendo da espécie vegetal. Foram usados dois tubos com Tenax em série para aumentar a eficiência de amostragem, visto na altura em que decorreram estes ensaios ainda não estar aferida a técnica de amostragem com os tubos arrefecidos.

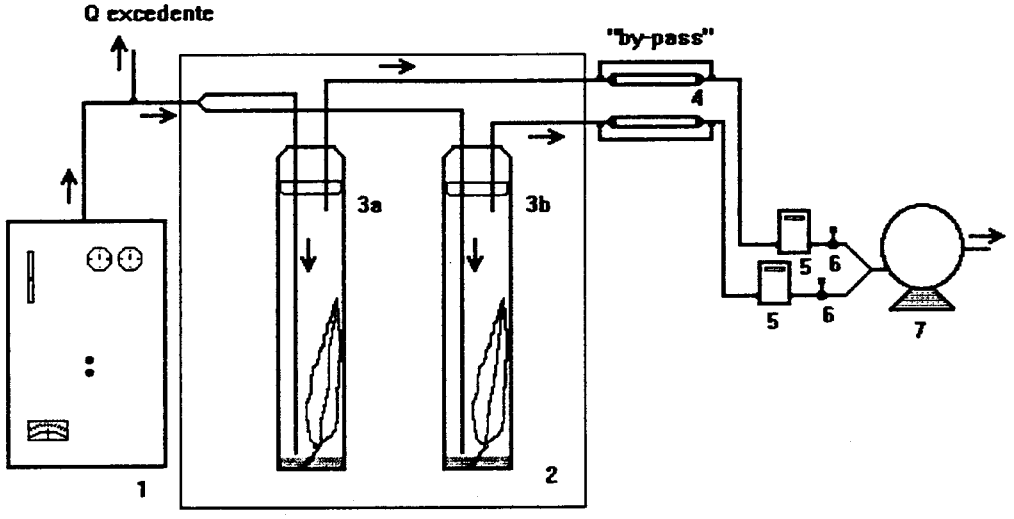


Figura III.11 - Representação esquemática do dispositivo de amostragem de isopreno e monoterpenos emitidos por folhas destacadas. (1- gerador de ar puro AADACO 737; 2- câmara termostatizada; 3- frascos com material vegetal; 4- tubo Tenax; 5- medidor de caudal mássico; 6- válvula de agulha; 7- bomba de vácuo de diafragma).

O uso de um sistema dinâmico tem a vantagem relativamente ao sistema estático usado por outros autores (Hewitt e Street, 1992; Jones e Rasmussen, 1975), de evitar por exemplo a entrada em "stress" do material biológico. As variações de humidade, oxigénio, CO_2 e outros gases, nomeadamente os compostos orgânicos que vão sendo libertados, no interior do frasco ao longo do período de encerramento influenciam o comportamento de emissão, não traduzindo condições próximas daquelas que se observam em condições naturais. O facto de se usar folhas inteiras também reduz a contribuição de emissões através dos tecidos destruídos. Estes factores podem conduzir a uma sobre-avaliação da taxa de emissão (Tingey *et al.*, 1991).

Os ensaios (incubação) foram efectuados à temperatura de 25°C e intensidade de luz que variou entre os 330 e os 500 $\mu mol_{fotões}.m^{-2}.s^{-1}$ consoante a posição do frasco lavador relativamente às fontes de luz. A iluminação fornecida num total de 634 W, era produzida por um conjunto de diferentes lâmpadas (uma de descarga de sódio, Philips 400 W, 3 de 18 W Osram "Grow-lux", 4 de 8 W Aqua-glow, 6 de 18 W Splendor "cool daylight", e 2 de 20 W Osram Dulux) distribuídas uniformemente no interior da estufa (16 lâmpadas). Toda a tubagem usada entre o gerador de ar puro e os medidores de caudal mássico eram de "Teflon" (PTFE, 1/4 de polegada), de modo a reduzir problemas de contaminação. Os tubos de "Teflon" que ligavam os frascos ao exterior (aos tubos de amostragem) foram envolvidos, assim como estes, por papel de alumínio para evitar possíveis reacções fotoquímicas.

Foram efectuadas três amostragens com este sistema, mas sem material biológico, de modo a avaliar o nível dos brancos. Não foram detectados picos de isopreno nem de monoterpenos identificáveis nestas amostragens. Os frascos lavadores no fim de cada ensaio eram lavados e secos. Visto não se ter detectado qualquer contaminação dos compostos que se pretendiam quantificar no ar de entrada foram efectuadas apenas amostragens ao ar de saída dos frascos com o material biológico, tendo sido dispensado o controle ao ar de entrada no sistema. No final de cada ensaio o material biológico era retirado e medida a área, sempre que possível, e o peso seco, após secagem, de acordo com o procedimento descrito adiante.

III.2.1.2 - Colheita e armazenamento do material biológico

Foram colhidos no campo ramos ou parte de plantas, que eram devidamente identificados e colocados em sacos de plástico limpos, que continham algodão embebido em água. A escolha dos ramos ou parte da planta teve sempre em conta a acessibilidade e o estado vegetativo e de vigor do material vegetal. Os sacos com as amostras eram então acondicionados no interior de uma caixa térmica e transportados para o laboratório. Aqui as plantas eram retiradas dos sacos e colocadas em recipientes com água. Os ensaios para avaliação das emissões de COVs eram efectuados num intervalo máximo de 24 horas, desde que se procedeu ao corte do material.

III.2.2- Método Dinâmico do Saco

Este método consiste no encerramento da planta no seu todo ou em parte, dependendo do seu tamanho, num saco, normalmente de Teflon por se tratar de um material "inerte". O termo dinâmico advém do facto de o sistema *(saco+planta)* ser varrido permanentemente por um caudal constante de ar, com a entrada de ar colocada normalmente em oposição à saída. O volume do saco é normalmente inferior a 30 litros, atendendo aos casos citados na literatura. O saco pode ter uma estrutura mais ou menos rígida de acordo com a sua dimensão e com os acessórios introduzidos, como por exemplo um agitador para intensificar a mistura e diversos sensores para registo de temperatura, humidade, etc. O agitador se por um lado tem a vantagem de promover a mistura no interior do saco e consequentemente diminuir a camada laminar à superficie das folhas, por outro torna o dispositivo mais pesado e menos flexível, podendo com facilidade ferir as folhas. O ar de varrimento usado no saco, ou câmara, pode ter origens diferentes: pode ser sintético de garrafa ou proveniente de um gerador de ar puro, ou então ser simplesmente ar ambiente. O mais económico é o uso do ar exterior ambiente, pois necessita apenas de uma bomba de vácuo. No entanto ao optar-se por este sistema deve-se ter em atenção a escolha do tipo de bomba, pois esta pode ser uma fonte de contaminações importante e implica também o controle do ar de entrada. As bombas recomendadas são bombas de diafragma em "Teflon" pois são das que garantem menor contaminação. O sistema pode ser optimizado usando um sistema de filtragem, por exemplo com carvão activado e filtro de particulas (fibra de vidro) de modo a reduzir o nível de contaminantes e interferentes, como por exemplo o ozono que pode reagir com os compostos orgânicos libertados pelas folhas. O uso de ar sintético permite a preparação de diferentes misturas, facilitando por exemplo a preparação de atmosferas com diferentes concentrações de CO_2 e de humidade, e estudar a resposta da planta a condições bem definidas à priori. O uso de ar sintético ou de ar puro em ensaios de campo torna-se pouco praticável implicando um maior volume e peso de equipamento a transportar, um maior consumo de energia no caso do gerador de ar puro o que por vezes é bastante limitante (normalmente os ensaios de campo são efectuados fora do alcance de redes de distribuição de electricidade, recorrendo-se frequentemente a geradores eléctricos a gasóleo ou gasolina) e torna-se mais oneroso em ambos os casos.

III.2.2.1 - Amostragem de isopreno e/ou monoterpenos no laboratório em plantas jovens.

Inicialmente pensou-se usar a estufa referida no capítulo anterior (III.2.1.1) para conduzir os ensaios com plantas jovens em condições preestabelecidas de temperatura, humidade e intensidade luminosa. Tal veio a manifestar-se impossível porque os materiais que forravam o interior da estufa eram uma fonte de contaminação de compostos orgânicos voláteis (esferovite e aglomerado de madeira), que passavam através das paredes do saco de teflon, interferindo com os compostos emitidos pelas folhas que se pretendiam quantificar. Por outro lado a estufa não tinha capacidade para operar a temperaturas inferiores a ~20°C quando se usava o máximo de iluminação. Como consequência optou-se por conduzir os ensaios no exterior estando-se sujeito às condições atmosféricas do momento.

O dispositivo de amostragem para medição das taxas de emissão de isopreno e /ou monoterpenos, figura III.12, por plantas jovens de eucalipto ou pinheiro era composto por:

- um saco semi-rígido, de filme de teflon FEP transparente (0,05 mm de espessura) e placa superior em teflon (diâmetro = 200 mm e espessura = 15 mm);
- gerador de ar puro, modelo Aadaco 737;
- válvula de regulação de caudal de amostragem (Hooke);
- medidor de caudal mássico;
- bomba de vácuo;
- sensores de temperatura de superfície;
- sensor de temperatura;
- sensor de radiação PAR (radiação fotossinteticamente activa).

O sensor de medição da radiação (medidor Quantum, Delta T) encontrava-se no exterior no topo da placa. A avaliação da radiação PAR recebida pelas folhas com este saco pode apresentar alguns erros devido ao ensombramento causado pela placa de teflon nos períodos em que o sol se encontra mais alto, menor inclinação dos raios solares. A atenuação da radiação na região do visível pelo filme de teflon não é significativo (Kelly, 1982). O ensombramento causado por umas folhas relativamente às outras é outra fonte de erro significativa na avaliação do efeito da radiação nas taxas de emissão e extremamente difícil de quantificar. Os sensores de temperatura de superfície foram usados para medição da

temperatura da folha, tentando-se colocar um em folhas ou agulhas mais expostas ao sol e o outro em folhas ou agulhas à sombra.

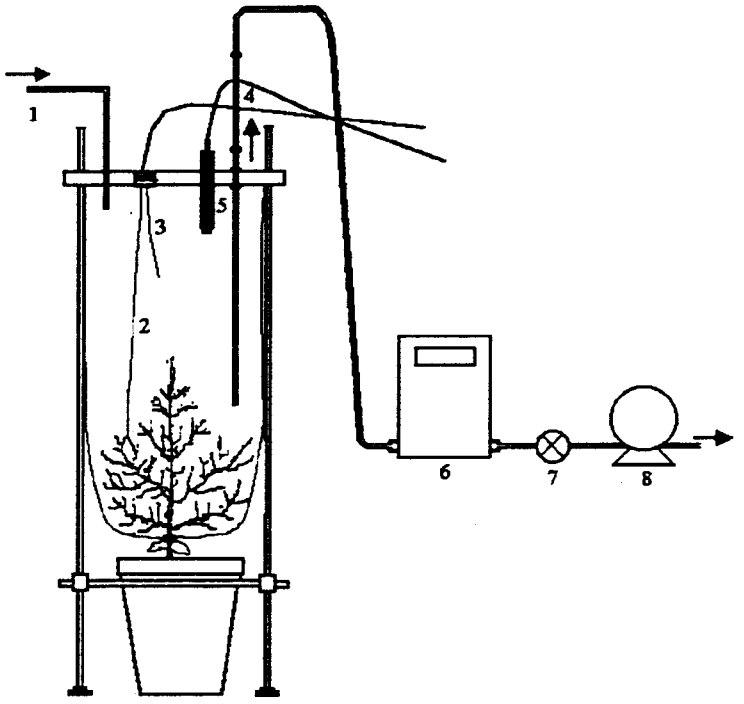


Figura III.12 - Sistema de amostragem usado em laboratório para amostragem de isopreno e monoterpenos por plântulas de pinheiro e eucaliptos jovens. (1- entrada do ar do gerador; 2- sensor de temperatura da folha; 3- sensor de temperatura do ar; 4- tubo Tenax; 5- sensor de humidade (HR) e temperatura; 6- medidor de caudal mássico; 7- válvula de agulha; 8- bomba de vácuo de diafragma).

O volume do saco não é fixo podendo ser ajustado à forma e quantidade de material vegetal usado. O volume interno do saco variou entre 18 e 25 litros. O saco na parte inferior era ajustado ao tronco ou ramo, tendo-se o cuidado de envolver esta parte da planta por filme de teflon para evitar que se ferisse esta zona da planta devido à fricção. O ar do gerador era então enviado para o interior do sistema pela parte superior do saco a um caudal conhecido, regulado e controlado no gerador (4-6 litros por minuto). O ajuste do saco ao ramo na parte inferior era tal que permitia uma ligeira sobrepressão no interior do sistema de modo a manter

as paredes do saco insufladas o que evitava o contacto das mesmas com as folhas de eucalipto ou com as agulhas de pinheiro, e por outro lado, evitava a entrada (difusão) de ar exterior. A tomada do ar para amostragem de COVs do ar de saída do sistema era feita através de um tubo montado na parte superior da placa de teflon mas afastado o mais possível da entrada de ar. A tubagem que conduzia o ar do gerador para o saco e deste até ao tubo adsorvente era toda em tubo de teflon.

O dispositivo de amostragem de monoterpenos no ar de saída do saco de plântulas de pinheiro consistiu apenas em um tubo de vidro com Tenax, protegido da luz por papel de alumínio, um medidor de caudal mássico, uma válvula "milimite" de regulação de caudal e uma bomba de vácuo. Nos estudos com eucalipto visto esta planta emitir isopreno foi acrescida a unidade de arrefecimento dos tubos e a de remoção do vapor de água. O caudal de amostragem de COVs variou entre 60 e 100 $ml.min^{-1}$ para o pinheiro e de 50 e 80 $ml.min^{-1}$ para os ensaios com eucalipto. O tempo de amostragem variou entre 5 e 30 minutos. Em ambos os casos os períodos mais longos de amostragem foram usados durante as amostragens nocturnas, quando as taxas de emissão são menores.

Tal como o descrito no capítulo anterior foram efectuados testes prévios para avaliar o nível de contaminações do sistema apresentado. Foram feitas 6 amostragens de ar de saída do saco mas tendo a planta sido substituída por uma haste de alumínio para fixação do saco. Os sensores vulgarmente usados foram mantidos no interior do saco. Os testes efectuados não apresentaram contaminações significativas na zona de saída do isopreno e monoterpenos, apesar de se observar um aumento do número e área de picos nos tubos analisados comparativamente a tubos Tenax brancos. Deste modo para avaliação das taxas de emissão foram efectuadas apenas amostragens ao ar de saída do saco. Nas figuras III.13 e III.14 podem-se observar dois cromatogramas típicos, com exemplos de emissões de plântulas de eucalipto e de pinheiro e na figura III.15 dois cromatogramas com amostras do ar de saída do saco sem planta (programa A e programa B de temperaturas).

A colheita da primeira amostra de ar do saco em qualquer um dos casos só era efectuada ao fim de uma hora após entrada em funcionamento de todo o sistema de amostragem, para permitir que este atingisse condições de equilíbrio dinâmico e se minimizassem as possíveis perturbações causadas pelo manuseamento do ramo.

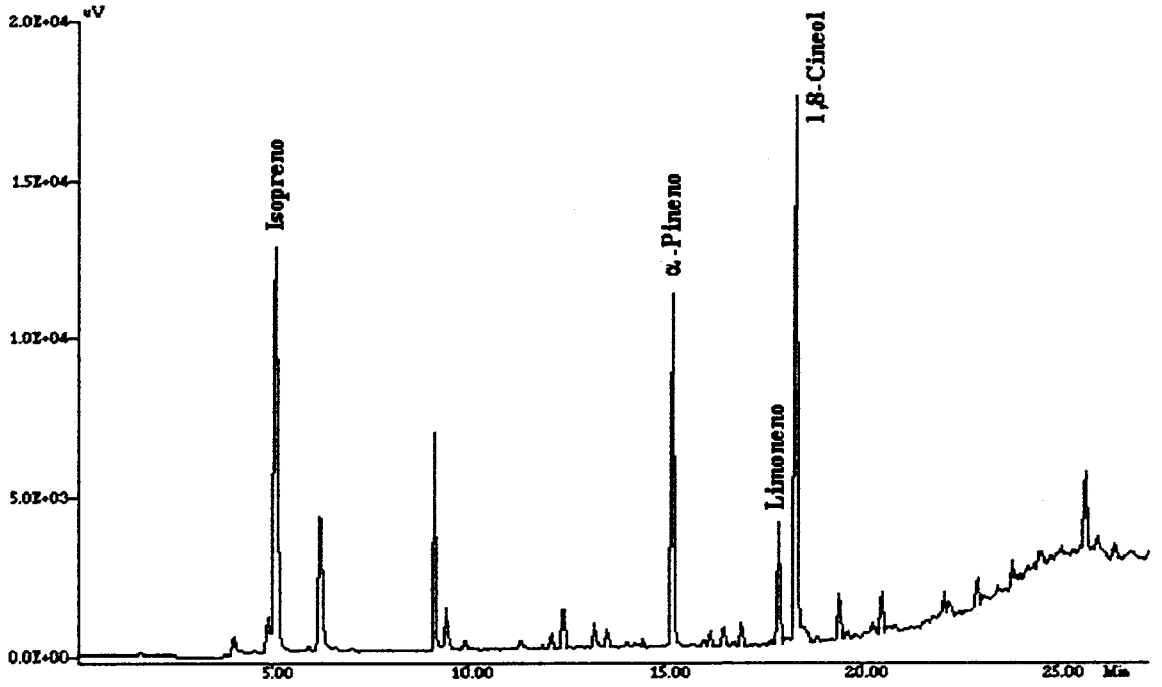


Figura III.13 - Exemplo de um cromatograma de uma amostra de ar de saída do saco com eucalipto jovem.

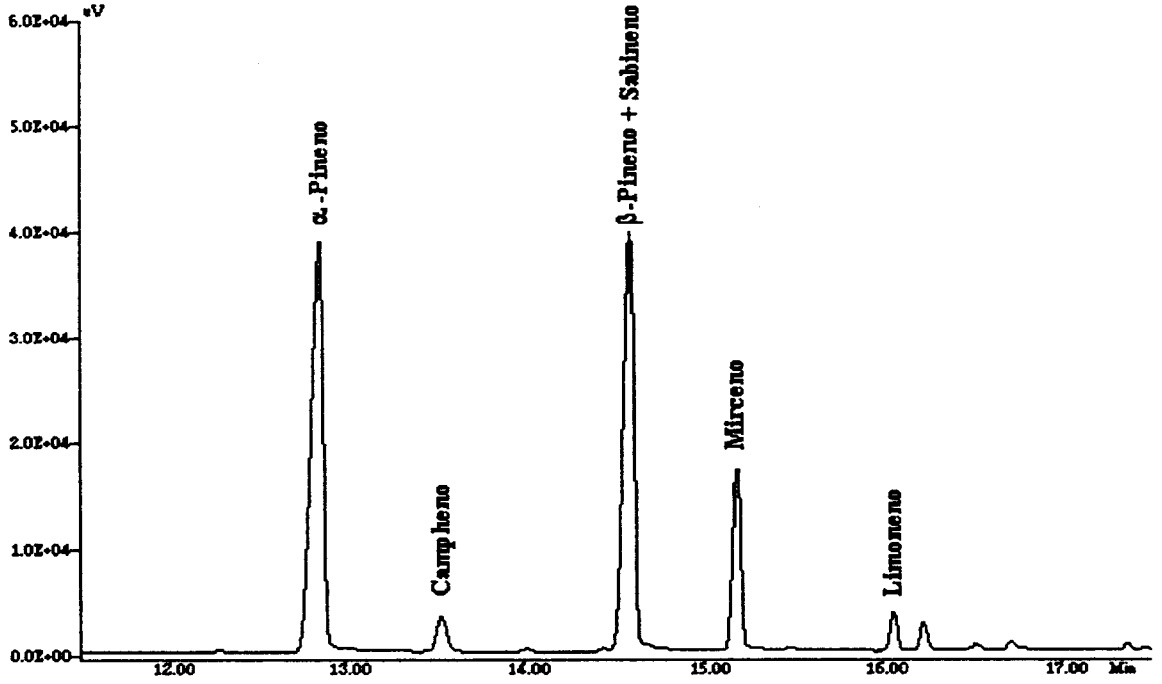


Figura III.14 - Exemplo de um cromatograma de uma amostra de ar de saída do saco com plântula de pinheiro.

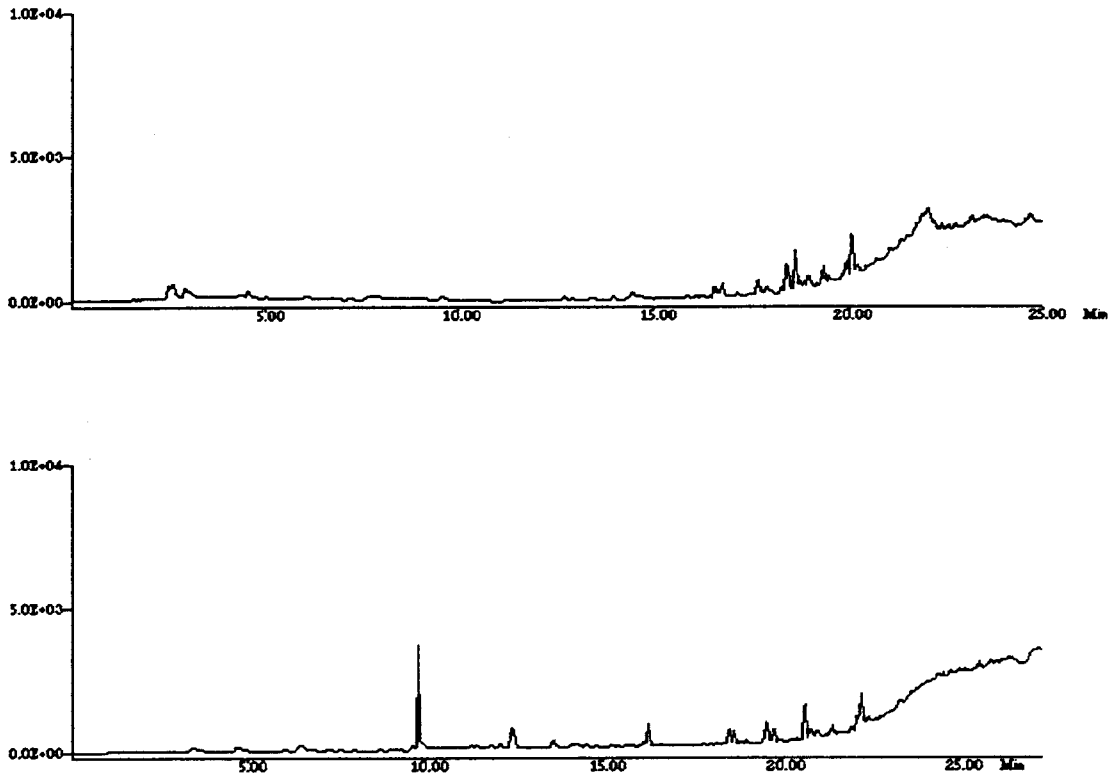


Figura III.15 - Exemplo de dois cromatogramas de amostras de branco do sistema usado para avaliar as taxas de emissão biogénicas de isopreno e/ou monoterpenos (em cima programa de temperatura A e em baixo programa de temperatura B)..

III.2.2.2- Amostragem de isopreno e/ou monoterpenos no campo em árvores adultas

Nos ensaios de campo para avaliação das emissões de isopreno e monoterpenos também foi usado o método do saco, tendo-se optado contudo por um modelo diferente, mais leve e flexível. Neste caso foram construídos 3 sacos integralmente em filme transparente de "Teflon" FEP (0,05 mm de espessura), dois com 50x75 cm, e um outro um pouco maior, com 70x85 cm. Um ramo terminal de eucalipto ou pinheiro era encerrado no saco sendo o volume interno variável em função das dimensões do ramo. Os sensores de humidade e temperatura assim como os tubos de teflon para entrada e saída do ar eram apoiados no ramo, tendo-se revestido previamente a zona de fixação onde estes se apoiavam por fita de "Teflon" para evitar que se ferisse esta zona. Seguidamente envolvia-se o ramo com o saco com o máximo

cuidado evitando a quebra de folhas ou agulhas e que estas ficassem a tocar as paredes. A selagem do saco ao ramo era feita um pouco acima da zona de fixação dos sensores e tubos. De imediato o saco começava a ser varrido por um caudal constante de ar ambiente filtrado, bombeado por uma bomba de "Teflon" (bomba de diafragma com cabeça de "Teflon", KNF mod.N726 FT 18). O uso de uma bomba de "Teflon" minimiza a contaminação do ar em hidrocarbonetos, comparativamente com outro tipo de bombas.

Na figura III.16 está representado esquematicamente o dispositivo usado no campo. Para reduzir os níveis de compostos orgânicos voláteis e ozono no ar de entrada para o saco foi usado um sistema de filtração constituído por um cartucho de carvão activado, regenerado recentemente, e um filtro de fibra de vidro para remoção de partículas. O caudal de ar bombeado para o saco nos diversos ensaios variou entre 4 e 7 litros por minuto, estimando-se o volume do saco entre 20 e 30 litros.

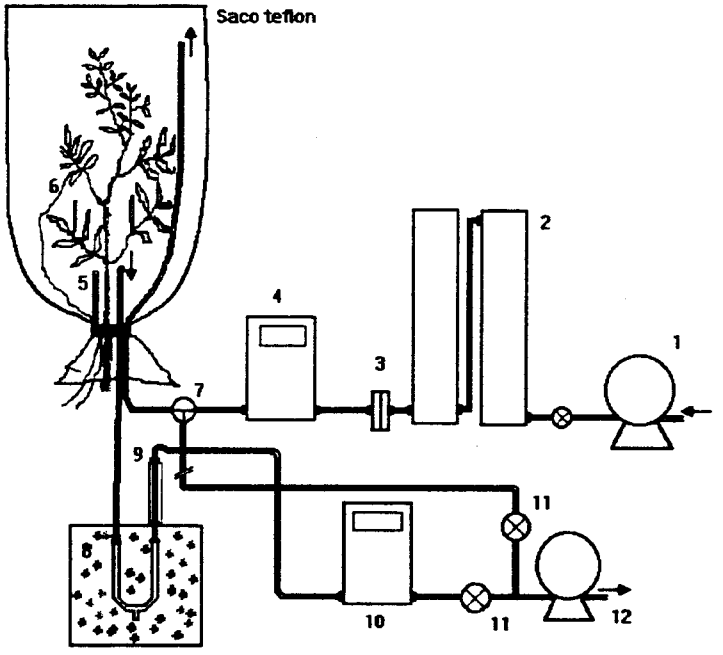


Figura III.16 - Representação do sistema de amostragem para avaliação das taxas de emissão de isopreno e monoterpenos, no campo, em árvores adultas. (1- bomba de "Teflon"; 2-colunas de carvão activado; 3- filtro de fibra de vidro; 4- medidor de caudal mássico; 5- sensor de humidade (HR) e temperatura do ar; 6- sensor de temperatura da folha; 7- válvula de 3 vias; 8- unidade de remoção de vapor de água; 9- tubo Tenax arrefecido; 10- medidor de caudal mássico; 11- válvula de agulha; 12- bomba de vácuo de diafragma.).

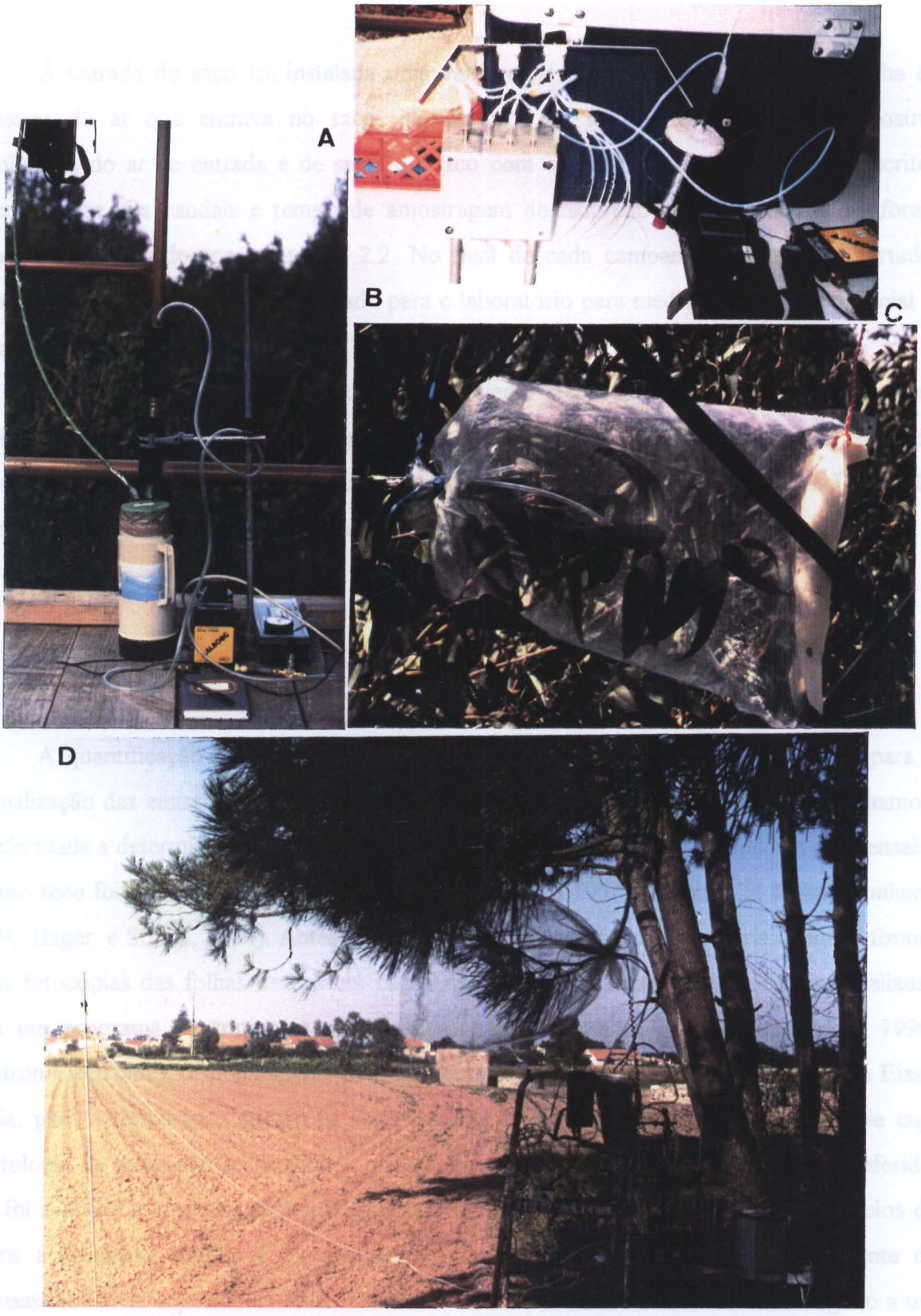


Figura III.17 - Alguns aspectos dos dispositivos usados no campo para avaliação das taxas de emissão pelo pinheiro e eucalipto. A e B - sistemas de amostragem de isopreno e monoterpenos (inicial e versão final respectivamente); C e D - ramos de eucalipto e pinheiro com saco de teflon.

À entrada do saco foi instalada uma válvula de três vias que permitia a recolha de amostras do ar que entrava no saco. Nos ensaios de campo foram tomadas amostras simultâneas do ar de entrada e de saída do saco com os sistemas de amostragem descritos anteriormente. Os caudais e tempo de amostragem de isopreno e/ou monoterpenos foram idênticos aos referidos no ponto 3.5.2.2. No final de cada campanha o ramo era cortado, colocado num saco limpo e transportado para o laboratório para medição da área superficial e determinação de peso seco das folhas.

A fonte de alimentação de todo o equipamento eléctrico usado no campo foram dois geradores a gasolina de 3 KW, funcionando alternadamente, colocados o mais afastado possível da tomada de ar para o saco, a jusante do vento dominante. Na figura III.17 são apresentadas algumas imagens do trabalho de campo com o eucalipto e com o pinheiro.

III.2.3 - Medição da biomassa

A quantificação da biomassa usada neste tipo de trabalhos é imprescindível para a normalização das emissões. No presente trabalho, em função dos meios de que dispúnhamos, foi efectuada a determinação da área e do peso seco do material vegetal usado em cada ensaio. O peso seco foi determinado por aquecimento em estufa a 105 °C durante 24 horas (Bonham, 1989; Hager e Sterba, 1984). Antes de se proceder à destruição do material vegetal foram feitas fotocópias das folhas usadas em cada ensaio as quais foram posteriormente avaliadas com um programa de tratamento de imagem por computador (Videoplan Re.2.2, 1990, Kontron Electronik), disponibilizado pelo ex-Centro de Investigação da Portucel-SA em Eixo-Cacia, para determinação das áreas. Para agulhas de pinheiro e uma ou outra espécie cuja morfologia da folha não se propiciava para aplicação da técnica disponível e acima referida, não foi avaliada a área mas somente o peso seco. A medição simultânea destes dois meios de referir a biomassa vegetal é extremamente útil pois permite determinar o coeficiente de biomassa foliar. A importância deste factor deve-se ao facto de ainda não se ter chegado a um consenso sobre representação de resultados normalizados, se em termos de área se em termos de peso seco. No caso de trocas gasosas entre as plantas e a atmosfera, transpiração,

fotossíntese, respiração, etc., as taxas são frequentemente expressas em função da área foliar enquanto os teores de certos elementos como o teor de azoto, metais, etc., são vulgarmente expressos em termos de peso seco. No caso das emissões biogénicas de COVs para a atmosfera, na literatura encontram-se tanto valores expressos por unidade de área foliar como por unidade de peso seco foliar. Por conseguinte se se fizer a avaliação destes dois parâmetros de quantificação de biomassa permite uma mais vasta gama de comparações com os dados de outros trabalhos afins.

IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1 - Avaliação da composição e da taxa de emissão de COVs emitidos pela vegetação dominante - Método semiquantitativo.

A caracterização das fontes biogénicas de compostos orgânicos para a atmosfera é bastante complexa devido à grande diversidade, quer de compostos emitidos, quer de espécies existentes. A nível mundial apenas se conhecem os padrões de emissão de alguns compostos, isopreno e monoterpenos, para um número reduzido de espécies. Os Inventários de emissões biogénicas de compostos orgânicos para a atmosfera têm sido efectuados, quase sempre, com base nas taxas de emissão obtidas para espécies de folhosas e coníferas dominantes da floresta dos Estados Unidos da América. O crescente interesse pelas emissões biogénicas ao nível da química da atmosfera fez com que a comunidade científica dos diversos países Europeus investisse nesta área de modo a ultrapassarem as grandes incertezas associadas à inventariação das fontes naturais de HCNM e obviamente permitir um melhor equacionamento dos problemas de poluição fotoquímica atmosférica. No final da década de 80 quando foram efectuados os primeiros inventários de emissões de HCNM biogénicos nacionais ao abrigo do programa CORINE uma das grandes dificuldades foi encontrar dados de emissões para a vegetação dominante. Por conseguinte, visto se estar no ponto zero, o primeiro passo a ser dado foi encontrar um caminho que nos permitisse ter uma ideia da composição e intensidade de emissão de COVs (isopreno e monoterpenos) pelas diferentes espécies que constituem o coberto nacional dominante. Neste contexto foi desenvolvido todo um trabalho, recorrendo sempre que possível a equipamento e material existente, até se apurar uma técnica de amostragem e análise de COVs que permitisse concretizar os nossos objectivos.

A selecção das espécies a estudar teve como ponto de partida o inventário florestal nacional visto ser a floresta uma das principais fontes de COVs para a atmosfera, senão a mais importante. Às espécies florestais juntou-se uma série de espécies arbustivas e herbáceas que ocorrem frequentemente nos ecossitemas florestais e/ou naturais. Investigaram-se ainda algumas espécies frutícolas e hortícolas. Ao contrário das espécies florestais, agrícolas e frutícolas para as quais se detém informação sobre a sua distribuição e abundância, as espécies

arbustivas e herbáceas não se encontram inventariadas a nível nacional de uma forma sistemática e quantitativa. A selecção das espécies a estudar teve por base a sua importância em termos de abundância relativa e/ou o facto de se tratarem de espécies bem típicas no país, como por exemplo o medronheiro, a figueira, a oliveira, a esteva, etc., apesar de poderem ter uma distribuição bem localizada e restrita. As espécies florestais referidas no inventário nacional foram todas contempladas neste estudo. No caso das espécies arbustivas e herbáceas, contemplaram-se aquelas que são referidas como frequentes ou abundantes nas obras bibliográficas , Nova Flora de Portugal (Franco, 1974; 1984) e Flora de Portugal (Coutinho, 1939), e que se encontravam facilmente na região. Nesta selecção contou-se ainda com o conhecimento e experiência do Dr. Angelo Pereira e Dr.ª. Rosa Pinho, especialistas em taxonomia de cormófitos do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro. No total foram investigadas cerca de 50 espécies dos grupos referidos anteriormente, entre Fevereiro e Agosto de 1992.

As espécies arbustivas e herbáceas foram colhidas na sua maior parte num local próximo de Aveiro, conhecido por Ribeira do Pano e as florestais na Quinta de S. Francisco, Eixo. Contudo espécies como a azinheira (Fátima), medronheiro (Sintra) e carvalho negral (Castelo Branco), tiveram proveniências diferentes visto não se encontrarem com facilidade na região. As restantes espécies foram colhidas na região de Aveiro. Para algumas espécies foram colhidas amostras em diferentes períodos, para avaliar a evolução das características de emissão com a idade da folha e da planta. Por exemplo foram efectuados alguns ensaios com a mesma espécie para comparar a emissão em período sem e com floração (ex.: *Caluna vulgaris*).

A quantidade de material vegetal utilizado em cada ensaio foi variável em função da espécie. Em média usou-se entre 0,1 e 0,2 g de material, expresso em peso seco. O máximo de material vegetal usado foi de 0,8 g e o mínimo de 0,06 g.

Os resultados obtidos para as diferentes espécies estão sintetizados na tabela IV.1, referindo-se apenas os compostos orgânicos voláteis predominantes emitidos por cada espécie e a sua intensidade segundo quatro classes: >7, de 2,5 a7, de 0,5 a 2,5 e <0,5 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$. No Apêndice A encontram-se os resultados individuais da taxa de emissão dos diferentes compostos encontrados para cada espécie assim como o coeficiente de biomassa foliar. Como se pode constatar do quadro, de um modo geral, as espécies que emitem grandes quantidades de isopreno apresentam pequenas emissões de monoterpenos e vice-versa. No grupo das

coníferas não foi detectada em nenhuma espécie emissão de isopreno. A técnica usada de um modo geral apresenta resultados coerentes e reprodutíveis principalmente ao nível da composição das emissões. Na tabela IV.2 apresentam-se os resultados individuais, em termos de percentagem da emissão total, dos compostos orgânicos emitidos mais frequentemente pelas diferentes espécies vegetais. A taxa de emissão de COVs totais é dada pelo somatório de isopreno e monoterpenos identificados, incluindo ainda uma série de compostos não identificados, oito no total, que ocorrem na região de saída dos monoterpenos e que são referidos no Apêndice A.

O método desenvolvido, apesar das limitações que lhe são reconhecidas, nomeadamente a do material vegetal sofrer um grande impacto devido ao corte e poder alterar significativamente o seu metabolismo e padrão de emissão, apresentou resultados de grande valor, não só do ponto de vista qualitativo como quantitativo. O facto de se ter usado folhas inteiras e uma renovação permanente do ar dos frascos reduziu os problemas de emissões furtivas resultantes da destruição dos tecidos e do "stress" causado pelo aumento ou diminuição da concentração de certos gases vitais ao metabolismo, como sejam o CO_2, O_2 e vapor de água. Por outro lado a renovação constante do ar evita a acumulação dos compostos que estão a ser emitidos podendo alterar o seu comportamento devido à redução do gradiente de concentração. No caso de espécies que apresentam folhas de grandes dimensões, eucalipto, nogueira, castanheiro, figueira, etc., foi extremamente difícil evitar o contacto de áreas significativas da folha com as paredes do frasco o que pode alterar o padrão de emissão. O uso de frascos de maiores dimensões para estes casos seria mais aconselhável.

Os valores das taxas de emissão de COVs encontrados com esta técnica também apresentam uma boa concordância com valores encontrados posteriormente na bibliografia para as mesmas espécies, obtidos em diferentes condições experimentais. Na tabela IV.3 são apresentados alguns dados colhidos na literatura para várias espécies comuns àquelas que foram analisadas. Por vezes a mesma espécie apresenta grande variabilidade de composição de planta para planta, como por exemplo o *Pinus pinea* e o *Pinus pinaster*, o que não é explicado somente pela técnica de amostragem que se usa, mas resulta possivelmente de diferenças intrínsecas de indivíduo para indivíduo. De um modo geral os compostos identificados e dominantes para cada espécie obtidos pelo método semi-quantitaivo e os da tabela IV.3 são comuns.

Tabela IV.1 - Caracterização sumária das emissões de isopreno e/ou monoterpenos das várias espécies vegetais investigadas pelo método semi-quantitativo

Espécies	isopreno	Monoterpenos	Compostos dominantes
Florestais			
Pinus pinaster		++++	α-β-pineno
Pinus pinea		+++	α-β-pin.-limon.-cineol-desc.4
Pinus silvestre		+++	α-β-pin-mirc.-limon.-desc.4
Pinus radiata		++	α-β-pin-limon-desc.7
Pseudotsuga menziezzi		++	α -β-pineno
Quercus suber		++++	α-β-pin-mirc.-limon.
Quercus ilex		++++	α-β-pin.-mirc.
Quercus robur	++++	+	isopreno
Quercus pyrenaica	++++	+	isopreno
Quercus coccifera	++++	+	isopreno
Eucalyptus globulus	++++	++	isopr.-α-pin-cineol-desc.8
Acacia dealbata		++	α-β-pin-cineol-desc.7
Acacia longifolia		+++	α-β-pineno-desc.7
Populus alba	++++		isopreno
Populus nigra	++++		isopreno
Salix alba	++++		isopreno
Salixatrocinera	++++		isopreno
Salix babylonica	++++		isopreno
Platanus hybrida	+++		isopreno
Laurus nobilis		++	cineol
Ulnus campestris		+++	canfeno- desc.7
Alnus glutinosa		+++	cineol-desc.2-desc.7
Arbutus unedo		++	mirceno-limoneno
Castanea sativa		++++	b-pin-vários
Ficus carica	++	+	isopreno-cineol
Juglans regia		+++	α-β-pin.-cineol-desc.1-desc.2
Eriobotrya japonica		++	a-pin-cineol-desc.7
Arbustivas e herbáceas			
Ulex europaeus	+++	++	isop.-α-pin-canf-cineol-desc.7
Chamaespartium trid.	+++	+++	isop.-cineol-desc.7
Erica umbellata	+	++	isop.-cineol-desc
Erica arborea		+	cineol
Erica cineria	++	++	isop.-desc.2
Erica australis	++	++	isop-cineol-descs
Erica ciliaris	+	++	cineol-desc.1-desc.2
Calluna vulgaris		+++	limon-cineol-desc.2
Daphne gnidium	++++		isopreno-desc.7
Cistus salvifolius		+++	α-pin-canf-vários
Cistus ladanifero		++++	α -β-pin-canf-limon-p-cim.
Lavandula luisieri		++	α-pin-canf.-cineol
Crataegus monogyna		++	α-pin-cineol-desc.7
Frangula alnus	+++	+	isopreno-cineol
Rubus ulmifolius		++	α-pineno-cineol
Pteridium aquilinum	++	++	isopreno-limon.-desc.7
Agrostis curtisii	+++	+	isopreno-limoneno

continuação

Fruticulas		
Olivcira	+	cincol-dcsc 7
Vidcira	+	cincol-dcsc.1
Laranjcira	+	α-pineno e cineol
Macicira	++++	cincol-dcsc.2
Pcrcira	+	α-pineno e cineol
Pcssegueiro	++	cincol-dcsc.7
Limoeiro	+	α e β-pineno e cineol
Horticulas		
batatcira	++	dcsc. 7
Fava	+	α-pineno-desc.6

++++ - >7 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$, +++ - 2.5 -7 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$, ++ - 0.5-2.5 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$, + - < 0.5 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$

Convém referir que o método de análise de terpenos não permite distinguir o β-pineno do sabineno, assim como o Δ3-careno do α-felandreno, pelo que, quando nos referimos a um deles estamos a falar no conjunto.

As poucas medições que foram efectuadas com folhas da mesma espécie em diferentes fases de crescimento apresentam um comportamento variável. Por exemplo para o *Pteridium aquilinum* (feto) não foram observadas diferenças significativas entre os dois períodos de amostragem (Maio e Julho).

Outras espécies como o *Pinus pinea* (pinheiro manso) e *Ulex europaeus* (tojo) apresentam algumas modificações, quer ao nível da composição quer da intensidade de emissão. Em certas espécies como a *Eriobotrya japonica* as folhas jovens apresentam taxas de emissão muito mais elevadas do que as folhas adultas. Comportamento semelhante apresentam as folhas jovens de *Eucalyptus globulus*, mas neste caso as folhas adultas e jovens apresentam dimorfismo. Pelo contrário em espécies como *Quercus ilex*, *Juglans regia*, *Chamaespartium tridentatum* e *Caluna vulgaris* parece que a taxa de emissão aumenta com o maior desenvolvimento das folhas.

O facto de se ter destacado as folhas ou pequenos fragmentos não parece afectar significativamente a taxa de emissão de isopreno e monoterpenos, parecendo-nos que a técnica pode servir perfeitamente para cumprir determinados objectivos como por exemplo a classificação das espécies em termos de emissoras ou não de isopreno, e mesmo por classes de intensidade, para aplicação ao desenvolvimento de inventários de emissão.

Neste rasteio, os resultados mais surpreendentes foram os que se relacionam com o sobreiro e a azinheira para os quais não havia nada publicado até ao momento. Contrariamente ao comportamento de outras espécies do mesmo género que emitem principalmente isopreno (Evans *et al.*, 1982, Tingey *et al.*, 1981) estas duas espécies emitem essencialmente monoterpenos com taxas bastante elevadas.

Estes resultados foram mais tarde confirmados no campo e em laboratório para a azinheira (Projecto BEMA - Campanha de Castelporziano) por vários grupos que têm trabalhado neste domínio (Seufert *et al.*, 1995, Kesselmeier *et al.*, 1996, Loreto *et al.*, 1996a). Outros resultados de grande interesse referem-se às emissões das espécies rasteiras que ocorrem frequentemente em ecossistemas florestais e naturais, em que se destacam a esteva, o tojo, a carqueja, a urze, os fetos, entre outras, pelas taxas relativamente elevadas que apresentam.

Tabela IV.2 - Variabilidade da taxa de emissão e composição das emissões de COVs emitidos por várias espécies pelo método de amostragem semi-quantitativo.

Espécie (nº réplicas)	Isopre. (%)	α-pin (%)	canfen (%)	β-pin+ sabin (%)	mircen (%1)	limon. (%)	cineole (%)	Total µg/g/h
Pinus pinaster (2)		57-58	1-1	40-39	1-1	1-1		7,6-8,7
Pinus sylvestris (2)		19-14		12-14	29-30	12-11		2,0-3,9
Pinus pinea jov (2)		18-13	10-14	4-4		46-57	22-12	1,1-2,1
Pinus pinea ad. (3)		8-14	n.d-3	5-11	7-13	13-25	13-31	0,97-2,1
Pinus radiata(2)		13-14		35-33		15-16	10-5	0,25-0,32
Quercus suber (4)		17-21	1-1	27-31	4-5	34-46	<1-13	7,1-37
Quercus ilex (4)		38-39	1-1	47-48	10-11	2-2	1-3	5,0-12
Euc. globulus (2)	61-54	3-4		1-1		1-1	33-38	9,7-10,0
Quercus robur (2)	95-97					4-3		21,2-23,7
Castanea sativa (4)		2-4	1-9	26-76		2-5		4,9-11,2
C. vulgaris flor (2)						40-73	41-16	0,17-0,2
C.vulgaris (2)		2-2					73-73	2,0-3,9
Cist. salvifolius (2)		67-56	12-12		4-4	1-1	3-12	4,4-6,0
Cist. ladanifero (3)		60-71	11-16		3-4	6-7	n.d-<1	16-31
Lav. luisierii (2)		22-22	37-40	1-2		9-9	17-22	0,76 1,2
Limociro (2)		40-47		13-16		7-9	17-15	0,07-0,09

Todos os estudos efectuados até ao momento tem indicado que a emissão de isopreno pelas diferentes espécies é dependente da radiação e da temperatura. Os monoterpenos na maior

parte dos casos tem sido considerados essencialmente dependentes da temperatura, apresentando uma dependência semelhante à da pressão de vapor com a temperatura. Os estudos recentes com *Quercus ilex* (Loreto *et al.*, 1996a e 1996b) revelaram que nesta espécie a dependência da emissão de monoterpenos é mais complexa, em muito análoga à dependência da emissão de isopreno com a luz e a temperatura. É evidente que o método aqui apresentado não permite observar a evolução da taxa de emissão de COVs em função da variação dos parâmetros ambientais ao longo do tempo, nem ser usado para o desenvolvimento de algoritmos de emissão mas poderá ser aplicado para investigar se a emissão de monoterpenos é ou não dependente da radiação, se a planta é ou não emissora de isopreno, se emite monoterpenos, quais os mais abundantes, etc.

O estudo intensivo do tipo e quantidade de compostos emitidos por cada espécie vegetal tem custos e consumo de tempo elevados tornando-se impraticável. O uso de uma técnica como a que foi desenvolvida permite avaliar semi-quantitativamente quais os compostos emitidos assim como a intensidade relativa das emissões. O facto de se poderem efectuar os ensaios sempre nas mesmas condições de luz e temperatura tem a vantagem de normalizar os resultados obtidos e permitir uma melhor avaliação das emissões de COVs provenientes das várias espécies.

Estudos deste tipo são uma ferramenta extremamente útil para a elaboração de inventários de emissão de COVs para a atmosfera, permitindo por exemplo uma classificação fundamentada das diferentes espécies em classes de emissão. Na inventariação de emissões de COVs biogénicos face ao estado de conhecimento actual é frequente o agrupamento de espécies em função do tipo e quantidade de compostos que emitem. No caso de espécies que nunca tenham sido estudadas do ponto de vista das emissões de hidrocarbonetos o simples facto de pertencerem ao mesmo género de uma espécie conhecida não é condição suficiente para a integrar no mesmo grupo. Ainda recentemente surgiu um artigo em que se apresenta uma metodologia para estimar as taxas de emissão biogénicas baseadas em relações taxonómicas (Benjamin *et al.*, 1996) em que o *Q. suber* e o *Q. ilex* aparecem como espécies emissoras de isopreno. Durante a década de oitenta e início da década de noventa os inventários de emissões de HCNM biogénicos para a Europa consideraram que o *Q. suber* e o *Q. ilex* eram fortes emissores de isopreno à imagem e semelhança do que se conhecia para outras espécies do mesmo género.

Tabela IV.3 - Taxa de emissão e composição das emissões de terpenos emitidos por algumas espécies referidas por diferentes autores.

Espécie	Referência	Composição percentual, taxa de emissão e temperatura
Quercus ilex	BEMA Hewitt *et al.*1995 (método do saco)	α-pineno-41-42; sabineno-22-24; β-pineno-26-24; mirceno-6-6; limoneno-2-2 γ-terpineno., canfeno e Δ3-caren.- ~1 8±2,8 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$ T 23,6±2,4
	BEMA Seufert *et al.*, 1995 (método do saco)	α-pineno+sabineno+β-pineno+mirceno>90 3-30 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$ Text-22-30°C
	BEMA Kesselmeier *et al.*, 1996 ("cuvette")	α-pineno-33,5 sabineno-10,1; β-pineno-22,9; mirceno-2,3; p cimeno-4,6; 1,8-cineol-8,5;limoneno-3,2; canfeno-2,7; γ-terpineno-3,5 5-28 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$ T - 27 a 35°C
Pinus pinca	Corchnoy *et al.*, 1992 (método do saco)	Limoneno- 54; trans ocimeno- 21; α-pineno-7; β-pineno-14 0,42±0,19 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$ T - 30°C
	BEMA Fugit *et al.*, 1995 (método do saco)	Limoneno- 23 -79; α-pineno- 13-39; ,8-cineol- 0,3-11; mirceno- 1,5-24,4; trans ocimeno- 2,6-10; linalool- 3,3-51 0,84-2,7 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$ T- 25-30°C
Pinus radiata	Corchnoy *et al.*, 1992 (método de saco)	α-pineno-41; β-pineno-40; limoneno-12; mirceno-7; 0,90±0,18 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$ T-30°C
Pinus sylvestris	Janson, 1992 (método do saco)	α-pineno- 34-55; canfeno-<1-4; β-pineno-nd-5; 3-careno-29-61; limoneno-nd-10;
	Steinbrecher, 1994 ("cuvette")	α-pineno- 43-33; β-pineno-19-26; mirceno-26-34; limoneno-9-6; p-cimeno-4-2 14-34 ng $C.m^{-2}.s^{-1}$ T-6-16°C
Eucaliptus globulus	Monson *et al.*, 1991 ("cuvette")	isopreno-70 nmol $C.m^{-2}.s^{-1}$; α-pineno-15 nmol $C.m^{-2}.s^{-1}$; 1,8-cineol-73 nmol $C.m^{-2}.s^{-1}$ 28°C e 1000 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$
	Evans *et al.*, 1982 (método do saco)	isopreno-85; α-pineno-2,5: β-pineno-1,3; ocimeno-1,8; 1,8-cineol-7,8; limoneno-1,5 45,3 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$ 8°C e 1000 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$
	neste trabalho (método do saco)	isopreno, α-pineno e cineol mais abundantes
Pinus pinaster	Simon *et al.*, 1992 (método do saco)	α-pineno-33; β-pineno-35; canfeno-2; mirceno-15 Δ3-careno-17 e limoneno-15
	neste trabalho (método do saco)	α-pineno e β-pineno mais abundantes

Com este trabalho foi possível chamar a atenção para o facto de que estas duas espécies, as quais tem uma área de ocupação significativa no sul da Europa, apresentam um comportamento diferente, e contrariamente ao que se supunha não emitem isopreno mas sim quantidades elevadas de monoterpenos.

Das taxas de emissão medidas para as diferentes espécies e tendo em conta a sua ocupação espacial podemos concluir que para a construção de um inventário de emissões de COVs biogénicos a nível nacional, podemos apenas incluir as quatro espécies florestais dominantes. A contribuição para as emissões de COVs provenientes de algumas espécies arbustivas como a esteva pode ser bastante importante mas a sua dimensão não pode ser avaliada pois não se conhece a nível nacional a sua distribuição quantitativa.

IV.2 - Avaliação da composição e da taxa de emissão de HCNM pelo *Pinus pinaster* e *Eucaliptus globulus*

Entre as quatro espécies florestais nacionais mais abundantes foram seleccionadas o pinheiro e o eucalipto para serem alvo de um estudo mais aprofundado. O critério que determinou a sua escolha em detrimento das outras, azinheira e sobreiro, foi sobretudo o facto de ambas serem as espécies mais abundantes na Região Centro, dado que todas são importantes a nível nacional. Por outro lado quer o pinheiro quer o eucalipto possuem uma densidade de biomassa foliar 2 a 3 vezes superior à do sobreiro e da azinheira.

A avaliação da taxa de emissão de hidrocarbonetos voláteis pelo eucalipto e pinheiro bravo foi efectuada a dois níveis:

•ensaios efectuados com plantas jovens envasadas, quer de pinheiro, quer de eucalipto, com idades compreendidas entre 1-2 anos;

•ensaios efectuados no campo em ramos de árvores adultas.

Os pés de pinheiro foram obtidos da estação florestal da Mealhada e os de eucalipto dos viveiros do Centro Tecnológico da Portucel, Eixo. Os pés de pinheiro encontravam-se ainda na fase de plântula. Durante o período em que decorreu o trabalho experimental, Fevereiro a Junho de 93, com a fase de crescimento apareceram os primeiros pares de agulhas regulares. Os ensaios com plantas envasadas, devido a limitações temporais e de equipamento, serviram acima de tudo para aferir as condições de operação nos ensaios de campo.

Os ensaios com árvores adultas decorreram em dois locais distintos. Inicialmente foi seleccionado um pequeno pinhal numa região agrícola nas proximidades de Aveiro, a cerca de 10 Km para Sul, no lugar conhecido por Vale de Ílhavo. Os critérios de selecção do local tiveram a ver com um outro projecto paralelo e complementar a este, em que se pretendia avaliar também as emissões de terpenos pelo pinheiro, mas pela técnica do "tracer" (Valente, 1995). Este local tinha a particularidade de integrar ainda uma meia dúzia de eucaliptos com a mesma idade dos pinheiros, ~16 anos. Foi instalada uma torre de 16 metros de altura para permitir o acesso ao nível médio da copa das árvores, quer de pinheiro quer de eucalipto. Os primeiros ensaios de campo iniciaram-se em Junho de 92. Durante o mês de Agosto a torre foi furtada, sendo repensado o programa de ensaios de campo. O investimento em nova torre para o local foi posto de lado. No entanto dado os ensaios para avaliação dos fluxos de terpenos

pelo *Pinus pinaster* pela técnica do "tracer" serem aqui efectuados, e os pinheiros periféricos possuírem ramos a cerca de dois metros do solo manteve-se este local para avaliação das emissões no pinheiro pelo método do saco.

O estudo das emissões de HCNM pelo eucalipto em árvores adultas foi transferido para outro local. A selecção do novo local esteve relacionado com um projecto comunitário em que o Departamento de Ambiente e Ordenamento esteve envolvido, Projecto FIELDVOC, e que tinha por objectivo o estudo do comportamento químico do isopreno na atmosfera. Sabendo-se já na altura, quer por ensaios prévios efectuados no laboratório e no primeiro local com eucalipto, quer por uma publicação surgida em 91 (Guenther *et al.*, 1991) que esta espécie emitia grandes quantidades de isopreno os povoamentos de monocultura de eucalipto eram por conseguinte um local adequado aos objectivos do projecto. Foi então seleccionado um local numa extensa área de eucaliptal no conselho de Tábua, Quinta das Corgas - Sinde, propriedade da empresa de celulose CELBI. Foi instalada uma torre com 20 metros de altura que permitia o acesso à copa das árvores que haviam sido plantadas em 1987. Os ensaios com pinheiro e eucalipto em ambos os locais foram alternando entre Junho de 92 e Outubro de 94.

IV.2.1 - *Pinus pinaster*

IV.2.1.1 - Composição de terpenos na emissão

Plântulas de pinheiro

Os ensaios para medição das taxas de emissão de terpenos em plântulas de pinheiro foram conduzidos no exterior com o método dinâmico do saco, descrito no capítulo III.2.2. Foram usadas cinco plantas sendo por vezes a mesma planta estudada continuamente durante vários dias. A maior parte das amostragens decorreram entre as 9 e as 20 h.

Durante os quatro meses em que decorreram os ensaios, os vasos com as plântulas de pinheiro permaneceram no exterior, sendo regados regularmente. À data em que se iniciaram os ensaios já todas as plântulas apresentavam no gomo de crescimento agulhas do novo período vegetativo. Em Fevereiro as novas agulhas encontravam-se ainda completamente envolvidas pela bainha.

Apesar do número de dados experimentais obtidos ser demasiado reduzido para permitir um tratamento estatístico aprofundado foi possível retirar algumas conclusões pertinentes ao nível da composição das emissões e da dependência da taxa de emissão de terpenos com a temperatura e com a humidade. Nestes ensaios foi usada toda a parte aérea da plântula, excluindo-se apenas a parte inferior do pequeno tronco com agulhas singulares secas. Para se ter uma ideia do crescimento das plântulas durante o período em que decorreram os ensaios apresenta-se na tabela IV.4 a quantidade de material vegetal usado, subdividido em dois grupos de acordo com a idade (velho - o material vegetal existente até à estação de crescimento anterior; novo - o material vegetal da nova estação de crescimento). Refere-se o comprimento e peso seco de tronco e o peso seco de agulhas.

Tabela IV.4 - Peso seco de agulhas e do tronco das plântulas de *Pinus pinaster* usadas nos ensaios de laboratório.

Plântula	tronco velho - novo (cm)	tronco (mg)	agulhas velhas (mg)	agulhas novas (mg)	agulhas secas (mg)
1	10,7 - 6,2	364	655	167,9	38,8
2	9,4 - 5,3	393	711	991,9	60,4
3	10,5-5,8	721	3557*	623	126

* - esta planta possuía agulhas velhas dos dois tipos: singelas e em fascículo de duas.

As emissões de plântulas de pinheiro são constituídas maioritariamente pelos monoterpenos α e β-pineno, que alternam entre si a liderança, seguidos de canfeno , mirceno e limoneno. Foi detectada sistematicamente a presença de um composto não identificado que também aparece na composição das emissões de agulhas de árvores adultas e aqui referido por composto ***a***. Com excepção dos dois monoterpenos mais abundantes, as concentrações dos outros compostos descem por vezes abaixo do limite de detecção, não sendo possível então a sua quantificação. A tabela IV.5 apresenta a composição percentual média das emissões de terpenos obtidas nos diferentes ensaios com as 5 plântulas.

Tabela IV.5 - Composição percentual de terpenos nas emissões de plântulas de pinheiro, média ± desvio padrão, seguida de mínimo-máximo. Em parêntesis aparece o número de amostragens efectuadas; n.d.- não detectado

Data	α-pin.	canfeno	β-pin.	Mirceno	limoneno	desc a
Plântula 1						
15-2-93	34,8±1,9	5,7±0,42	51,4±3,2	3,1±1,6	2,6±0,29	2,4±0.21
(8)	32,4-38,8	4,9-6,1	45,7-54,7	1,9-6,7	2,4.-3,1	2,0-2,8
16-2-93	35,5±19	4,2±1,2	52,7±3,4	3,6±1,4	2,0±1,0	2,1±1,1
(15)	33,0-39,4	n.d.-5,2	48,4-63,1	n.d.-5,4	n.d.-2,7	n.d.-3,2
18-2-93	34,7±3,1	2,4±2,0	59,3±6,2	1,2±1,2	0,68±1,0	1,7±1,5
(9)	26,8-38,9	n.d.-4,6	54,0-73,2	n.d.-2,7	n.d.-2,5	n.d.-4,4
19-2-93	34,2±1,4	5,1±0,32	55,3±1,5	1,6±0,62	1,9±0,78	2,0±0,82
(8)	37,0-32,2	4,8-5,8	52,5-57,9	n.d.-2,1	n.d.-2,5	n.d.-2,6
Plântula 2						
25-2-93	37,6±3,8	5,0±0,59	43,3±3,2	6,6±1,0	5,5±2,1	2,1±0,80
(9)	28,6-43,6	3,9-5,6	38,4-48,8	4,4-8,2	n.d-8,1	n.d.-2,9
26-2-93	39,1±1,2	5,4±0,4	44,5±1,6	4,0±0,33	4,9±0,71	2,0±0,28
(9)	36,8-40,7	4,8-6,5	41,9-47,1	3,3-4,4	4,2-6,8	1,5-2,4
16-3-93	39,6±1,7	3,3±1,2	34,1±0,87	17,1±1,9	4,4±0,84	1,5±0,10
(11)	37,2-43,6	2,7-6,8	32,2-35,3	14,3-20,9	3,0-6,4	1,1-1,7
17-3-93	41,6±1,0	3,3±0,27	37,2±0,82	12,7±0,98	3,8±0,92	1,5±0,13
(9)	40,2-43,0	3,0-3,9	35,7-38,9	11,3-13,8	1,4-4,7	1,3-1,8
18-3-93	35,7±0,49	3,8±0,98	32,1±2,0	9,6±0,94	18,0±2,0	0,76±0,94
(5)	35,2-36,5	2,9-5,2	22,9-25,8	7,9-10,7	15,3-20,9	n.d.-2,1
Plântula 3						
4-5-93	34,8±3,1	3,9±0,8	54,5±1,9	2,2±0,3	2,3±0,3	2,3±0,5
(9)	31,2-40,2	2,8-4,7	51,8-57,2	1,6-2,6	1,6-2,7	1,6-3,1
14-5-93	36,3±1,0	3,6±0,7	53,5±1,6	2,3±0,2	2,2±0,2	2,1±0,04
(4)	34,8-37,1	3,1-4,6	51,7-55,6	2,1-2,5	2,1-2,4	2,1-2,1
17-5-93	37,7±1,3	3,1±1,3	55,8±2,5	0,7±0,59	1,4±0,78	1,2±0,66
(13)	36,9-40,2	n.d.-4,5	52,4-60,9	n.d.-1,3	n.d.-2,2	n.d.-1,8
Plântula 4						
4-5-93	36,9±2,8	4,1±0,15	53,6±1,2	2,1±1,3	1,7±1,2	1,7±1,1
(4)	34,8-41,0	3,9-4,3	52,1-54,8	n.d.-2,8	n.d.-2,4	n.d.-2,3
Plântula 5						
4-6-93	37,6±1,6	1,7±0,15	57,3±1,4	1,2±0,51	1,1±0,47	1,1±0,48
(8)	34,6-39,5	1,5-2,0	55,7-59,7	n.d.-1,5	n.d.-1,4	n.d.-1,5

Os conjuntos de ensaios efectuados com as plântulas 1, 3, 4 e 5 apresentaram quase sempre uma maior quantidade de β-pineno do que α-pineno nas suas emissões, tendo-se observado um comportamento um pouco mais irregular nos ensaios efectuados com a *plântula 2*. As emissões de α e β-pineno representam mais de 80% das emissões de compostos terpénicos nas quatro plântulas referidas anteriormente.

A composição das emissões da *plântula 2* foi mais variável, com níveis médios de mirceno e limoneno superiores às restantes plântulas. Esta plântula, estudada continuamente por um período de três semanas, apresentou um enriquecimento nítido de mirceno de Fevereiro para Março e no último dia de ensaios apareceram teores elevados de limoneno, de uma forma consistente, em média quatro vezes superiores aos registados em ensaios anteriores. Segundo Zimmermann-Fillon e Bernard-Daban (1977) a biossíntese do mirceno e limoneno no *Pinus pinaster* tem um aparecimento mais tardio do que os pinenos e a sua elaboração é quase exclusivamente ao nível das agulhas e tecidos corticais. A presença de níveis de mirceno e limoneno mais elevados nesta plântula do que nas restantes pode dever-se a um fenótipo de pinheiro diferente das restantes. A composição dos óleos essenciais de *Pinus pinaster* é diferente consoante os fenótipos, sendo usada precisamente a composição química (quimiotaxonomia) dos óleos essenciais para fazer a sua distinção (Zimmermann-Fillon e Bernard-Dagan, 1977; Gleizes *et al.*, 1982; Bernard-Dagan *et al.*, 1982). Por outro lado ainda, segundo estes autores, a composição de terpenos nas agulhas é muito variável com a idade das mesmas.

As emissões de Δ_3-careno foram apenas vestigiais enquanto o canfeno apareceu de uma forma regular para todas as plântulas. Este comportamento é inverso do que tem sido observado nas emissões terpénicas de árvores mais velhas. Também na composição de óleos essenciais obtidos de agulhas, o canfeno aparece apenas em quantidades vestigiais enquanto o Δ_3-careno aparece em concentrações mais elevadas (Torres, 1994; Pauly *et al.*, 1973). A capacidade de síntese do Δ_3-careno pelas agulhas de pinheiro parece estar dependente da idade da planta e possivelmente só aparece num estádio de crescimento mais avançado.

Apesar dos ensaios terem sido conduzidos durante um período de crescimento intenso, como se pode depreender dos dados da tabela IV.4, ao qual está associada uma actividade secretora bastante intensa ao nível das células epiteliais da zona basal das agulhas (Bernard-Dagan *et al.*, 1979), não foram detectadas modificações significativas ao nível da composição de terpenos emitidos de plântula para plântula, com excepção da segunda.

Foram observadas variações na composição das emissões ao longo de um dia ou de um dia para o outro mas não se consegue definir um padrão. A variação na composição pode ainda estar parcialmente mascarada pelo facto de em alguns casos não ser possível a quantificação dos monoterpenos minoritários e pelos erros inerentes à técnica analítica. Uma outra contribuição para a variação na composição pode resultar do manuseamento durante a colocação do saco. Um pequeno ferimento nas agulhas ou no tronco pode alterar significativamente a relação entre a contribuição dos diferentes órgãos da planta para a composição de terpenos emitidos.

Enquanto a composição das emissões parece não ser significativamente afectada pelo facto de as agulhas se encontrarem molhadas ou não, ao nível da taxa de emissão observa-se um aumento drástico quando a agulha se encontra revestida por pequenas gotícula de água (ver desenvolvimento do assunto no capítulo seguinte).

Pinheiros adultos

Foram efectuadas amostragens em 92, 93 e 94, divididas por várias campanhas. A planificação das campanhas foi, em parte, comum a um outro trabalho complementar a este (ver tese de Valente, 1995) tentando-se acompanhar as emissões de terpenos pelo pinheiro bravo durante um ciclo vegetativo. Devido a condicionantes meteorológicas e logísticas não foi possível efectuar amostragens nem no outono nem na primavera. As amostragens de 92 foram efectuadas em ramos de um verticelo da zona média da copa e em 93 e 94 usaram-se ramos dos verticelos inferiores da copa, devido ao desaparecimento da torre de amostragem como foi referido atrás. Em ambos os casos, os ramos usados, apresentavam agulhas do corrente ano e do ano anterior.

Os ensaios efectuados em 92 tiveram alguns problemas pois algum do equipamento não se encontrava ainda devidamente testado em operação contínua. Inicialmente tentou-se o uso de uma bomba de diafragma à qual havia sido trocado o diafragma de origem (borracha) por uma membrana de "Teflon", de modo a baixar o nível de interferentes no ar de entrada para o saco. O sistema de amostragem usado era análogo ao descrito no capítulo III.2.2 só que em vez de uma bomba de "Teflon", usava-se esta bomba de diafragma adaptada e o sistema de purificação do ar continha ainda colunas com peneiros moleculares ("molecular sieve" 13X e 5A). Este sistema havia sido testado previamente, tendo-se mostrado eficiente por períodos de 4 horas no local em que viriam a ser efectuados os ensaios e até 6 horas de

operação em contínuo com colheita de ar exterior ao laboratório . No entanto a bomba com a continuidade e o aumento de humidade nocturna, tornava o sistema de remoção de interferentes inoperante, não permitindo a correcta quantificação dos diferentes monoterpenos. Das campanhas de 92 apenas se aproveitaram 18 amostragens divididas por 4 dias, em Julho e Agosto (8 e 28/7; 4 e 5/8). Em 93 realizaram-se 4 campanhas (16/6, 14/7, 27/7 e 2/8) e em 94 uma campanha em Fevereiro.

As primeiras três campanhas de 93 decorreram apenas durante parte do período diurno enquanto as duas últimas, 2/8/93 e 9/2/94 ultrapassaram o ciclo diário. Na 3ª e 4ª campanhas de 93 efectuaram-se amostragens paralelas em dois ramos da mesma árvore. Os ramos de pinheiro usados na terceira e quarta campanha de 93, e em 94, pertenciam à mesma árvore. Na campanha de Fevereiro, os ramos de pinheiro encontravam-se em florescência.

Tabela IV.6 - Composição percentual de terpenos nas emissões de ramos de pinheiro, média ± desvio padrão, seguida de mínimo-máximo. Entre parêntesis aparece o número de amostragens efectuadas

Data	α-pin.	β-pin.	Mirceno	Δ_3-car	limoneno	desc a	desc. b
1992	18,2±7,6	34,2±14,8	12,9±2,9	0,16-0,30	1,3±0,30	vestígio	9,7±4,6
(18)	6,9-32,7	10,2-57,2	9,8-22,3	n.d.-1,1	0,98-2,0		4,7-22,6
16-6-93	50,8±4,0	34,1±1,5	5,2±0,99	2,7±0.88	1,6±0,18	1,23±0,34	3,2±0,80
(10)	43,6-56,3	32,2-37,0	4,2-7,1	1,7-4,5	1,4-1,9	0,96	2,0
14-7-93	7,8±1,6	10,0±2,2	7,3±0,62	n.d.	2,8±0,30	0,99±0,14	7,8±1,3
(9)	5,0-10,2	6,8-13,9	6,4-8,4		2,4-3,2	0,77-1,2	6,5-9,8
27-7-93	22,4±5,1	33,1±9,2	7,9±1,2	5,9±1,4	1,3±0,15	1,9±0,43	26,9±10,9
(9)	16,8-33,9	23,4-49,8	6,3-10,0	4,3-8,1	1,0-1,5	1,4-2,7	11,9-43,4
27-7-93	26,5±2,9	32,7±9,4	7,7±1,4	6,2±2,5	1,4±0,22	2,1±1,3	22,6±9,3
(10)	23,1-31,3	18,6-50,4	5,8-10,0	4,0-11,7	1,1-1,9	1,2-5,7	7,9-35,5
2-8-93	22,5±3,2	40,5±8,4	12,1±3,8	9,7±4,1	1,2±0,31	2,3±0,41	11,2±9,2
(18)	18,3-29,2	27,0-53,6	7,5-21,0	4,3-17,5	0,58-1,9	1,7-3,0	2,0-35,4
2-8-93	31,9±3,4	40,3±7,0	7,8±1,0	5,6±0,90	1,4±0,19	2,2±0,47	10,7±6,9
(19)	25,7-38,3	31,9-56,6	5,7-9,8	4,2-7,3	1,2-2,1	1,5-3,4	1,8-24,5
9-2-94	32,5±3,2	29,5±3,3	10,4±2,3	13,3±1,6	1,7±0,65	2,4±0,60	10,3±4,5
(30)	26,3-40,1	24,9-41,1	7,1-14,4	10,4-16,9	0,99-3,5	1,5-4,4	5,4-22,3

Na tabela IV.6 apresenta-se uma síntese da composição percentual média e desvio padrão de terpenos identificados nos ensaios. Os compostos identificados nas emissões de agulhas de pinheiro adulto foram os mesmos que nas agulhas de plântulas, com excepção do canfeno que aqui ocorre apenas em quantidades vestígiais, com média inferior a 1%. De um modo geral o composto mais abundante nas emissões foi o β-pineno. Foi registada ainda a presença de Δ_3-careno e de um outro composto que elui com um tempo de retenção igual ao do 1,8-cineol, *composto b* e que representa cerca de 10% da emissão total de compostos terpénicos. Surgiu ainda um outro composto, *composto c*, com um tempo de retenção superior ao do 1,8-cineol, mas nem sempre foi detectado. Este composto assume proporções destacadas na campanha de 14 de Julho, aparecendo como composto dominante. Detectaram-se também vestígios de α-terpineno.

De um modo geral o 1,8-cineol não é referido na composição das essências obtidas de agulhas de pinheiro. Torres (1994) nos estudos realizados na Floresta dos Landes, França referem a presença de 1,8-cineol nas emissões de agulhas de *Pinus pinaster*, o que foi confirmado por GC/MS, mas o mesmo composto não foi detectado em extractos das mesmas agulhas. O composto ***b*** foi também observado na composição das emissões de resina e na atmosfera local de pinhal resinado, não tendo sido contudo detectado na composição da resina (Valente, 1995).

A composição das emissões de terpenos pelas agulhas de pinheiro adulto apresentaram maior variabilidade do que o que foi observado em plântulas, principalmente para o β-pineno. Os dados de 92, comparativamente com os de 93 e 94, ainda apresentaram maior variabilidade possivelmente devido aos problemas referidos atrás que aumentaram o ruído das medições. A variabilidade da composição das emissões de terpenos das agulhas de plântulas e de pinheiro adulto (apenas dados de 93 e 94) pode ser melhor entendida pelos gráficos das figuras IV.1 e IV.2, em que se relaciona a percentagem de cada monoterpeno com a temperatura. Deste modo é bem visível a maior dispersão de valores no gráfico relativo a ramos de pinheiros adultos. Quer nas plântulas, quer nos ramos de árvores adultas, a percentagem de β-pineno tende a diminuir com o aumento da temperatura. O efeito da temperatura nos outros dois compostos, α-pineno e mirceno não é tão acentuado mas difere nos dois casos: a percentagem de α-pineno e mirceno nas emissões de plântulas tende a aumentar com a temperatura, enquanto nos ramos de árvores adultas se nota um pequeno decréscimo.

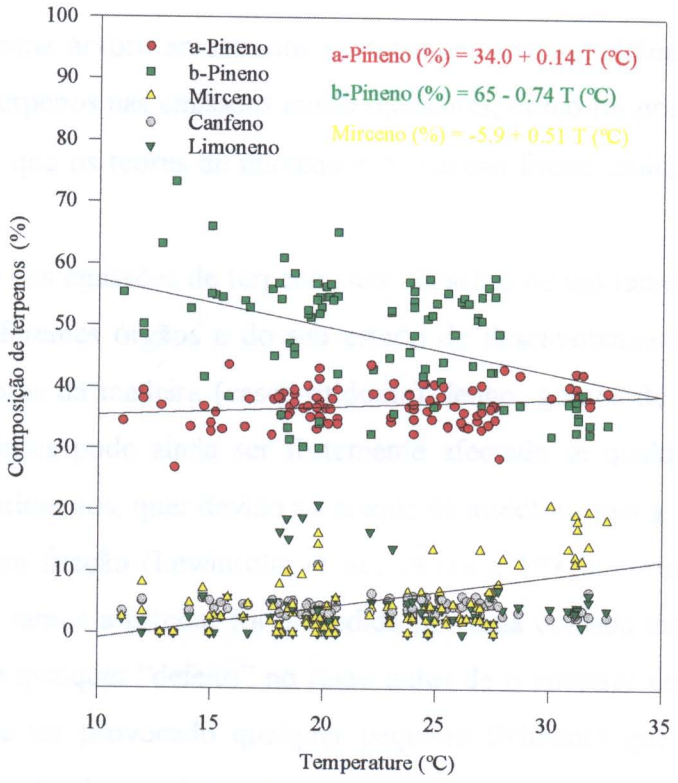


Figura IV.1 - Variação da composição percentual de monoterpenos, nas emissões de pântulas, com a temperatura.

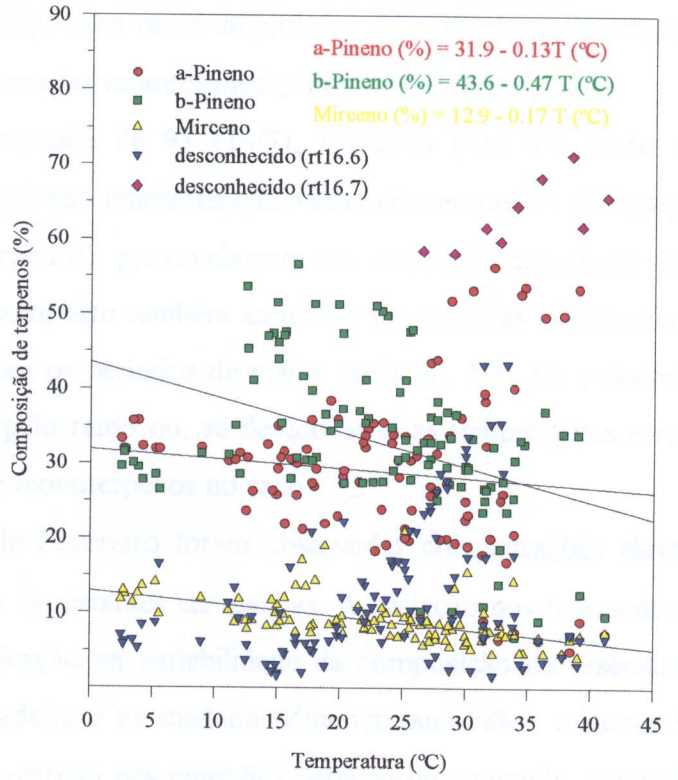


Figura IV.2 - Variação da composição percentual de monoterpenos, nas emissões de ramos de pinheiro, com a temperatura (rt 16,6 - desconhecido *b*; rt 16.7 - desconhecido *c*).

Ramos da mesma árvore amostrados praticamente em simultâneo podem apresentar uma composição de terpenos nas emissões muito diferentes, como foi por exemplo observado em Agosto de 93 em que os teores de mirceno e Δ_3-careno foram muito mais elevados num dos ramos.

A composição das emissões de terpenos nas emissões de um ramo de pinheiro reflecte a contribuição dos diferentes órgãos e do seu estado de desenvolvimento: agulhas velhas e novas, tecidos exteriores da madeira (casca-ritidoma), lenho, gomos de crescimento, etc. A composição das emissões pode ainda ser fortemente afectada se qualquer um dos órgãos referidos apresentar ferimentos, quer devido ao ataque de insectos, quer a ferimentos causados pela acção do vento ou fricção (Lewinsohn *et al.*, 1991a e 1991b; Juttner 1988; Cheniclet, 1987). A escolha dos ramos a estudar foi precedida por uma cuidada inspecção, de modo a detectar a presença de qualquer "defeito" no ramo antes de o encerrar no saco. A colocação do saco também pode ter provocado qualquer pequeno ferimento que não foi detectado. Todos estes factores referidos podem ter uma pequena contribuição para a variabilidade observada.

As amostragens efectuadas em 92 num pinheiro do interior do povoamento, tal como na amostragem de 14/7/93 num ramo de pinheiro da periferia, apresentaram percentagens de Δ_3-careno muito inferiores às restantes medições.

A segunda campanha de 93 (14/7), realizada num dia muito quente, apresentou percentagens de α e β-pineno inferiores e elevadas concentrações do composto *c* (63,2±4,2% da emissão total de terpenos), provavelmente um composto oxigenado. Nas amostragens de 92 as emissões deste composto também atingiram em algumas amostragens valores elevados (55%), coincidentes com os períodos de maior radiação. Não foi possível esclarecer se este composto era emitido pelo ramo ou, se devido às altas temperaturas e radiação intensa, ele resultava da reacção de monoterpenos no saco.

Na campanha de Fevereiro foram observadas concentrações elevadas de Δ_3-careno, comparativamente com as restantes campanhas. A variação nos teores de α e β-pineno pode encontrar alguma explicação na variabilidade da composição de essências nas agulhas, nos tecidos exteriores à madeira e na madeira (Zimmermann-Fillon e Bernard-Dagan, 1977). O aumento do teor de Δ_3-careno nas emissões pareceu-nos contudo, estar ligado à estação de crescimento vegetativo. Para clarificar este assunto foram efectuadas análises a "head spaces" de diferentes órgãos de um ramo colhido da mesma árvore em que haviam sido efectuadas as

medições das taxas de emissão. Do ramo foram retirados pequenos fragmentos do renovo em florescência e colocados num frasco de vidro (frasco lavador de gases) lavado e varrido com ar sintético (ar K). O frasco foi fechado com uma cabeça com septo e colocado no escuro. Ao fim de 30 minutos foi retirado com uma seringa "gas tight" 1ml do ar contido no interior do frasco que se injectou directamente na parte superior do TCT. O frasco foi colocado de novo no escuro e ao fim de 3 horas repetiu-se o passo anterior para confirmação da composição de terpenos no "head-space". Esta operação foi repetida com novos fragmentos de florescência e só com agulhas (3 réplicas). As análises dos "head spaces" de 3 horas confirmaram a composição encontrada ao fim de 30 minutos. Este tipo de análise embora não represente a composição real de monoterpenos no interior dos tecidos pode ser usada como uma referência.

As análises revelaram que a composição terpénica dos "head spaces" de agulhas e florescências eram muito diferentes. O composto mais abundante no "head space" de florescência foi o Δ_3-careno enquanto nas agulhas foi o α-pineno. Na figura IV.3 encontra-se a composição média obtida com estes ensaios. A diferença na composição destes dois órgãos influenciará a composição das emissões do ramo, de acordo com a intensidade de emissão de cada um.

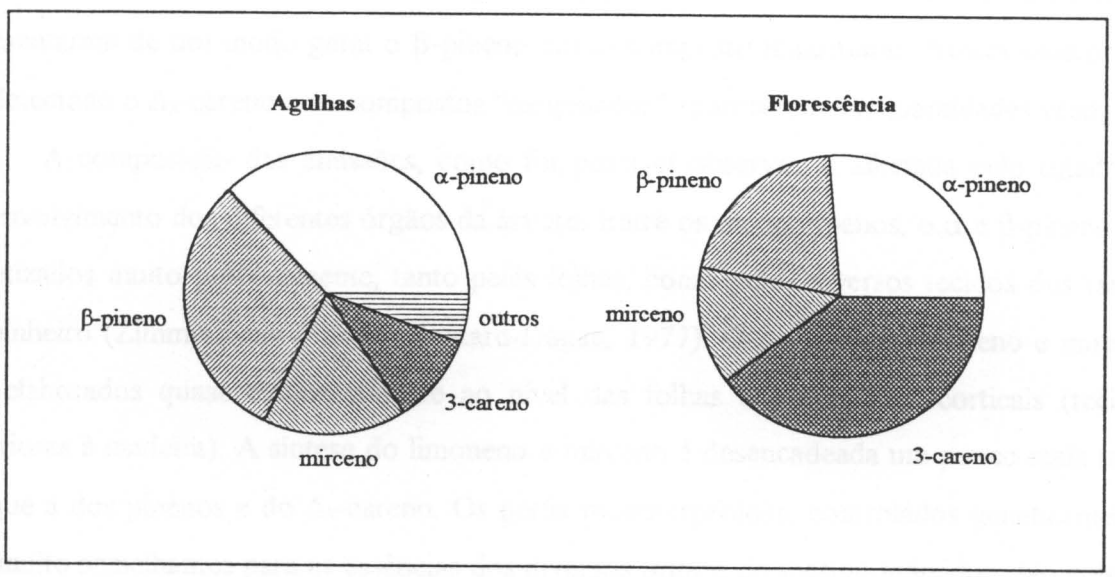


Figura IV.3 - Composição de monoterpenos em "head spaces" de agulhas e florescências de pinheiro bravo (agulhas -37% de α-pineno, 29% de β-pineno, 16% de mirceno e 10% de Δ_3-careno; florescência -43% de Δ_3-careno, 27% de α-pineno, 15% de β-pineno e 15% de mirceno).

A constatação da alteração da composição de terpenos nas emissões do pinheiro bravo também foi confirmada na composição atmosférica no local (Valente, 1995). A observação de Δ_3-careno na atmosfera neste mesmo período quando em anteriores períodos não havia sido detectado, vem confirmar a importância deste terpeno para as emissões totais nesta época do ano. O aumento da quantidade relativa de Δ_3-careno no início da primavera também tem sido referido para outras espécies de coníferas (Janson, 1992). O aumento do teor de Δ_3-careno nos tecidos dos rebentos e das novas agulhas parece estar associado a mecanismos de protecção destas partes vitais da planta contra o ataque de insectos, principalmente na fase inicial do período de crescimento (Hall e Langenheim, 1986, Janson, 1992).

Nos ensaios de campo de Inverno (Fevereiro) o composto mais abundante nas emissões foi sistematicamente o α-pineno, seguido do β-pineno e Δ_3-careno; nas campanhas que decorreram de Junho a Agosto de 93 observou-se um decréscimo do α-pineno em detrimento do aumento de β-pineno. Nas campanhas de Agosto de 93 o β-pineno foi o composto identificado em maiores quantidades (33 a 40%) seguindo-se o α-pineno (22 a 32%), o mirceno (8 a 12%), o Δ_3-careno (6 a 10%) e um conjunto de compostos terpénicos provavelmente oxigenados cuja ocorrência dependia de condições ambientais ainda não perfeitamente clarificadas. Já nas campanhas de 1992, Julho a Agosto, tinha sido observado o mesmo comportamento, com o β-pineno como composto maioritário. Os ensaios de laboratório efectuados com plântulas de pinheiro, que decorreram de Fevereiro a Junho de 93, apresentaram de um modo geral o β-pineno como composto maioritário. Nestes ensaios não foi detectado o Δ_3-careno e os compostos "oxigenados" apareceram em quantidades vestígiais.

A composição das emissões, como foi possível observar, é afectada pelo estado de desenvolvimento dos diferentes órgãos da árvore. Entre os monoterpenos, o α e β-pineno são sintetizados muito precocemente, tanto pelas folhas, como pelos diversos tecidos dos ramos de pinheiro (Zimmermann-Fillon e Bernard-Dagan, 1977). O Δ_3-careno, limoneno e mirceno são elaborados quase exclusivamente ao nível das folhas e dos tecidos corticais (tecidos exteriores à madeira). A síntese do limoneno e mirceno é desencadeada um pouco mais tarde do que a dos pinenos e do Δ_3-careno. Os perfis monoterpénicos, controlados geneticamente, são muito semelhantes para as essências dos diversos órgãos do mesmo indivíduo. No entanto as taxas de síntese destes três terpenos é muito mais elevada nos tecidos corticais, principalmente para o Δ_3-careno, e nos fenótipos ricos nestes compostos. O conhecimento da composição terpénica interna é um dado relevante mas só por si não é suficiente para

caracterizar as emissões. Schindler e Kotzias (1989) encontraram discrepâncias entre a composição das emissões e a composição original terpénica na planta, para a *Picea abies*, com taxas de emissão de 11,5 e 3,1 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$ e 9 e 23% na composição total da resina para o α-pineno e canfeno, respectivamente. Relações semelhantes foram encontradas entre a emissão e o conteúdo nos tecidos de *Pseudotsuga menziessi*. Torres (1994) também encontraram enriquecimento de Δ_3-careno e limoneno nas emissões de pinheiro bravo, em relação ao conteúdo dos mesmos nos tecidos das agulhas, e redução significativa de β-pineno. Nestes estudos não está claro contudo, se se tomou em consideração a contribuição de outros órgãos da planta para além das folhas.

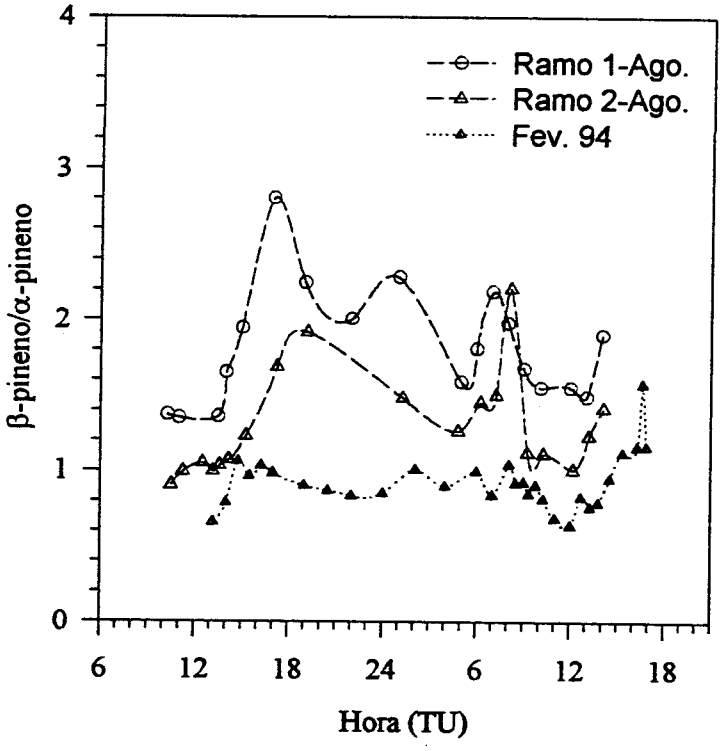


Figura IV.4 - Variação diária da razão β-pineno/α-pineno nas emissões de ramos de pinheiro.

Foi detectado ainda um pequeno padrão de variabilidade diária na composição das emissões terpénicas de ramos de pinheiro bravo, como é ilustrado na figura IV.4 através da razão entre o α-pineno e o β-pineno com mínimos por volta do meio dia. Também foi observado um padrão diário da razão β-pineno/α-pineno nas emissões de troncos de pinheiro resinado assim como nas concentrações atmosféricas junto ao solo (2m) em pinhal resinado

(Valente, 1995). Nas amostragens efectuadas em Agosto de 93 foi ainda detectada uma variação nos teores de mirceno e Δ_3-careno (figura IV.5), no ramo com maior exposição solar, a qual está traduzida nas temperaturas mais elevadas atingidas pelas agulhas quando comparadas com as temperaturas das agulhas do outro ramo. É de salientar que estes dois ramos saíam do mesmo verticelo como se ilustra na fotografia da figura IV.6. A explicação para estes comportamentos não é totalmente conhecida assim como não está ainda esclarecido qual o percurso de saída dos monoterpenos nas espécies como o pinheiro, com canais resínicos internos.

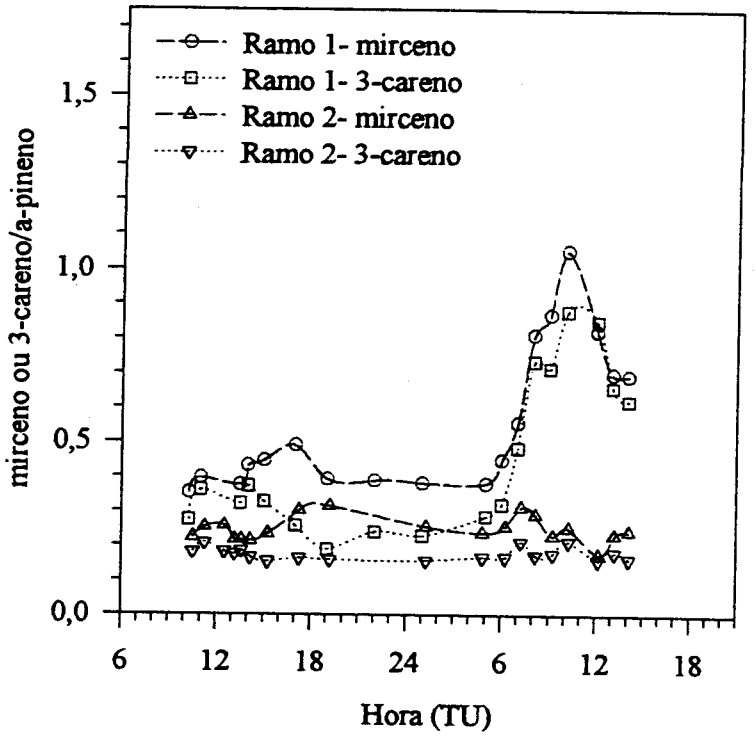


Figura IV.5 - Variação diária da razão mirceno ou Δ_3-careno/α-pineno para dois ramos de pinheiro contíguos em 2 a 3 de Agosto de 93.

O conhecimento da composição das emissões terpénicas e o modo como ela varia é um dado importante na modelização química atmosférica. A reactividade dos vários monoterpenos com o O_3, e radicais OH e NO_3, na atmosfera não é a mesma. A presença de espécies muito reactivas como o mirceno e limoneno pode ter um peso significativo na química da atmosfera, apesar de ocorrerem em concentrações inferiores.

Figura IV.6 - Amostragem em paralelo de dois ramos de pinheiro do mesmo verticelo.

IV.2.1.2 - Taxa de Emissão de Terpenos

O cálculo da taxa de emissão de compostos terpénicos pelo método do saco recorre normalmente a uma metodologia simples, baseada no balanço mássico, considerando que o sistema se encontra homogeneizado e em estado estacionário. Assim, a taxa de emissão é dada pela diferença da concentração do composto entre o ar de saída e o de entrada (C_s-C_e, $\mu g.m^{-3}$), multiplicada pelo caudal de ar (Q, $m^3.h^{-1}$) que entra no saco e normalizada pelo peso seco de agulhas no ramo (M, $g_{\text{peso seco}}$). No caso dos ensaios com plântulas, visto os testes terem sido realizados com o ar de entrada proveniente de um gerador de ar puro, eliminou-se o termo C_e da expressão ($C_e = 0$).

$$E = \frac{(C_s - C_e) \times Q}{M} \; (\mu g.g^{-1}_{\text{peso seco}}.\, h^{-1})$$

As taxas de emissão de monoterpenos medidas nos vários ensaios com plântulas e com árvores adultas encontram-se resumidas na tabela IV.7. Os ensaios conduzidos no laboratório com plântulas apresentaram taxas de emissão globais mais elevadas do que as árvores adultas para a mesma gama de temperatura.

A taxa de emissão total de monoterpenos nas plântulas de pinheiro variou de 0,5 a 350 $\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.\ h^{-1}$, para temperaturas de 12 a 34,5°C, enquanto a taxa máxima observada em ramos de pinheiro adulto foi de 9 $\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.\ h^{-1}$, para temperatura da folha de 39°C, e a mínima de 55 $ng.g^{-1}_{peso\ seco}.\ h^{-1}$, a ~3°C. As taxas de emissão de monoterpenos pelas plântulas foram sempre superiores às taxas emitidas por ramos de pinheiro adulto.

Taxas de emissão de terpenos de 0,085-0,79 $\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.\ h^{-1}$, foram medidas na floresta dos Landes em *Pinus pinaster*, em Junho de 1992, numa gama de temperaturas entre 10 e 37°C (Simon *et al.*, 1992). Dentro da mesma espécie têm sido encontradas taxas de emissão de terpenos muito variáveis, as quais poderão ser devidas a variações reais nos processos de emissão, quer devido a factores internos, quer a factores externos às plantas. Contudo, alguma da variabilidade encontrada pode reflectir diferenças na metodologia de quantificação das taxas de emissão.

A taxa de emissão de monoterpenos apresenta uma grande dependência da temperatura, sendo o seu comportamento análogo à respectiva pressão de vapor com a temperatura (Tingey *et al.*, 1981, Yokouchi e Ambe, 1985, Lamb *et al.*, 1987, Guenther et al, 1993). Contudo o aumento das taxas de emissão com a temperatura é de um modo geral superior ao que é explicado pela variação na pressão de vapor. Existem outros factores que também influenciam a taxa de emissão de monoterpenos pelas plantas, como por exemplo a luz, humidade, nutrientes, etc. Estes factores actuam quer ao nível dos reservatórios, quer ao nível da condutância dos compostos na planta.

O efeito da humidade relativa parece só afectar a taxa de emissão para valores próximos da saturação, mas no conjunto de dados é difícil dissociar este efeito dos restantes. Tanto o efeito da humidade do ar como da radiação aparecem diluídos, sendo a temperatura o parâmetro que consegue explicar melhor a variabilidade da taxa de emissão.

Ao conjunto de dados de emissão obtidos com plântulas e com ramos de pinheiro adulto foram efectuadas análises de correlação com os parâmetros meteorológicos temperatura, humidade e radiação, tendo-se apenas conseguido correlações com coeficiente superior a 0,5 para a temperatura.

Tabela IV.7 - Condições experimentais e taxas de emissão de terpenos pelo *Pinus pinaster.*

Ensaio	Data / hora	T da folha °C	Taxa de Emissão ($\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.\ h^{-1}$)	Biomassa foliar (g)
PLÂNTULA				
Plântula 1	15-2 / 12-18h	23-27	7,8 - 125	0,823
	16-2 / 9-20h	12-27	1,8 - 156	
	18-2 / 9-20h	11-26	0,47 - 7,3	
	19-2 / 9-16h	15-28	3,7 - 7,6	
Plântula 2	25-2 / 11-20h	12-28	1,5 - 33,4	1,703
	26-2 / 11-18h	18-27	2,7 - 13,2	
	16-3 /10-23h	20-34	5,0 - 384	
	17-3 / 10-17h	26-32	9,2 - 157	
	18-3 / 11-16h	19-24	3,0 - 3,9	
Plântula 3	14-5 / 12-17h	20-24	4,2 - 16,9	4,18
	17-5 / 10-24h	19-22	0,93 - 8,2	
ADULTO				
Pinheiro.	8-7-92	25-33	0,4-1,8	32,43
	28-7 a 5-8-92	21-30	0,6-3,4	48,67
Pinheiro 1	16-6 / 10-14	27-39	1,4 - 9,1	72,63
Pinheiro 2	14-7 / 10-15	26-39	3,0 - 5,2	55,69
Pinheiro 3	27-7 / 11-18	24-33	0,81 - 2,6	32,94
	27-7 / 11-19	23-33	0,76 - 2,2	35,96
	2 a 3-8-93	13-34	0,23 - 2,6	32,94
	2 a 3-8-93	13-27	0,21 - 1,1	35,96
	9 a 10-2-94	3-34	0,06 - 1,2	61,21

IV.2.1.2.1 - Efeito da humidade/água

As taxas mais elevadas de emissão de terpenos nas plântulas não coincidiram com as temperaturas mais altas. Estas taxas corresponderam a situações em que as agulhas se encontravam cobertas por pequenas gotículas de água, quer naturalmente ao início da manhã pelo orvalho, quer artificialmente por aspersão. Nestas condições não se consegue estabelecer qualquer padrão de comportamento com outros factores ambientais. A contínua diminuição da

taxa de emissão nas horas subsequentes pode encontrar explicação na redução das reservas de monoterpenos, sendo este factor, mais que o aumento de temperatura sobre a pressão de vapor dos diferentes monoterpenos, a controlar as emissões. Lamb *et al.*(1985) observaram que a emissão de α-pineno, principalmente na *Pseudotsuga menziesii*, era cerca de 10 vezes maior em ramos humidificados, do que em ramos secos, à mesma temperatura. Estes mesmos autores observaram ainda em ambos os casos um crescimento exponencial da taxa de emissão com a temperatura. O efeito da temperatura neste caso parece não ser afectado pelas taxas elevadas de emissão que podem conduzir a uma redução do nível de monoterpenos no conteúdo interno dos tecidos. A explicação mais capaz para descrever o efeito da água e humidade na taxa de emissão é avançada por Croteau (1977) o qual atribui o aumento da taxa de emissão ao aumento da permeabilidade aos monoterpenos devida à hidratação da cutícula. A intensidade deste efeito pode ainda ser afectada pelo tipo de estrutura secretora.

Concomitantemente com o facto de as agulhas se encontrarem cobertas por uma fina camada de água, a rega dos vasos que contêm as plantas parece também provocar um aumento pontual da taxa de emissão, como foi observado por exemplo nos ensaios de 18-2-93, figura IV.7. Nestas situações a taxa de emissão não atinge valores tão elevados como quando as agulhas se encontram molhadas, mas é também evidente o disparo da taxa de emissão após a adição de água à terra do vaso. Taxas de emissão de terpenos mais elevadas nas primeiras medições após o encerramento do ramo no saco também podem ser devidas ao manuseamento da planta.

Na figura IV.7 apresentam-se perfis das taxas de emissão dos monoterpenos ao longo do dia observadas em diferentes condições, no que diz respeito à presença ou ausência de água. São apresentados dois perfis da evolução da taxa de emissão de monoterpenos em que as agulhas das plântulas não apresentavam qualquer vestígio de água, mas tendo sido uma das plantas regada, uma hora antes do início das medições (perfis dos dias 25-2 e 18-2-93); os outros dois exemplos referem-se a situações em que as agulhas se encontravam cobertas por gotículas de água, uma provocada (16-2-93), e a outra consequência do orvalho (18-3-93).

Nos ensaios de campo com ramos de pinheiro adulto não foi detectado em nenhum dos dias a presença de orvalho nas agulhas encerradas no saco. Nas duas últimas campanhas em que se fizeram colheita de amostras durante a noite, a humidade nestes casos aproximou-se da saturação e a evolução do perfil de emissão de terpenos como que contrariou o efeito da temperatura sobre a taxa de emissão.

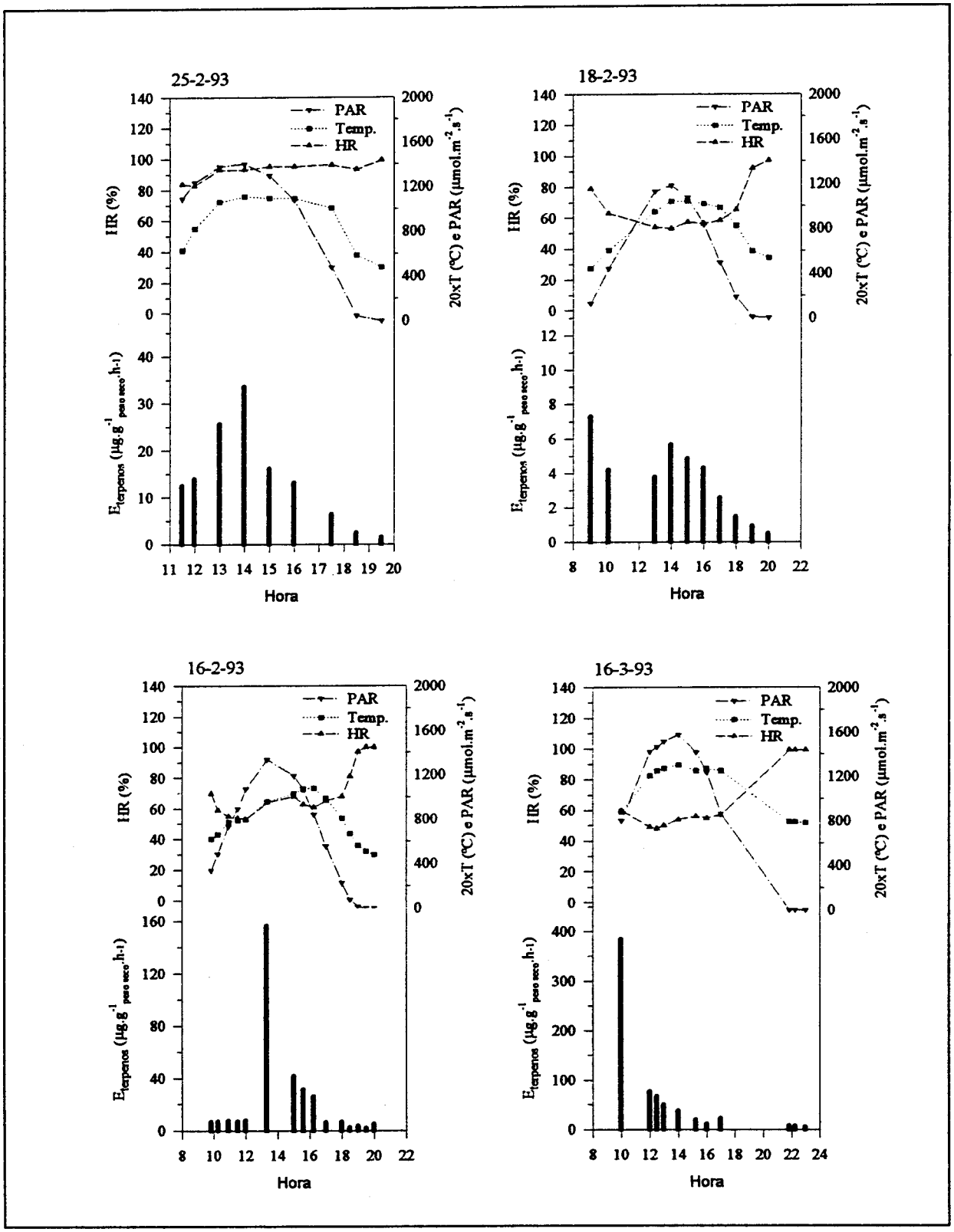


Figura IV.7 - Variação da taxa de emissão de terpenos em resposta à adição ou não de água à plântula: 25-2-93 - referência; 18-2-93 - adição de água ao solo; 16-2-92 - a planta foi aspergida entre a 5 e a 6ª medição; 16-3-93 - a planta ao ser encerrada no saco encontrava-se totalmente coberta por pequenas gotas de orvalho.

A presença do saco em volta do ramo tende a impedir a condensação de água sobre as agulhas, não permitindo reproduzir as condições que se fazem sentir nos ramos exteriores contíguos. O efeito da humidade no interior do saco torna-se um pouco difícil de individualizar sendo provavelmente mascarado pelas variações de temperatura que têm um maior peso sobre a taxa de emissão de terpenos. Contudo, quer nas plântulas de pinheiro, quer nos ramos, a presença de humidades relativas elevadas no interior do saco parece não permitir uma diminuição tão acentuada da taxa de emissão como a que seria de esperar pelo abaixamento de temperatura, podendo em alguns casos contrariar e sobrepor-se à diminuição da temperatura como parece ter ocorrido nas medições de Agosto em ambos os ramos (ver figura IV.11 a e b - variação diária).

A água ao nível do solo também pode influenciar a taxa de emissão de terpenos, não só de uma forma imediata, como foi observado nas plântulas, mas principalmente a médio e longo prazo. Está documentado que plantas que crescem em condições de abundância de água tendem a acumular menores quantidades de terpenos do que aquelas que vivem com "déficit" (Lerdau, 1991), o que se vai repercutir na taxa de emissão. Até à data ainda não foi desenvolvido nenhum modelo que contabilize o efeito da água na taxa de emissão de terpenos pelas plantas.

IV.2.1.2.2 - Efeito da radiação

A luz, directa ou indirectamente, influencia as reservas de monoterpenos a vários níveis: fornecendo energia biossintética, controlando modificações anatómicas e fotorregulando a síntese de monoterpenos (Tingey *et al.*, 1991). A biossíntese de monoterpenos no *Pinus pinaster* é um processo fotodependente como foi demonstrado por Gleizes *et al.* (1980).

Em árvores adultas não se detectou qualquer efeito directo da radiação sobre a intensidade de emissão. No caso de plântulas parece haver um pequeno efeito da radiação sobre a taxa de emissão em que as taxas mais elevadas ocorrem normalmente para condições de radiação intensa (figura IV.8). Efeitos significativos da luz sobre a taxa de emissão foram observados em várias coníferas, quer do género Picea, *Picea engelmannii* (Evans *et al.*, 1985) e *Picea abies* (Steinbrecher et al, 1993) quer do género Pinus, *Pinus densiflora* (Yokouchi e Ambe, 1984). Nesta última espécie as emissões diurnas foram duas vezes mais elevadas do que as emissões nocturnas não sendo bem claro qual a razão para tal resposta.

Tingey *et al.* (1980) não detectaram efeitos directos da luz na taxa de emissão de terpenos no *Pinus elliottii*. Segundo Guenther *et al.* (1995) parece que a luz só tem um efeito directo na taxa de emissão quando as plantas estão numa fase activa de síntese de monoterpenos. Sendo assim, o efeito da radiação pode ser mais ou menos mascarado, consoante o método de amostragem usado e o tipo de folhas avaliado.

No caso das resinosas só as agulhas jovens é que apresentam elevada actividade biossintética, declinando esta na fase final de crescimento das agulhas. O método do saco normalmente utiliza maior quantidade de material vegetal do que por exemplo uma pequena "cuvette", o que implica que no primeiro podemos ter uma amostra com agulhas de diferentes idades enquanto no segundo se pode estar na presença de apenas um tipo de agulhas. Por outro lado ainda está por esclarecer qual a contribuição para as emissões de terpenos dos compostos que estão armazenados e dos que estão a ser sintetizados.

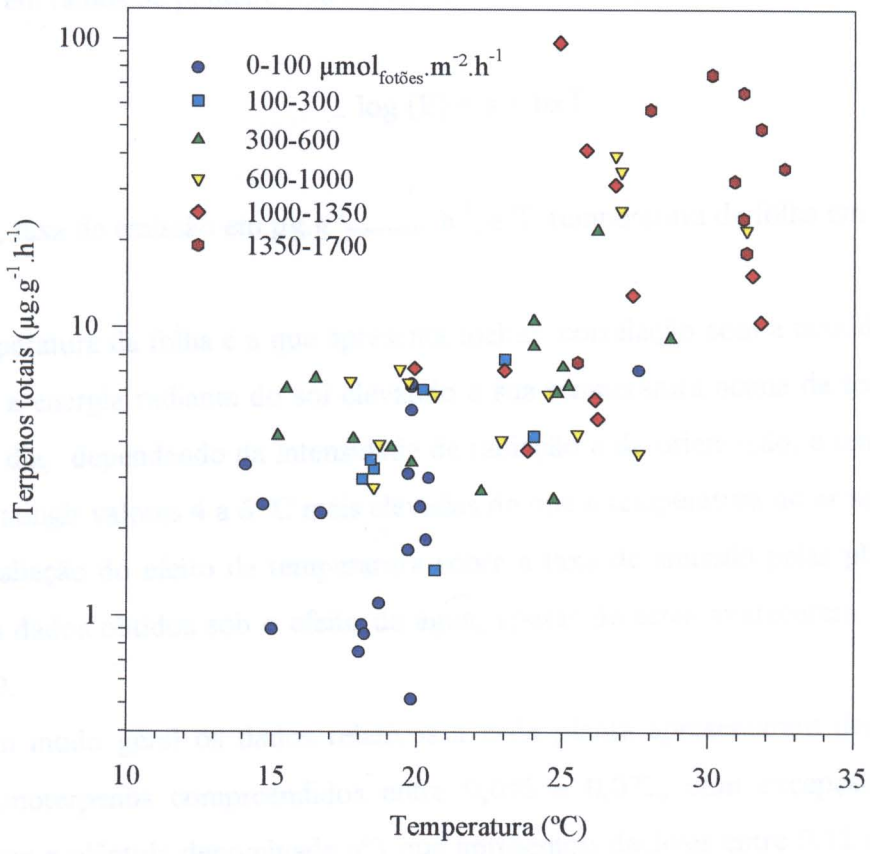


Figura IV.8 - Efeito da intensidade de radiação solar na variabilidade da taxa de emissão com a temperatura em plântulas.

O efeito da radiação sobre a taxa de emissão pelos pinheiros ao nível da árvore no seu todo não será imediato, resultando sim numa acção de regulação das reservas terpénicas. No caso das plântulas em que parece existir um efeito directo da radiação sobre a taxa de emissão de terpenos, este efeito pode ter-se tornado visível precisamente pelo que foi dito atrás, ou seja, a emissão de terpenos pelos rebentos e agulhas novas em grande actividade de síntese sobrepõem-se às emissões provenientes das agulhas velhas que já perderam capacidade de biossíntese.

IV.2.1.2.3 - Efeito da temperatura

A taxa de emissão de monoterpenos pelas plantas apresenta de um modo geral um comportamento muito semelhante à variação da pressão de vapor com a temperatura (Tingey *et al.*, 1980; Yokouchi e Ambe, 1984; Lamb *et al.*, 1985; Juuti *et al.*, 1990; Guenther *et al.*, 1991) e os nossos dados parecem não fugir à regra. Na tabela IV.8 e figura IV.9 são apresentados os parâmetros de regressão calculados, para o conjunto de medições efectuados em plântulas e em ramos de pinheiro adulto, de acordo com a equação:

$$\log (E) = a + bxT$$

com E, taxa de emissão em $\mu g.g^{-1}_{\text{peso seco}}.\ h^{-1}$, e T, temperatura da folha em °C.

A temperatura da folha é a que apresenta melhor correlação com a taxa de emissão. A folha absorve a energia radiante do sol elevando a sua temperatura acima da temperatura do ar. Durante o dia, dependendo da intensidade de radiação e da orientação, a temperatura das agulhas pode atingir valores 4 a 6 °C mais elevadas do que a temperatura do ar no saco.

Na avaliação do efeito da temperatura sobre a taxa de emissão pelas plântulas foram eliminados os dados obtidos sob o efeito da água, apesar de estes aparecerem representados na figura IV.9.

De um modo geral os dados relativos a cada planta apresentaram declives para os diferentes monoterpenos compreendidos entre 0,045 e 0,072, com excepção dos ensaios efectuados com a plântula denominada nº3 que apresentou declives entre 0,12 e 0,15 para os diferentes monoterpenos identificados. Os declives obtidos para os diferentes monoterpenos para cada ramo de pinheiro adulto foram um pouco inferiores aos encontrados nas plântulas

com variações entre 0,022 e 0,060. Considerando apenas a campanha de Fevereiro, a qual contabilizou o maior número de medições num só ramo e com a maior amplitude térmica , a equação de regressão da taxa de emissão de terpenos versus temperatura apresentou coeficientes de correlação muito superiores, com declives muito próximos entre os vários terpenos. Para este conjunto de ensaios o valor de declive aproximou-se bastante do valor sugerido por Guenther *et al.* (1993).

O facto de se terem misturado todos os valores medidos em plântulas ou em ramos de pinheiro adulto, pode introduzir erro no cálculo do valor de β (declive) como é sugerido por Guenther devido a diferenças na taxa de emissão basal que se irão repercutir no valor do declive. O maior declive encontrado para as plântulas pode ter sido sobrestimado devido à contribuição da plântula nº 3. No entanto ao considerarmos individualmente os diferentes conjuntos de dados não conseguimos explicar as diferenças encontradas. É evidente que algumas podem ter origem em erros experimentais.

Tabela IV.8 - Parâmetros de correlação entre a taxa de emissão em $\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.\ h^{-1}$ e a temperatura da folha para agulhas de plântulas e agulhas de pinheiro adulto *Pinus pinaster*. Entre parêntesis número de medições.

Ensaio	Temp. °C		α-pineno	β-pineno	mirceno	Δ_3-careno	limoneno	Total terpenos
Plântulas								
Total	11-35	a	-1,16	-0,87		-2,26	-1,95	-0,77
(95)		b	0,070	0,062		0,0786	0,0658	0,070
		r^2	0,511	0,499		0,372	0,255	0,534
Pinheiro ad.								
Total	2,5-39	a	-1,79	-1,68	-2,22	-2,21	-3,16	-1,36
(105)		b	0,047	0,045	0,044	0,040	0,052	0,053
		r^2	0,687	0,627	0,709	0,737	0,768	0,804
Fevereiro	2,5-34	a	-1,85	-1,83	-2,23	-2,26	-2,98	-1,33
(30)		b	0,040	0,036	0,032	0,041	0,030	0,037
		r	0,931	0,936	0,828	0,922	0,846	0,946

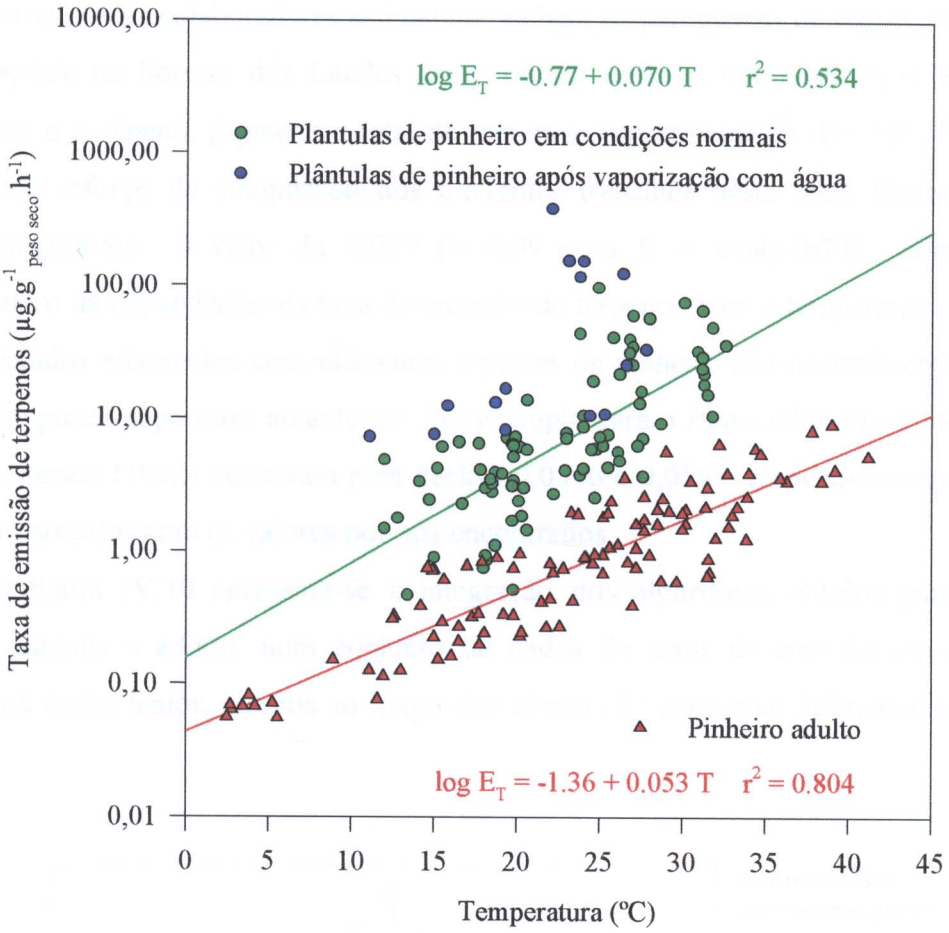


Figura IV.9 - Taxa de emissão de terpenos em função da temperatura das folhas

Os declives das rectas de regressão da taxa de emissão com a temperatura foram de um modo geral superiores aos dos da pressão de vapor (curvas de Clausius Clapeyron), pelo menos, para os dois monoterpenos mais abundantes (declive = 0,023) (Weast, 1987), o que evidencia a influência de outros factores sobre o transporte destes compostos do interior das folhas para a atmosfera. O maior aumento da emissão com a temperatura em comparação com a pressão de vapor tem sido observado em muitas outras espécies (Tingey *et al.*, 1991) e pode resultar de modificações no percurso dos monoterpenos do interior das folhas para o exterior (variações na condutância) ou então de modificações nos diferentes reservatórios de terpenos. O facto de que as proporções relativas dos vários monoterpenos nas emissões se manterem relativamente constantes com o aumento de temperatura é consistente com uma modificação no percurso físico de difusão ou com modificações coordenadas na dimensão dos respectivos reservatórios, e as diferenças na pressão de vapor controlarem as razões entre eles.

Torres e seus colaboradores estimaram também os parâmetros de regressão para esta mesma espécie na floresta dos Landes tendo obtido declives inferiores, 0,0177, 0,021 e 0.0191 para o α-pineno, β-pineno e total de terpenos respectivamente ($E= 10^{(a+bT)}$) (Torres, 1994). Num esforço de compilação dos diferentes trabalhos nesta área, Guenther *et al.* (1993), apresentam o valor de 0,039 (= 0,09 para E = exp(a+bT)) como declive representativo da dependência da taxa de emissão de terpenos com a temperatura. Para uma série de estudos efectuados com diferentes espécies de pinheiro são normalmente referidos declives um pouco superiores ao anterior. Por exemplo para o *Pinus silvestris*, Isidorov *et al.* (1993b) e Janson (1992) obtiveram para declive 0,0546 e 0,0568, respectivamente, os quais são muito parecidos com os valores por nós encontrados.

Na figura IV.10 apresenta-se a integração dos algoritmos obtidos para o *Pinus pinaster*, plântula e adulto, num conjunto de dados de taxas de emissão em função da temperatura muito maior, obtidos ao longo dos últimos 20 anos com diferentes espécies de coníferas.

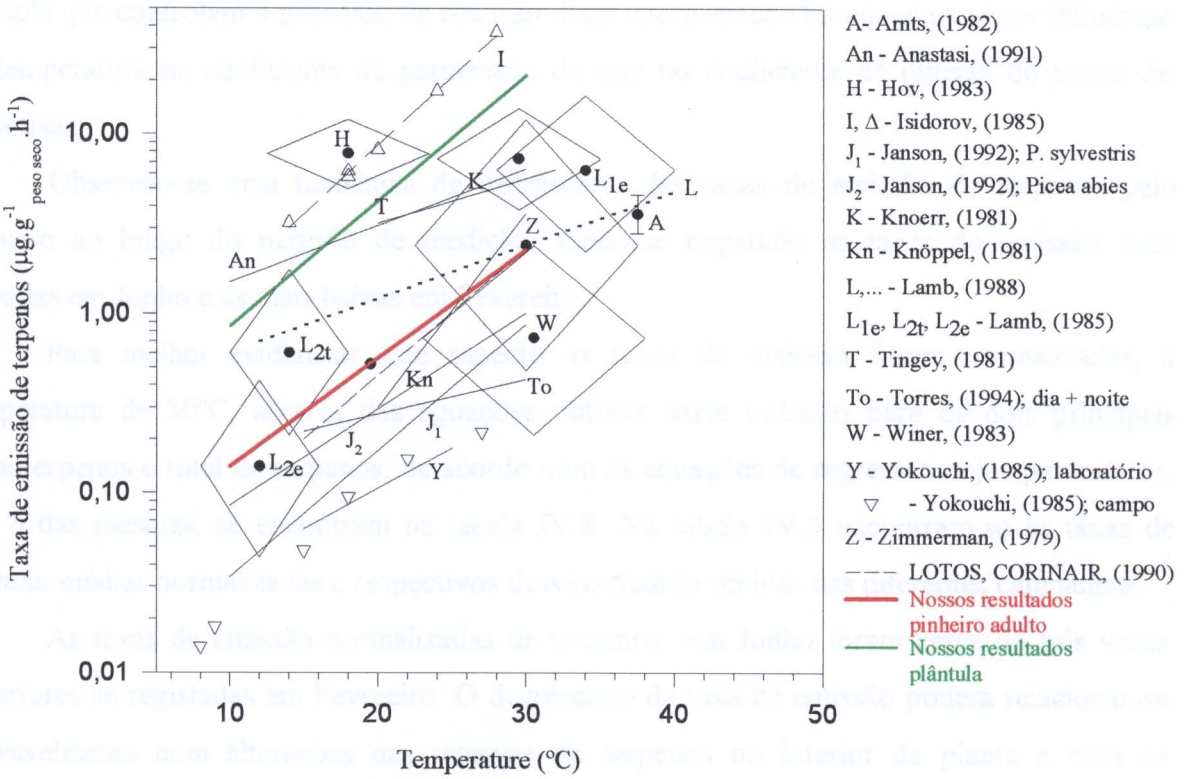


Figura IV.10 - Taxas de emissão de terpenos em função da temperatura para várias espécies de coníferas (adaptado e desenvolvido a partir de Lamb *et al.* (1987) e Veldt (1991)).
(os pontos a negrito representam a média geométrica dos valores medidos e os losangos indicam a zona de medições).

IV.2.1.2.4 - Variação diária e sazonal

As taxas de emissão de terpenos mostram um perfil diário muito semelhante ao perfil de variação de temperatura da folha, com máximos entre as 12 e as 18 horas, e mínimos durante a noite. Na figura IV.11 apresenta-se a variação da taxa de emissão de α e β-pineno assim como as variações de temperatura da folha, da humidade relativa e da radiação, em medições efectuadas de modo continuado por períodos superiores a 24h (2 a 3-8-93, dois ramos em paralelo, e 9 a 10/2/94).

O escasso número de observações nocturnas não permitiu concluir se existem diferenças significativas entre o comportamento das emissões diurnas e nocturnas. Torres (1994) nos ensaios efectuados na região dos Landes com *Pinus pinaster* encontraram declives maiores durante a noite do que durante o dia para a relação da taxa de emissão com a temperatura, atribuindo estas diferenças a diferentes caminhos de emissão. Segundo estes autores, durante o dia é o mecanismo de difusão através dos estomas que tem maior peso enquanto que de noite, com o fecho dos estomas, são os processos de permeação através da cutícula que controlam o processo de emissão. Esta interpretação baseia-se na maior influência da temperatura no coeficiente de permeação do que no coeficiente de difusão do ponto de vista físico.

Observou-se uma tendência de decréscimo das taxas de emissão de terpenos pelo pinheiro ao longo do período de medição, tendo-se registado as taxas de emissão mais elevadas em Junho e as mais baixas em Fevereiro.

Para melhor evidenciar este aspecto as taxas de emissão foram normalizadas, à temperatura de 30°C, através das equações obtidas neste trabalho para os dois principais monoterpenos e total de terpenos, de acordo com as equações de regressão cujos parâmetros, *a* e *b* das mesmas, se encontram na tabela IV.8. Na tabela IV.9 encontram-se as taxas de emissão médias normalizadas e respectivos desvios padrão obtidas nas diferentes campanhas.

As taxas de emissão normalizadas de terpenos em Junho foram cerca de três vezes superiores às registadas em Fevereiro. O decréscimo da taxa de emissão poderá relacionar-se provavelmente com alterações nas reservas de terpenos no interior da planta e com os mecanismos de síntese e de catabolismo.

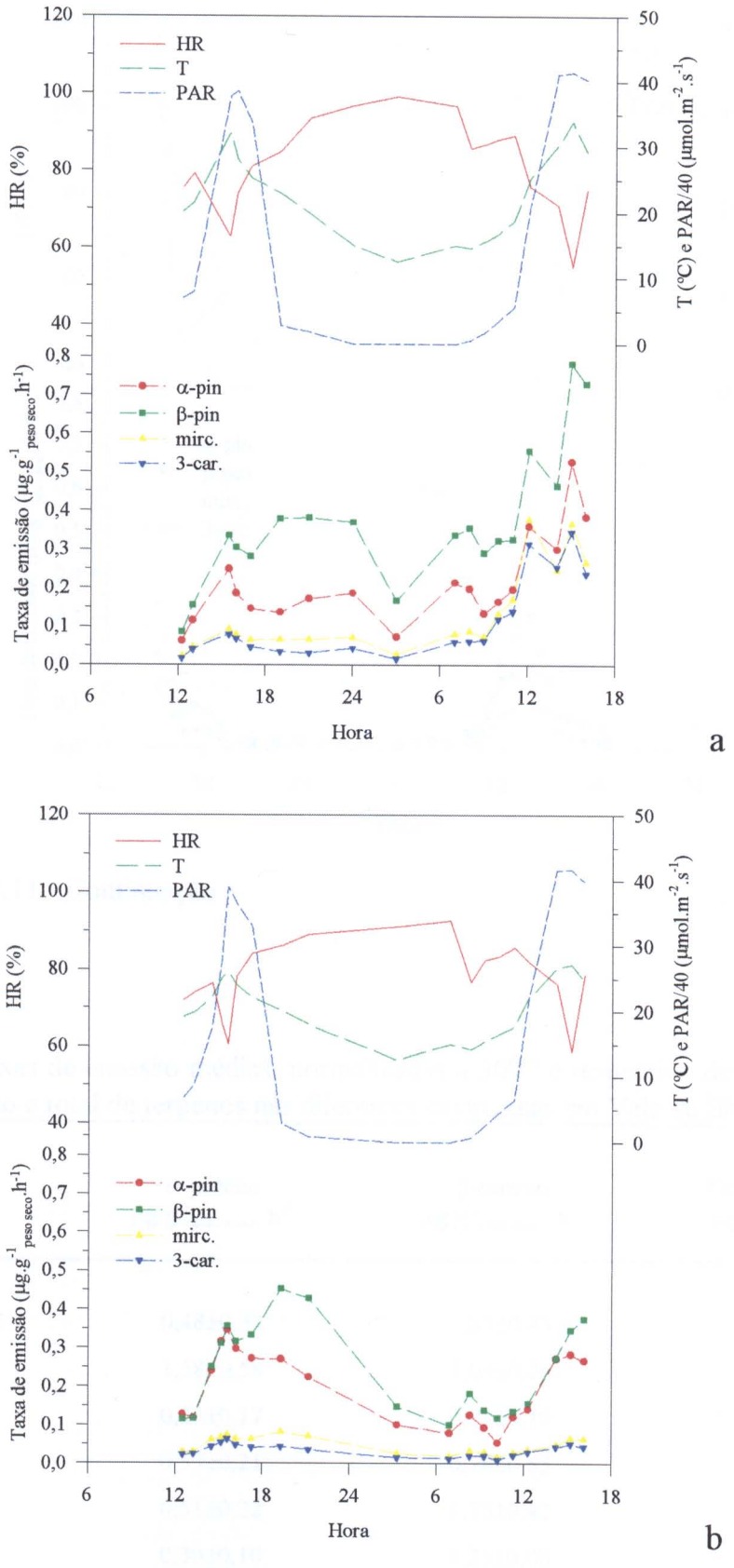


Figura IV.11 - Variação diária da taxa de emissão de terpenos e da temperatura, da radiação e da humidade relativa (a- Ramo 1, Agosto 93; b- Ramo 2, Agosto 93; c- Fevereiro 94).

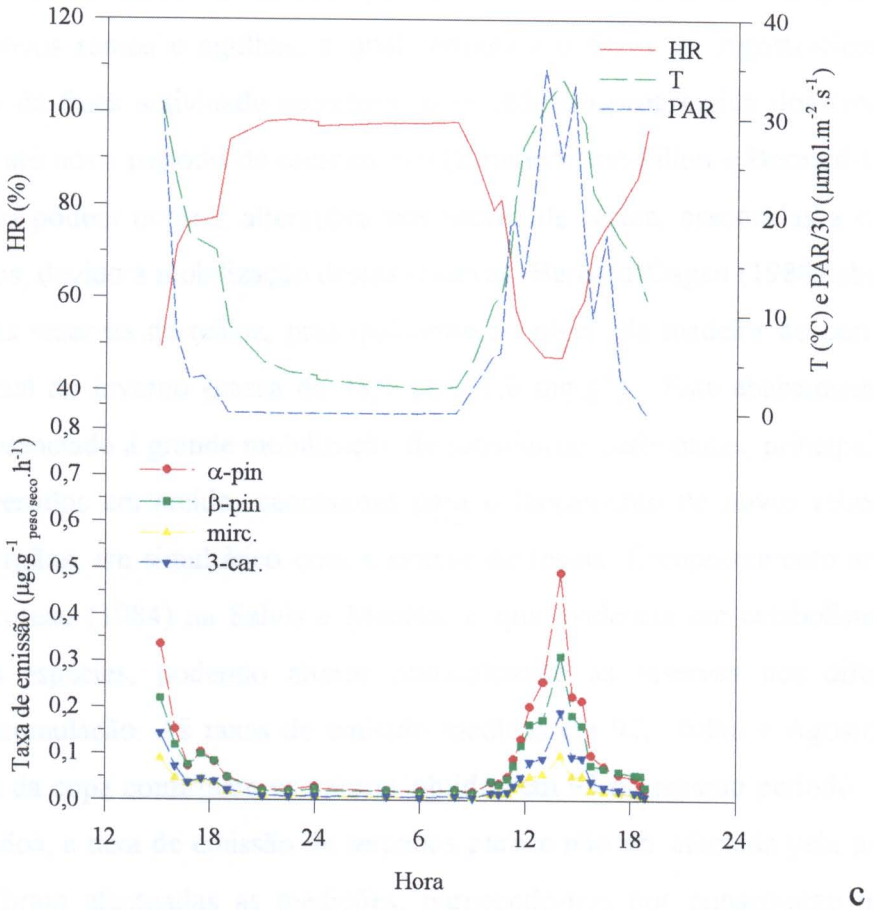


Figura IV.11 - Continuação

Tabela IV.9 - Taxas de emissão médias, normalizadas a 30°C e respectivo desvio padrão de α-pineno, β-pineno e total de terpenos nas diferentes campanhas em Vale de Ílhavo.

Campanha	α-pineno $\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.\ h^{-1}$	β-pineno $\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.\ h^{-1}$	Total de terpenos $\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.\ h^{-1}$
Julho/Agosto 92	0,48±0,33	0,83±0,43	2,59±0,94
16-6-93	1,58±0,58	1,05±0,29	2,93±0,88
14-7-93	0,23±0,17	0,29±0,16	2,71±1,61
27-7-930	0,53±0,21	0,78±0,55	2,27±1,03
2/3-8-93	0,51±0,22	0,76±0,42	2,19±1,10
9/10-2-94	0,30±0,10	0,25±0,08	1,00±0,45

A taxa máxima de biossíntese de monoterpenos decorre de Maio a Julho e após a fase de crescimento de novos ramos e agulhas, a qual termina em finais de Agosto-Setembro, segue-se um período de fraca actividade secretora, com redução progressiva dos teores de terpenos nas agulhas até novo período de crescimento (Zimmermann-Fillon e Bernard-Dagan, 1977). Por outro lado podem ocorrer alterações nos teores de resina, associadas a estados fenológicos específicos, devido à mobilização destas reservas. Bernard-Dagan (1988) observou reduções drásticas nas reservas de resina, principalmente ao nível da madeira do cerne, em *Pinus pinaster*, no final do inverno (passa de 38,5 para 1,8 $mg.g^{-1}$) . Este abaixamento dos teores de resina está associado à grande mobilização de substâncias carbonadas, principalmente lípidos que são convertidos em amido, necessárias para o lançamento de novos rebentos e formação de novos órgãos, em simultâneo com a síntese de resina. Comportamento análogo foi observado por Croteau (1984) na Salvia e Mentha, o que evidencia um catabolismo dos monoterpenos nestas espécies, podendo alterar pontualmente as reservas nos diferentes compartimentos de acumulação. As taxas de emissão medidas em 92, Julho e Agosto, em ramos da parte média da copa confirmam os valores obtidos em 93 no mesmo período. Ainda segundo estes resultados, a taxa de emissão de terpenos parece não ser afectada pela posição dos ramos em que foram efectuadas as medições, parecendo-nos por conseguinte que os resultados obtidos se podem generalizar a toda a árvore.

IV.2.1.2.5 - Validação dos algoritmos

A validação dos algoritmos obtidos pelo método do saco para o povoamento de pinheiro foi feita contra uma outra metodologia. Em paralelo com a medição das taxas de emissão de terpenos pelo método do saco foi aplicada a técnica do "tracer", descrita no trabalho de Valente (1995). Apesar das diferenças e erros inerentes a cada metodologia de avaliação das taxas ou fluxos de emissão de terpenos pelo pinheiro, as taxas de emissão apresentaram grande concordância entre si (Pio *et al.* 1994). A partir do algoritmo obtido para o total de terpenos e consoante o método de cálculo, baseado na temperatura ambiente, ou na temperatura da folha por aplicação do modelo de copa apresentado por Lamb *et al.* (1993), as estimativas de emissões de terpenos são em média 9,5% inferiores ou 16% superiores respectivamente, às estimativas obtidas pela técnica do "tracer" (figura IV.12).

O facto de ter sido efectuado um estudo local para avaliação da densidade de biomassa do povoamento através de método destrutivo teve uma grande importância na comparação entre as duas técnicas.

Ao nível da composição das emissões medidas pelas duas técnicas observaram-se algumas diferença. Em média o α-pineno foi o composto mais abundante na avaliação das taxas de emissão pelo método do "tracer" enquanto que pelo método do saco foi o β-pineno o composto em média mais abundante. Estas diferenças podem estar intrinsecamente ligadas ao método de amostragem usado. O método do "tracer" avalia o fluxo de emissão da área em estudo de uma forma integrada, enquanto o método do saco apenas usa um pequeno ramo, valorizando a composição das emissões foliares da parte terminal do ramo.

O algoritmo obtido pelo método do saco para os monoterpenos totais estima em boa aproximação o fluxo de emissão do povoamento estudado como se pode deduzir da figura IV.12.

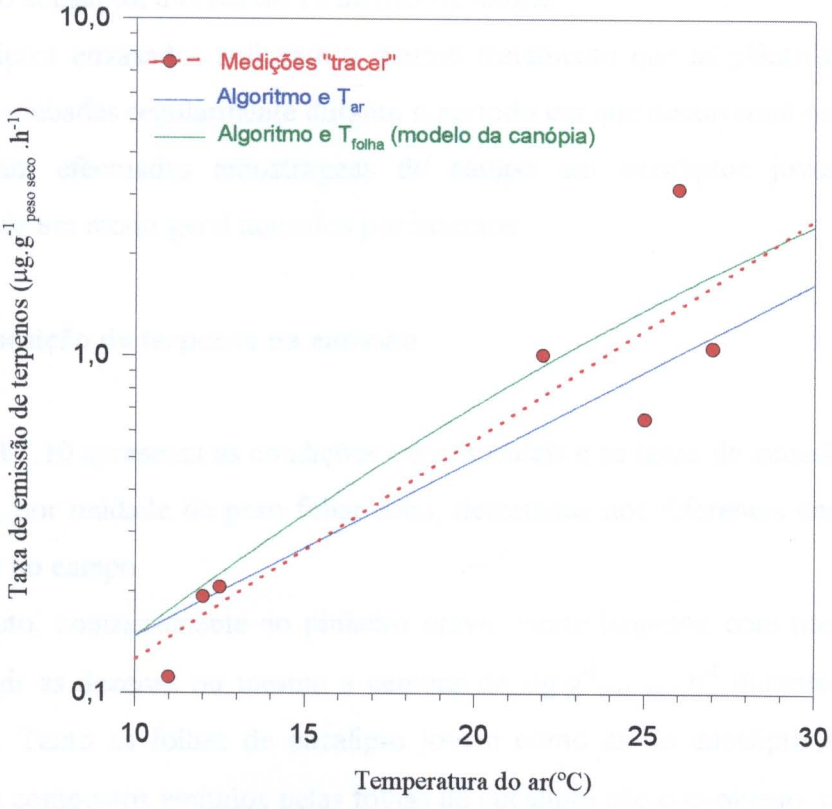


Figura IV.12 - Taxas de emissão de terpenos, obtidas pelos diferentes métodos de medição, em função da temperatura do ar (Valente 1995).

IV.2.2 - *Eucalyptus globulus*

Tal como para o *Pinus pinaster* foram efectuados ensaios com o método dinâmico do saco para avaliação das emissões de hidrocarbonetos não metano pelo eucalipto, quer no laboratório com plantas envasadas, quer no campo com ramos de árvore adulta. Os ensaios de campo foram efectuados sempre em ramos da mesma árvore, entre Junho de 93 e Outubro de 94. Os ensaios com plantas envasadas decorreram entre Abril e Junho de 93, tendo-se efectuado medições em três diferentes eucaliptos.

Uma das campanhas de campo, Junho/Julho de 93, teve a participação de um grupo da École Nationale Supérieure de Chimie de Toulouse, ao abrigo do sub-projecto comunitário BIATEX, o que permitiu a intercomparação entre diferentes métodos de amostragem e de medição da taxa de emissão do isopreno pelo eucalipto (Clement *et al.*, 1994).

Os ensaios de campo foram efectuados em ramos terminais, de verticelos da região média da copa do eucalipto, a cerca de 12 metros de altura.

Os eucaliptos envasados sofreram o mesmo tratamento que as plântulas de pinheiro, sendo regadas e adubadas regularmente durante o período em que decorreram os ensaios.

Não foram efectuadas amostragens de campo em eucaliptos jovens pois estes encontravam-se de um modo geral atacados por insectos.

IV.2.2.1 - Composição de terpenos na emissão

A tabela IV.10 apresenta as condições experimentais e as taxas de emissão de isopreno e monoterpenos, por unidade de peso foliar seco, detectadas nos diferentes ensaios, quer no laboratório, quer no campo.

O eucalipto, contrariamente ao pinheiro bravo, emite isopreno com taxas de emissão que podem atingir as dezenas ou mesmo a centena de $\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.h^{-1}$ durante o período de maior insolação. Tanto as folhas de eucalipto jovem como as de eucalipto adulto emitem isopreno. Outros compostos emitidos pelas folhas de eucalipto são o α-pineno, o limoneno e o 1,8-cineol, mas a taxas inferiores à do isopreno durante o dia. Nas amostragens efectuadas em ramos adultos estes compostos ocorreram na maior parte dos casos em quantidades vestigiais,

principalmente o α-pineno e o limoneno, enquanto que nas amostragens de laboratório de um modo geral foi possível quantificá-los regularmente. Nas amostragens de campo também foram detectados dois compostos desconhecidos, sendo um deles, por vezes, o composto mais abundante a seguir ao isopreno. Os tempos de retenção cromatográficos destes compostos eram um pouco superiores ao do 1,8-cineol. Estes compostos também foram detectados nas emissões de folhas juvenis, mas apenas a nível vestigial.

Tabela IV.10 - Condições experimentais e taxa de emissão foliar de isopreno e monoterpenos - *Eucalyptus globulus*.(os valores entre parêntesis referem-se a taxas de emissão expressas em nmol $C.m^{-2}.s^{-1}$)

Ensaios	biomas foliar g	c.b.f. * $g.m^{-2}$	T_{folha} °C	HR %	Rad. PAR $\mu mol.m^{-2}s^{-1}$	Isopreno $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$	α-pineno $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$	limoneno $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$	1,8-cineol $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$
Euc. jovem									
5 a 7/4/93	4,28	101	18-32	55-96	324-1670	0,5-70	0,09-2,1	0,03-0,70	0,10-4,2
(n = 13)						(1,0-144)	(0,2-4,3)	(0,07-1,4)	(0,2-8,7)
16/4/93	2,40	78,2	21-31	55-66	888-1790	10,6-41	0,46-2,6	0,17-0,88	0,82-3,8
(n = 13)						(16-66)	(0,7-4,1)	(0,3-1,4)	(1,3-6,0)
22 a 27/4/93	2,50	96,5	15-25	67-98	0-1990	n.d.-20	0,68-5,0	0,25-1,9	2,2-8,2
(n = 13)						(n.d.-39)	(1,3-9,9)	(0,5-3,7)	(4,4-16)
Euc. adulto									
2 a 3/7/93	14,78	279	11-33	48-90	0-1633	n.d.-24,9			<0,01-3,05
(n = 16)						(n.d.-142)			(<0,1-17)
12 a 13/8/93	15,60	272	15-41	58-94	0-1707	n.d.-40,7			0,13-7,42
(n = 17)						(n.d.-226)			(0,7-41)
	8,78	174	16-30	45-86	0-1707	n.d.-2,89			0,24-2,89
(n = 15)						(n.d.-10)			(0,9-10)
23/3/94	18,51	221	3-42	26-84-	0-1473	n.d.-86,1			<0,01-0,11
(n = 37)						(n.d-338)			(<0,1-0,5)
25/5/94	6,66	246	10-27	51-83	0-1002	n.d.-13,5			
(n = 12)						(n.d.-68)			
	6,17	234	10-23	68-85	0-744	n.d.-2,49			
(n = 13)						(n.d.-12)			
6/10/94	11,34	229	19-34	29-53	0-1317	0,06-56,8			<0,01-0,09
(n = 8)						(3-266)			(<0,1-0,4)

*- c.b.f. - coeficiente de biomassa foliar; n.d.- não detectado

Guenther *et al.* (1991) identificaram e quantificaram as emissões foliares de isopreno, α-pineno e 1,8-cineol em *Eucalyptus globulus* com 3 anos de idade cultivados em estufa (60±36, 15±9 e 69±39 nmol $C.m^{-2}.s^{-1}$, respectivamente a 28°C e 1000 $\mu mol_{fotões}.m^{-2}s^{-1}$), não se

referindo a outro qualquer composto nas emissões. Evans *et al* (1982) referem ainda a presença vestigial de β-pineno, ocimeno e limoneno além dos três compostos maioritários (isopreno, cineol e α-pineno) nas medições efectuadas em eucalipto envasado

O *Eucalyptus globulus* é uma espécie que apresenta dimorfismo foliar (figura IV.13). As folhas juvenis são glaucas, opostas cesseis, cordiformes, ovadas ou lanceoladas largas, de 1,5-7 x 4-16 cm. Os ramos onde estão inseridas as folhas juvenis são quadrangulares e também glaucos. As folhas juvenis são hipostomáticas (densidade de estomas muito superior na página abaxial) cobertas por uma fina camada de cera e pontilhadas de nódulos secretores. As folhas adultas são por seu lado alternas, longamente pecioladas e de igual cor verde escura brilhante nas duas páginas. São folhas falciformes, lanceoladas e de 1,5-4 x 8-36 cm. Os nódulos secretores são pouco visíveis e profundos. Apresentam formações epidérmicas especiais, visíveis à lupa, constituídas por pequenas pontuações formadas por células suberosas que ocuparam os nódulos secretores esvaziados. A densidade estomática nestas folhas é francamente inferior á das folhas jovens.

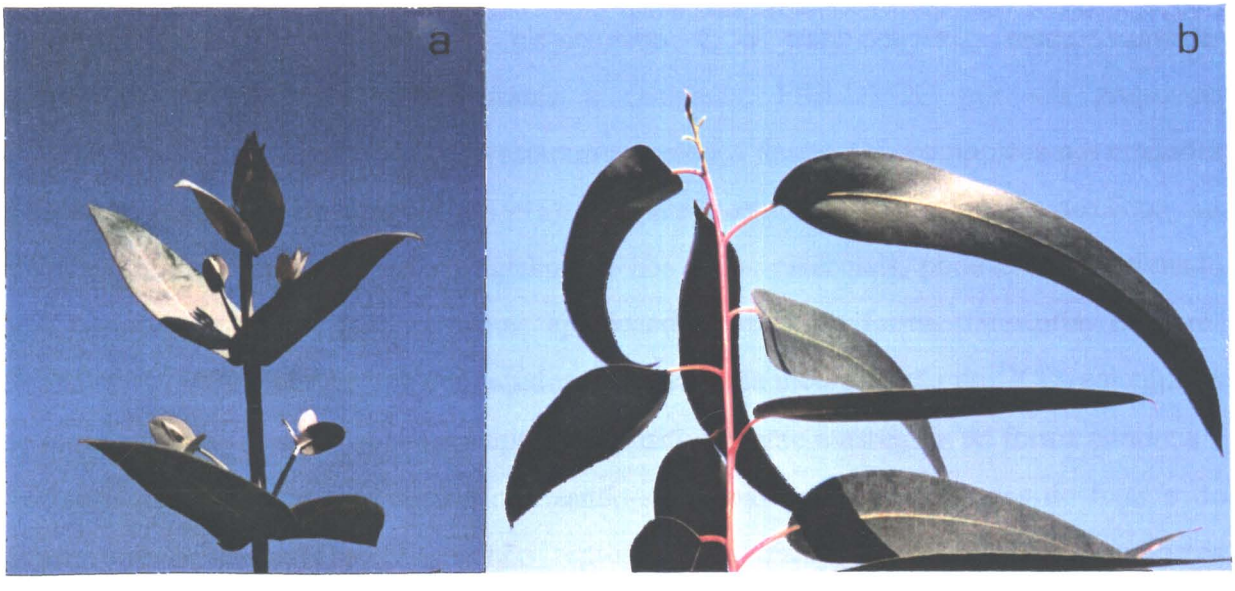


Figura IV.13 - Aspecto visual das folhas juvenis (a) e das folhas adultas (b) de *Eucalyptus globulus*.

Quer as folhas de ramos jovens, quer as folhas ramos adultos, de eucalipto são ricas em óleos essenciais que se acumulam em bolsas secretoras e que podem representar 1% ou mais, do peso verde da planta. O 1,8-cineol é o composto mais abundante nos óleos essenciais extraídos de folhas de eucalipto podendo variar entre 60-85% (Costa, 1994, Silvestre, 1994). O α-pineno é o segundo composto mais abundante (14-15%) e o limoneno o terceiro (2,1-4%). Segue-se uma série de compostos terpénicos e oxigenados, cerca de 70, com percentagens inferiores a 3%. A composição do óleo de eucalipto não parece ser muito afectado pelo tipo de folha, embora os óleos de folhas juvenis sejam mais ricos em hidrocarbonetos monoterpénicos e menos ricos em 1,8-cineol.

A composição das emissões reflecte em parte a composição das reservas de óleos essenciais, com excepção do isopreno que devido à sua elevada pressão de vapor (32,6 mm Hg, à pressão atmosférica) rapidamente desaparece das folhas a partir do momento em que deixou de ser sintetizado.

Em Outubro de 94 foram efectuadas algumas amostragens em paralelo ao ar que entrava e saía do saco onde se encontrava encerrado o ramo de eucalipto. Algumas destas amostras (5) foram enviadas para a Alemanha* para serem analisadas por GC/MS, de modo a poder confirmar os compostos por nós identificados com o sistema GC/FID. As análises por GC/MS identificaram os compostos referidos anteriormente tendo mostrado que os dois compostos desconhecidos eram o cis-ocimeno e o trans-ocimeno, respectivamente. Amostragens efectuadas em 94 durante a campanha FIELDVOC por um grupo da Universidade de Lancaster também detectaram a presença destes dois compostos nas emissões foliares de eucalipto (Hewitt *et al.*, 1995). O aparecimento destes compostos acíclicos nas emissões, que aparecem apenas vestigialmente nos óleos essenciais, pode estar relacionado com o metabolismo dos monoterpenos, aparecendo apenas de forma transitória. Bernard-Dagan *et al.* (1979) referem que nos estudos de cinética da incorporação do $^{14}CO_2$ em agulhas de *Pinus pinaster* o trans-β-ocimeno aparece transitoriamente e assegura de forma contínua a formação de outros monoterpenos, localizando-se apenas em zonas capazes de fixar e de transformar rapidamente o CO_2 e não representando mais do que 1% dos compostos terpénicos presentes nas agulhas.

* As análises por CG/MS foram feitas por cortesia de Thorsten Hoffmann do Institut fur Spektrochemie und angewandte Spektroscopie, Bunsen-Kirchoff - Dortmund.

Nas folhas de eucalipto adulto apenas se quantificou de forma contínua a taxa de emissão do cineol em algumas das campanhas. Nas folhas jovens quantificou-se sistematicamente o α-pineno, o limoneno e o 1,8-cineol. Esta diferença entre as folhas de ramos jovens e as de ramos adultos relativamente ao α-pineno e ao limoneno pode ser devida ao facto de o limite de detecção no campo ser mais elevado (a taxa de emissão resulta de um balanço da concentração dos compostos entre o ar que entra e o que sai do saco), ou pode resultar de diferenças reais na composição das emissões pelos dois tipos de folha.

As folhas de eucalipto adulto são mais ricas em essências do que as jovens (Costa, 1994) o que poderia implicar uma taxa de emissão mais elevada (Tingey *et al.*, 1991). Contudo as diferenças morfológicas e anatómicas entre os dois tipos de folhas podem afectar a difusão dos compostos orgânicos voláteis através do mesófilo de uma forma diferenciada, visto por exemplo o 1,8-cineol não ser afectado tão intensamente. Por outro lado a maior solubilidade do cineol pode facilitar a sua difusão através do mesófilo.

As folhas adultas têm uma cutícula muito mais espessa que as folhas juvenis assim como diferenças na densidade e distribuição de estomas nas duas páginas da folha. A profundidade das bolsas secretoras em cada um dos tipos de folha também é diferente, sendo mais superficial nas folhas jovens do que nas adultas. A localização das bolsas secretoras no interior das folhas também é diferente. As folhas juvenis apresentam um parênquima assimétrico contrariamente ao das folhas adultas que é simétrico. Guenther *et al.* (1991) por exemplo observaram que os monoterpenos nas folhas juvenis de eucalipto são emitidos preferencialmente pela página superior através da cutícula, em que o facto dos estomas estarem abertos ou fechados pouco influencia a taxa de emissão, enquanto o isopreno é emitido essencialmente pela página inferior. Para o caso das folhas adultas não se sabe se este comportamento também se manifesta devido às diferenças morfológicas. O comportamento diferenciado das páginas das folhas juvenis de eucalipto vem confirmar que a biossíntese do isopreno e monoterpenos ocupa diferentes compartimentos celulares.

Nas emissões foliares pelo eucalipto jovem observa-se um enriquecimento de α-pineno e limoneno relativamente à composição dos óleos essenciais extraídos das folhas de *Eucalyptus globulus*. O enriquecimento de α-pineno nas emissões foliares dever-se-á em parte à sua maior volatilidade (pressão de vapor a 1 atm. do α-pineno é de 155 mm Hg, e a do cineol é de 176 mm Hg) e provavelmente ao transporte diferenciado dos compostos terpénicos desde os seus locais de síntese e de armazenamento, até à superfície da folha (Tingey *et al.*, 1991). O

aparecimento de limoneno nas emissões de folhas juvenis não encontra correspondência nem na proporção em que aparece nos óleos essenciais, nem na respectiva pressão de vapor, que é muito próxima da do cineol. Uma das explicações para esta ocorrência é que os processos de extracção dos óleos essenciais das folhas pode levar à destruição de alguns compostos, principalmente os mais reactivos, e modificar a composição, não sendo possível estabelecer correspondência com a composição das emissões. Por outro lado ainda, factores como os referidos anteriormente para o trans-β-ocimeno e α-pineno, e a própria taxa de biossíntese podem actuar ou não conjugadamente, influenciando a taxa de emissão dos diversos compostos terpénicos.

A diferença na intensidade de emissão de compostos terpénicos pelos dois tipos de folha, depende muito do modo como são normalizadas as taxas de emissão, se por unidade de peso seco, se por unidade de área. Se compararmos a taxa de emissão para os dois tipos de folha, expressa em termos de peso seco, ela é superior nas folhas jovens quer para o isopreno quer para os monoterpenos. Se a comparação for feita em função da área a diferença atenua-se significativamente entre os dois tipos de folha. Esta questão não deixa de ser crítica, principalmente pelas implicações que tem na construção de inventários. Estudos recentes parecem indicar que a normalização das taxas de emissão de isopreno em termos do peso seco foliar contemplam melhor o efeito da canópia sobre a taxa de emissão basal (Monson *et al.*, 1995). Por exemplo as folhas de espécies de *Mucuna* que crescem na sombra ou ao sol apresentam melhor analogia entre as taxas de emissão de isopreno expressas em função da massa foliar do que em função da área (Harley *et al.*, 1994).

Contrariamente ao pinheiro a composição das emissões de eucalipto é extremamente variável no tempo visto o isopreno apresentar fotodependência. Durante o dia as emissões de isopreno podem representar mais de 80% das emissões totais enquanto que de noite a emissão deste composto é nula ou muito reduzida, não sendo possível quantificá-la com os meios que dispusemos.

Devido à diferença nas taxas de emissão de isopreno e monoterpenos, as condições de amostragem foram essencialmente focalizadas para a amostragem quantitativa do primeiro, tendo-se, na quantificação dos segundos, ficado frequentemente próximo do limite de detecção da técnica, principalmente nos ensaios de campo. Por conseguinte obteve-se um conjunto de resultados superior para o isopreno do que para os monoterpenos, permitindo uma melhor caracterização do comportamento e das variáveis que afectam a taxa de emissão do primeiro.

IV.2.2.2 - Variação diária da taxa de emissão de isopreno e monoterpenos

As taxas de emissão de isopreno e monoterpenos ao longo do dia, α-pineno e 1,8-cineol, calculados para os diferentes conjuntos de ensaios encontram-se nas figuras IV.14, IV.15, IV.16 e IV.17.

A emissão de isopreno ao longo do dia apresenta em todos os casos, tanto nas medições efectuadas em folhas jovens como em folhas adultas, um perfil característico, com taxas máximas nos períodos em que se conjugam as temperaturas e intensidade de radiação mais elevadas, decaindo rapidamente a taxa de emissão para zero com o desaparecimento da fonte de luz.

As taxas de emissão do α-pineno (que só foi quantificada para os eucaliptos jovens), e do 1,8-cineol, apresentam um perfil um pouco diferente, continuando a ser emitidos, mesmo depois do desaparecimento do sol, acompanhando de um modo geral a variação da temperatura. No entanto a emissão destes dois compostos pelos ramos de folhas jovens foi sempre muito sensível ao manuseamento, tendo-se obtido as taxas mais elevadas no arranque de cada ensaio, fazendo-se sentir este efeito pelo menos durante 4 horas, ou mais, após a entrada em funcionamento do sistema de amostragem. A emissão de isopreno não parece ser significativamente afectada pelo manuseamento e encerramento do ramo no saco. Guenther *et al.* (1991), referem-se precisamente à dificuldade de quantificação do α-pineno e 1,8-cineol, tendo observado que somente ao fim de várias horas após a colocação da folha de eucalipto na "cuvette" é que a taxa de emissão estabiliza, enquanto a taxa de emissão de isopreno responde rapidamente às variações de radiação e temperatura a que é sujeita a folha. Nos ensaios de campo em que foi possível quantificar de modo contínuo a emissão de 1,8-cineol, este problema não foi tão intenso, provavelmente devido à menor fragilidade das folhas adultas, tendo-se encontrado uma boa correlação entre a taxa de emissão e a temperatura da folha (figuras IV.16 e IV.17).

A presença de água nas folhas afecta a taxa de emissão de monoterpenos mas não tão drasticamente como no pinheiro. Por exemplo nos ensaios de 23 de Abril com eucalipto jovem, em que as folhas foram aspergidas antes de as encerrar no saco, foram registadas as taxas de emissão de monoterpenos mais elevadas de todos os ensaios, apesar das temperaturas da folha serem relativamente baixas.

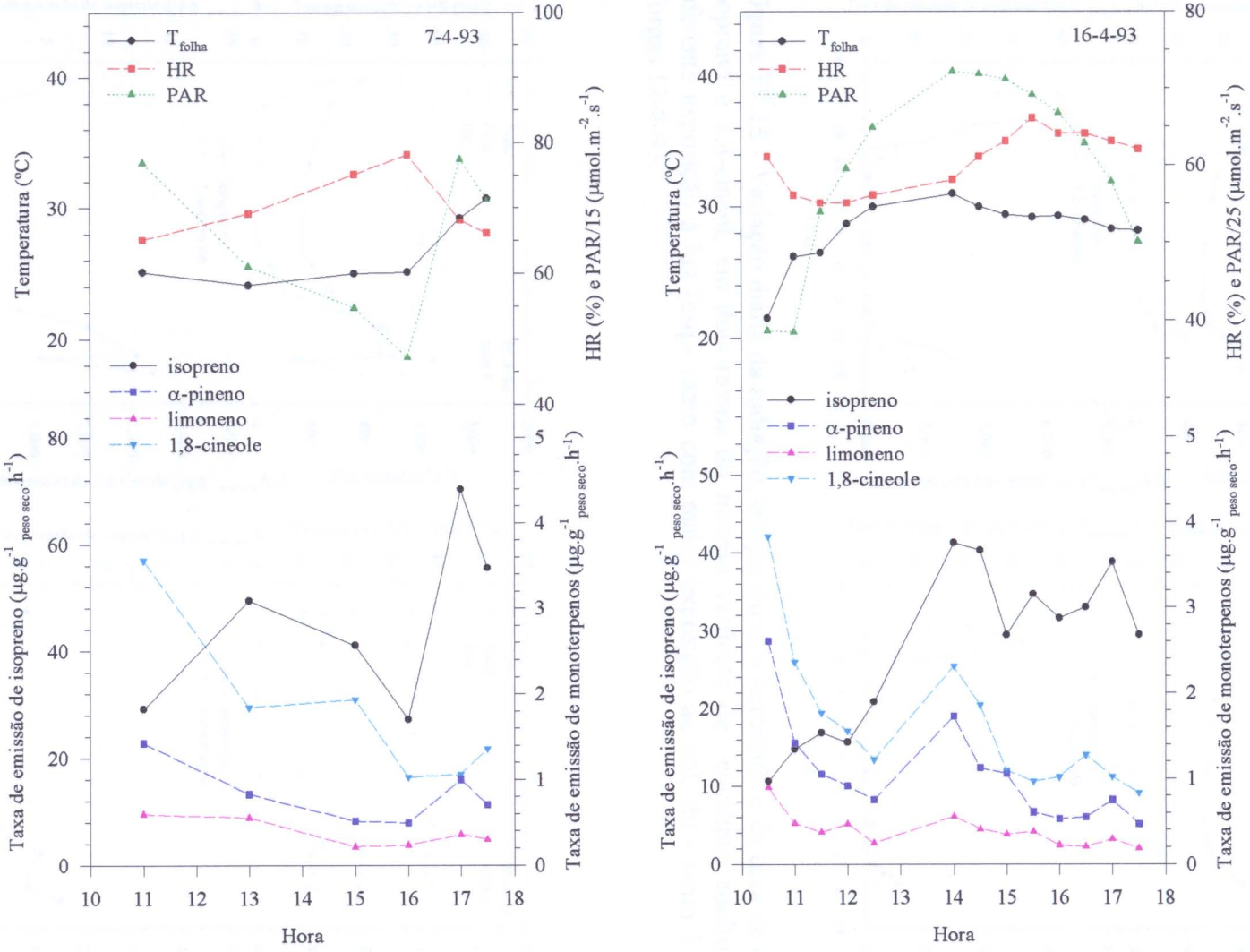


Figura IV.14 - Variação ao longo do dia da temperatura, humidade e radiação e das taxas de emissão de isopreno e terpenos - eucalipto jovem.

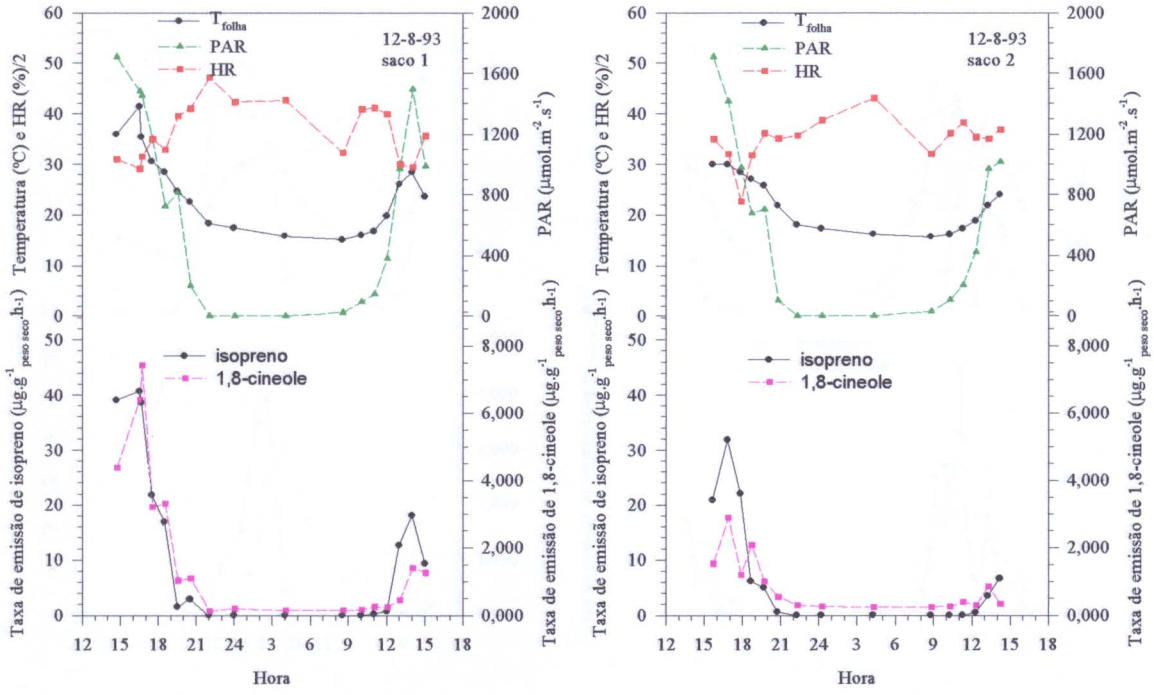


Figura IV.15 - Variação diária da radiação, temperatura, e humidade e da taxa de emissão de isopreno e 1,8-cineol, em dois ramos do mesmo verticelo de eucalipto adulto mas com diferente exposição à luz (esq.- ramo com maior exposição ao sol, dir.- ramo à sombra) - Corgas 12-8-93.

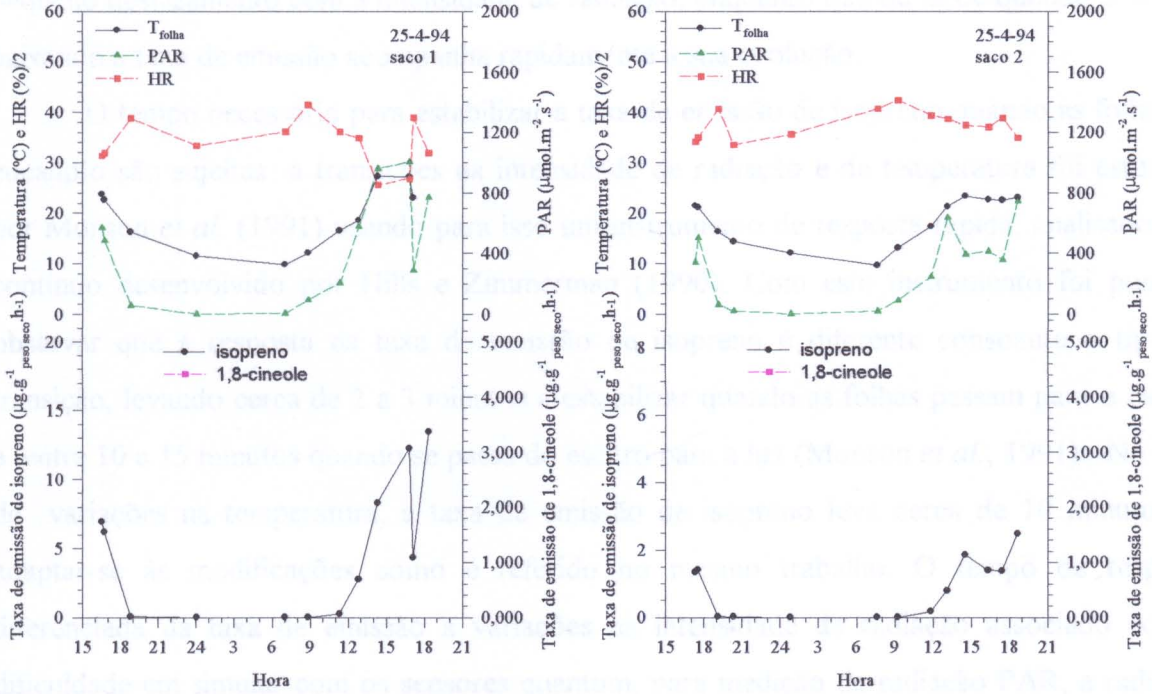


Figura IV.16 - Variação diária da radiação, temperatura, e humidade, e da taxa de emissão de isopreno em dois ramos do mesmo verticelo de eucalipto adulto mas com diferente exposição à luz (esq. ramo francamente ao sol, dir.- ramo à sombra) - Corgas, 25 a 26-4-94.

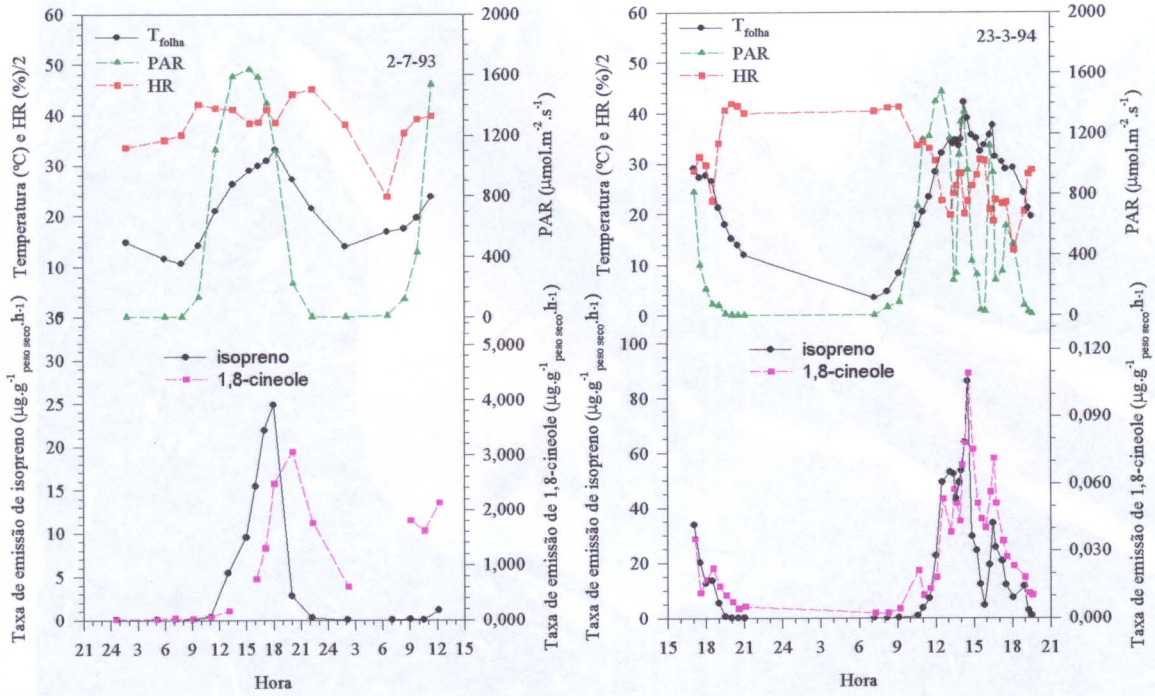


Figura IV.17 - Variação diária da radiação, temperatura, e humidade e da taxa de emissão de isopreno e 1,8-cineol em eucalipto adulto - Corgas 2-7-93 e 23-3-94.

A taxa de emissão de isopreno apresenta de um modo geral durante a manhã um pequeno desfasamento com a intensidade de radiação, enquanto que de tarde quando o sol vai baixando a taxa de emissão acompanha rapidamente a sua evolução.

O tempo necessário para estabilizar a taxa de emissão de isopreno quando as folhas de eucalipto são sujeitas a transições na intensidade de radiação e de temperatura foi estudado por Monson *et al.* (1991) usando para isso um instrumento de resposta rápida, analisador em contínuo desenvolvido por Hills e Zimmerman (1990). Com este instrumento foi possível observar que a resposta na taxa de emissão de isopreno é diferente consoante o tipo de transição, levando cerca de 2 a 3 minutos a estabilizar quando as folhas passam para o escuro e entre 10 a 15 minutos quando se passa do escuro para a luz (Monson *et al.*, 1991). No caso de variações na temperatura, a taxa de emissão de isopreno leva cerca de 10 minutos a adaptar-se às modificações como é referido no mesmo trabalho. O tempo de resposta diferenciada da taxa de emissão a variações na intensidade de radiação associado com a dificuldade em simular com os sensores quantum, para medição da radiação PAR, a radiação que é recebida pelas folhas de cada ramo e por outro lado o evoluir mais lento da temperatura da folha em comparação com a temperatura do ar, explicam o atraso verificado no aumento da

Figura IV.18 - Dispositivo usado para provocar ensombramento nos ensaios de campo de 23-3-94.

taxa de emissão de isopreno durante a manhã. O efeito conjunto destas duas variáveis na taxa de emissão do isopreno foi também visível na campanha de Março de 94 em que se provocou artificialmente situações de ensombramento, cobrindo o saco com diferentes materiais como se

pode observar na figura IV.18. Nestes casos eram feitas duas amostragens consecutivas, uma ao fim de 15 minutos e outra ao fim de 30 minutos após modificação nas condições de iluminação das folhas.

Tal como acontece durante a manhã a resposta da taxa de emissão de isopreno parece ser um pouco mais lenta quando se passa de níveis de menor para maior radiação do que na situação inversa tal como foi observado por Monson e seus colaboradores. No entanto não deixa de ser uma resposta extremamente rápida como se pode constatar pelos perfis da figura IV.17 relativas ao dia 23-3-94. Estas variações da taxa de emissão em função das condições ambientais são extremamente críticas em termos de quantificação das emissões biogénicas pois para as representar correctamente é necessário dispor de uma base de dados dos parâmetros temperatura e radiação com uma resolução temporal no mínimo ao nível da hora.

IV.2.2.3 - Influência das condições ambientais na taxa de emissão de isopreno e monoterpenos

Para a maioria das plantas, a taxa de emissão de monoterpenos é afectada essencialmente pela temperatura, de modo análogo ao comportamento da pressão de vapor, como foi referido anteriormente na discussão dos resultados de pinheiro. O eucalipto também apresenta esta forte dependência como foi evidenciado no trabalho de Guenther *et al.* (1991), com um declive de 0,094 e 0,100* para o cineol e para o α-pineno, respectivamente. Os poucos resultados obtidos para α-pineno e 1,8-cineol com eucaliptos jovens, acrescidos pelo efeito de manuseamento não permitiram aplicar testes de regressão. No entanto as taxas de emissão destes dois compostos medidas nos nossos ensaios são da mesma ordem de grandeza das referidas para a mesma espécie em ensaios de laboratório com plantas envasadas e criadas em estufa (Evans *et al.*, 1982 e Guenther *et al.*, 1991).

Nas medições de campo em que foi possível quantificar de forma contínua a taxa de emissão de cineol, campanhas de Julho e Agosto 93, e Fevereiro 94, observou-se uma boa correlação entre a taxa de emissão e a temperatura Na figura IV.19 apresenta-se os resultados dos testes de regressão da taxa de emissão em função da temperatura, para os ensaios de Agosto de 93 e Março de 94 em que se possuía um número de dados satisfatório.

---

* Estes declives estão de acordo com a expressão exponencial. Em termos de base 10, os mesmos tomam o valor de 0,041 e 0,043 respectivamente.

Os declives obtidos para o conjunto de dados diferem substancialmente entre os dois períodos em que se fizeram as amostragens, sendo difícil explicar esta diferença. O declive obtido em Março tem a particularidade de ser um valor muito próximo ao obtido por Guenther *et al.* (1991) para o mesmo composto e para a mesma espécie. A taxa de emissão para as mesmas temperaturas nos dois períodos foram contudo muito diferentes. Em Julho e Agosto as taxas de emissão de 1,8-cineol aproximam-se dos valores medidos em folhas jovens mas em Março e em Maio elas foram muito inferiores.

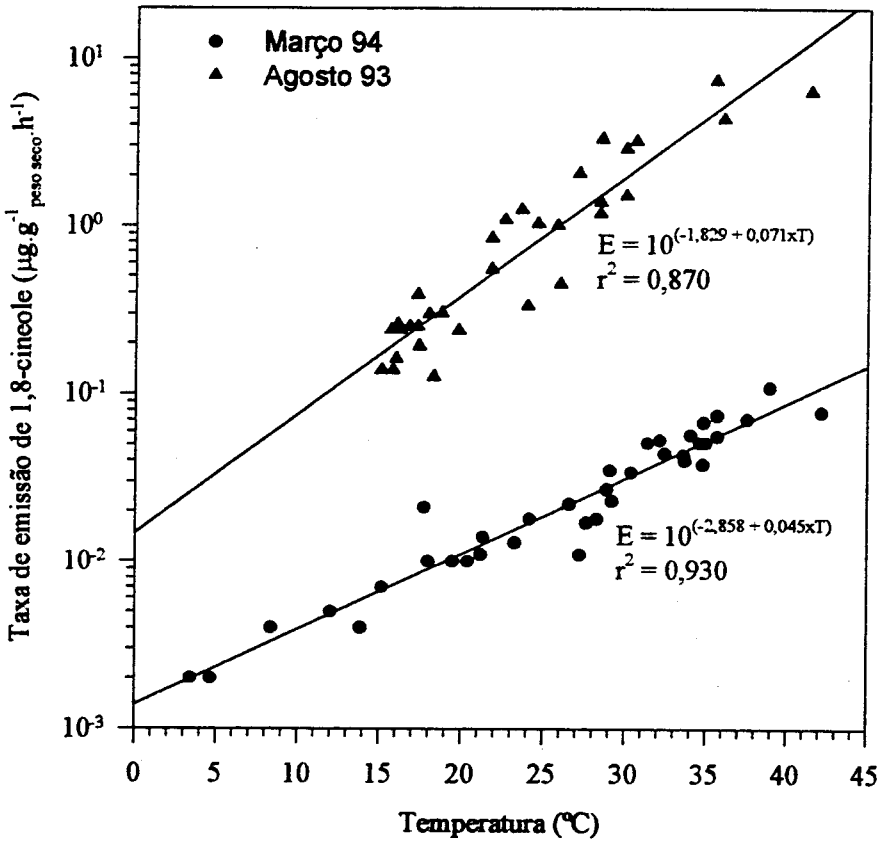


Figura IV.19 - Variação da taxa de emissão de 1,8-cineol com a temperatura, para folhas adultas, em Março e em Agosto.

Os valores das taxas de emissão de α-pineno (15 nmol $C.m^{-2}.s^{-1}$) e 1,8-cineol (73 nmol $C.m^{-2}.s^{-1}$) referidos por Guenther *et al.* (1991) segundo os próprios autores está sobrestimada em virtude da técnica por eles usada, não sendo por isso o valor por eles encontrado representativo. A apresentação da taxa de emissão, por unidade de peso ou por unidade de área, também afecta a leitura que se possa fazer entre os resultados obtidos com os dois tipo

de folhas, devido à diferença que existe entre os coeficientes de biomassa foliar (ver Tabela IV.9).

As taxas de emissão de cineol pelas folhas de árvores adultas apresentaram, como para o pinheiro, intensidade diferente consoante a época do ano em que se fizeram as medições, tendo-se registado as taxas de emissão mais elevadas no verão e as mais baixas no inverno e primavera. Tal como para o pinheiro esta diferença na intensidade de emissão pode encontrar alguma justificação na redução dos teores de óleos essenciais nas folhas em função da estação do ano ou pode estar influenciada por exemplo danos nos ramos ou nas folhas que não foram detectados. Costa (1994), refere que a recolha de material para fabrico de óleo de eucalipto a partir das folhas deve efectuar-se entre Abril e Setembro, sendo no verão que se obtêm rendimentos de extracção mais elevados. No outono e inverno, o rendimento é inferior e a percentagem de cineol nos óleos extraídos baixa de 70-75% para 60-65%. Esta divisão não é rígida sendo fortemente influenciada pelas condições edafoclimatológicas que afectam de sobremaneira a taxa de crescimento do eucalipto.

No caso do eucalipto não foram encontradas diferenças tão significativas na taxa de emissão de isopreno nos diferentes períodos em que se fizeram as amostragens tendo em conta as condições de temperatura e radiação que afectam significativamente as emissões de isopreno. O modelo de Guenther *et al.* (1991, 1993) apresentado no capítulo II foi aplicado às temperaturas da folha e radiação medida nos vários ensaios de campo efectuados e comparado com os valores medidos.

O modelo descreve com razoável aproximação a variação da taxa de emissão ao longo do dia como é ilustrado nas figuras IV.20 e IV.21. Nos ensaios de campo de março de 94 encontrou-se um melhor ajuste podendo ter contribuído para isso o facto de a radiação ter sido avaliada em três pontos diferentes enquanto que em Julho de 93 a radiação foi medida num ponto fixo. Outra hipótese para as diferenças observadas podem ter a ver com a possibilidade de o ramo no período em que foi avaliado apresentar uma taxa de emissão basal inferior visto o perfil medido e o do modelo serem idênticos. Embora o número de medições da taxa de emissão do isopreno efectuado acima dos 38 °C tenha sido escasso, no caso das medições de campo, tal como o modelo prevê observou-se um decréscimo da taxa de emissão para as temperaturas mais elevadas como é possível observar no gráfico tridimensional da figura IV.22.

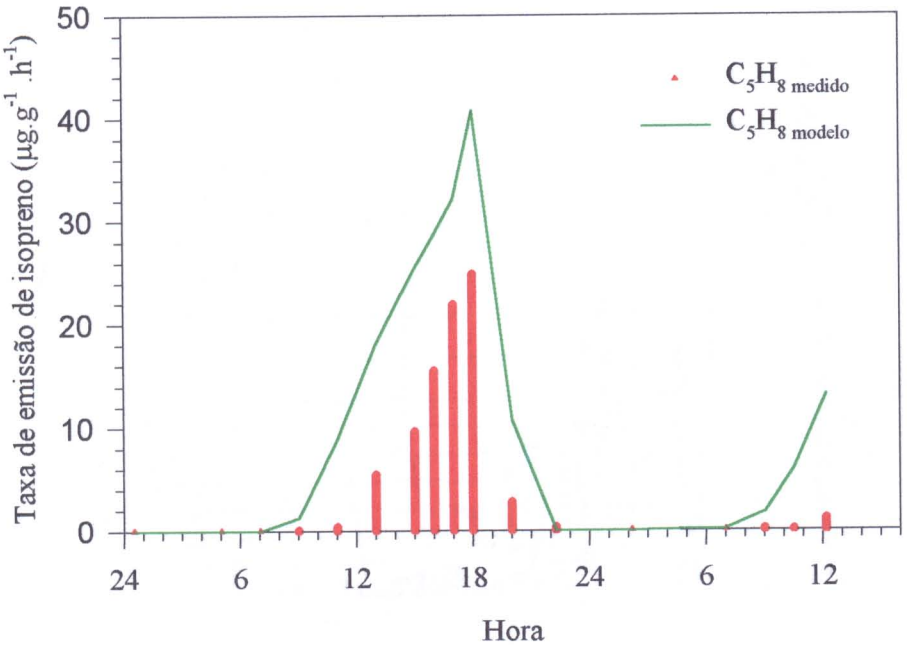


Figura IV.20 -Variação diária da taxa de emissão de isopreno medida e estimada pelo modelo de Guenther *et al.* (1993) para eucalipto adulto - Corgas 2-7-94.

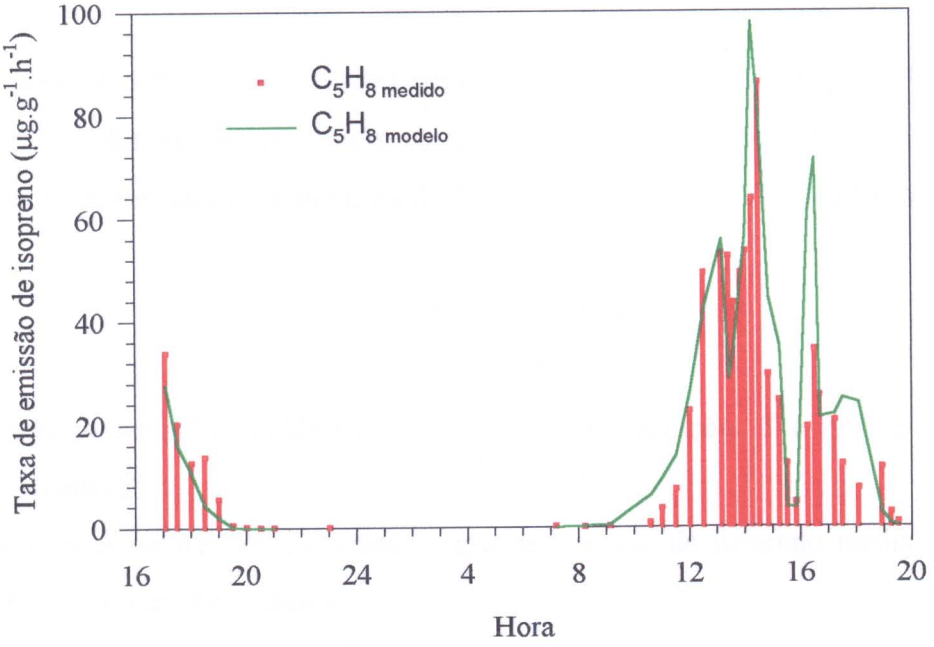


Figura IV.21 -Variação diária da taxa de emissão de isopreno medida e estimada pelo modelo de Guenther *et al.* (1993) para eucalipto adulto - Corgas 23-3-94.

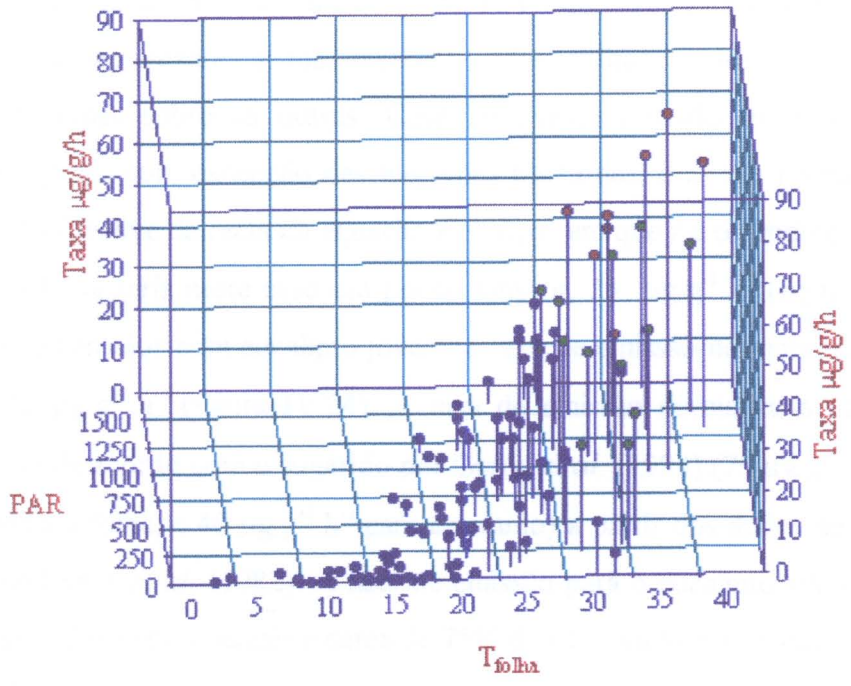


Figura IV.22 - Taxa de emissão de isopreno em função da temperatura da folha e da radiação PAR.

IV.2.2.4 - Normalização da taxa de emissão de isopreno

As taxas de emissão de isopreno medidas em condições de radiação PAR acima dos 400 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$, foram corrigidas com os factores CL_1 e C_T do modelo de Guenther *et al* (1993) atrás descritos para a temperatura de 30°C e 1000 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ de radiação,

$$I_s = I / (C_L . C_T)$$

sendo I a taxa de emissão medida ($\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.h^{-1}$) nas condições T e PAR e I_S a taxa nas condições "standard".

Com estes valores foi calculada a taxa de emissão de isopreno média normalizada, tendo-se obtido os seguintes valores:

$32\pm10\ \mu g.g^{-1}.h^{-1}$ (n = 36) para o eucalipto adulto

$48\pm11\ \mu g.g^{-1}.h^{-1}$ (n = 19) para o eucalipto jovem.

As medições efectuadas a radiação inferior a 400 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ foram excluídas para a obtenção da taxa de emissão normalizada pois na maior parte dos casos os desvios entre a taxa de emissão medida e a estimada eram maiores. Para radiação de baixa intensidade torna-se difícil quantificar correctamente a luz recebida pelas folhas devido ao problema de ensombramento de umas sobre as outras. Caso se tivessem usado todos os resultados experimentais de campo, com excepção das medições nocturnas, e a taxa normalizada fosse obtida por regressão (declive da recta da equação $E = E_s xf$ em que f é o produto dos factores ambientais C_L e C_T,), ela seria neste caso um pouco inferior, 23 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$ (figura IV.23). Do mesmo modo para os ensaios com eucalipto jovem a taxa de emissão normalizada obtida por regressão é de 42 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$ (figura IV.24). A taxa de emissão normalizada obtida para o eucalipto jovem está de acordo com o sugerido por Geron *et al.* (1994) (70 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$ quando a taxa é estimada folha a folha, e 40 $\mu g.g^{-1}.h^{-1}$ para um ramo) a partir dos dados de Guenther *et al.* (1991) e dos de Evans *et al.* (1982). A taxa de emissão para o eucalipto adulto de acordo com os nossos resultados experimentais é cerca de 75% do observado para o eucalipto jovem.

Algumas das maiores discrepâncias entre os valores medidos e os valores estimados devem-se concerteza ao facto de a radiação média registada com os sensores PAR não representar correctamente a radiação média absorvida pelas folhas do ramo. O mesmo se pode dizer para a temperatura que foi medida em apenas dois pontos, podendo em alguns casos o valor médio usado afastar-se da média do ramo. Se por um lado os estudos relativos à quantificação das taxas de emissão de COVs pelas plantas efectuados folha a folha tem o problema da representatividade dos mesmos, os estudos efectuados ao nível do ramo estão limitados pela dificuldade em quantificar correctamente a influência de parâmetros como a radiação e temperatura. Como se pode depreender dos factores de correcção, as diferentes folhas contribuem com diferente peso, consoante a sua posição e orientação relativamente ao sol, para a taxa de isopreno medida. As medições da taxa de emissão de isopreno folha a folha apresentam em média uma taxa de emissão 75±30 % mais elevada do que as taxas medidas num ramo (Guenther *et al.*, 1996).

Medições da taxa de emissão de isopreno e monoterpenos efectuadas durante a campanha FIELDVOC pelo grupo da Universidade de Lancaster (Hewitt *et al.*, 1995) também assinalaram diferenças na intensidade de emissão pelo eucalipto jovem e pelo eucalipto adulto, apresentando o primeiro taxas de emissão mais elevadas tanto para o isopreno como para os monoterpenos normalizadas em termos de peso seco (dados não publicados).

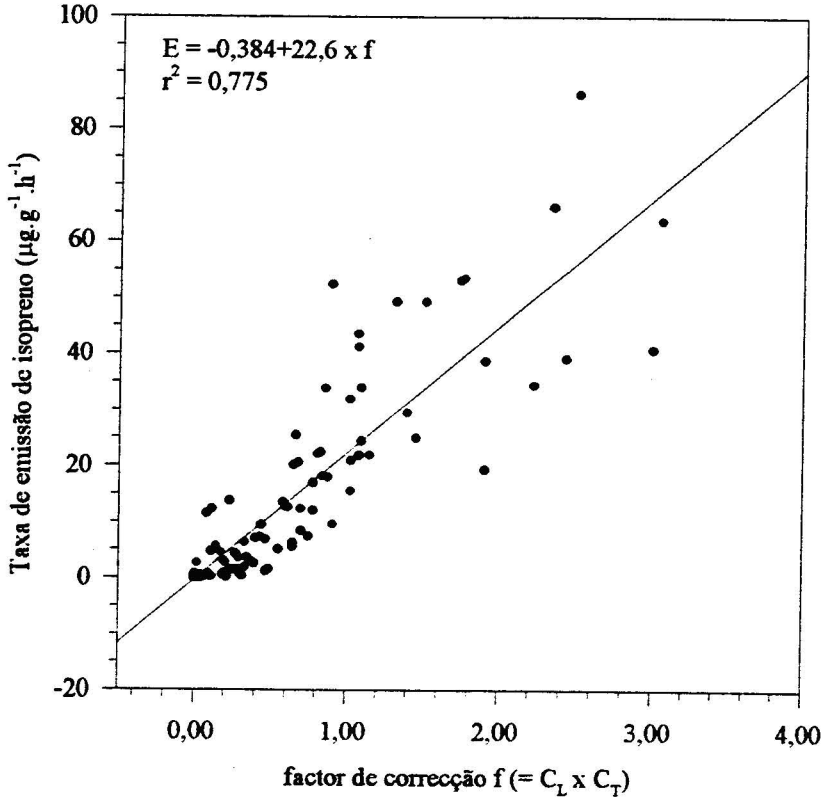


Figura IV.23 - Taxa de emissão de isopreno em função dos factores de correcção do modelo de Guenther *et al.* (1993) para os ensaios de campo em ramos de eucalipto adulto.

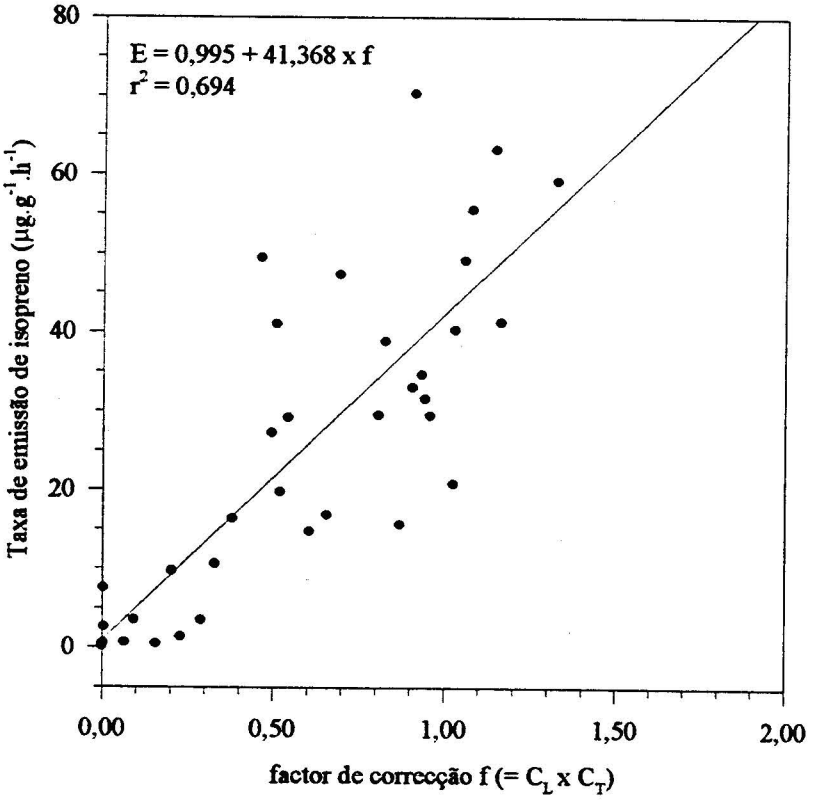


Figura IV.24 - Taxa de emissão de isopreno em função dos factores de correcção do modelo de Guenther *et al.* (1993) para os ensaios com eucalipto jovem.

IV.3 - Campanha FIELDVOC - Concentração atmosférica de hidrocarbonetos não metano num eucaliptal.

O projecto FIELDVOC teve por objectivo o estudo no campo dos mecanismos de degradação troposférica de compostos orgânicos voláteis biogénicos como o isopreno. As medições de campo previstas no projecto decorreram numa área de monocultura de eucalipto na região centro de Portugal, concelho de Tábua. A escolha de Portugal para a realização desta campanha teve a ver com as condições meteorológicas prevalecentes no nosso país que são incentivadoras à emissão de grandes quantidades de COVs biogénicos e por outro lado devido aos estudos efectuados com eucalipto por nós e por outros autores citados ao longo deste trabalho darem esta espécie como uma fonte potencial de isopreno para a atmosfera. Medições pontuais por nós efectuadas no local onde viria a decorrer a campanha confirmaram que as concentrações atmosféricas de isopreno ao nível da copa podiam atingir as dezenas de ppb durante o dia, níveis que decaíam durante a noite para concentrações vestigiais.

O estudo de campo decorreu de 15 de Junho a 12 de Julho com a participação de grupos de investigadores da Alemanha (Institut fur Umweltphysik da Universidade de Heidelbrg e do Max-Planck-Gesellschaft zur Forderung der Wissenschaften e.V.), da Inglaterra (School of Chemistry da Universidade de Leeds e do Institut of Environmental and Biological Sciences da Universidade de Lancaster), de França (Centre National de la Recherche Scientifique, Physicochimie et Géochimie de l'Atmosphère e do Laboratoire Interuniversitaire des systèmes atmosphériques, Faculté des Sciences, Créteil) e de Portugal (Departamento de Ambiente e do Ordenamento da Universidade de Aveiro).

Os resultados das concentrações de isopreno e monoterpenos aqui apresentados e discutidos foram obtidos durante a campanha de Tábua. Nesta campanha dado que havia diferentes grupos a medir as concentrações de hidrocarbonetos não metano na atmosfera, foi possível efectuar uma intercomparação dos diferentes métodos usados para medição do isopreno e monoterpenos Apesar das diferenças dos métodos de colheita (métodos de amostragem e escalas de tempo diferentes) e de análise obteve-se uma concordância satisfatória, nomeadamente para o isopreno, entre os resultados de quatro grupos participantes (Lancaster, Leeds, CNRS e Aveiro) (Pio e Nunes, 1995).

IV.3.1 - Descrição do local

O local onde decorreu a campanha FIELDVOC situa-se no centro de Portugal, numa extensa propriedade (mais de 600 ha) onde domina a plantação de eucalipto (Quinta das Corgas - CELBI). A floresta desta região é constituída essencialmente por eucalipto e pinheiro que aparecem em povoamentos puros ou mistos.

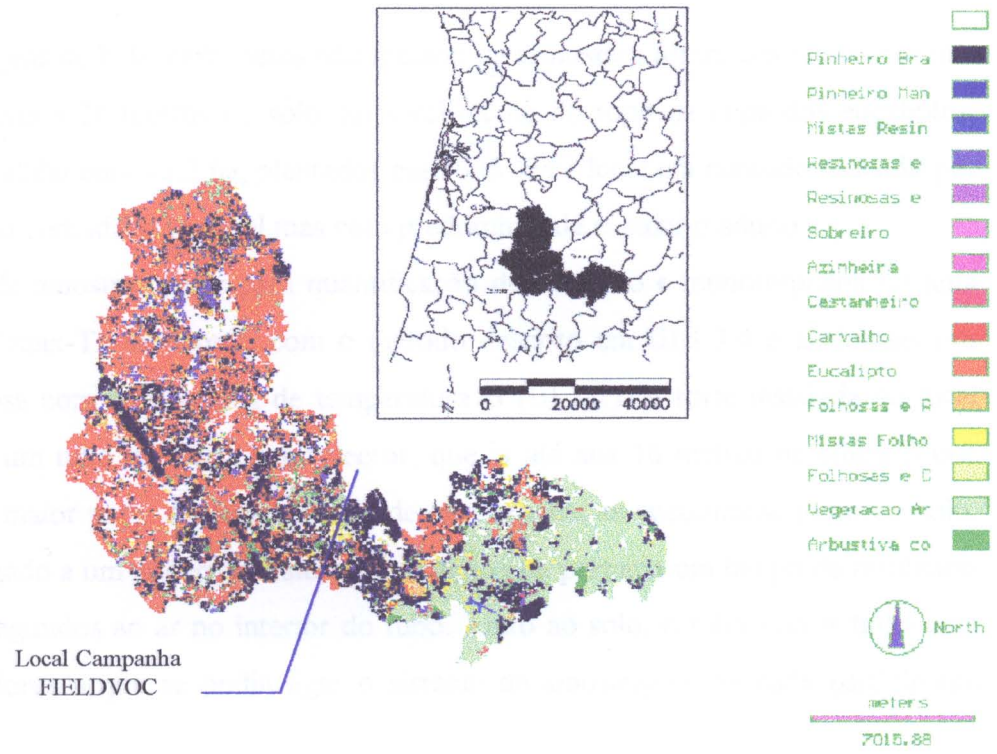


Figura IV.25 - Mapa de concelhos da região Centro e distribuição da cobertura vegetal (ampliação da mancha negra do mapa dos concelhos - Mortágua, Penacova, V.N. Poiares e Arganil) na vizinhança do local onde decorreu a campanha FIELDVOC.

Na figura IV.25 dá-se uma ideia do enquadramento do local em termos de cobertura do solo na área envolvente. Nesta figura aparecem os concelhos de Mortágua, Penacova, Vila Nova de Poiares e Arganil. Infelizmente não havia dados no Centro Nacional de Informação Geográfica (CNIG) para os concelhos de Tábua e Santa Comba-Dão para completar a figura. Os dados de Oliveira do Hospital por apresentarem uma legenda diferente também não puderam ser incluídos na figura. Apesar de incompleta a figura mostra de forma bem visível a

importância que o eucalipto ocupa na região, principalmente a W-NW do local onde decorreu a Campanha FIELDVOC.

As plantações de eucalipto existentes na região destinam-se principalmente à produção de madeira para a indústria de pasta de papel, tratando-se de povoamentos com idade muito variável.

IV.3.2 - Variação diária da concentração de isopreno e monoterpenos

As amostragens de hidrocarbonetos não metano da atmosfera foram efectuadas durante a campanha de Tábua a 16 metros do solo, ao nível médio do topo da copa dos eucaliptos, pertencentes a um talhão com 13,2 ha, plantados em 1988. Este local era contudo rodeado por talhões de eucalipto com idade variável mas com predomínio de eucalipto adulto.

A colheita de amostras de ar para quantificação de isopreno e monoterpenos foi feita por adsorsão em Tenax-Ta de acordo com o método descrito em III.1.3.4 e analisadas por cromatografia gasosa com o programa de temperatura ***B*** (III.1.2). A torre instalada no local era percorrida por um tubo de vidro, tubo vector, que ia até aos 16 metros de altura o que possibilitava que a maior parte do equipamento de amostragem se encontrasse junto ao solo. Este tubo estava ligado a um poderoso sistema de sucção que permitia um tempo de residência de apenas alguns segundos ao ar no interior do tubo. Junto ao solo, o tubo vector tinha uma série de distribuidores a que se podia ligar o sistema de amostragem de cada participante (figura IV.26).

Durante a campanha foram colhidas amostras de ar ao longo dos vários dias. No entanto nos períodos denominados intensivos foram colhidas amostras regularmente ao longo de pelo menos 24 horas. No total foram efectuadas mais de 250 amostragens distribuídas entre 16 de Junho e 12 de Julho. O isopreno, α-pineno, β-pineno, limoneno, 1,8-cineol e um composto desconhecido, foram sistematicamente encontrados nas amostras de ar. Outros compostos como o mirceno e o Δ_3-careno, foram frequentemente detectados mas a nível vestigial. O composto desconhecido foi mais tarde identificado por GC/MS (amostras enviadas para a Alemanha) como sendo provavelmente um ocimeno, tal como tinha sido identificado nas emissões foliares de ramos adultos.

Figura IV.26 - Pormenores do sistema de amostragem no campo durante a campanha FIELDVOC.
a - entrada do ar ao nível do topo das copas; b - junto ao solo onde se pode observar diverso equipamento e o sistema de distribuidores do tubo vector.

O composto orgânico volátil mais abundante na atmosfera do eucaliptal é o isopreno, cujas concentrações durante o período diurno podem atingir a dezena de ppb. As concentrações do α e β-pineno raramente ultrapassaram um ppb, sendo a dos restantes compostos inferiores a este valor. Ao longo do dia, excluindo o isopreno, o composto mais abundante foi em média o composto "desconhecido", enquanto que de noite foram sistematicamente os dois pinenos que alternaram entre si a liderança.

Na figura IV.27 apresentam-se as concentrações dos principais compostos medidos ao longo da campanha, isopreno, α-pineno e β-pineno. As concentrações de isopreno têm máximos durante os períodos de maior insolação e temperatura (12 -17 h TU) decaindo rapidamente para valores vestigiais com o cair da noite até ao dia seguinte. As concentrações dos outros compostos mostram um comportamento diferente, principalmente o α e β-pineno, com concentrações máximas durante o período nocturno. Este comportamento tem sido assinalado em outros zonas florestais (Hov *et al.*, 1983; Riba *et al.*, 1987; Lopez *et al.*, 1988; Yokouch e Ambe, 1988; Martin *et al.*, 1991; Janson, 1992), principalmente em florestas de coníferas. Os restantes compostos terpénicos não apresentam um comportamento tão regular como o isopreno e os pinenos, ocorrendo por vezes dois máximos, um de noite como o α e β-pineno e o outro após o meio dia.

As concentrações medidas dos diferentes compostos em cada momento são dependentes da intensidade da fonte emissora que é afectada pelas condições ambientais vigentes durante o período de amostragem, da distância à fonte, da altura da camada de mistura e das condições de dispersão atmosférica, e dos processos de transformação em que são envolvidos.

As concentrações de isopreno durante a noite descem para valores muito baixos em virtude da anulação das emissões durante este período. Para os restantes compostos as emissões continuam durante a noite, embora a taxas inferiores. Os processos de transformação química e as condições de dispersão sobrepõem-se durante o dia à taxa de emissão, enquanto que durante a noite, os processos de diluição/remoção são menos intensos e a maior estabilidade e diminuição da camada de mistura permite a sua acumulação.

Atendendo à composição dos COVs emitidos pelo eucalipto, as concentrações de alguns dos compostos identificados e medidos no local não encontram correspondência com as emissões locais, nomeadamente para o α e β-pineno.

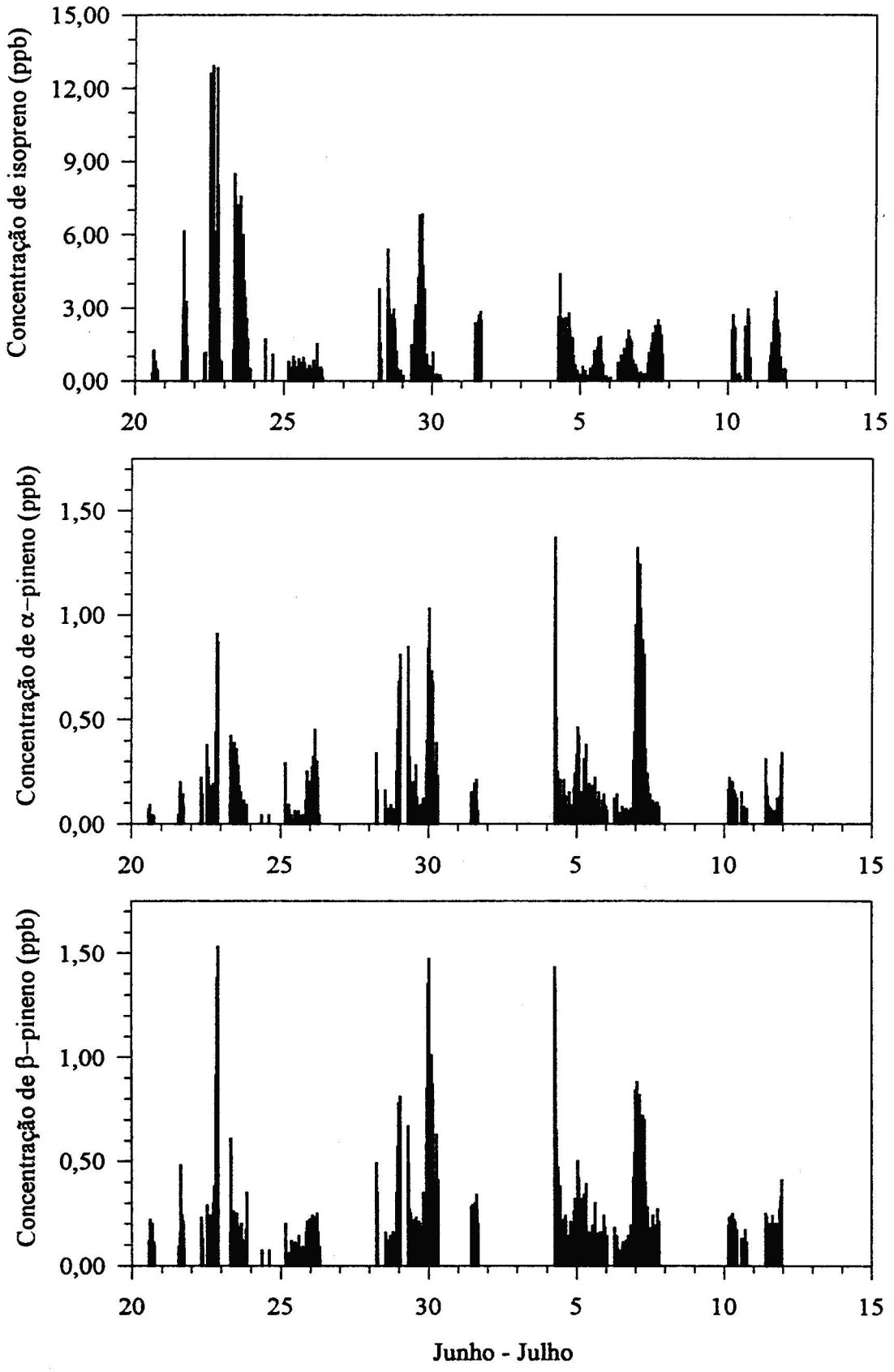


Figura IV.27 - Concentração de isopreno, α-pineno e β-pineno a 16 metros do solo num eucaliptal - Corgas, entre 20 de Junho e 15 de Julho de 1994.

A vegetação rasteira associada aos povoamentos de eucalipto é por sua vez escassa o que também não permite justificar as concentrações de α e β-pineno observadas.

Tendo em conta a composição da floresta na região envolvente (pinheiro e eucalipto) provavelmente parte destes compostos são emitidos pelo pinheiro que, como foi demonstrado em secções anteriores, emite maioritariamente α e β-pineno. Em termos regionais (distritos de Aveiro, Coimbra, Viseu e Guarda) a percentagem de floresta de eucalipto será inferior a 1/3 da floresta de pinheiro. A proximidade de povoamentos de pinheiro para este, a menos de 3 Km do local será responsável pelas concentrações elevadas de α e β-pineno registadas durante a noite. Estas altas concentrações nocturnas estiveram sempre associadas a vento dos quadrantes NE-E-SE.

Para melhor definir a contribuição das emissões de eucalipto e pinheiro para a composição de COVs atmosféricos na área e avaliar os processos que regulam as suas concentrações foi usado o β-pineno como uma espécie de elemento traçador, visto as emissões deste composto pelo eucalipto serem vestigiais enquanto que para o pinheiro é um dos compostos emitidos em maior quantidade, juntamente com o α-pineno.

Nas figura IV.28, IV.29 e IV.30 apresentam-se gráficos das razões monoterpeno/β-pineno para os períodos mais representativos, juntamente com as concentrações atmosféricas e as condições meteorológicas respectivas, para ajudar a interpretação. Como já havia sido dito as mais altas concentrações de α e β-pineno registadas no local estiveram sempre associadas a vento de NE-SW e durante o período nocturno. As razões α-pineno/β-pineno apresentaram um padrão de variação diferente dos restantes compostos, principalmente em situações associadas a mudança de vento ao fim da tarde, como por exemplo de 28 para 29 e 29 para 30 de Junho (figura IV.29) e de novo de 7 para 8 de Julho (figura IV.30), o que leva a admitir que estes dois compostos tem uma fonte diferente dos restantes. Nestas situações o aumento das concentrações nocturnas de α e β-pineno foi acompanhada por um enriquecimento do primeiro.

De 5 para 7 de Julho, período caracterizado por vento predominantemente de oeste, com ligeira inflexão para sul na noite de 5 para 6, as concentrações nocturnas de pinenos foram acentuadamente mais baixas do que em iguais períodos sob influência de vento de leste e o enriquecimento de α-pineno é menos intenso. O perfil diurno da razão α/β pineno é semelhante ao do cineol, com máximos próximo do meio dia.

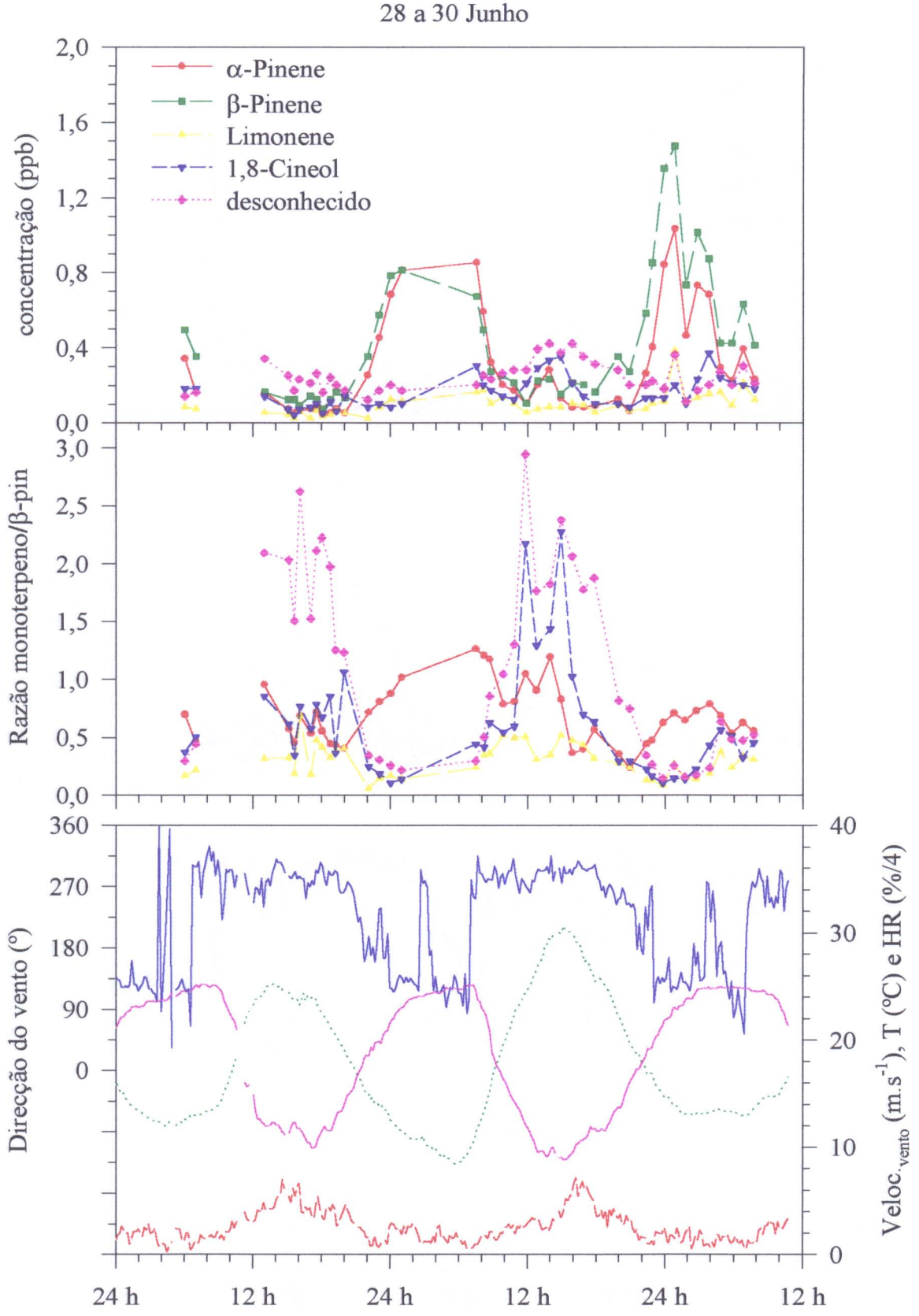


Figura IV.28 - Concentração atmosférica e razão entre os compostos terpénicos e o β-pineno observadas de 28 a 30 de Junho. Em baixo são apresentadas a temperatura (·····), humidade relativa (——), velocidade (-----) e direcção do vento (——) para o mesmo período (dados fornecidos por cortesia do grupo de Heidelberg participante na campanha).

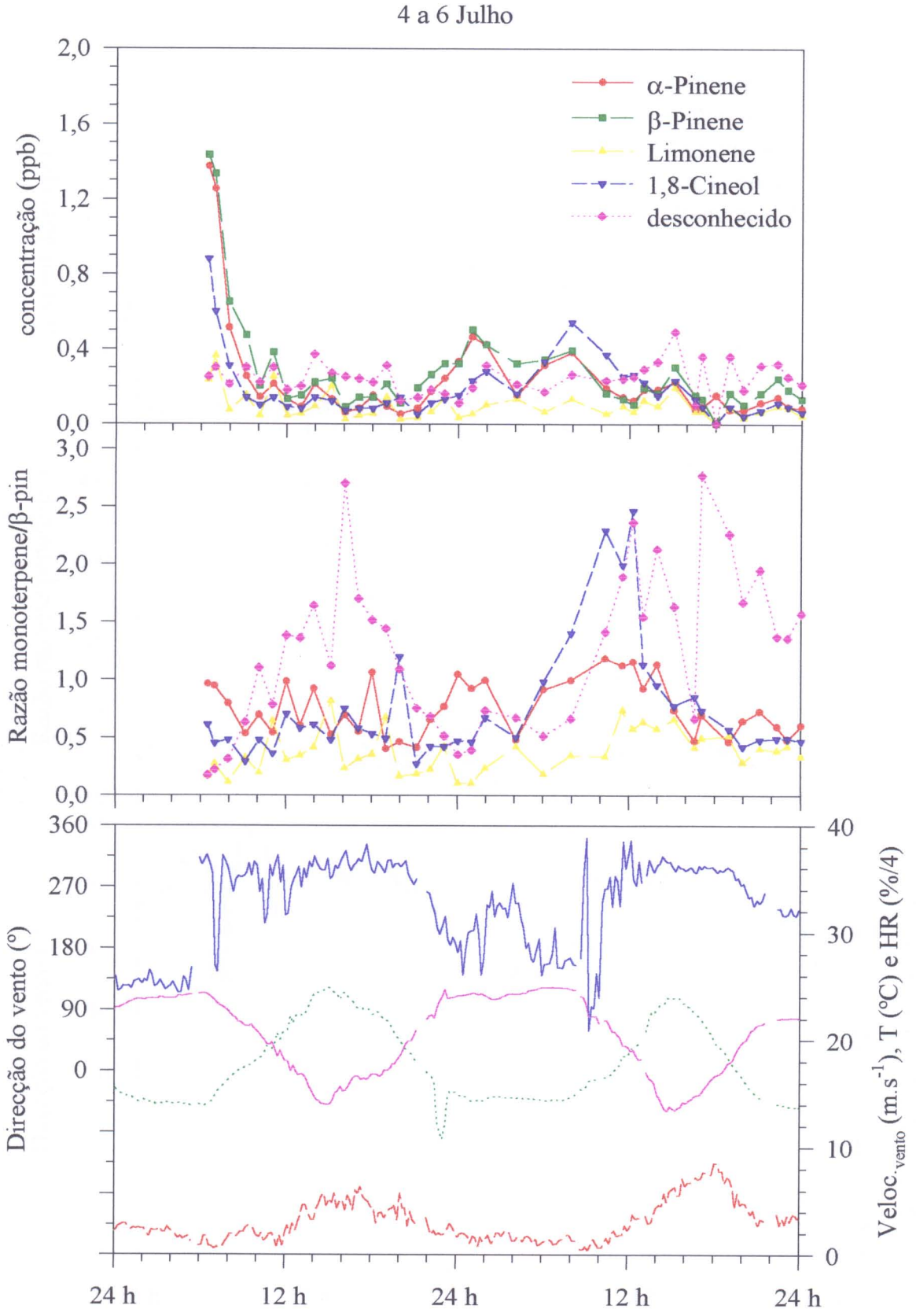


Figura IV.29 - Concentração atmosférica e razão entre os compostos terpénicos e o β-pineno observadas de 4 a 6 de Julho. Em baixo são apresentadas a temperatura (·····), humidade relativa (——), velocidade (-----) e direcção do vento (——) para o mesmo período (dados fornecidos por cortesia do grupo de Heidelberg participante na campanha).

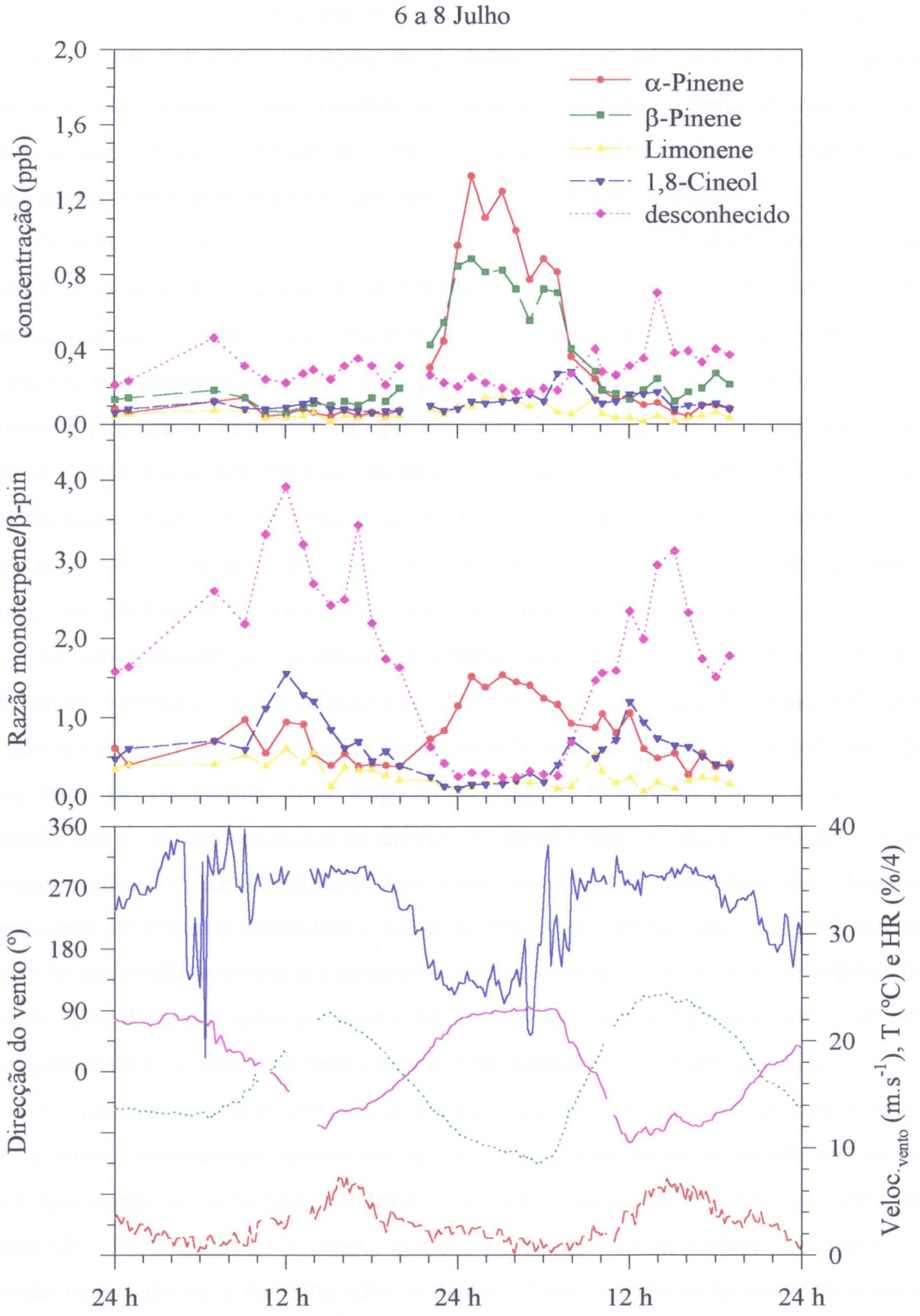


Figura IV. 30 - Concentração atmosférica e razão entre os compostos terpénicos e o β-pineno observadas de 6 a 8 de Julho. Em baixo são apresentadas a temperatura (·····), humidade relativa (——), velocidade (-----) e direcção do vento (——) para o mesmo período (dados fornecidos por cortesia do grupo de Heidelberg participante na campanha).

Este enriquecimento em α-pineno pode ser devido às emissões locais, por um lado, e por outro, devido à maior reactividade do β-pineno com os radicais OH, este sofrer um consumo mais acentuado durante o período de maior actividade fotoquímica. Durante a tarde, devido ao aumento da velocidade do vento, a contribuição local sofre uma diluição mais intensa provocando a diminuição da razão para a maior parte dos compostos .

O enriquecimento nocturno do α-pineno em relação ao β-pineno nas situações associadas com vento de leste pode ser devida por um lado à diferente relação entre estes dois compostos de acordo com as suas fontes e por outro às emissões locais de α-pineno pelo eucalipto. O enriquecimento nocturno do α-pineno relativamente a β-pineno em princípio será contrariado pela maior reactividade do primeiro para com os agentes oxidantes nocturnos; porém à medida que as concentrações de ozono e radicais nitrato vão sendo consumidos ao longo da noite observa-se um enriquecimento progressivo de α-pineno. De manhã com o aumento de turbulência associada à mudança de direcção do vento, a razão α/β pineno diminui, voltando a aumentar por volta do meio dia pelas razões atrás expostas.

As razões cineol/β-pineno apresentam sistematicamente um pico por volta do meio-dia, quase sempre superior a 1 o que enfatiza a importância da emissão local pelo eucalipto durante este período do dia. Contudo não deixa de ser estranho o facto da razão do cineol com o β-pineno descer tão acentuadamente ao longo do dia atingindo os mínimos durante a noite. Uma das razões tem a ver com a mudança de direcção do vento a qual vai alterar a relação entre os diferentes compostos; outra explicação tem a ver com a maior solubilidade do 1,8-cineol relativamente aos restantes compostos o que pode levar à sua remoção por via húmida devido à formação do orvalho e nevoeiros nocturnos, apesar de continuar a ser emitido pelas folhas de eucalipto. Uma das observações que parece dar consistência a esta interpretação tem a ver com o enriquecimento de α-pineno durante a noite o qual também é emitido pelo eucalipto.

A razão limoneno/β-pineno não apresenta um padrão de variação tão característico como o cineol, evidenciando apenas um ligeiro máximo com períodos semelhantes ao do cineol. Este comportamento pode ser devido à elevada reactividade do limoneno, quer com radicais OH e NO_3, quer com o ozono, que não permitem a sua acumulação. A origem do limoneno tanto pode ser o eucalipto como o pinheiro dado que este composto foi assinalado nas emissões foliares de ambas as espécies.

O composto desconhecido apresenta um comportamento em termos da razão com o β-pineno próximo do cineol, não apresentando contudo grandes flutuações diárias da

concentração. Com base no tempo de retenção pensa-se que este composto seja o mesmo observado nas emissões foliares de eucalipto adulto, ou seja um ocimeno. Nas análises efectuadas em Outubro de 94 por GC/MS a três amostras de ar colhidas entre as 12 e as 15 h no mesmo local e sensivelmente à mesma altura das amostras da campanha FIELDVOC não foi no entanto detectada a presença de qualquer ocimeno tendo sido apenas quantificados o isopreno (4-5 ppb), α-pineno (0,22-0,26 ppb), 1,8-cineol (0,10-0,11 ppb) e β-pineno (0,062-0,102).

No entanto ao nível das emissões foi assinalada a presença de trans-ocimeno. No estudo efectuado para avaliação das taxas de emissão de COVs pelo eucalipto não se conseguiu clarificar se o ocimeno era ou não emitido a uma taxa superior à do cineol. O balanço entre o ar de saída e o ar de entrada no saco não permitiu frequentemente a sua quantificação; noutras situações obtiveram-se contudo valores de taxas de emissão superiores às do cineol. Mesmo que fosse emitido a uma taxa superior, tratando-se de um ocimeno, não será de esperar muito elevadas na atmosfera. Tal como o limoneno trata-se de uma espécie muito reactiva com tempos de residência na atmosfera da ordem de alguns minutos (tabela II.1). Por conseguinte, atendendo ao perfil de concentração diário e ao facto de o pico da razão com o β-pineno aparecer normalmente um pouco mais tarde do que o do cineol põe-se também a hipótese de não se tratar de uma emissão directa mas sim de um produto de oxidação das emissões biogénicas ou então de um composto com outra origem. Assim a identificação e a origem deste composto na atmosfera contínua por esclarecer em função dos dados contraditórios que dispomos. O facto do composto apresentar um padrão de variação diário, quer ao nível da concentração atmosférica, quer ao nível da razão com o β-pineno, exclui a hipótese de se tratar de uma contaminação introduzida pelo Tenax.

O isopreno não foi incluído nesta abordagem dado possuir um padrão de emissão muito diferente dos restantes compostos e na área em estudo não se conhecerem outras fontes de isopreno equivalentes às potenciais emissões provenientes do eucalipto. O perfil de concentrações diário reflecte francamente o comportamento das emissões de isopreno pelas folhas de eucalipto.

Na atmosfera local foram ainda observados por outros investigadores os produtos de oxidação do isopreno (metilvinilcetona e metacroleina) os quais ao longo do dia apresentam uma estreita correspondência com as concentrações de isopreno (Lewis *et al.*, 1995). As concentrações de MVC e MACR aqui medidas (< 0,1 a 3ppb) estão de acordo com

observações efectuadas noutros locais florestais e rurais (Martin *et al.*, 1991; Montzka *et al.*, 1993 e Yokouchi. 1994), em que, de acordo com os estudos de laboratório, a formação preferencial de MVC se deverá à oxidação do isopreno pelo radical OH, assim como a remoção da MACR pelo mesmo, justificam a razão das concentrações entre ambos os compostos (2:1). A proporção entre os compostos de carbonilo e o isopreno (~30% para a MVK e ~15%para a MACR) indica uma intensa actividade local na produção destes compostos. Se o isopreno é preferencialmente oxidado pelo radical OH como parece ser indicado por estas medições então o isopreno pode ser uma fonte potencial para a produção de ozono nesta área.

A proximidade do local de amostragem à fonte e a mistura das emissões do eucalipto com massas de ar carregadas de compostos comuns (por exemplo α-pineno e limoneno) com origem diferente, complica e dificulta a interpretação que se possa fazer das concentrações observadas. A contribuição dos diferentes processos na regulação da concentração dos vários compostos é como se pode ver complexa e de difícil avaliação. No entanto parece evidente que as concentrações medidas dos vários compostos ao nível da altura das copas de eucalipto, excluindo o isopreno, parecem dominadas pelas emissões a nível regional do pinheiro, as quais se sobrepõe frequentemente às emissões de eucalipto. Atendendo ao peso que a proximidade da fonte tem na regulação das concentrações atmosféricas, como nos é dado observar pelas concentrações de isopreno, podemos concluir que a taxa de emissão de monoterpenos pelo eucalipto será inferior à taxa de emissão de monoterpenos pelo pinheiro. Esta constatação também vem ao encontro dos resultados experimentais obtidos com eucalipto adulto, em que as taxas de emissão de monoterpenos medidas foram frequentemente inferiores ao que vem indicado na literatura para o eucalipto. O pinheiro e o eucalipto são colocados ao mesmo nível potencial de emissão de monoterpenos sendo-lhes atribuída na bibliografia a taxa de 3μg C. $g^{-1}.h^{-1}$ (Geron *et al.*, 1994).

A importância das emissões biogénicas na produção de ozono e oxidantes fotoquímicos a nível regional não é possível ser avaliada sem a ajuda de um modelo para contemplar a complexa dinâmica que está na sua origem. Os modelos aplicados para avaliação dos processos de transformação de poluentes durante o transporte de massas de ar são bastante complexos e estão fora do âmbito deste trabalho. O conhecimento e quantificação das diferentes fontes de compostos reactivos nomeadamente os biogénicos, assim como a medição

das suas concentrações na atmosfera conjuntamente com outros parâmetros são no entanto cruciais ao desenvolvimento e validação destes modelos.

IV.3.3 - Perfis de emissão de isopreno versus perfis de concentração

A evolução da concentração de isopreno ao longo do dia apresenta uma relação estreita com a taxa de emissão. O modelo desenvolvido por Guenther et al (1991) que descreve a taxa de emissão de isopreno em função da temperatura e da radiação, depois de adaptado aos resultados experimentais com eucalipto adulto, foi aplicado ao período em que decorreu a campanha e comparado com as concentrações de isopreno medidas na atmosfera local. Para isso foi necessário recorrer à informação obtida por outros grupos participantes na campanha, nomeadamente dados de temperatura do ar e de radiação à altura da copa.

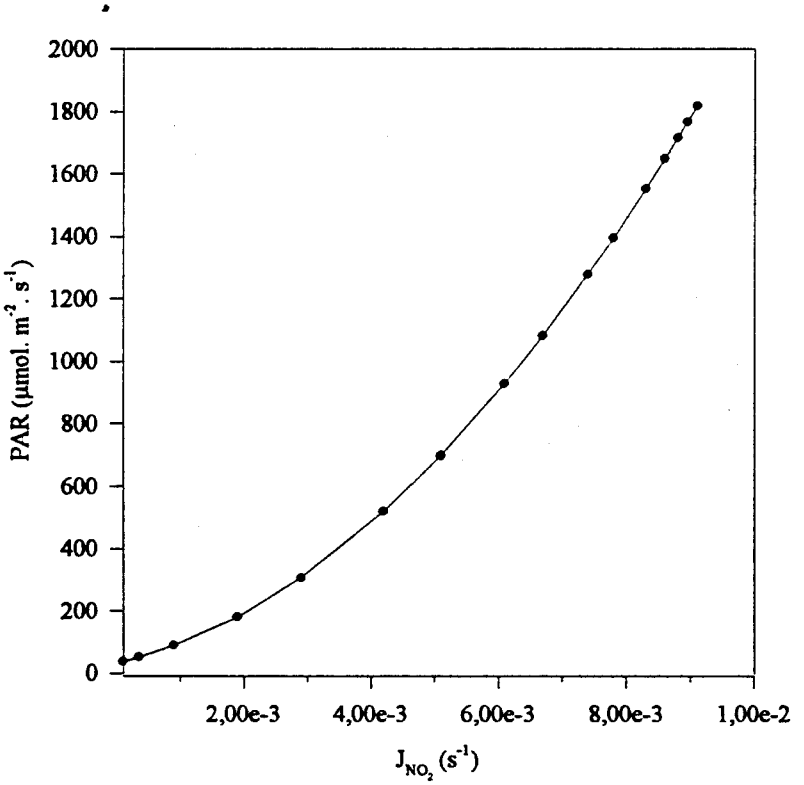


Figura IV.31 - Relação entre o fluxo de radiação fotossinteticamente activa (PAR) e a constante de fotólise do NO_2 medidos em Cacia e em Tábua respectivamente.

A radiação medida durante a campanha foi usada para cálculo da constante de fotólise do NO_2, pelo que aparecia expressa em função deste parâmetro. Por conseguinte foi necessário efectuar uma estimativa indirecta da radiação PAR necessária ao cálculo da taxa de emissão a partir das medições da constante de velocidade de fotólise do NO_2 (dados da responsabilidade do grupo de Heidelberg), que apresenta um comportamento muito semelhante ao fluxo de radiação. Durante o mesmo período haviam sido efectuadas medições de radiação PAR ao abrigo de um outro projecto em que esteve envolvido o Departamento de Ambiente e Ordenamento na região de Aveiro. As medições da constante de fotólise do NO_2 foram então correlacionadas com o fluxo de fotões medido em Cacia para o mesmo período, usando apenas os registos diários de dias limpos (ausência de nevoeiro ou nuvens) (figura IV.30). Deste modo foi possível obter uma equação do tipo,

$$PAR\ (\mu mol_{fotões}.m^{-2}.s^{-1}) = a + b\ x\ J_{NO2} + c\ x\ J_{NO2}^{2}$$

que permitiu a conversão dos dados da constante de fotólise em radiação PAR.

O cálculo da taxa de emissão (que é função da temperatura da folha e da radiação PAR) foi por conseguinte efectuado com base nas temperaturas do ar, admitindo que a temperatura da folha era igual à do ar, e a radiação PAR estimada. Na figura IV.32 encontram-se as concentrações de isopreno medidas ao longo da campanha e as taxas de emissão estimadas pelo modelo para o mesmo período. A escala vertical foi optimizada de modo a minimizar as diferenças entre os dados experimentais e os dados estimados.

Da figura é possível concluir que o padrão de variação da concentração de isopreno com o tempo, ao nível da altura das copas da floresta de eucalipto, é essencialmente governado pelo processo de emissão dada a coincidência entre eles, tendo a dispersão e os processos de transformação do isopreno um papel menor.

Mais uma vez o modelo usado apresenta um bom desempenho na explicação do comportamento global da taxa de emissão do isopreno pelas folhas de eucalipto o que contribui de forma indirecta para a sua validação. O modelo apesar de ter sido desenvolvido ao nível da folha também responde convenientemente ao nível do ramo e mesmo da árvore como foi demonstrado recentemente por alguns estudos (Guenther *et al.*, 1996; Kempf *et al.*, 1996; Pier, 1995, Geron *et al.*, 1994).

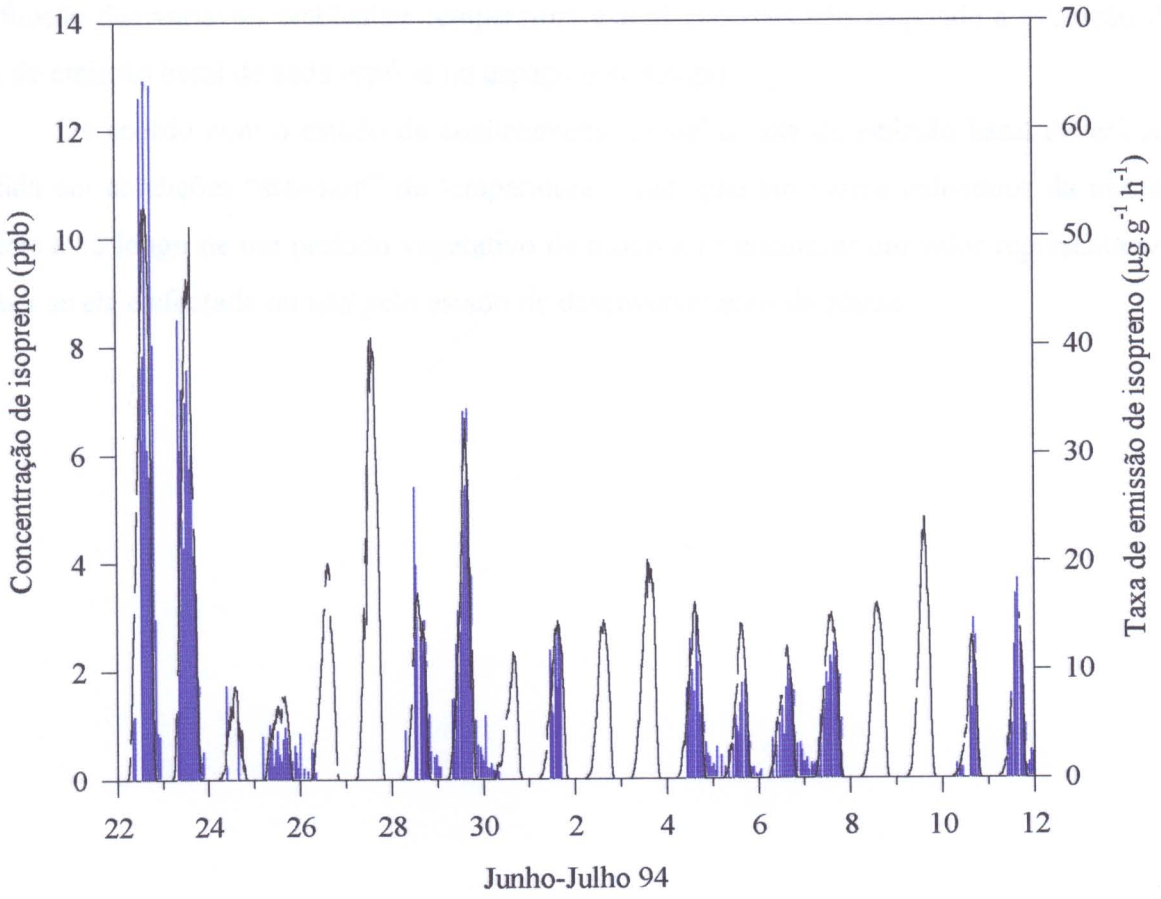


Figura IV.32 - Comparação entre a taxa de emissão de isopreno estimada ao longo do dia em função da temperatura do ar e da radiação PAR (linha contínua a preto) e a concentração de isopreno medida ao nível da copa (barras verticais a azul).

Na quantificação das emissões de isopreno, caso a taxa de emissão basal seja baseada em medições ao nível da folha, o efeito da atenuação da radiação no interior da canópia deve ser tido em conta, caso contrário o valor calculado será sobrestimado. As taxas de emissão de isopreno obtidas pelo método do saco com um ramo, pelo método da câmara aberta em que se usa uma árvore inteira ou pelo método do gradiente dão sistematicamente valores inferiores aos obtidos individualmente folha a folha. Nestas técnicas de avaliação da taxa ou fluxo de emissão o efeito da atenuação da radiação devido ao ensombramento já foi contabilizado em parte durante a amostragem.

Uma das limitações apresentadas por este modelo, para uso em futuros trabalhos de inventariação de emissões é necessitar de uma base de dados detalhada, não só da distribuição espaço temporal da temperatura como simultaneamente da radiação, para responder convenientemente. O modelo, como vimos, permite descrever a variação da taxa de emissão

em função das variáveis ambientais temperatura e radiação mas não responde à evolução da taxa de emissão basal de cada espécie no espaço e no tempo.

De acordo com o estado de conhecimento actual a taxa de emissão basal deverá ser medida em condições "standard" de temperatura e radiação em vários indivíduos da mesma espécie e ao longo de um período vegetativo de modo a se encontrar um valor representativo e saber se ela é afectada ou não pelo estado de desenvolvimento da planta.

V - FLUXOS DE COVs PELA FLORESTA DE PINHEIRO E EUCALIPTO EM PORTUGAL

A floresta portuguesa representa aproximadamente cerca de 35 % da área de solo do país (88 929 Km^2) , sendo constituída, segundo o Inventário Nacional de Florestas, por quatro espécies principais, pinheiro bravo, sobreiro, azinheira e eucalipto, que no conjunto representam aproximadamente 95 % da área florestal.

A distribuição da área florestal apresenta várias assimetrias, quer a nível de distribuição, quer de densidade, de acordo em parte com a heterogeneidade do próprio país. Com efeito só para o continente são referidas 30 zonas fitoclimáticas e 7 edafoclimáticas, 31 complexos litológicos, 8 tipos climáticos, 110 categorias taxonómicas diferentes de solos, além de uma heterogeneidade altimétrica, morfológica e de coberto vegetal.

Em termos gerais o pinheiro bravo, *Pinus pinaster* é a espécie mais difundida a nível nacional, 40 % da área florestal, encontrando-se essencialmente a norte do rio Tejo com maior incidência nas zonas de influência atlântica. O eucalipto, *Eucalyptus globulus*, espécie exótica proveniente da Tasmânia, foi introduzido em Portugal há cerca de 150 anos, tendo a sua área crescido de 50 x 10^3 ha no final da década de 50 para mais de 450 x 10^3 ha (14,5 % área florestal) que ocupa na actualidade. Em Portugal o eucalipto proliferou de norte a sul do país, principalmente na faixa litoral e ao longo do vale do rio Tejo, causando a sua expansão certa pressão nos povoamentos de pinheiro e sobreiro (Nogueira, 1990). As baixas temperaturas invernais no interior são uma limitação ao seu crescimento, dada a sua pouca resistência às geadas. As áreas de maior concentração de eucalipto encontram-se nos distritos de Aveiro e Coimbra. O sobreiro e a azinheira espécies xerotérmicas aparecem no planalto transmontano e principalmente a sul do Tejo em povoamentos mais abertos. O sobreiro distribui-se pelas regiões de maior influência atlântica enquanto a azinheira ocupa as regiões de clima mais seco.

As regiões do país com maior densidade florestal situam-se nos distritos de Setúbal, Coimbra, Aveiro, Castelo Branco, Leiria , Viseu e Santarém, distritos cuja taxa de florestação é superior a 40 %. Em termos de produção de material lenhoso, constituído essencialmente por eucalipto e pinheiro, destacam-se os distritos de Aveiro e Coimbra. Com apenas 1/3 da área de pinheiro, as plantações de eucalipto produzem em termos de volume de madeira, quantidades equivalentes.

As restantes espécies florestais ocupam uma área restrita, cerca de 5 % da área florestal, quase sempre de caracter regional como por exemplo o castanheiro nas zonas serranas de Trás-os-Montes e Beira Alta (1 %), os carvalhos (2,2 % incluindo várias espécies) no centro e norte do país, o pinheiro manso (1,2 %) na faixa litoral a sul do Tejo ou o medronheiro (0,5 %) nas zonas serranas do Baixo Alentejo e Algarve. As restantes espécies são constituídas essencialmente por folhosas de folha caduca que se distribuem ao longo dos vales dos rios (choupos e salgueiros).

Neste capítulo será apenas apresentada a quantificação da emissões de isopreno e monoterpenos derivados da floresta de pinheiro e eucalipto a nível nacional dado que para as restantes espécies com peso em termos de emissão, nomeadamente o sobreiro e a azinheira como foi discutido no capítulo IV.1, não se conhecerem de momento o perfil dos algoritmos de emissão e por conseguinte não se trazer nada de novo relativamente a inventários anteriores (Valadas e Gois, 1994 ; Simpson *et al.*, 1995) a não ser no campo especulativo.

V.1 - Metodologia de cálculo

O inventário de emissões de pinheiro e eucalipto aqui apresentado teve por base os resultados experimentais obtidos neste trabalho. A escolha da malha a usar foi condicionada pelos dados do inventário florestal nacional cujo nível de discretização mais elevado é o distrito. A nível nacional infelizmente não se dispõe de informação coerente e com o mesmo grau de resolução para todo o território da distribuição das espécies florestais. Ao elaborar este inventário de emissões pretendeu-se por um lado identificar nos actuais inventários os parâmetros sobre os quais estão associadas muitas das incertezas, e por outro lado, comparar as potenciais emissões de cada uma destas espécies entre si e o impacto que elas têm a nível nacional quando comparadas com as emissões nacionais de origem antropogénica. A escala temporal usada foi ao nível horário.

Como foi referido no parágrafo anterior o nível de desagregação aplicado a este inventário foi a malha irregular associada às áreas distritais. Para estas áreas foram usadas as temperaturas médias mensais mínimas e máximas das estações meteorológcas da rede nacional afecta a cada área (SNM - Normais Climatológicas, 1930-1960), a partir das quais através da aplicação da função seno (ou coseno) foram estimadas as temperaturas médias horárias (Berry

et al., 1945). Os dados de radiação, radiação fotossinteticamente activa (PAR) necessários ao cálculo das emissões de isopreno foram estimados a partir de dados de radiação total medidos e adquiridos continuamente durante um ano numa estação na região de Aveiro ao abrigo de um projecto do Departamento de Ambiente, dado ser difícil obter este parâmetro a nível horário ou elementos que permitissem a sua estimativa para o país. Tal como para a temperatura foram usadas as médias mensais. A distribuição da radiação a nível horário foi estimada fazendo "fittings" a cada conjunto de dados médios mensais com recurso ao programa Table curve 2D da Jandel. A radiação total ($W.m^{-2}$) foi convertida em radiação PAR ($\mu mol_{fotões}.m^{-2}.s^{-1}$) usando o factor de conversão obtido localmente de 0,45 (Pinho, 1995) e assumindo que a luz solar na gama PAR possui um comprimento de onda médio de 550 nm e consequentemente uma mole destes fotões possui a energia equivalente de 217 KJ. A curva que melhor ajuste permitiu aos dados experimentais foi dada por uma equação do tipo beta como é possível observar alguns exemplos no Apêndice B. Neste apêndice encontra-se ainda a tabela com os dados de radiação (PAR) média horária estimada para cada mês. A diferença do número de horas de sol indicado pelo perfil médio de radiação medido em Aveiro e o número médio de horas de sol referido nas Normais Climatológicas (1930-1960) para diferentes pontos do país é pequena. No Apêndice C encontra-se a tabela com os dados de temperatura que estiveram na base dos cálculos.

A biomassa foliar de eucalipto e pinheiro foi estimado considerando uma densidade de biomassa foliar de 700 $g.m^{-2}$ para o pinheiro e de 300 $g.m^{-2}$ para o eucalipto. A escolha destes valores teve em linha de conta os valores frequentemente citados nos trabalhos de inventariação de emissões biogénicas para as diferentes espécies florestais (Lamb *et al.*, 1987, 1993; Anastasi *et al.*, 1991: Veldt, 1991; Geron *et al.*, 1994; Simpson *et al.*, 1995) e dados colhidos a nível nacional ou internacional específicos destas duas espécies. No caso do pinheiro não se conseguiu obter informação nacional sobre densidade de biomassa foliar apesar de se ter contactado instituições nacionais, ligadas aos estudos florestais, nesse sentido. Os factores de biomassa aplicados a coníferas varia em média entre 500 a 1600 $g.m^{-2}$, sendo os valores mais baixos característicos de pináceas e os mais elevados de piceas. Para a floresta mediterrânica de coníferas Box (1981) apresenta a gama de valores entre 400 e 1200 $g.m^{-2}$. No caso de *Pinus pinaster* é por exemplo referido o valor de 870 $g.m^{-2}$ para um povoamento de 16 anos na floresta dos Landes(França) (Lémoine *et al.*, 1986). Valente (1995) para um pequeno povoamento de pinheiro, de 16 anos também, na região de Aveiro em solo fértil obteve o valor

de 1220 $g.m^{-2}$. Em termos de estrutura etária os povoamentos de pinheiro bravo são dominados por classes com mais de 30 anos (60 %) (Instituto Florestal, 1993).

Nas mais recentes publicações de inventariação de emissões de hidrocarbonetos biogénicos as densidades de biomassa foliar de folhosas, grupo no qual se inclui o eucalipto, é de 300-375 $g.m^{-2}$ (Lamb *et al.*, 1993, Geron *et al.*, 1994 e Simpson *et al.*, 1995). Este valor resultou de técnicas destrutivas ou de técnicas baseadas na quantificação das folhas caídas, pressupondo um período de retenção da folha na árvore por um ano.

Para o eucalipto obtiveram-se alguns dados nacionais dos factores de biomassa foliar baseados em estudos de campo que envolveram nalguns casos técnicas destrutivas. Por exemplo Monteiro Alves (comunicação pessoal) com base na tabela de produção de eucalipto para o Ribatejo e nas relações diversas estabelecidas por Ochôa de Carvalho (1984) estimou as seguintes densidades de biomassa foliar em função da idade dos povoamentos de eucalipto:

Idade (anos)	Factor de biomassa foliar ($g.m^{-2}$)
5,5	119
9,5	368
12	468

Fabião (1986) com base em métodos destrutivos obteve factores de biomassa foliar em povoamentos da 1ª rotação entre 482 e 986 $g.m^{-2}$ para eucaliptos com idades variáveis (4 a 20 anos). Os mesmos valores para a segunda rotação variaram entre 88 $g.m^{-2}$ para árvores com 1 ano de idade até 961 $g.m^{-2}$ para eucaliptos com 5 anos. Neste estudo, quer para a 1ª rotação, quer para a segunda rotação a densidade de biomassa foliar para eucaliptos com mais de três anos de idade foi superior a 426 $g.m^{-2}$, registando-se uma certa oscilação do valor com a idade. Tendo em linha de conta estes elementos e atendendo à estrutura etária dos povoamentos de eucalipto, com 33 % com idade inferior a 3 anos, 39 % com idade entre 4 e 7 anos, 14 % com idade entre 8 e 11 anos, e o restante com idade superior a 12 anos (ACEL-DGF, 1992) foi adoptado o valor de biomassa foliar referido acima (300 $g.m^{-2}$). O cálculo da biomassa foi ainda afectado de um factor de ponderação em função da classificação dos povoamentos no Inventário Florestal. No Inventário Florestal são consideradas três classes que se distribuem

por: povoamentos puros, povoamentos dominantes e povoamentos dominados tendo-se afectado a cada uma, um coeficiente de ponderação de 100 %, 75 % e 25 %, respectivamente. Os dados florestais trabalhados foram recolhidos do Inventário Nacional Florestal de 1992 (DGF, 1993). Convém referir que entre os inventários de 1989 e 1992 publicados pela DGF não houve alterações nos dados a nível distrital, sendo estes baseados em levantamentos efectuados entre 74 e 82 para os vários distritos. Foi no entanto feita uma actualização para o pinheiro e eucalipto apenas considerando 3 regiões (Norte, Centro e Sul) resultado dum protocolo estabelecido em 1990 entre a ACEL e a DGF e que já constam num anexo do inventário de 1992.

O algoritmo usado para cálculo das emissões de monoterpenos pelo pinheiro foi o resultante da combinação dos resultados obtidos pelo método do saco (este estudo) e pelo método do "tracer" (Valente, 1995) e apresentado em Valente *et al.* (1996), ou seja

$$Log\ (E_{monoterpenos}) = -1,447 + 0,06 \times T \qquad (\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.h^{-1})$$

O algoritmo para cálculo das emissões de monoterpenos pelo eucalipto foi o sugerido por Guenther *et al.* (1994), tendo-se no entanto usado o valor de 1,5 $\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.h^{-1}$ para taxa de emissão basal (M_s) . A estrutura do algoritmo é muito semelhante ao do pinheiro,

$$E_{monoterpenos} = M_s\ exp\ (0,10 \times (T - 30)) \qquad (\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.h^{-1})$$

Para o cálculo das emissões de isopreno pelo eucalipto usou-se o algoritmo de Guenther *et al.* (1993), com I_s igual a 30 $\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.h^{-1}$, sendo C_T e C_L os factores de correcção da temperatura e da radiação referidos no capítulo II.

$$E_{isopreno} = I_s \times C_T \times C_L \qquad (\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.h^{-1})$$

V.2 - Emissões de COVs pela floresta de pinheiro e eucalipto a nível nacional

Nas tabela V.1 apresentam-se as estimativas anuais de isopreno e monoterpenos obtidos com esta metodologia a nível distrital e Nacional considerando-se para o pinheiro e

para o eucalipto emissões contínuas ao longo do ano. É óbvio que de acordo com o algoritmo de emissão de isopreno na ausência de luz a emissão é nula.. No gráfico V.1 apresenta-se a variação mensal das emissões de isopreno e monoterpenos provenientes das florestas de eucalipto e de pinheiro.

Tabela V.1 - Emissões anuais foliares de isopreno e monoterpenos pelas florestas de eucalipto e pinheiro em Portugal. (os valores entre parêntesis referem-se ao fluxo distrital em Ton.km^{-2}.ano^{-1})

Distrito	Área (Km^2)			Emissões (Ton./ano)			
	Distrito	eucalipto	pinheiro	Isopreno	monoterpenos		Total
				eucal.	eucal.	pin.	
Viana do Castelo	2222	27,3	567,5	221	31	1310	1561 (0,70)
Braga	2695	138,3	610,8	1113	152	1354	2619 (0,97)
Porto	2342	240,0	583,0	1677	256	1196	3029 (1,29)
Vila Real	4308	1,5	778,5	9	2	1809	1820 (0,42)
Bragança	6600	8,0	180,8	53	7	325	385 (0.06)
Aveiro	2800	467,3	885,3	3433	516	1887	5836 (2,08)
Viseu	5012	146,3	1779,3	1125	149	3658	4932 (0,98)
Guarda	5535	3,0	795,5	14	2	1096	1112 (0,20)
Coimbra	3972	393,8	1430,8	3890	500	3988	8378 (2,11)
Castelo Branco	6627	374,8	1893,3	3971	494	5690	10155 (1,53)
Leiria	3512	241,0	1078	1876	267	2243	4386 (1,25)
Lisboa	2753	221,8	73,0	2302	299	219	2820 (1,02)
Santarém	6693	621,3	822,8	6969	845	2592	10406 (1,55)
Portalegre	6083	237,5	180,8	3115	348	672	4135 (0,68)
Évora	7397	207,0	34,5	2360	272	108	2740 (0,37)
Setúbal	5104	324,0	452,8	3470	425	1348	5243 (1,03)
Beja	10283	278,8	17,8	3233	383	58	3674 (0,36)
Faro	4991	214,5	38,8	2369	303	125	2797 (0,56)
Total -Portugal	88929	4145,8	12202,8	41213	5253	29678	76144 (0,86)

O fluxo anual de COVs estimado proveniente das emissões foliares de pinheiro e do eucalipto representa cerca de metade das emissões de origem antropogénica que estão calculadas para o país em 149 Kton. por ano (Simpson *et al.*, 1995). Nos meses de verão as emissões naturais provenientes apenas do pinheiro e do eucalipto tem um peso equivalente às emissões antropogénicas. Entre Junho e Setembro são emitidas aproximadamente 65 % das emissões biogénicas totais resultantes destas duas espécies.

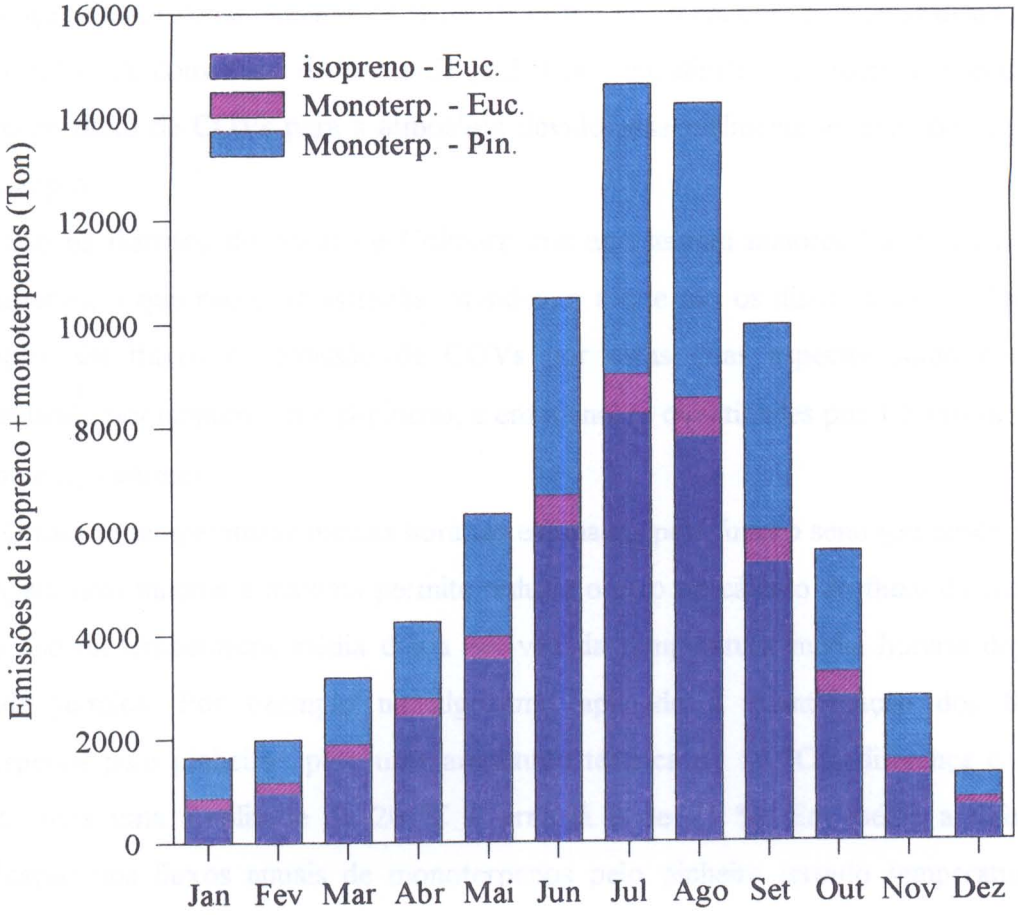


Figura V.1 - Variação mensal das emissões foliares de isopreno e monoterpenos provenientes da floresta de eucalipto e de pinheiro a nível nacional.

Neste exercício de inventariação não foram tidas em conta as emissões associadas à prática de resinagem nos povoamentos de pinheiro, que segundo o estudo de Valente (1995), tem um potencial equivalente a cerca de metade das emissões foliares. As emissões de COVs pelo solo e de outros compostos voláteis que não o isopreno e os monoterpenos, não foram contabilizados. Em termos de emissão de COVs para a atmosfera o eucalipto tem um peso equivalente ao pinheiro apesar de ocupar uma área muito menor. A relação entre as emissões provenientes da floresta de pinheiro e de eucalipto pode ser um pouco diferente da aqui apresentada. A ocorrência de incêndios florestais em anos sucessivos sobre as mesmas áreas, destruindo totalmente a regeneração natural do pinheiro, muitas vezes acompanhada por acções de conversão destas áreas ardidas em eucaliptal conduziram a uma redução significativa da área de pinhal nos últimos anos. Com efeito, de 1987 para 1992 assistiu-se a

uma redução de aproximadamente 27 % na área total de pinhal com particular destaque para a região Centro. A conversão de áreas de pinhal por eucaliptal tem como consequência um aumento do fluxo de COVs para a atmosfera devido essencialmente às emissões de isopreno pelo eucalipto.

São os distritos de Aveiro e Coimbra que apresentam maiores fluxos de isopreno e monoterpenos, o que não é de estranhar atendendo a que são os distritos com maior taxa de florestação. Os fluxos de emissão de COVs por estas duas espécies serão constituídos essencialmente por isopreno, α e β-pineno, e em menores quantidades por 1,8-cineol, mirceno, limoneno e Δ_3 - careno.

O uso de temperaturas médias horárias estimadas pela função seno (ou coseno) a partir das temperaturas mínima e máxima permite reduzir o erro no cálculo do fluxo de terpenos. O erro do uso da temperatura média diária em vez da temperatura média horária depende da amplitude térmica. Por exemplo no algoritmo aplicado à quantificação dos fluxos de monoterpenos pelo pinheiro para uma amplitude térmica de 10 °C a diferença é de 11 % enquanto para uma amplitude de 20 °C o erro já é de 35 %. Em média a diferença na quantificação dos fluxos anuais de monoterpenos pelo pinheiro usando temperatura média mensal ou temperatura média horária é de aproximadamente 20%.

A aplicação do algoritmo para o pinheiro obtido apenas com o método do saco não leva a resultados muito diferentes do algoritmo aqui usado na quantificação dos fluxos anuais de terpenos. Os algoritmos apresentam uma diferença de 7 % entre si. A aplicação do algoritmo proposto por Guenther *et al.* (1993) para os monoterpenos, usando uma taxa basal de 3 $\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.h^{-1}$ sugerida pelos mesmos autores, conduz à duplicação dos valores comparativamente com o algoritmo aqui usado.

Relativamente à estimativa do fluxo de isopreno pelo eucalipto é difícil fazer qualquer comparação com dados publicados noutros inventários visto esta espécie na maior parte dos casos não ser considerada individualmente e por outro lado ter sido sistematicamente agrupada com o sobreiro e com a azinheira os quais de acordo com o conhecimento actual possuem um padrão e composição de emissão de COVs muito diferente. No último inventário efectuado para os diversos países europeus foi estimado para Portugal uma emissão de isopreno que variou entre 36,4 e 86,9 Kton por ano consoante o modelo de cálculo usado (Simpson *et al.*, 1995).

Como se pode observar no desenvolvimento deste inventário foram feitas continuamente opções em função das limitações dos recursos, o que se repercutirá na precisão e exactidão do resultado final. Mais estudos que levem somente a uma melhor caracterização das emissões biogénicas em termos espaciais e temporais não são só por si suficientes para o melhoramento da quantificação dos fluxos de COVs. Estes estudos terão de ser acompanhados também por um esforço na quantificação da biomassa associada, que tal como as emissões sofre variações no espaço e no tempo. A desactualização do inventário nacional de florestas existente é também em si uma das grandes fontes de erro na quantificação dos fluxos de terpenos para a atmosfera. Outra área a ser desenvolvida é a preparação de bases de dados meteorológicos capazes de responder às necessidades destes modelos.

VI - CONCLUSÃO

O trabalho de investigação que serviu de base a esta tese insere-se num projecto mais amplo a nível europeu que teve por objectivos a caracterização e quantificação das emissões biogénicas dos diferentes tipos de vegetação representativos da Comunidade Europeia de modo a compreender e elucidar a contribuição dos hidrocarbonetos biogénicos nas trocas entre a biosfera-atmosfera e nos processos físico-químicos da atmosfera.

Fazendo nossos estes objectivos pretendemos responder a esta exigência em três frentes:

- adaptação e desenvolvimento de métodos de amostragem e análise para determinar a concentração de compostos terpénicos na fase gasosa, quer em atmosferas com baixas concentrações (inferiores a 1ppb) quer em atmosferas com concentrações elevadas;

- adaptar e desenvolver métodos que permitissem medir as taxas de emissão de compostos orgânicos voláteis em espécies vegetais;

- aplicação das metodologias desenvolvidas à quantificação das taxas de emissão de compostos terpénicos nas espécies mais representativas dos ecossistemas florestais nacionais.

O método de amostragem escolhido foi baseado na adsorsão em Tenax-TA com análise dos compostos orgânicos voláteis adsorvidos por cromatografia gasosa. Devido à baixa capacidade de retenção do Tenax-TA para compostos orgânicos de baixo peso molecular como o isopreno foi usado o arrefecimento da cama de adsorsão. O arrefecimento dos tubos com Tenax-TA implicou a remoção prévia do vapor de água da corrente gasosa amostrada, a qual foi efectuada por condensação. Possíveis interferências decorrentes do arrefecimento do adsorvente foram avaliadas no laboratório a partir de atmosferas contaminadas em compostos terpénicos e no campo realizando para tal amostragens paralelas, não se tendo detectado alterações significativas das amostras. Deste modo foram definidas condições de amostragem que permitiram a análise quantitativa de isopreno e monoterpenos em simultâneo, quer para medir concentrações na atmosfera, quer para aplicar à quantificação das taxas de emissão pelo método do saco. Foram ainda efectuados alguns ensaios para avaliar a possibilidade de alteração da amostra devido à presença do ozono atmosférico. O conjunto de dados não foi suficiente para clarificar até que ponto o ozono existente na atmosfera pode interferir na medição de compostos terpénicos no método usado.

Exercícios de intercomparação efectuados ao longo do trabalho para quantificação de ispreno e monoterpenos, por exemplo durante o projecto FIELDVOC mostraram uma boa concordância entre os resultados obtidos pelos vários grupos apesar destes empregarem diferentes métodos de amostragem e análise. Do mesmo modo a experiência conjunta com um grupo da Universidade de Toulouse, em que foram feitas medições de taxas de emissão de isopreno pelo eucalipto levaram a resultados muito semelhantes.

As emissões de compostos orgânicos voláteis pelas plantas foram avaliadas a diferentes níveis. Foi desenvolvida uma metodologia que permitiu efectuar medições semi-quantitativas em várias espécies vegetais de modo a identificar os compostos emitidos maioritariamente por cada uma. Deste modo foi possível caracterizar sumariamente cerca de 50 espécies, maioritariamente espécies associadas aos ecossistemas florestais, tendo-se verificado que a utilização analogia taxonómica de espécies pode conduzir a erros graves na elaboração de um inventário de emissões biogénicas de HCNM. Por exemplo os quercus nacionais dominantes, azinheira e sobreiro, contrariamente aos carvalhos não emitem isopreno mas sim monoterpenos com taxas iguais ou superiores à do pinheiro, como foi mais tarde confirmado na campanha de 1994 do projecto BEMA. O método desenvolvido apesar de ser semi-quantitativo dá valores em termos de composição e mesmo de taxas de emissão, coerentes com os obtidos por métodos quantitativos (método dinâmico do saco e método da "cuvette) como parecem indicar os exemplos para os quais foi possível encontrar dados na bibliografia.

A aplicação do método dinâmico do saco ao estudo das emissões de pinheiro e eucalipto permitiu compreender e identificar os principais processos reguladores dos fluxos de emissão de isopreno e/ou monoterpenos por estas duas espécies.

As emissões foliares de pinheiro bravo (*Pinus pinaster*), que representa cerca de 40 % da floresta portuguesa, são constituídas maioritariamente por α- e β-pineno, e em menor quantidade por mirceno, Δ_3-careno e limoneno. Foram ainda detectadas nas emissões do pinheiro dois compostos desconhecidos na região de saída dos monoterpenos, ficando a dúvida relativamente a um deles se se tratava realmente de uma emissão foliar ou se não seria um produto da decomposição de monoterpenos, visto o seu aumento estar associado a situações de forte insolação e de temperaturas elevadas no interior do saco. A composição das emissões de monoterpenos das agulhas apresenta variações ao longo do dia e de ramo para ramo, não se conseguindo definir um padrão constante e coerente. As emissões de monoterpenos pelas plântulas de pinheiro apresentam em média um teor de α- e β-pineno mais elevado do que as

agulhas de ramos adultos. O Δ_3-careno é emitido pelos ramos de pinheiro adulto, mas nas plântulas aparece apenas a nível vestigial. A presença deste monoterpeno nas emissões foliares de pinheiro adulto parece depender do estado fenológico da árvore, apresentando valores mais elevados nos finais do inverno. Em termos médios as taxas de emissão de monoterpenos pelas plântulas são superiores às taxas de emissão dos ramos de pinheiro adulto. Este aspecto no entanto não assumirá grande impacto na inventariação das emissões de monoterpenos pelo pinheiro visto a sua biomassa ser diminuta comparativamente com a das árvores adultas.

Foi evidenciado o papel preponderante que a temperatura ambiente tem sobre a emissão de monoterpenos pelas agulhas de pinheiro, a qual apresenta um crescimento exponencial com esta. A água, nevoeiros ou precipitação, é uma variável que pode intensificar drasticamente a volatilização destes compostos. Os estudos por nós efectuados até ao momento não permitem contudo quantificar a sua influência sobre a taxa de emissão de monoterpenos. O coeficiente obtido com os resultados experimentais que relaciona a taxa de emissão de monoterpenos com a temperatura no pinheiro bravo, encontra-se dentro dos valores encontrados para outras espécies. O facto de se terem usado em simultâneo duas técnicas de avaliação das taxas (fluxos) de emissão para o mesmo povoamento de pinheiro (método dinâmico do saco e método do "tracer") permitiu aferir o algoritmo encontrado pelo método do saco e avaliar até que ponto ele conseguia simular o fluxo de monoterpenos do povoamento. O erro entre as duas técnicas é afectado pelo modo como é feita a estimativa do fluxo de emissão ao considerar a temperatura da folha igual ou não à temperatura ambiente. O erro para o caso em que se considera a temperatura da folha igual à temperatura do ar dá resultados em média 9,5 % inferiores à técnica do "tracer". Usando o modelo de copa referido por Lamb et al. (1993) conduz a erros por sobreavaliação, ou seja, em média 16 % mais elevados do que a técnica do "tracer".

As taxas de emissão basal de monoterpenos do pinheiro parecem atingir valores mínimos no inverno (1,0 ± 0,45 $\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.h^{-1}$, taxa de emissão normalizada a 30°C), podendo para as mesmas temperaturas duplicar ou mais no verão. Este aspecto deve ser melhor estudado para se avaliar se efectivamente existe ou não um padrão de variação sazonal e qual a sua amplitude.

O eucalipto é uma espécie que apresenta elevadas taxas de emissão de isopreno, mas que também emite monoterpenos como o 1,8-cineol, α-pineno e limoneno, em particular pelas folhas juvenis. No campo apenas foi possível quantificar de modo continuado as taxas de

emissão de isopreno e de 1,8-cineol. A taxa de emissão de isopreno no eucalipto não parece ser afectada pela época do ano. No caso dos monoterpenos a taxa de emissão foi muito variável, de campanha para campanha, apresentando valores mínimos na campanha de Março. A taxa de emissão de isopreno e monoterpenos parece mais elevada em folhas juvenis do que em folhas adultas, principalmente quando se usa a normalização em termos do peso seco foliar.

O modelo desenvolvido por Guenther et al. (1991) para exprimir a variação da taxa de emissão de isopreno em função dos parâmetros temperatura e radiação foi aplicado aos resultados experimentais tendo-se confirmado o seu bom desempenho na modelização da emissão de isopreno. Deste modo foi possível estimar a taxa de emissão basal de isopreno para o eucalipto no campo - 32±10 $\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.h^{-1}$. As medições efectuadas em plantas jovens acusaram taxas de emissão de isopreno um pouco superiores, 48±11 $\mu g.g^{-1}_{peso\ seco}.h^{-1}$, valores estes que estão de acordo com os dados da bibliografia.

Durante a campanha FIELDVOC que decorreu num eucaliptal na zona centro de Portugal, concelho de Tábua, foram medidas as concentrações atmosféricas de compostos terpénicos. Durante o dia o composto terpénico mais abundante é o isopreno, podendo atingir concentrações da ordem das dezenas de ppb e 20 vezes ou mais superiores às dos restantes compostos. Os compostos terpénicos mais abundantes detectados na atmosfera local, excluindo o isopreno, foram o α- e β-pineno, o 1,8-cineol, o limoneno e um composto desconhecido. As suas concentrações não ultrapassaram os 0,5 ppb com excepção do α- e β-pineno que em situações bem tipificadas chegaram à unidade de ppb. Durante a noite as concentrações de isopreno descem para níveis vestigiais, enquanto as concentrações de monoterpenos aumentam. As concentrações mais elevadas de α- e β-pineno observadas no local, principalmente durante a noite, não eram resultado das emissões locais mas provavelmente da contribuição das emissões de pinheiro na região envolvente. A concentração local de isopreno ao nível da altura da copa reflecte a intensidade da fonte apresentando um perfil muito próximo do perfil de emissão estimado pelo modelo de Guenther em função da temperatura e radiação local.

A floresta de eucalipto é uma fonte importante de COVs para a atmosfera na forma de isopreno. Apesar de representar cerca de 1/3 da área de pinhal tem um potencial de emissão de COVs equivalente devido precisamente às emissões de isopreno. As emissões naturais de hidrocarbonetos por estas duas espécies, a nível nacional, de acordo com as estimativas efectuadas em termos anuais são cerca de metade das emissões de COVs antropogénicas, mas

nos meses de verão elas são da mesma ordem ou superiores a estas. Não esquecer que ficou por quantificar as emissões de COVs por uma fracção de floresta significativa, constituída principalmente por sobreiro e azinheira. A assimetria na distribuição dos fluxos de COVs biogénicos por distrito pode-se vir a atenuar quando forem contabilizadas as emissões provenientes destes quercus.

Qualquer política concertada de combate à poluição atmosférica não deverá esquecer o peso que as emissões naturais têm nas concentrações atmosféricas de COVs. A necessidade de quantificação das emissões biogénicas não é apenas um problema à escala do país. Os problemas que se colocam actualmente, nomeadamente o aquecimento do planeta passa pela modelização e quantificação destes compostos. As taxas de emissão de COVs são críticas no controle das concentrações de radicais, como o radical OH que tem um papel determinante na taxa de crescimento das concentrações de metano (CH_4) e monóxido de carbono (CO). Compostos como o metano influenciam o balanço radioactivo da atmosfera, o que por sua vez está relacionado com a temperatura e as precipitações, à escala global, existindo uma estreita ligação entre as emissões globais de COVs e o clima terrestre.

Este trabalho como foi referido ao longo do texto deixou como seria de esperar várias áreas em aberto para as quais é necessário continuar à procura de respostas. O aparecimento de novos dados obtidos noutros locais, novas técnicas e equipamento mais capaz permitirá concerteza continuar-se a avançar de modo a encurtar a distância que separa entre aquilo que conhecemos e o que está por descobrir.

VII - REFERÊNCIAS

ACEL-DGF (1993) Inventário florestal nacional de eucalipto 90/91

Allwine G., Lamb B. e Westeberg H. (1985) Application of atmospheric tracer techniques for determining biogenic hydrocarbon fluxes from an oak forest. Em The forest atmosphere interactio. ed. Hutchison B.A. e Hicks B.B., pp. 361-382.

Anastasi C., Hopkinson L. e Simpson V.J.(1991) Natural hydrocarbon emissions in the United Kingdom. *Atmos. Environ.*, **25A**, 1403-1408.

Arey J., Winer A. M., Atkinson R., Aschmann S.M., Long W. D. e Morrison C. L. (1991a) The emission of (Z)-3-hexen-1-ol, (Z)-3-hexenylacetate and other oxygenated hydrocarbons from agricultural plant species. *Atmos. Environ.* **25A**, 1063-1075.

Arey J., Winer A. M., Atkinson R., Aschmann S.M., Long W. D., Morrison C. L. e Olszyk D.M. (1991b) Terpenes emitted from agricultural species found in California's Central Valley. *J. Geophys. Res.*, **96**, 9329-9336.

Arey J., Crowley D.E., Crowley M., Resketo M. e Lester J. (1995) Hydrocarbon emissions from natural vegetation in California's south coast air basin. *Atmos. Environ.*, **29**, 2977-2988.

Arnts R.R., Peterson W.B., Winer A.M. e Pitts J.N. (1982) Estimates of α-pinen emissions from a loblolly pine forest using an atmospheric diffusion model. *Atmos. Environ.*, **16**, 2127-2137.

Aschmann S. M. e Atkinson R. (1994) Formation yelds of methyl vinyl ketone and methacrolein from the gas-phase reaction of O_3 with isoprene. *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 1539-1542.

Aschmann S. M., Arey J. e Atkinson R (1996) OH radical formation from the gas-phase reactions of O_3 with methacrolein and methyl vinyl ketone. *Atmos. Environ.*, **30**, 2939-2943.

Atkinson R. (1990) Gas-phase tropospheric chemistry of organic compounds: A Review. *Atmos. Environ.*, **24A**, 1-41.

Averill W. e Purcell J. E. (1978) Concentration and GC determination of organic compounds from air and water. *Chromatog. Newsletter*, **6**, 30-32.

BEMA (1995) Biogenic Emissions in the Mediterranean Area, BEMA Project. Relatório da 1ª Campanha de medição em Castelprziano, Roma (Itália), Maio de 1994. EUR 16293 EN, Bruxelas-Luxemburgo.

Becker K.H., Barnes I. e Ruppert I. (1993) The OH radical-initiated oxidation of isoprene: a product study. Em Physico-Chemical Behavior of Atmospheric Pollutants. proceedings of the 6th European Symposium, ed. angeletti G. e Restelli G. report EUR. 15609/IEN.

Benjamin M.T., Sudol M., Bloch L. e Winer A.M. (1996) Low-emitting urban forests: a taxonomic methodology for assigning isoprene and monoterpene emission rates. *Atmos. Environ.*, **30**, 1437-1452.

Bernard-Dagan C. (1988) Les substances de réserve du Pin maritime: rôle éventuel des métabolites secondaires. *Bull. Soc. bot. Fr., 135* (Actual. bot), 25-40

Bernard-Dagan, Fillon C., Pauly G., Baradat p. e Illy G. (1971) Les terpènes du Pin maritima: aspects biologiques et génétiques. *Ann. Sci. Forest*, **28**, 223-258.

Bernard-Dagan C., Carde J. P. e Gleizes M. (1979) Étude des composés terpéniques au cours de la croissance des aiguilles du Pin maritime: comparaison de données biochimiques et ultrastructurales. *Can. J. Bot*, **57**, 255-263.

Bernard-Dagan C., Pauly G., Marpeau A., Gleizes M., Carde J. P. e Baradat P. (1982) Control and compartimentation of terpene biosynthesis in leaves of *Pinus pinaster*. *Physiol. Vég.*, **20**, 775-795.

Berry Jr F.A., Bolley E.P. e Beerf N.R. (1945) Handbook of meteorology. Mc.Grow Hill Company, Sec. VI, pp. 467.

Bonham C. D. (1989) Measurements for terrestrial vegetation. Ed. Por John Wiley&Sons (Wiley-Interscience Publication), pp. 199-255.

Brewer D. A., Ogliaruso M.A., Augustsson T.R. e Levine J.S. (1984) The oxidation of isoprene in the atmosphere: mechanism and model calculation. *Atmos. Environ.*, **12**, 2723-2744.

Buffler U. e Wengmann (1991) Diurnal variation of monoterpene concentration in an open-top chambers and in the Welzheim forest air. *Atmos. Environ.* **25A**, 251-256.

Box E. O. (1981) Foliar biomass: data base of the International Biological program and other sources. Em Atmospheric Biogenic Hydrocarbons, Vol. I - Emissions, ed. Bufalini J.J. e Arnts R.R. (Ann Arbor Sciences), pp. 121-148.

Calagirou A., Larsen B., Brussol C., Duane M. e Kotzias D. (1996) Decomposion of terpenes by ozone during sampling on Tenax. *Anal. Chem.*, (in press)

Cao X. e Hewitt C.N. (1993) Thermal desorption efficiencies for different adsorbate/adsorbent systems typically used in air monitoring programs. *Chemosphere* **27**, 695-703

Chameides, W. L., Lindsay, R. W., Richardson, J. e Kiang, C. S. (1988) The Role of Biogenic Hydrocarbons in Urban Photochemical Smog. *Science*, **241**, 1473-1475.

Chameides, W. *et al.* (1992) Ozone precursor relationships in the ambient atmosphere. *J. Geophys. Res.*, **97**, 6037-6055.

Charon J., Launay J. e Carde JP (1987) Spatial organization and volume density of leucoplasts in Pine secretory cells. *Protoplasma*, **138**, 45-53.

Cheniclet C. e Carde JP (1985) Presence of leucoplasts in the cells of monoterpenes in the essential oil:a correlative study. *Israel J. Botany*, **34**, 219-238.

Cheniclet C. (1987) Effects of wounding and fungus inoculation on terpene production systems of maritime pine. *J. Experimental Bot.*, **38**, 1557-1572.

Ciccioli P., Brancaleoni E., Possanzini M., Branchetti C. e paolo D. (1984) Sampling, identification and quantitative determination of biogenic and anthropogenic hydrocarbons in forestal areas. Em Third European Symphosium of Physico-Chemical Behavior of Atmospheric Pollutants., pp. 134-145.

Ciccioli P., Brancaleoni E., Cecinato A., Dipalo C., Brachetti A. e Liberti A (1986) Gas chromatographic evaluation of the organic components present in the atmosphere at trace levels with the aid of carbopack-B for preconcentration of the sample. *J. Chrom.*, **351**, 433-449.

Ciccioli P., Cecinato A., Brancaleoni E. Frattoni M. e Liberti A. (1992) Use of carbon adsorption traps combined with high resolution gas chromatography - mass spectrometry for the analysis of polar and non-polar C_4-C_{14} hydrocarbons involved in photochemical smog formation. *J. High Resolution Chromat.*, **15**, 75-84.

Clement B., Fugit J.L., Torres M.L., Nunes T.V. e Pio C.A. (1995) Isoprene emission from an Eucalyptus globulus forest (Portugal). *Fresenius Environ. Bull.*, **3**, 569-574.

Clements, J. B. and Lewis, L. H., (1988) Sampling for organic compounds. Em *Pinciples of Environmental Sampling*. **Vol. 20**, Ed. Keith, L. H., pp. 287-296.

Corchnoy, S. B. e Atkinson R. (1990) Kinetics of the gas-phase reactions of OH and NO_3 radicals with 2-carene, 1,8-cineole, p-cymene and terpinolene. *Environ. Sci. Technol.*, **24**, 1497-1502.

Corchnoy S., Arey J e Atkinson R. (1992) Hydrocarbon emissions from twelve urban shade trees of the Los Angeles, California, Air Basin. *Atmos. Environ.*, **26B**, 339.348.

Costa Aloísio F. (1994) Farmacognosia. Ed. Fund. Calouste Gulbenkian. 4ª-5ªedição, Vol. I, pp. 618-626.

Coutinho (1939) Flora de Portugal

Croteau R. (1984) Biosynthesis and catabolism of monoterpenes. Em Isopentenoids in plants, biochemical functions. ed. Nes W.D., Fuller G., Tsai L.S. e Dekke N.Y., New York, 31-64.

Croteau R. (1987) Biosynthesis and catabolism of monoterpenoids. *Chem Rev.*, **87**, 929-954.

Croteau R., Gurkewitz S., Johnson M.A. e Fisk H.J. (1987) Biochemistry of oleoresinosis. monoterpene and diterpene biosynthesis in lodgepole pine saplings infected with *Ceratocystis clavigera* or treated with carbohydrate eleicitors. *Plant Physiol.*, **85**, 1123-1128.

Das T.N. (1992) Terpenes in a conifer forest: detection at sub-parts per billion level without sample preconcentration. *Atmos. Environ.*, **26A**, 2853-2857.

DGF - Direcção Geral de Florestas (1993) Distribuição da Floresta em Portugal Continental - Áreas florestais por distritos, nº 303.

Evans R. C., Tingey D. T., Gumpertz M. L. e Burns W. F. (1982) Estimates of isoprene and monoterpene emission rates in plants. *Bot. Gaz.*, **143**, 304-310.

Evans R.C., Tingey D.T. e Gumpertz M.L. (1985) Interspecies variation in terpenoid emissions from Engelmann e Stika spruce seedlings. *Forest Sci.*, **31**, 132-142.

Fabião A. (1986) Contribuição para o estudo da dinâmica da biomassa e da produtividade primária líquida em eucaliptais. Região litoral de Portugal. Ph. Tese, Instituto Superior de Agronomia. Lisboa.

Fabri A., Crescentini G., Mangani F., Mastriogiacomo A. R. e Bruner F. (1987) Advances in the determination of volatile organic solvents and other pollutants. *Chromatographia*, **23**, 856-860.

Fall R. e Monson R. (1992) Isoprene emission rate and intercellular isoprene concentration as influenced by stomatal distribution and conductance. *Plant Physiol.*, **100**, 987-992.

Farquhar G. S., von Caemmerer S. e Berry J. (1980) A biochemical model of photosynthetic CO_2 assimilation in leaves of C_3 species. *Planta*, **149**, 78-90.

Fehsenfeld F., Calvert J., Fall R., Goldan P., Guenther A. B., Hewitt C. N., Lamb B., Liu S., Trainer M., Westberg H. e Zimmerman. (1992) Emissions of volatile organic compounds from vegetation and the implications for atmospheric chemistry. *Global Biogeochemical Cycles*, **6**, 389-430.

Franco A. (1974) e (1984) A Nova Flora de Portugal.

Fuentes J.D., Wang D., den Hartog G., Neumann H.H., Dann T.F. e Puckett K.J. (1995) Modelled and field measurements of biogenic hydrocarbon emissions from a Canadian decidious forest. *Atmos. Environ.*, **29**, 3003-3017.

Fugit J.L., Dutaur L., clement B., Riba M.L. e Torres L. (1995) BEMA - Project. Campaign 1994 (Castelporziano). Diurnal terpenic emission cycles. Em Biogenic emissions in the mediterranean area. BEMA Project. Ed. Kotzias D., Staudt M. e Cieslik S., Joint Research centre - European Comission. EUR 16293 EN, pp. 213-223.

Geron C. D., Guenther A. B. e Pierce T. E. (1994) An improved model for the estimating emissions of volatile organic compounds from forests in the eastern United states. *J. Geophys. Res.*, **99**, 12773-12791.

Geron C. D., Pierce T. E. e Guenther A. B. (1995) Reassessment of biogenic volatile organic compound emissions in the Atlanta Area. *Atmos. Environ.*, **29**, 1569-1578.

Gershenzon J., Maffei, M. e Croteau. (1989) Biochemical and histochemical localization of monoterpene biosynthesis in the glandular trichomes of spearmint (*Mentha spicata*). *Plant Physiol.*, **89**, 1351-1357.

Gleizes M., Pauly G., Bernard-Dagan C. e Jacques R. (1980) Effects of light on terpene hydrocarbon synthesis in *Pinus pinaster*. *Physiol. Plant.*, **50**, 16-20.

Gleizes M., Carde J.P., Pauly G. e Bernard-Dagan C. (1980) In vivo formation of sesquiterpene hydrocarbon in the endoplasmatic reticulum of pine. *Plants Sci. Let.*, **20**, 79-90.

Gleizes M., Marpeau A., Pauly G. e Bernard-Dagan C. (1982) Role of acyclic compounds in monoterpene biosynthesis in *Pinus pinaster*. *Phytochemistry*, **21**, 2641-2644.

Graedel T. E. (1979) Terpenoids in the atmosphere. *Review of Geophysics and Space Physics*, **17**, 937-947.

Gray J. C. (1987) Control of isoprenoid biosynthesis in higher plants. *Adv. Bot. Res.*, **14**, 25-91.

Grinspoon J., Bowman W. e Fall R. (1991) Delayed onset of isoprene emission in developing velvet bean (*Mucuna* sp.) leaves. *Plant Physiol.*, **97**, 170-174.

Grosgean D. (1990) Gas-phase reaction of ozone with 2-methyl-2-butene: dicarbonyl formation from the Criegeebiradicals. *Environ. Sci. Technol*, **24**, 1428-1432.

Grosgean D., Williams E.L. e Seinfeld J.H. (1992) Atmospheric oxidation of selected terpenes and related carbonyls: gas-phase carbonyl products. *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 1526-1533.

Grosgean D., Williams E. L. e Grosgean E. (1993) Atmospheric chemistry of isoprene and its carbonyl products. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 830-840.

Gu C., Rynard C:, Hendry D. e Mill T. (1985) Hydroxil radical oxidation of isoprene. *Environ. Sci. technol.*, **19**, 151-155.

Guenther A., Monson R. e Fall R. (1991) Isoprene and monoterpene emission rate variability: Observations with eucalyptus and emission rate algorithm development. *J. Geophys. Res.*, **96**, 10799-10808.

Guenther A. B., Zimmerman P. R. , Harley P. C., Monson R. K. e Fall R. (1993) Isoprene and monoterpene emissions rate variability: model evaluations and sensitivity analyses. *J. Geophys. Res.*, **98**, 12609- 12617.

Guenther A., Zimmerman P. e Wildermuth M. (1994) Natural volatile organic compound emission rate estimates for U.S. woodland landscapes. *Atmos. Environ.*, **28**, 1197-1210.

Guenther A., Hewitt C. N., Erickson D., Fall R., Geron C., Graedel T., Harley P., Klinger L., Lerdau M., McKay W. A., Pierce T., Scholes B., Steinbrecher R., Tallamraju R., Taylor J. e Zimmerman P. (1995) A global model of natural volatile organic compound emissions. *J. Geophys. Res.*, **100**, 8873-8892.

Guenther A., Zimmerman P., Klinger L., Ennis C., Davis K., Pollock W., Westberg H., Allwine G. e Geron C. (1996) Estimates of regional natural volatile organic compound fluxes from enclosure and ambient measurements. *J. Geophys. Res.*, **101**, 1345-1359.

Hager H. e Sterba H. (1984) Specific leaf area and needle weight of Norway spruce (*Picea abies*) in stand of diferent densities. *Can. J. For. Res.*, **15**, 389-392.

Hakola H., Arey J. Aschmann S. M. e Atkinson R. (1994) Product formation from the gas-phase reactions of OH radicals and O_3 with a series of monoterpenes. J. Atmos. Chem., 77-102

Hall G. e Langenheim J. (1986) Temporal changes in the leaf of *Sequoia sempervirens*. *Biochemical Systematics and Ecology*, **14**, 61-69.

Harborne J. B.(1988) Introduction to Ecological Biochemistry. Academic Press, London.

Harborne J. B. (1991) Recents advances in the ecological chemistry of plant terpenoids. In Ecological Chemistry and Byochemistry of plant terpenoids. ed. por Harborne J. e Thomas-Barberan F., Clarendon Press. Oxford.

Harley P. C., Litvak M. E., Sharkey T. D. e Monson R. K. (1994) Isoprene emission from velvet bean leaves: interactions among nitrogen availability, growth photon flux density, and leaf development. *Plant Physiol.*, **105**, 279-285.

Hatakeyama, S., Izumi, K., Fukuyama, t. e Akimoto, H. (1989) Reactions of ozone with α-pinene and β-pinene in Air: Yelds of Gaseous and Particulate Products. *J. Geophys. Res.* , **94**, 12925-12956.

Hatakeyama, S., Izumi, K., Fukuyama, T., Akimoto, H. e Washida N. (1991) Reactions of OH with α-pinene and β-pinene in Air: estimate of global CO production from the atmospheric oxidation of terpenes. *J. Geophys. Res.* , **96**, 947-958.

Haver H. e Sterba (1984) Specific leaf area and needle weight of Norway spruce (*Picea abies*) in stands of different densities. *Can. J. For. Res.*, **15**, 389-392.

Heavner D. L., Ogden M. W. e Nelson P. R. (1992) Multisorbent thermal desorption/gas chromatography/mass selective detection method for the determination of target volatile organic compounds in indoor air. *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 1737-1746.

Hester e Harrison R.(1995) Volatile organic compounds in the atmosphere.

Hewitt C. N. e Street R. (1992) A qualitative assessment of the emission of non-methane hydrocarbon compounds from the biosphere to the atmosphere in the U.K.: present knowledge and uncertainties. *Atmos. Environ.*, **26A**, 3069-3077.

Hewitt C.N., Owen S., Boissard C. e Csiky O. (1995) Report on the BEMA field campaign at Castelporziano, May 1994. Em Biogenic emissions in the mediterranean area. BEMA Project. Ed. Kotzias D., Staudt M. e Cieslik S., Joint Research centre - European Comission. EUR 16293 EN, pp. 137-150.

Hewitt C.N. et al. (1995) FIELDVOC: Contribution of Institute of Environmental and Biological sciences, Lancaster University, United kingdom. Final Report.

Hills A. J, e Zimmerman P. R. (1990) Isoprene measurement by ozone-induced chemiluminescence. *Anal. Chem.*, **62**, 1055-1060.

Hoffmann T e Klockow D. (1993) Field and laboratory studies on terpene emissions from trees under different environmental condictions. Em General Assessment of Biogenic Emissions and Deposition of Nitrogen Compounds, Sulpher Compounds and Oxidants in Europe. CEE/BIATEX Workshop, Aveiro, pp. 261-270.

Hoffmann T. (1994) Adsorptive preconcentration technique inckuding oxidant scavening for the measurement of reactive natural hydrocarbons in ambient air. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 348, 41541-41547.

Hooker C. L., Westberg H.H. e Shepard J. C. (1985) Determination of carbon balances for smog chamber terpene oxidation experiments using a ^{14}C tracer technique. *J. Atmos. Chem.*, **2**, 307-320.

Hough, A. M. and Johnson, C. E. (1991). Modelling the role of nitrogen oxides, hidrocarbons and carbon monoxide in the global formation of tropospheric oxidants. *Atmos. Environ.*, **25A**, 1819-1835.

Hov O., Schjoldager J. e Wathne B.M. (1987) Measurements and modeling of the concentrations of terpenes in coniferous forest air. *J. Geophys. Res.*, **88**, 10679-10688.

Hull, L. A. (1981) terpene ozonolysis products. In Atmospheric Biogenic Hydrocarbons, Vol. 2, Ed. Bufalini J. J. e Arnts, R. R., 161-186, ISBN 0-250-40498-2.

Instituto Florestal (1993) Inventário pinheiro bravo 1992 - Relatório Final. Estudos e Informação nº305.

Isidirov V.A., Zenkevich I.G. e Ioffe B.V. (1985) Volatile organic compounds in the atmosphere of forest. *Atmos. Environ.*, **19**, 1-8.

Isidorov V. V., Klokova E. M., Povarov V. G., Ivanov A. R. e Kozubenko S. G. (1993a) Role of photostimulated heterogenous processes in the tropospheric chemistry of organic constituents. *J. Ecol. Chem.* **1**, 71-77.

Isidorov V. V., Povarov V. G., Klokova E. M., Prilipsky E. B. e Churilova Y. Y.(1993b) Estimation of photochemically active VOC emission by forest of the European part of the former USSR. In Physico-Chemical Behavior of Atmospheric Poluutants.Ed. G. Angeletti e G Restelli, Report EUR 15609/1 EN, 31-40.

Jacob D. J. e Wofsy S. C. (1988) Photochemistry of biogenic emissions over the Amazon Forest. *J. Geophys. Res.*, **93**, 1477-1486.

Janson R. e Kristensson J. (1991) Sampling and analysis of atmospheric monoterpenes. Report CM-79, Department of Meteorology, Stockolm University.

Janson R. (1992) Monoterpenes from the Boreal Coniferous Forest. Their role in Atmospheric Chemistry. Ph. Tese, Department of Meteorology, stockolm University.

Jones C.A. e Rasmussen R. A. (1975) Production of isoprene by leaf tissue. *Plant Physiology*, **55**, 982-987.

Juttner F. (1988) Changes of monoterpene concentrations in needles of pollution-injured picea abies exhibiting montane yellowing. *Physiologia Plantarum*, **72**, 48-56.

Jüttner F., (1988a) A cryotrap technique for the quantitation of monoterpenes in humid and ozone-rich forest air. *J. of Chromatography*, **442**, pp.157-163.

Juuti S. Arey J e Atkinson R. (1990) Monoterpene emission rate measurements from a Monterey pine. *J. Geophys. Res.*, **95**, 7515-7519.

Kamens R. M., Jeffries H. E., Gery M. W., Wiener R. W., Sexton K. G. e Howe G. B. (1981) The impact of α-pinene on urban smog formation: an outdoor smog chamber study. *Atmos. Environ.*, **15**, 969-981.

Kelly N. A. (1982) Characterization of fluorocarbon-film bags as smog chamber. *Environ. Sci. Technol.*, **16**, 763-770.

Kelly N. A. (1983) The contamination of fluorocarbon-film bags by hydrocarbons and nitrogen oxides. *J. Apl. Pol. Control Ass.*, **33**, 120-125.

Kempf K., Allwine E., Westberg H., Claiborn C. e Lamb B. (1996) Hydrocarbon emissions from spruce species using environmental chamber and branch enclosure methods. *Atmos. Environ.*, **30**, 1381-1389.

Kesselmeier J., Schäfer L., Ciccioli P., Brancaleoni E., Cecinato A., Frattoni M., Foster P., Jacob V., Denis J., Fugit J.L., Dutaur L. e Torres L. (1996) Emission of monoterpenes and isoprene from a mediterranean oak species *Quercus ilex* L. measured within the BEMA (Biogenic Emission in the Mediterranean Area) Project. *Atmos. Environ.*, **10/11**, 1841-1850.

Knoerr K.R. e Mowry F.L. (1981) Energy balance/Bowen ratio technique for estimating hydrocarbon fluxes. Em Atmospheric biogenic Hydrocarbons. Vol. 1, Emissions. ed. Bufalini J.J. e Arnts R.R. (Ann Arbor Science, Ann Arbor MI), pp. 35-52.

Kotzias D., Duane M., Nicollin B. e Schlitt H. (1989a) Reaction of hydrocarbons with O_3, SO_2 and NO_2 - Formation of acidic compounds. In Physico-Chemical Behavior of Atmospheric Poluutants, Ed. G. Restelli e G. Angeletti, Klwer Acad. Publishers, 394-399.

Kotzias D., Hjorth J. L. e Skov H. (1989b) A chemical mechanism for dry deposition-the role of biogenic hydrocarbon (terpene) emissions in the dry deposition of O_3, SO_2 and NO_x in forest areas. *Toxicological and Environmental Chemistry*, **20-21**, 95-99.

Kuzma J. e Fall R. (1993) Leaf isoprene emission rate is dependent on leaf development and the level of isoprene synthase. *Plant Physiol.*, **101**, 435-440

Lamb B., Westberg H. e Allwine G. (1985) Biogenic hydrocarbon emissions from deciduous and coniferous trees in the United States. *J. Geophys. Res.*, **90**, 2380-2390.

Lamb B., Westberg H. e Allwine G. (1986) Isoprene emission fluxes determined by an atmospheric tracer technique. *Atmos. Anviron.*, **21**, 1695-1705.

Lamb B., Guenther A., Gay D. e Westberg H. (1987) A national inventory of biogenic hydrocarbon emissions. *Atmos. Environ.*, **21**, 1695-1705.

Lamb, B., Gay D., Westberg W. e Pierce T. (1993) A biogenic hydrocarbon emission inventory for the U:S:A. using a simple forest model canopy . *Atmos. Environ.*, **27**, 1673-1690.

Larsen B., Bomboi-Mingarro T., Ciccioli P., Foster P., Hansen U., Hatzianesteis I., Hofmann T., Kotzias D., Owen S., Perez-Pastor R., Seufert G., Staudt M., Steinbrecher R. e Torres L. (1996) Sampling and analysis of terpenes in air: an interlaboratory comparison. *Atmos. Environ.*, (in press).

Lemoine B., Gelpe J., ranger J. e Nys C. (1986) Biomasses and croissance du pin maritime. Etude de la variabilité dans un peuplement de 16 ans. *Ann. Sci. For.*, **43**, 67-84.

Lerdau M. (1991) Plant function and biogenic terpene emissions. Em Trace Gas Emissions by Plants. Ed. por Shrakey T. D., Holland E. A. e Mooney H. A. (Academic Press), pp.121-134.

Lewinsohn E., Gijzen M. e Croteau R. (1991a) Defense mechanisms of conifers: differences in constitutive and wound-induced monoterpene biosynthesis among species. *Plant Physiol.*, **96**, 44-49.

Lewinsohn E., Gijzen M., Savage T.J. e Croteau R. (1991b) Defense mechanisms of conifers: relationship of monoterpene cyclase activity to anatomical specialization and oleoresin monoterpene content. *Plant Physiol.*, **96**, 38-43.

Lewinsohn E., Gijzen M. Muzika R. M., Barton K. e Croteau R. (1993) Oleoresinosis in grand fir (Abies grandis) saplings and mature trees: modulation of this wound response by light and water stresses. *Plant Physiol.*, **101**, 1021-1028.

Lewis A. C., Seakins P. W., Denha A: M., Bartle K. D. e Pilling M. J. (1995) Programmed temperature vaporization injection (PTV) for *in situ* field measurements of isoprene, and selected oxidation products in a eucalyptus forest. *Atmos. Environ.*, **29**, 1871-1875.

Lin X., Melo O. T., Hastie D. R., Shepson P. B., Niki H. e Bottenheim J. W. (1992) A case study of ozone production in a rural area of Central Ontario. *Atmos. Environ.* **26A**, 311-324.

Liu S. C., Trainer M., Fehsenfeld F. C., Parrish D. D., Williams E. J., Fahey D. W., hubler G. e Murphy P. C. (1987) Ozone production in the rural troposphere and the implication for regional and global ozone distribution. *J. Geophys. Res.*, **92**, 4191-4207.

Lonneman W.A., Seila R. L. e Bufalini J.J. (1978) Ambient air hydrocarbon concentrations in Florida. *Environ. Sci Technol.*, 12, 459-463.

Lopez A., Lecouteux G., Prieur S. e Fontan J. (1983) Etude de la formation de particules a partir des hydrocarbures naturels degages par la vegetation. *J. Aerosol Sci.* ,**14**, 99-111.

Lopez A., Fontan J., Barthomeuf M.O. e Minga A. (1988) Presentation de l'experience ATILA (Action des terpènes et isoprene dans l'atmosphere) effectuée en foret temperé au Sudouest de la France (Forest des Landes). *Atmos. Environ.*, **22**, 1881-1894.

Loreto F., Ciccioli P., Cecinato A., Brancaleoni E., Frattoni M. e Tricoli D. (1996a) Influence of environmental factors and air composition on the emission of α-pinene from *Quercus ilex* leaves. *Plant Physiol.*, **110**, 267-275.

Loreto F., Ciccioli P., Cecinato A., Brancaleoni E., Frattoni M., Fabozzi C. e Tricoli D. (1996b) Evidence of the photosynthetic origin of monoterpenes emitted by *Quercus ilex* L. leaves by ^{13}C labeling. *Plant Physiol.*, **110**, 1317-1322.

Luebkert B.e Shoepp W. (1989) A model to calculate natural VOC emissions from forest in Europe. International Institute for Applied Systems Analysis. Working Paper WP-89-082.

Luebkert B. e Tilly S. (1989) The OECD- MAP emission inventory for SO_2, NO_x e VOC in the Western Europe. *Atmos. Environ.*, **23**, 3-15.

MacDonald R.C. e Fall R. (1993) Detection of substancial emissions of methanol from plants to the atmosphere. *Atmos. Environ.*, **27A**, 1709-1713.

MacLeod G. a Ames J. M. (1986) Comparative assessment of the artefact background on thermal desorption of Tenax GC and Tenax TA. *J. Chromatogr.*, **355**, 393-398.

Marpeau A., Walter J., Launay J., Charon J., Baradat P. e Gleizes M. (1989) Effects of wounds on terpene content of twigs of maritime pine (*Pinus pinaster*). *Trees*, **4**, 220-226.

Martin R. S., Westberg H., Allwine E., Ashman L., Farmer J. C. e Lamb B. (1991) Measurement of isoprene and its atmospheric oxidation products in a Central Pennsylvania deciduous forest. *J. Atmos. Che.* **13**, 1.32.

Mattsson M. e Petersson G. (1982) Trace analysis of hydrocarbons in air using standard gas chromatographic and personal sampling equipment. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **11**, 211-219.

McClenny W.A., Pleil J. D., Evans G. F., Oliver K. D., Holdren M. W. e Winberry W. T., (1991) Canister-based method for monitoring toxic VOCs in ambient air. *J. Air Waste Manage. Assoc.*, **41**, 1308-1318.

McGarvney D. J. e Croteau R. (1995) Terpenoid metabolism. *The Plant Cell*, **7**, 1015-1026.

Monson R.K. , Hills a.J., Zimmerman P. e Fall R.(1991) Studies of the relationship between isoprene emission rate and photosynthesis, and isoprene synthase activity as influenced by temperature. *Plant Physiol.*, **98**, 1175-1180.

Monson R.K., Jaeger C., Adams W., Driggers E., Silver G. e Fall R. (1992) Relationships among isoprene emission rate, photosynthesis, and isoprene synthase activity as influenced by temperature. *Plant Physiol.*, **92**, 1175-1180.

Monson R. , Harley P., Litvak M., Wildermuth M., Guenther A., Zimmerman P. e Fall R. (1994) Environmental and development controls over seasonal pattern of isoprene emission from aspen leaves. *Oecologia*, **99**, 260-270.

Monson R.K., Lerdau M.T., Sharkey T.d., Schimel D.S. e Fall R. (1995) Biological aspects of constructing volatile organic compound emission inventories. *Atmos. Environ.*, **29**, 1989-3002.

Montzka S. A., Trainer M., Angevine W. M. e Fehsenfeld F. C. (1995) Measurements of 3-metyl furan, methyl vinyl ketone, and methacrolein at the rural forested site in the southeastern United States. *J. Geophys. Res.*, **100**, 11393-11401.

Moortgat G. K. e Warneck P. (1979) CO and H_2 quantum yields in the photodecomposition of formaldehyde. *J Chem. Phys.*, **70**, 3639-3651.

Mueller J.F. (1992) Geographical distribution and seasonal variation emissions and deposition velocities of atmospheric trace gases. *J. Geophys. Res.*, **97**, 3787-3804.

Nemecek-Marshall M, MacDonald R., Franzen J. J., Wojciechowski C. L. e Fall R. (1995) Methanol emission from leaves: enzymatic detection of gas-phase methanol and relation of methanol fluxes to stomatal conductance and leaf development. *Plant Physiol.*, **108**, 1359-1368.

Niki H., Maker P. D., Savage P. M. e Breitenbach L. P. (1983) Atmospheric ozone - olefin reactions *Environ. Sci. Technol.*, **17**, 312A-322A.

Nogueira C.D. (1990) A floresta portuguesa. DGF, Informação nº 2, 12-28.

Ochôa de Carvalho P. C. (1984) Biomassa e características fisicas em Eucalyptus globulus Labill. Contribuição para o seu estudo. Centro de Estudos Florestais / instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

Pandis, S. N., Paulson, S. E., Seinfeld, J. H. e Flagan, R. C. (1991) Aerosol formation in the photoxidation of isoprene and β-pinene. *Atmos. Environ.*, **25A**, 997-1008.

Pandis, S. N.,Harley R. A., Cass G. R. e Seinfeld, J. H. (1992) Secondary organic aerosol formation and transport. *Atmos. Environ.*, **26A**, 2269-2282.

Paulson S. E., Flagan R. C. e Seinfeld J. H. (1992a). Atmospheric photooxidation of isoprene. Part I: The hydroxil radical and ground state atomic oxygen reactions. *Int. J. Chem. Kinet.*, **24**, 79-101.

Paulson S. E., Flagan R. C. e Seinfeld J. H. (1992b). Atmospheric photooxidation of isoprene. Part II: The ozone-isoprene reaction. *Int. J. Chem. Kinet.*, **24**, 103-125.

Pauly G., Gleizes M. e Bernard-dagan (1973) Identification des constituants de l'essence des aiguilles de Pinus pinaster. *Phytochemistry*, **12**, 1395-1398.

Pellizzari E. (1991) Sampling of gas-phase compounds with sorbent beds. Em *Organic Chemistry of the Atmosphere*. Ed. Hansen, L. D. e Eatough, D.,pp. 1-52.

Peters R.J.B., Duivenbode J. , Duyzer J. e Verhagen L. M. (1994) The determination of terpenes in forest air. *Atmos. Environ.* **28**, 2413-2419.

Pier P. A. (1995) Isoprene emisssion rates from northern red oak using a whole-tree chamber. *Atmos. Environ.*, **29**, 1347-1353.

Pierce T. e Waldruff P. (1991) PC-BEIS: a personal computer version of the biogenic emissions inventory systems. *J. Air Waste Manag. Ass.*, **41**, 937-941.

Pierotti D., Wofsy S. C., Jacob D. e Rasmussen R. A. (1990) Isoprene and its oxidation products methacrolein and methyl vinyl ketone. *J. Geophys. Res.*, **95**, 1871-1881.

Pinho P.G. (1995) Fluxos de deposição de ozono e dióxido de enxofre sobre a vegetação. Relatório de Projecto da Licenciatura em Eng. Ambiente. Univ. Aveiro.

Pio C.A. Brito S. e Nunes T. (1993) Volatile hydrocarbon emissions from common and native species of vegetation in Portugal. Em General assessment of biogenic emissions and deposition of nitrogen compounds, sulpher compounds and oxidants in Europe. CEC/BIATEX Workshop, pp. 291-298.

Pio C. A., Nunes T. V. e Valente A.R. (1994) Measurement of VOC emission from Pinus pinaster by bag enclosure and tracer techniques. Em Proceedings EUROTRAC Symposium 94, ed. por P. M. Borrell, P. Borrell, T. Cvitas e W. Seiler, SPB Acad. Publishing bv, pp. 497-501.

Pio C.A. e Nunes T.V. (1995) Volatile and particulate organic compounds in the ambient air of an eucalyptus forest, in Portugal. FIELDVOC Results. Contribution of Departmento de Ambiente e Ordenamento da Universidade de Aveiro. Final Report.

Platt U., Lebras G., Poulet G., Burrows J.P. e Moortgat G. (1990). Peroxy radicals from night-time reactions of NO_3 with organic compounds. *Nature*, **348**, 147-149.

Riba M. L. (1991) Les isoprenoides dans la plante et dans l'atmosphere. Étude de leur evolution en milieu forestier (Landes et Bavière). Ph. Tese, Institut National Polytéchnique de Toulouse, France.

Riba M. L., Randrianalimanana E., Mathieu J. e Torres L. (1985) Preconcentration of atmospheric terpenes on solid sorbents. Intern. *J. Environ. Anal. Chem.*, **19**, 133-143.

Riba M.L., Tathy J.P., Tsikopoulos N., Monsarrat B. e Torres L. (1987) Diurnal variation in the concentration of α- and β-pinene in the Landes forest (France). *Atmos. Environ.*, **21**, 191-193.

Riba M. L., Clement B., Haziza M. e Torres L. (1991) Trace analysis. Determination of the "breakthrough volume " (BTV) of atmospheric isoprene. *Toxicol. Environ. Chem.* **31-32**, 235-240.

Roberts J. M., Fehsenfeld F. C., Albritton D. L. e Sievers R. E. (1983) Measurement of monoterpene hydrocarbons at Niwot Ridge, Colorado. *J. Geophys. Res.*, **88**, 10667-10678.

Roberts J. M. (1990) The atmospheric chemistry of organic nitrates. Atmos. Environ., 24, 243-287.

Rodier D. R. e Birks J. W. (1994) Evaluation of isoprene oxidation as an interference in the cartridge sampling and derivatization of atmospheric carbonyl compounds. *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 2211-2215.

Rothweiler H., Wäger P. A., e Schlatter C. (1991) Comparison of Tenax-TA and Carbotrap for sampling and analysis of volatile organic compounds in air. *Atmos. Environ.*, **25B**, 231-235.

Sanadze G. A. (1991) Isoprene effect- Light-dependent emission of isoprene by green parts of plants. Em Em Trace Gas Emissions by Plants. Ed. por Shrakey T. D., Holland E. A. e Mooney H. A. (Academic Press), pp.135-151.

Schindler T. e Kotzias D. (1989) Comparison of monoterpene volatilization and leaf-oil composition of conifers. *Naturwissenschaften*, **76**, 475-476.

Schueltze D. e Rasmussen R. A. (1978) The molecular composition of secondary aerosol particles formed from terpenes *J. Air Pollut. Control Assoc.* **28**, 236-240.

Seufert G., Bertin N., Duerr M., Hansen U. e Staudt M. (1995) BEMA Project - A report on the first BEMA field campaign at castelporziano / Rome in May 1994. Em Biogenic emissions in the mediterranean area. BEMA Project. Ed. Kotzias D., Staudt M. e Cieslik S., Joint Research centre - European Comission. EUR 16293 EN, pp. 173-197.

Sharkey T.D. e Loreto F. (1993) Water stress, temperature, and light effects on the capacity for isoprene emission and photosynthesis of kudzu leaves. *Oecologia*, *95*, 328-333.

Sharkey T. D. e Singsaas E. L. (1995) Why plants emit isoprene. *Nature*, **374**, 769.

Shu Y. e Atkinson R. (1995) Atmospheric lifetimes and fates of a series of sesquiterpenes. *J. Geophys. Res.*, **100**, 7275-7281.

Silver e Fall R. (1991) Enzymatic synthesis of isoprene from dimethylallyl diphosphate un aspen extracts. *Plant Physiol.*, **97**, 1588-1591.

Silvestre A.J.D. (1994) Caracterização e transformação de componentes não celulósicos de *Eucalyptus globulus* Labill. seleccionados.Ph. Tese. Universidade de Aveiro.

Simon V., Clement B., Riba M. L. e Torres L. (1992) Quantification of terpenic emissions. Landes programme. em EUROTRAC Annual Report, Part 4 BIATEX, pp. 168-173.

Simpson D., Guenther A., Hewitt C.N. e Steinbrecher R. (1995) Biogenic emissions in Europe. 1- Estimates and uncertainties. *J. Geophys. Res.*, **100**, 22875-22890.

Skov H., Hjorth J., Lohse C., Jensen N. R. e Restelli G. (1992) Products and mechanisms of the reactions of the nitrate radical (NO_3) with isoprene, 1,3-butadiene and 2,3-dimethyl-1,3-butadiene in air. *Atmos. Environ.*, **26A**, 2771-2783.

Steinbrecher R. (1990) Gehalt und emission von monoterpenen in oberirdishen organen von *Picea abies* (L.) Karst. Ph Tese, Institut fur Botanik und Mikrobiologie, Lebrstuhl für Botanik der Technischen Universität Munchen, German.

Steinbrecher R., Schürmann W., Ziegler H. (1992) Monoterpene als reaktive spurenkomponenten in Waldsystemen: wechselwirkungen zwischen biosphäre und atmosphäre. *Annalen der Meteorologie*, **27**, 79-81.

Steinbrecher R., Jocher M., Wiedemann M., Slemr J. e Hahn J. (1992). Em Proceedings of EUROTRAC Symposium 92, ed. por P. Borrell, SPB Academic Publish. The Hague, The Netherlands.

Steinbrecher R., Schürmann W., Schreiner A. e Ziegler H. (1993) Terpenoid emission from common oak (*Quercus robur* L.) and Norway spruce (*Picea abies* l. Karst). Em General assessment of biogenic emissions and deposition of nitrogen compounds, sulpher compounds and oxidants in Europe. CEC/BIATEX Workshop, pp. 251-259..

Steinbrecher R. (1994) Em Measurements of Biogenic non methane Hydrocarbon emissions from vegetation representative of European ecosystems. Garmisch Group. Final Report STEP CT90 0060.c

Strömvall A. e Petersson G. (1992) Protection of terpenes against oxidative and acid decomposition on adsorbent cartridges. *J. Chromatog.* ,**589**, 385-389.

Tingey D. T., Manning M., Grothaus L.C. e Burns W.F. (1980) Influence of light and temperature on monoterpene emission rates from slash pine. *Plant Physiol.*, **65**, 797-801.

Tingey D. T. (1981) The effect of environmental factors on the emission of biogenic hydrocarbons from the live oak and slash pine. Em Atmospheric Biogenic Hydrocarbons, Vol. I - Emissions, ed. Bufalini J.J. e Arnts R.R. (Ann Arbor Sciences), pp. 53-70.

Tingey D. T., Evans R. C., bates E. H., e Gumpertz M. l. (1987) Isoprene emissions and photosynthesis in three ferns - the influence of light and temperature. *Physiol. Plant.*, **69**, 609-616.

Tingey D. T., Turner D. P. e Weber J. A. (1991) Factors controlling the emission of monoterpenes and other volatile organic compounds. Em Trace Gas Emissions by Plants. Ed. por Shrakey T. D., Holland E. A. e Mooney H. A. (Academic Press), pp. 93-119.

Torres L. (1994) Measurement of isoprenoic emissions from representative forest ecosystems - Tolouse Group, C6 INP. Em Measurements of biogenic non methane hydrocarbon emissions from vegetation representative of European ecosystems. Final Report Step CT90 0060.c.

Trainer M., Williams E. J., Parrish D. D., Buhr M. P., Allwine E. J., Westeberg H. H., Fehsenfeld F. C. e Liu S. C. (1987) Models and observations of the impact of natural hydrocarbons on rural ozone. *Nature*, **329**, 705-707.

Tuazon, E. C. e Atkinson R. (1990) A product study of the gas-phase reaction of isoprene with the OH radical in the presence of NO_x. *Int. J. Chem. Kinet.*, **22**, 1221-1236.

Valadas B., Gois V. (1994) Inventário nacional de emissões atmosféricas CORINAIR 90. Em 4ª Conferência Nacional Sobre a Qualidade do Ambiente, Vol. II, pp. M118-M127.

Valente A.J.R., Nunes T.V. e Pio C.A. (1996) Emissões de compostos orgânicos voláteis (COV) pela floresta de coníferas em Portugal. Em 5ª Conferência Nacional Sobre a Qualidade do Ambiente , Ed. C. Borrego, C. Coelho, C. Boia e E. Figueiredo, pag. 771-782.

Valente A.J.R. (1995) Hidrocarbonetos naturais na atmosfera. Contribuição para a compreensão dos fluxos de emissão de hidrocarbonetos não metano pelo *Pinus pinaster* em Portugal. Ph. Tese, Universidade de Aveiro.

Veldt C. (1991) The use of biogenic VOC measurements in emission inventories. TNO Report 91-323 / 112322-51089.

Venema A., Kampstra N. e Sukkel. (1983) Investigation of the possible oxidation by ozone of organic substance adsorbed on Tenax. *J. Chromatogr.*, **269**, 179-182.

Warneck P. (1988) Chemistry of the natural atmosphere. Vol. 41 International Geoppysics Series. Ed. Renata Dmwska e J. R. Holton, Academic Press, Inc., 158-170.

Warneck P. (1994) Tropospheric oxidation chemistry. In Transport and Transformation of Pollutants in the Troposphere. *Proceedings of EUROTRAC Symposium 94*, Garmisch-Partenkirchen, FRG, 11-15 April. SPB Academic Publishing., 37-46.

Weast R. (1987) Handbook of Chemistry and Physics 67th ed. 1986/1987. Ed. Weast R., Astle M.J. e beyer W.H., CRC Press, pp. D-207

Winer A.M., Atkinson R. e Pitts J.N. (1984) Gaseous nitrate radical: possible nighttime atmospheric sink for biogenic organic compounds. *Science*, **224**, 156-159.

Winer A. M., Arey J., Atkinson R., Aschmann S.M., Long W. D., Morrison C. L. e Olszyk (1992) Emission rates of organics from vegetation in California central valley. *Atmos. Environ.*, **26A**, 2647-2659.

Yokouchi Y., Fujii T., Ambe Y. e Fuwwa K. (1981) Determination of monoterpene hydrocarbons in the atmosphere. *J. Chrom.*, **209**, 293-298.

Yokouchi Y. e Ambe Y. (1984) Factors affecting the emission of monoterpenes from red pine (*Pinus densiflora*). *Plant Physiol.*, **75**, 1009-1012.

Yokouchi Y. e Ambe Y.(1985) Aerosols formed from the chemical reaction of monoterpenes and ozone. *Atmos. Environ.*, **19**, 1271-1276.

Yokouchi Y., Ambe Y. e Maeda T. (1986) Automated analysis of C_3-C_{13} hydrocatbons in the atmosphere by capillary gas chromatogrphy with a cryogenic preconcentration. *Analytical Sciences*, **2**,571-575.

Yokouchi Y. e Ambe Y. (1988) Diurnal variations of atmospheric isoprene and monoterpene hydrocarbons in an agricultural area in summertime. *J. Geophys. Res.*, **93**, 3751-3759.

Yokouchi Y. (1994) Seasonal and diurnal variation of isoprene and its reaction products in a semi-rural area. *Atmos. Environ.*, **28**, 2651-2658.

Zimmerman-Fillon C. e Bernard-Dagan C. (1977) Variations qualitatives et quantitatives des carbures terpéniques au cours de la croissance des rameaux et des aiguilles du Pin maritime: étude comparé de huit phénotypes. , *Can. J. Bot.*, **55**, 1009-1018.

Zimmerman P.R., Chatefield R. B., Fishman J., Crutzen P.J. e Hanst P. L. (1978) Estimates on the production of CO and H_2 from the oxidation of hydrocarbon emissions from vegetation. *Geophys. Res. Lett.*, **5**, 679-682.

APÊNDICE A

Resultados individuais das taxas de emissão foliares de compostos terpénicos pelas várias espécies investigadas - Método semiquantitativo

Nas páginas seguintes apresentam-se as taxas de emissão ($ng.g^{-1}_{peso\ seco}.h^{-1}$) de compostos terpénicos obtidas nas várias réplicas efectuadas às diferentes espécies vegetais através do método semi-quantitativo. Na primeira coluna, designada por CBF encontram-se os dados do coeficiente de biomassa foliar expresso em ($g.m^{-2}$) e que representa a relação entre o peso seco e a área da(s) folha(s).

As análises foram efectuadas com o programa de temperatura B. Para além dos onze compostos identificados na tabela foram ainda contabilizados mais oito compostos designados por desconhecidos de 1 a 8, cujos tempos de retenção relativamente ao α-pineno constam na tabela abaixo. Estes compostos foram contabilizados visto ocorrerem na região de saída dos diversos compostos terpénicos. A quantificação da taxa de emissão destes compostos foi feita com base na resposta do detector FID ao α-pineno.

Tabela A.1 - Tempos de retenção relativo ± desvio padrão (α-pineno - pico de referência) dos oito compostos desconhecidos emitidos pelas folhas de várias espécies vegetais.

Composto	Tempo de retenção relativo médio ± std relativo
desconhecido 1	1,013 ± 0,001
desconhecido 2	1,028 ± 0,004
desconhecido 3	1,117 ± 0,001
desconhecido 4	1,192 ± 0,001
desconhecido 5	1,196 ± 0,000
desconhecido 6	1,212 ± 0,002
desconhecido 7	1,218 ± 0,003
desconhecido 8	1,224 ± 0,003

	CBF	Isopreno	Tricicleno	a-pineno	canfeno	B-pineno	mirceno
P.pinaster 1		0	0	4319	66	3033	64
2		0	0	5053	52	3389	60
P.pinea jovem 1		0	0	175	98	42	0
2		0	0	148	156	45	0
P.pinea adulto maio 1		0	0	287	50	243	157
2		0	0	81	32	100	131
P.pinea adulto julho 1		0	0	148	0	76	158
2		0	0	107	0	33	209
P.sylvestris 1		0	0	566	0	353	856
2		0	0	578	0	529	1152
P.radiata 1		0	0	32	0	86	0
2		0	0	47	0	107	0
P.menziezzi 1		0	0	56	0	94	9
2		0	0	72	0	84	5
Q.suber 1	59	0	0	1315	45	2179	350
2	58.4	0	0	3735	4196	5885	958
3	70	0	0	7529	207	11133	1808
4	60	0	0	3672	110	5382	984
Q.ilex jovem 1		0	0	2117	61	2560	565
2		0	0	1913	48	2362	525
Q.ilex adulto 1		0	0	4601	136	5745	1226
2		0	0	4057	106	5218	1146
E.globulus jovem 1	52.5	6173	0	302	0	135	0
2	53.6	5280	0	405	0	106	0
E.globulus adulto 1	58.2	29	0	78	0	66	0
2	64.4	381	0	44	0	17	0
3	63.2	950	0	76	0	20	0
Q.robur 1	48.8	20098	0	0	0	0	0
2	46.6	22892	0	0	0	0	0
Q.pyrenaica 1	61.3	10202	0	0	0	0	0
2	65.7	13876	0	0	0	0	0
3		16094	0	0	0	0	0
Q.coccifera 1	46.2	10186	0	0	0	0	0
2	46.2	12691	0	0	0	0	0
C.sativa 1	35.1	0	0	149	814	2262	167
2	39.5	0	0	241	127	5007	347
3	30.2	0	0	180	84	3707	232
4	33	0	0	394	76	7928	565
A.dealbata 1		0	0	27	0	36	22
2		0	0	34	0	37	22
A.longifolia jovem 1		0	0	47	0	52	0
2		0	0	56	0	37	0
A.longifolia adulto 1	50.4	0	0	163	0	151	34
2	44.8	0	0	213	0	170	62
P.alba 1	43.3	12876	0	0	0	0	0
2	40.6	7631	0	0	0	0	0
3	38.3	8337	0	0	0	0	0
4	35.2	7068	0	0	0	0	0
P.nigra 1	26.6	13241	0	0	0	0	0

3-careno	terpineno	limoneno	p-cimeno	cineol	desc.1	desc.2	desc.3	desc.4	des.5
0	0	96	0	48	0	0	0	0	0
0	0	89	0	51	0	0	0	0	0
0	0	457	0	220	0	0	0	0	0
0	0	646	0	139	0	0	0	0	0
0	24	506	0	411	0	0	0	248	0
0	19	131	0	299	0	0	0	30	0
0	10	376	0	191	0	0	0	148	0
0	16	166	0	331	0	0	0	55	0
0	0	344	0	104	0	0	0	735	0
0	0	443	0	55	0	0	0	1122	0
0	0	37	0	25	0	0	0	0	0
0	0	53	0	17	0	0	0	0	0
19	20	10	8	12	0	0	0	0	0
9	26	11	8	8	0	0	0	0	0
0	0	2777	0	330	0	140	0	0	0
0	0	7537	0	2855	0	789	0	0	0
0	0	15853	0	153	0	0	0	0	0
0	0	8827	0	54	0	0	0	0	0
0	0	117	0	58	0	0	0	0	0
0	0	103	0	62	0	0	0	0	0
0	0	221	0	315	0	0	0	0	0
0	0	199	0	68	0	0	0	0	0
0	0	90	81	3274	0	0	0	0	0
0	0	106	90	3716	0	0	0	0	0
0	0	53	0	63	0	0	0	0	0
0	0	27	19	61	0	0	0	0	0
0	0	30	28	119	0	0	0	0	0
0	0	0	0	942	0	183	0	0	0
0	0	0	0	677	0	142	0	0	0
0	0	0	0	428	0	310	0	0	0
0	0	0	0	231	0	269	0	0	0
0	0	0	0	500	0	234	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	24	156	0	3532	0	0	0	0	0
0	25	302	0	795	0	0	0	0	0
0	37	221	0	328	0	0	0	0	0
0	306	585	0	794	0	0	0	0	0
0	11	11	6	112	0	0	0	0	0
0	12	12	9	98	0	0	0	0	0
0	0	0	0	241	0	0	0	0	0
0	0	0	0	73	0	0	0	0	0
0	0	22	0	38	0	0	0	0	0
0	0	41	0	28	0	0	0	0	0
0	0	0	0	48	0	0	0	0	0
0	0	0	0	29	0	0	0	0	0
0	0	0	0	155	0	0	0	0	0
0	0	0	0	3044	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

desc.6	desc.7	desc.8	outro
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	168	0	0
0	151	0	0
0	298	0	93
0	463	0	134
0	0	0	0
0	0	0	0
0	67	0	0
0	99	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	14878	0
0	0	1490	0
44	81	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	1394	0	0
0	1178	0	0
0	1718	0	0
0	3038	0	0
0	106	0	0
0	573	0	0
0	368	0	0
0	254	0	0
0	303	0	0
0	136	0	0
0	1304	0	0
0	375	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0

2	25.5	13239	0	0	0	0	0
S.alba 1	61.4	14612	0	0	0	0	0
2	36.9	16707	0	0	0	0	0
3	35.6	18864	0	0	0	0	0
S.atrocinerea 1	36.9	13390	0	0	0	0	0
2	25.2	7192	0	0	0	0	0
S.babylonica 1	36.4	11008	0	0	0	0	0
2	36.7	6606	0	0	0	0	0
3	20.4	12691	0	0	0	0	0
4	20.9	10959	0	0	0	0	0
P.hybrida 1	25.2	2636	0	0	0	0	0
2	25	6983	0	0	0	0	0
L.nobilis 1	75.6	0	0	0	0	0	0
2	58.9	0	0	0	0	0	0
3	47.4	0	0	0	0	0	0
U.campestris 1	20.3	0	0	0	277	0	0
2	19.4	0	0	0	207	0	0
A.glutinosa 1	35.2	0	0	0	0	0	0
2	33.4	0	0	0	0	0	0
3	13.5	0	0	0	0	0	0
4	24.8	0	0	0	0	0	0
A.unedo 1	41.7	0	0	0	0	0	25
2	48.9	0	0	0	0	0	24
F.carica 1	22.7	1538	0	0	0	0	0
2	24.2	1092	0	0	0	0	0
J.regia junho 1	15.3	0	0	127	59	225	0
2	16.8	0	0	241	15	317	0
J.regia agosto 1	30	0	0	292	0	534	25
2	32.8	0	0	128	0	215	14
E.japonica jovem 1	76.3	0	0	202	0	11	30
2	75.6	0	0	1188	0	62	189
E.japonica adulto 1	58.6	0	0	0	0	0	0
2	55.2	0	0	0	0	0	0
U.europaeus jovem 1		2642	0	13	152	0	0
2		1414	0	10	281	0	0
U.europaeus adulto 1		1281	0	28	0	0	0
2		837	0	92	0	0	0
C.tridentatum maio 1		343	0	7	0	0	0
2		121	0	3	0	0	0
C.tridentatum julho 1		1031	0	15	0	0	0
2		2019	0	18	0	0	0
E.umbellata 1		105	0	0	0	0	0
2		184	0	0	0	0	0
E.arborea 1		0	0	0	0	0	0
2		0	0	0	0	0	0
E.cinerea branca 1		300	0	0	0	0	0
2		294	0	0	0	0	0
E.cinerea rosa 1		978	0	0	0	0	0
2		871	0	0	0	0	0
E.australis 1		139	0	20	0	15	0

0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	213	0	0	0	0	0
0	0	0	0	39	0	0	0	0	0
0	0	0	0	52	0	0	0	0	0
0	0	0	0	152	0	0	0	0	0
0	0	0	0	143	0	0	0	0	0
0	0	0	0	148	0	0	0	0	0
0	0	0	0	68	0	0	0	0	0
0	0	0	0	47	0	0	0	0	0
0	0	0	0	836	0	0	0	0	0
0	0	0	0	262	0	0	0	0	0
0	0	0	0	666	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	617	0	896	0	0	0
0	0	0	0	653	0	484	0	0	0
0	0	0	0	449	0	291	0	0	0
0	0	0	0	484	0	324	0	0	0
0	0	148	0	0	0	0	0	0	0
0	0	139	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	490	0	304	0	0	0
0	0	0	0	66	0	44	0	0	0
0	0	35	0	187	0	0	0	0	0
0	0	39	0	18	0	0	0	0	0
0	0	64	0	2746	1379	1928	0	0	0
0	0	18	0	878	1150	2189	0	0	0
0	0	23	0	356	0	17	0	0	0
0	0	141	0	967	0	29	0	0	0
0	0	0	0	38	0	0	0	0	0
0	0	0	0	14	0	0	0	0	0
0	0	0	0	443	0	0	0	0	0
0	0	0	0	801	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	68	0	16	0	0	0
0	0	0	0	180	0	44	0	0	0
0	0	0	0	2168	0	148	0	0	0
0	0	0	0	916	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1155	0	716	0	0	0
0	0	0	0	135	0	47	0	0	0
0	0	0	0	181	0	0	0	0	0
0	0	0	0	142	0	0	0	0	0
0	0	0	0	69	0	1960	0	0	0
0	0	0	0	15	0	755	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	54	0	49	0	0	0

0	0	0	0
0	488	0	0
0	722	0	0
0	1023	0	0
0	212	0	0
0	799	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	1443	0	0
0	1369	0	0
0	475	0	0
0	2473	0	0
0	5026	0	0
0	1585	0	0
0	24	0	0
0	23	0	0
0	131	0	0
0	52	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	121	0	0
0	341	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	139	0	0
0	52	0	0
0	0	1255	0
0	0	1570	0
0	3171	0	0
0	4650	0	0
0	46	0	0
0	67	0	0
0	258	0	0
0	210	0	0
73	0	0	0
52	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
35	50	33	0

2		100	0	27	0	10	0
E.ciliaris 1		14	0	0	0	0	0
2		7	0	0	0	0	0
C.vulgaris c.flor maio 1		0	0	0	0	0	0
2		0	0	0	0	0	0
C.vulgaris s.flor julho 1		0	0	31	0	0	0
2		0	0	61	0	0	0
D.gnidium 1		6700	0	0	0	0	6
2		7480	0	0	0	0	8
C.salvifolius 1		0	154	2960	536	174	70
2		0	190	3381	716	246	136
C.ladanifer 1		0	313	9426	2110	578	102
2		0	314	11339	1800	520	85
3		0	554	20540	4811	1108	338
L.luisieri 1		0	78	263	448	14	0
2		0	57	166	302	12	0
C.monogyna 1		0	0	33	0	0	0
2		0	0	61	0	0	0
3		0	0	18	0	0	0
F.alnus 1	30.5	3659	0	0	0	0	0
2	29.9	5533	0	0	0	0	0
R.ulmifolius 1	38.9	0	0	60	0	0	0
2	35.1	0	0	58	0	0	0
P.aquilinum maio 1		997	0	31	0	0	0
2		508	0	22	0	0	0
P.aquilinum julho 1		484	0	17	0	0	0
2		169	0	13	0	0	0
3		309	0	11	0	0	0
A.curtissii 1		2084	0	0	0	0	0
2		1887	0	0	0	0	0
oliveira 1	92.9	0	0	0	0	0	0
2	105.4	0	0	0	0	0	0
Vinha 1	21.2	0	0	0	0	0	0
2	20.7	0	0	0	0	0	0
Laranjeira 1	30.6	0	0	32	0	0	0
2	43.2	0	0	28	0	0	0
Macieira 1	33.2	0	0	0	0	0	0
2	32.8	0	0	0	0	0	0
Pereira 1	29.2	0	0	68	0	0	0
2	32.7	0	0	77	0	0	0
Pessegueiro 1	22.4	0	0	0	0	0	0
2	17.9	0	0	0	0	0	0
Limoeiro 1	43.6	0	0	44	0	15	0
2	41.6	0	0	28	0	9	0
Batata 1	12.6	0	0	0	0	0	0
2	13.6	0	0	0	0	0	0
Fava 1		0	0	54	0	0	0
2		0	0	84	0	0	0

0	0	0	0	42	0	39	0	0	0
0	0	0	0	68	46	35	0	0	0
0	0	0	0	52	124	59	0	0	0
0	0	124	0	28	0	0	0	0	0
0	0	47	0	48	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1464	0	502	0	0	0
0	0	0	0	2851	0	979	0	0	0
0	0	0	0	89	0	0	0	0	0
0	0	0	0	83	0	0	0	0	0
0	0	53	14	122	0	168	0	0	0
0	0	89	97	744	0	236	0	0	0
0	48	1129	682	141	0	1083	0	0	0
0	33	1065	595	46	0	241	0	0	0
0	106	1984	1077	191	0	0	0	0	0
0	0	108	38	268	0	0	0	0	0
0	0	72	28	127	0	0	0	0	0
0	0	0	0	21	0	0	0	0	0
0	0	0	0	18	0	0	0	0	0
0	0	0	0	54	0	0	0	0	0
0	0	0	0	308	0	0	0	0	0
0	0	0	0	470	0	0	0	0	0
0	0	0	0	132	0	0	0	0	0
0	0	0	0	181	0	0	0	0	0
0	0	21	0	0	0	70	0	0	0
0	0	8	0	0	0	219	0	0	0
0	0	11	0	0	80	0	0	0	74
0	0	19	0	0	16	0	0	0	62
0	0	12	0	0	39	0	0	0	55
0	0	202	0	140	0	0	0	0	0
0	0	265	0	34	0	0	0	0	0
0	0	0	0	374	0	0	0	0	0
0	0	0	0	44	0	0	0	0	0
0	0	0	0	84	97	0	0	0	0
0	0	0	0	366	118	0	0	0	0
0	0	0	0	40	0	0	0	0	0
0	0	0	0	46	0	0	0	0	0
0	0	0	0	8806	188	384	0	0	0
0	0	0	0	7840	86	356	0	0	0
0	0	0	0	205	0	0	68	0	0
0	0	0	0	131	0	0	85	0	0
0	0	0	0	37	0	0	0	0	0
0	0	0	0	314	0	0	0	0	0
0	0	8	0	14	0	0	0	0	0
0	0	5	0	12	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

36	86	40	0
0	0	0	0
0	0	0	0
17	0	0	0
21	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	161	0	0
0	302	0	0
176	0	0	0
166	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	45	0	0
0	140	0	0
0	352	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	1784	342	0
0	2531	462	0
1021	0	0	0
886	0	0	0
899	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	188	0	0
0	108	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	38	0	0
0	40	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	74	0
0	0	56	0
108	0	0	0
1548	0	0	0
0	12	0	0
0	16	0	0
0	115	0	0
0	20	0	0
62	0	0	0
82	0	0	0

APÊNDICE B

Radiação PAR - curvas de ajuste a dados experimentais para obtenção dos perfis de radiação média mensal

Nas páginas seguintes apresentam -se quatro gráficos da distribuição da radiação total ($W.m^{-2}$) média mensal em Cacia (1993-1994) e os "fittings" aplicados aos dados experimentais registada (Março, Junho, Setembro e Dezembro). Estes dados foram convertidos em radiação PAR (radiação fotosssinteticamente activa) usando o coeficiente 0,45 obtido localmente e o equivalente de energia de uma mole de fotões, a 550 nm de comprimento de onda, de 217 kJ. A tabela B.1 apresenta já a radiação PAR média ($\mu mol_{fotões}.m^{-2}.s^{-1}$) ao longo do dia para cada mês (intervalos de 15 minutos).

Rank 6 Eqn 8055 [Beta] $y=a+b((x-c+dm)/d)^{e-1}*(1-(x-c+dm)/d)^{f-1}/(m^{e-1}*n^{f-1})$ $m=(e-1)/(e+f-2)$ $n=(f-1)/(e+f-2)$

$r^2=0.99489362$ DF Adj $r^2=0.99454937$ FitStdErr=7.6797456 Fstat=3507.0039

a=99.031917 b=286.14053 c=52.086111

d=35.018908 e=2.1075652 f=2.1096565

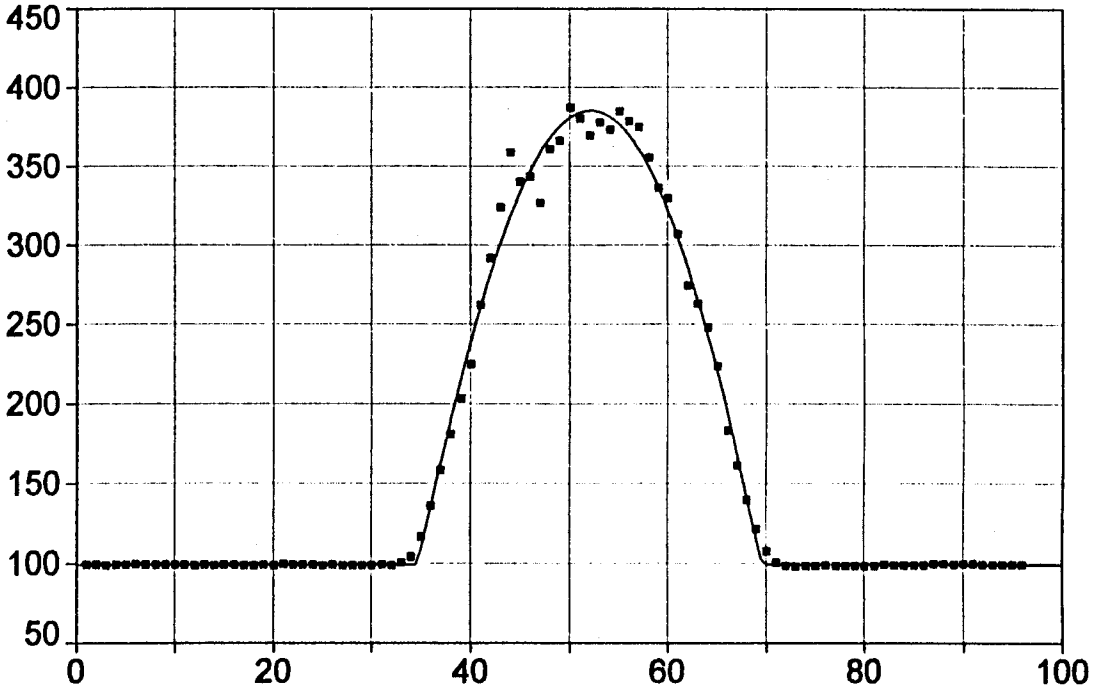


Gráfico B.1 - Variação da radiação média mensal de Dezembro 1993 (Cacia) ao longo do dia.

ordenadas - radiação total ($W.m^{-2}$); abcissas - hora/4

Rank 1 Eqn 8055 [Beta] $y=a+b((x-c+dm)/d)^{e-1}*(1-(x-c+dm)/d)^{f-1}/(m^{e-1}*n^{f-1})$ $m=(e-1)/(e+f-2)$ $n=(f-1)/(e+f-2)$

$r^2=0.9980939$ DF Adj $r^2=0.9979654$ FitStdErr=11.130234 Fstat=9425.3657

a=96.999567 b=662.6772 c=53.495087

d=49.148015 e=2.7833251 f=2.6572408

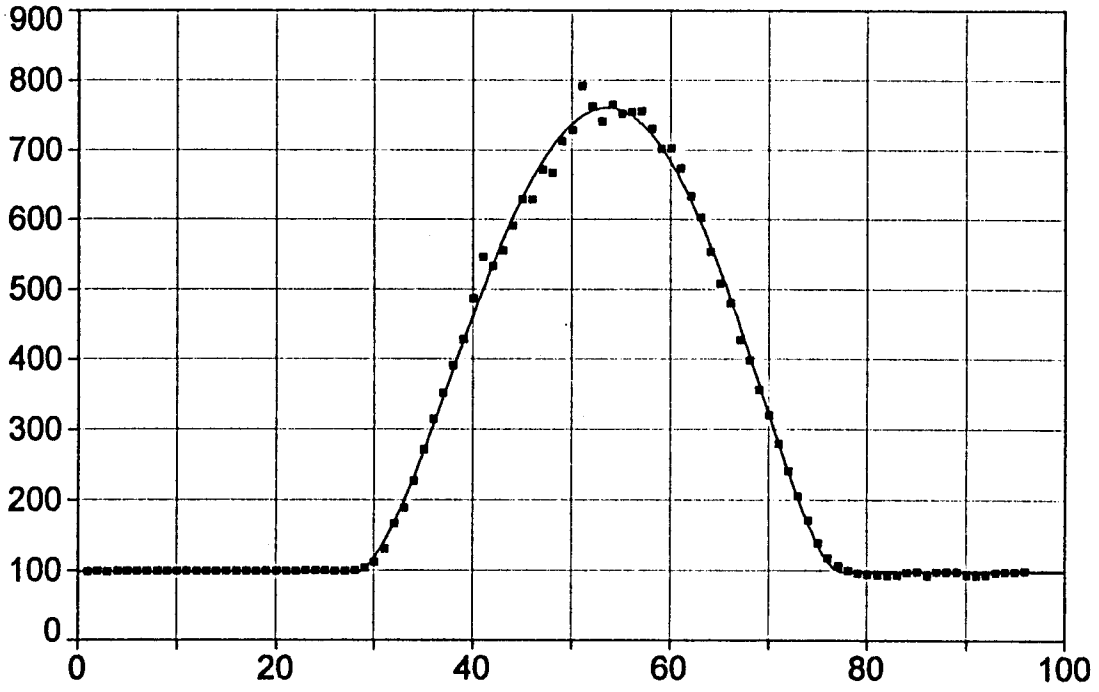


Gráfico B.2 - Variação da radiação média mensal de Março 1994 (Cacia) ao longo do dia.

ordenadas - radiação total ($W.m^{-2}$); abcissas - hora/4

Rank 1 Eqn 8055 [Beta] $y=a+b((x-c+dm)/d)^{e-1}*(1-(x-c+dm)/d)^{f-1}/(m^{e-1}*n^{f-1})$ $m=(e-1)/(e+f-2)$ $n=(f-1)/(e+f-2)$

$r^2=0.99779257$ DF Adj $r^2=0.99764376$ FitStdErr=16.370037 Fstat=8136.2832

a=96.909838 b=895.01322 c=54.006302

d=63.651714 e=3.4336064 f=3.0009003

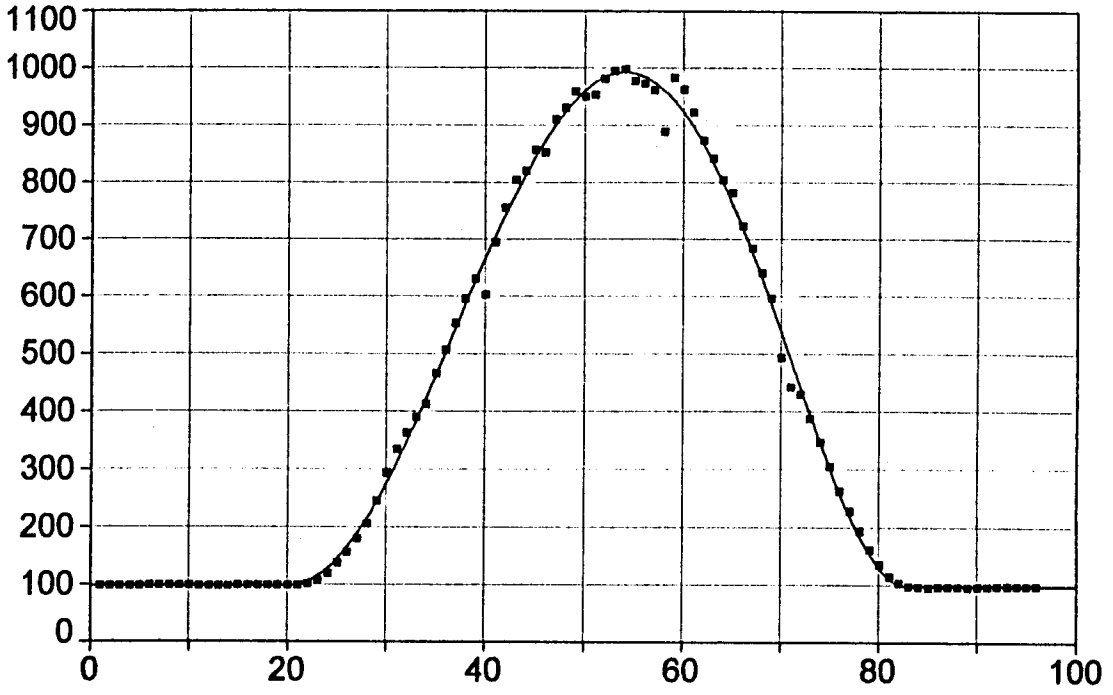


Gráfico B.3 - Variação da radiação média mensal de Junho 1994 (Cacia) ao longo do dia.

ordenadas - radiação total ($W.m^{-2}$); abcissas - hora/4

Rank 1 Eqn 8055 [Beta] $y=a+b((x-c+dm)/d)^{e-1}*(1-(x-c+dm)/d)^{f-1}/(m^{e-1}*n^{f-1})$ $m=(e-1)/(e+f-2)$ $n=(f-1)/(e+f-2)$

$r^2=0.99567088$ DF Adj $r^2=0.99537903$ FitStdErr=16.155229 Fstat=4139.8908

a=96.286599 b=638.828 c=54.063106

d=52.631291 e=3.189785 f=2.6641305

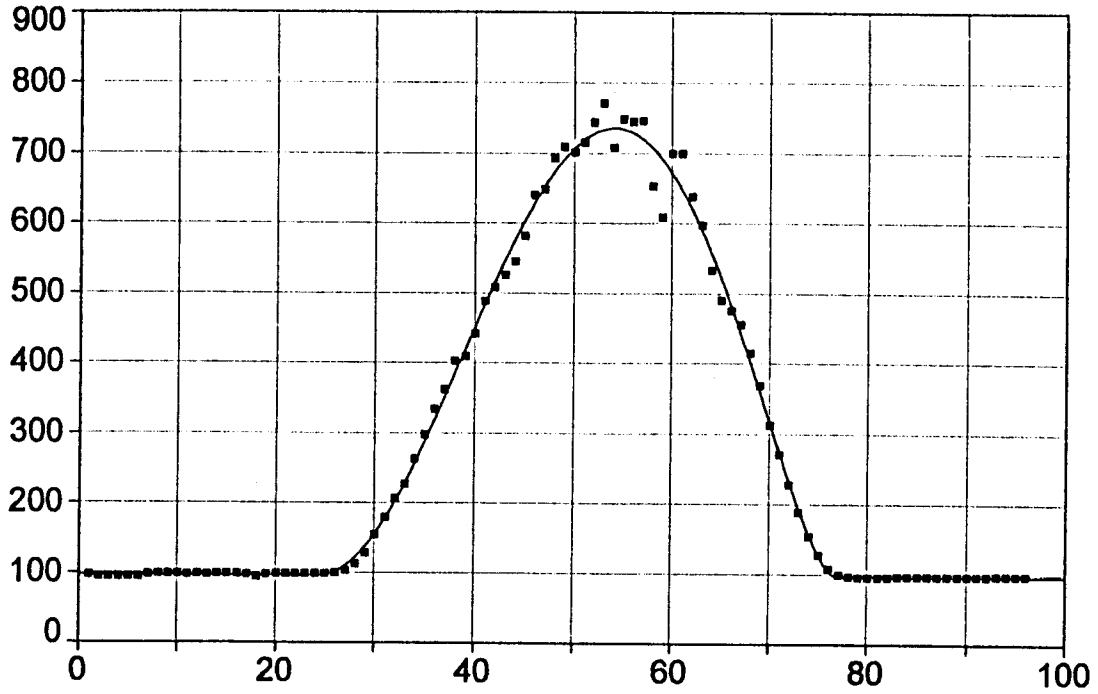


Gráfico B.4 - Variação da radiação média mensal de Setembro 1994 (Cacia) ao longo do dia.

ordenadas - radiação total ($W.m^{-2}$); abcissas - hora/4

Tabela B.1 - Radiação PAR média mensal

RADIAÇÃO PAR umol/(m2.s)

Hora	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho	Julho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro	Dezembro
4.5						1	4					
4.75					10	13	14					
5					27	33	28					
5.25					52	60	46	5				
5.5				11	84	94	70	26				
5.75				34	123	135	99	58	4			
6				68	169	183	133	99	21			
6.25			7	113	221	237	173	149	45			
6.5			39	167	278	298	218	207	77	21		
6.75			84	230	341	363	270	271	116	52		
7		20	140	301	408	434	326	341	160	79		
7.25		53	204	379	479	509	389	416	211	110	8	
7.5	4	96	274	464	553	587	455	495	266	156	46	
7.75	38	145	349	553	629	668	527	576	325	212	95	18
8	82	199	428	645	706	752	602	660	388	272	153	73
8.25	131	257	508	741	784	836	681	744	453	334	215	129
8.5	183	316	589	837	863	922	762	829	521	400	280	184
8.75	236	375	670	934	940	1007	845	913	589	469	346	237
9	289	435	750	1030	1016	1091	930	995	658	535	412	287
9.25	340	493	827	1124	1090	1174	1015	1075	727	601	476	334
9.5	390	549	902	1215	1161	1255	1099	1152	795	666	538	377
9.75	437	602	973	1302	1229	1333	1182	1226	861	730	597	417
10	482	652	1040	1385	1293	1408	1263	1295	924	788	652	453
10.25	522	698	1102	1461	1352	1478	1341	1359	985	840	702	485
10.5	559	739	1158	1532	1406	1544	1415	1417	1043	892	747	512
10.75	592	776	1209	1595	1454	1605	1485	1470	1096	941	787	536
11	620	807	1253	1650	1496	1660	1548	1516	1144	981	821	556
11.25	643	833	1290	1697	1532	1708	1606	1555	1188	1016	849	571
11.5	662	854	1321	1735	1561	1750	1657	1587	1226	1022	871	582
11.75	675	868	1344	1764	1583	1785	1700	1611	1257	1070	886	589
12	684	876	1359	1783	1598	1813	1735	1627	1283	1087	893	591
12.25	687	878	1367	1792	1606	1833	1762	1636	1301	1097	895	590
12.5	685	874	1367	1791	1605	1845	1779	1636	1313	1099	889	584
12.75	678	864	1359	1780	1598	1850	1787	1629	1317	1091	876	573
13	665	848	1343	1758	1582	1846	1786	1613	1314	1074	856	559
13.25	647	827	1320	1727	1559	1833	1775	1589	1303	1066	829	540
13.5	624	799	1289	1686	1528	1813	1754	1557	1284	1037	796	517
13.75	596	766	1250	1636	1491	1784	1723	1517	1258	1008	757	490
14	563	728	1204	1576	1446	1747	1683	1469	1224	966	711	459
14.25	526	685	1152	1508	1394	1702	1634	1414	1182	921	660	424
14.5	484	639	1092	1432	1336	1649	1576	1352	1133	869	604	385
14.75	438	588	1027	1348	1272	1589	1510	1284	1077	811	543	342
15	389	534	956	1258	1203	1522	1437	1210	1015	747	479	296
15.25	337	477	880	1163	1129	1449	1357	1131	946	678	411	247
15.5	282	419	800	1063	1051	1369	1271	1046	872	606	341	195
15.75	226	360	717	960	969	1284	1180	958	792	531	271	140
16	169	300	631	854	885	1194	1085	867	709	454	201	84
16.25	113	242	544	748	799	1101	987	774	622	375	134	28
16.5	61	185	456	642	712	1004	888	680	534	303	73	
16.75	16	133	370	539	625	905	789	585	444	232	23	
17		85	286	439	539	805	690	492	356	176		
17.25		44	207	345	455	705	594	402	270	135		
17.5		14	134	258	374	605	502	316	189	21		
17.75			72	180	298	509	414	236	116			
18			23	114	228	415	332	163	54			
18.25				60	165	327	258	100	9			
18.5				22	110	246	192	48				
18.75				0	64	173	135	12				
19					29	110	87					
19.25					6	58	50					
19.5						21	22					
19.75							4					

APÊNDICE C

Temperaturas médias mensais mínima e máxima a nível distrital

(SNM - Normais Climatológicas 1930-1960)

Nas páginas seguintes, apresentam-se os valores de temperatura média mensal mínima e máxima a nível distrital (tabela C.1). A partir destes valores por aplicação da função seno (ou coseno) estimaram-se as temperaturas ao longo do dia para cada distrito.

$$T\ (°C) = T_{min} + (T_{max} - T_{min}) \times \text{sen}\ (\pi \times \text{tempo}_{(h)} / 24)^2$$

Tabela C.1 - Temperaturas médias mensais mínima e máxima

Distrito	Janeiro		Fevereiro		Março		Abril		Maio		Junho	
	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min
VCastelo	13.1	4.3	14.4	4.5	16.5	7.1	19.4	8.6	20.6	10.5	24.7	13.3
Braga	13	4.2	14	4.5	16.4	7.1	19	8.1	20.9	9.9	25	12.4
Porto	13.2	4.7	14.2	5	16.5	7.5	18.4	8.8	19.6	10.8	22.6	13.4
VReal	10.2	2.3	12.5	2.6	15.3	5.2	18.2	6.9	20.7	9.1	25.7	12.2
Bragança	7.6	0	10.5	0.6	12.7	3.1	15.8	4.6	18.5	7.2	23.9	10.7
Aveiro	14.4	5.2	15.3	5.8	17.6	8.2	19.4	9.5	22.4	13.6	23.8	14.2
Viseu	11	1.4	12.7	1.8	15.2	4.4	18	5.8	20.6	8	25.1	11.1
Guarda	5.7	1	7	1.3	9.8	3.5	12.6	4.9	15.4	7.2	20.7	11.1
Coimbra	14	5.4	15.7	5.8	18.2	8.2	20.9	9.3	22.5	11	26.1	13.6
CBranco	11.1	4.7	13	5.3	15.6	7.5	18.8	9.3	22	11.8	27.4	15.4
Leiria	14.2	4.4	15.2	4.4	17.5	7.4	19.8	8	21	10.1	23.7	12.3
Lisboa	14.9	7.4	16.1	7.6	18.3	9.6	21	10.9	22.7	12.3	26.3	14.9
Santarém	14.2	5.4	15.8	5.8	18.3	8.3	21	9.6	23.4	11.2	27.5	13.9
Portalegre	13	4.4	15	5.2	17.7	7.4	20.9	9.3	24	11.1	29.7	14.5
Évora	13.4	2.8	14.7	3.5	17.8	5.8	20.5	7.2	23.7	9.5	28.8	12
Setúbal	14.6	4.7	15.8	5.1	17.9	7.7	20.7	9	23	10.8	27.2	13.5
Beja	13.1	5.2	14.8	5.7	17.2	7.6	20.2	9.1	23.2	10.8	28.3	13.6
Faro	15.3	7	16.3	7.2	18	9	20.5	10.5	23.3	12.4	27	15.8

Tabela C.1 - continuação

Julho		Agosto		Setembro		Outubro		Novembro		Dezembro	
Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min	Max	Min
27.4	14.4	27.8	14.5	25.2	13.2	21.4	10.2	16.7	7	13.7	4.7
27.4	13.2	27.6	13.2	25.3	11.4	21.3	9.6	16.5	6.8	13.3	4.5
24.7	14.6	26	14.6	23.7	13.6	20.8	10.8	16.7	7.8	13.7	5.4
29.1	13.8	29.8	13.9	25.7	12.5	20.2	8.7	14.2	5.2	10.5	2.7
27.6	12.7	28.1	12.5	23.5	10.2	17.5	6.5	11.9	3.2	8	0.7
24.1	14.1	23.4	13.6	23.4	13.6	21.4	11.1	17.8	8.5	14.9	5.8
28.2	12.2	28.2	11.9	25.2	10.5	19.9	7.5	14.8	4.4	11.6	2.1
24.2	13.4	24.1	13.7	20.5	11.8	14.5	8.2	9.3	4.3	6.2	1.5
28.9	14.9	29.3	15	27.2	14.1	23	11.7	17.8	8.7	14.4	6.1
31.2	18.1	31	17.8	27	16	20.8	12.2	15.1	8	11.7	5.2
25.4	13.7	26.2	13.9	25.5	12.9	22.4	10	17.8	7.1	14.2	5
28.9	16.6	29.2	16.9	27.4	13.8	23.4	13.8	18.5	10.6	15.4	7.9
30.6	15.5	31	15.8	28.5	14.7	23.4	12.2	18	8.8	14.7	6
33.8	16.4	33.3	16.8	29.5	15.2	23.4	12	17.4	7.9	13.4	5
32.1	15.8	32	13.9	28.1	12.4	23	10.1	17.7	6.6	14.1	3.5
30.3	14.8	30.4	15	28	14	23.4	11.2	18.7	8	15	5.3
32	15.5	31.9	16	28.4	15	23	12.5	17.4	8.8	13.7	5.8
30	17.9	29.8	18.1	27.1	16.6	23.1	13.7	19.2	10.7	16.2	7.8

UA/SD
N° 106388
Date 26 MAR. 1997
Cote PAE - 641

EMISSÕES BIOGÉNICAS DE HIDROCARBONETOS NÃO METANO

Contribuição para a determinação das taxas de emissão de compostos orgânicos voláteis (COVs) pelos ecossistemas florestais

Teresa Filomena Vieira Nunes

ERRATA

Página	Parágrafo / linha	Onde se lê	Deve ler-se
11	4° / penúltima	dá	dão
16	1° / última	da taxa	na taxa
16	Figura II.5	da taxa	na taxa
22	1° / última	19ªC	19°C
24	3° / 13ª	subestimam	sobrestimam
26	1° / 1ª	1993	1993b
29	3° / 8ª	1993	1993a
36	3° / 3ª	sucede-se	segue-se
39	1° / 4ª	peroxiacetilo	peroxiacilo
41	2° / 7ª	mais conhecidos	principais
49	1° / 2ª	10^{-6}	$2{,}5 \times 10^{8}$
69	3° / 7ª	assim	Assim
73	4° / 6ª	O coeficiente de variação (CV)	A diferença relativa à média dos
73	4° / 7ª	um CV	uma diferença relativa
82	1° / 7ª	eram	era
86	2° / 6ª	50 e 80	50 a 80
91	1° / 5ª	3.5.2.2	III.2.2.1
94	4° / 3ª	a7	a 7
103	2° / 9ª	conselho	concelho
107	2ª / última	gotícula	gotículas
120	Figura IV.7	20xT	40xT
129	Tabela IV.9	27-7-930	27-7-93
134	2° /2ª	cesseis	sésseis
135	1° / 1ª	folhas ramos	folhas de ramos
138	3° / última	IV.16	IV.15
145	4° / 2ª	março	Março
156	4° / 5ª	NE-SW	NE-SE
161	2° / 7ª	esperar muito	esperar concentrações muito
164	1° / 10ª	IV.30	IV.31
177	2° / 6ª	utilização analogia	utilização da analogia
184	2ª Referência	1980	1980a
184	3ª Referência	1980	1980b
184	18ª Referência	77-102	**18**, 77-102
185	penúltima Ref.	terpene	Terpene
191	8ª Referência	bates	Bates