

# Determinación de la Cantidad de Oxígeno Fotosintético Evolucionado por las Plantas Verdes Utilizando Técnicas Espectroscópicas

J. P. Valcárcel M<sup>1</sup>, H. González<sup>2</sup>, J. M. Cristancho F<sup>2</sup>, F. Valcárcel M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Educación. Universidad Surcolombiana, Neiva, A.A 385.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

<sup>3</sup> Facultad de Ingeniería Forestal, Universidad Distrital de Bogotá.

## Resumen

En este trabajo se indica una forma de espectroscopia para determinar la cantidad de oxígeno producido por una hoja vegetal cuando esta es irradiada con una determinada frecuencia de radiación electromagnética. La espectroscopia fotoacústica es una técnica fototérmica que no compromete la muestra traduciendo una señal modulada en calor y este, a su vez, produce una señal acústica, debido al aumento de presión ocasionado por el incremento de gas en la celda fotoacústica.

**Palabras claves:** Espectroscopia, fotosíntesis, fotoacústica, micorriza

## Abstract

We work a form of spectroscopy useful to determine the quantity of oxygen produced by green leaves when they are exposed with an electromagnetic radiation of a fixed frequency. The photoacoustic spectroscopy is a non-invasive technique that uses a photothermal method in the study of photosynthesis.

**Key Words:** Spectroscopy, photosynthesis, photoacoustic, mycorrhiza.

## Historia.

**E**l estudio de la fotosíntesis comenzó en 1771 a raíz de las observaciones hechas



por el químico inglés Joseph Priestley. Priestley mantuvo una llama en una cámara cerrada hasta que todo el aire que sostenía la combustión se agotó. Entonces colocó una pequeña planta en ese contenedor y descubrió que después de varios días, la planta produjo la misma sustancia (más tarde reconocida como oxígeno) que recobraba al espacio confinado la capacidad de

<sup>4</sup> Justo Pastor Valcárcel Montañez.  
juval@usco.edu.co - jupaval@gmail.com

soportar la combustión. En 1779 el físico holandés Jan Ingenhousz intensificó los trabajos de Priestley demostrando que el gas (oxígeno) se formaba a expensas de otro gas el cual había sido identificado el año anterior como dióxido de carbono. Los experimentos de intercambio de gases en 1804 mostraron que el peso ganado por una planta, cuidadosamente medido, era el peso de la suma de carbón, el cual viene completamente del dióxido de carbono absorbido y el agua tomada por las raíces de la planta.

Pasó cerca de medio siglo para que fuese desarrollado suficientemente el concepto de energía química y permitir el descubrimiento en 1845, que la energía de la luz del sol es almacenada en la planta como energía química de productos formados durante la fotosíntesis [1].  
Introducción.

Según la Ley de Stefan-Boltzmann la curva de distribución de la radiación solar es, muy próximamente, la curva de radiación de un cuerpo negro a 6 000K. La velocidad media a la que se recibe la energía radiante en las altas capas de la atmósfera, se conoce con el nombre de "constante solar" y vale 0,033 calorías por centímetro cuadrado por segundo, o sea, 1,38 Kw/m<sup>2</sup> [2]

La atmósfera absorbe aproximadamente el 10% de esta energía radiante. El resto incide sobre la superficie terrestre que en parte la absorbe y en parte la refleja. La superficie terrestre emite también radiación en la cuantía correspondiente a su inferior temperatura y a la emisividad media de su superficie. Esta radiación emitida y reflejada es absorbida, en parte, por nuestra atmósfera y el resto se transmite al espacio. Como balance final de todos estos procesos tenemos que, de la energía radiante recibida del Sol, el 17% es absorbida por la atmósfera, el 40% por la superficie terrestre y el 43% restante es reflejada y radiada hacia el espacio.

Como datos comparativos el radio del Sol es  $6,9 \times 10^8$  m.; el radio de la Tierra es de  $6,37 \times 10^6$  m, y el radio de un átomo es de  $0,59 \times 10^{-10}$  m.

La enorme cantidad de energía que produce el Sol es el resultado de la fusión de núcleos de hidrógeno para formar helio (He). La mayor parte de esta energía escapa del Sol como radiación electromagnética. Alrededor del 9% de la radiación solar se encuentra en la región ultravioleta (UV) del espectro electromagnético, 46% en la región visible y 45% en la región infrarroja (IR).

La radiación electromagnética se compone de fotones, cada uno de los cuales posee una frecuencia y una cantidad de energía característica. Su energía está expresada por  $h \cdot f$ , es la constante fundamental de energía y vale  $6,626 \times 10^{-34}$  J.s. Cuanto mayor es la frecuencia  $f$ , mayor es la energía del fotón, y esto determina el efecto de la radiación sobre la materia.

La IR, con frecuencias que van de  $10^{12}$  a  $10^{14}$  hertz (Hz) aproximadamente, hace que las moléculas vibren con mayor rapidez y eleva su temperatura.

La luz visible tiene más energía que la infrarroja, es decir, sobre los  $10^{14}$  Hz. Esta radiación proporciona energía a los electrones de ciertos enlaces químicos, de manera que cada fotón trasmite su energía a los electrones de un solo enlace químico. La luz visible actúa también con los electrones de las moléculas de clorofila de las plantas verdes, suministrando la energía requerida para las reacciones de la fotosíntesis. De la totalidad de energía solar que llega a la Tierra, unos  $3 \times 10^{24}$  joules cada año, aproximadamente el 0,1 por ciento, queda aquí retenido en forma de biomasa, es decir, unos  $2 \times 10^{14}$  kilogramos al año. En efecto, por medio de la fotosíntesis las plantas verdes captan la energía del Sol y la transforman en energía química, utilizable por los organismos vegetales y quienes de ellos se alimentan, para atender a la síntesis de sus componentes celulares [3]. Esta transformación conlleva la reducción del anhídrido carbónico atmosférico (CO<sub>2</sub>) en formas moleculares más complejas y de mayor contenido energético.

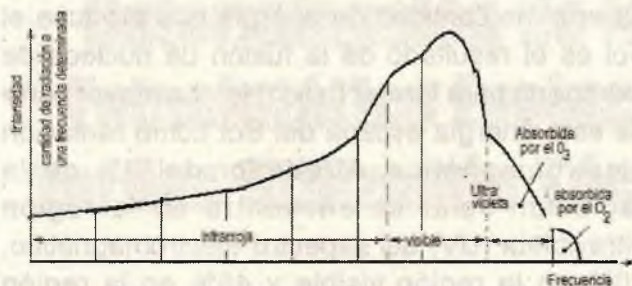
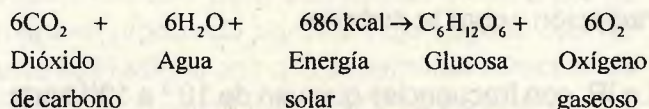


Figura 1. Escala arbitraria de los límites de las frecuencias IR-Visible y UV.

La fijación fotosintética implica la formación de hidratos de carbono y oxígeno a partir del CO<sub>2</sub> y de agua, de acuerdo con la siguiente reacción química global para la formación de glucosa y oxígeno gaseoso, vía fotosíntesis:



Sin embargo, el proceso global de la fotosíntesis es muy compleja y se compone de alrededor de una centena de etapas que son subdivididas por comodidad en dos fases secuenciales [1]:

Primero, las reacciones "luminosas" y segundo las reacciones "obscuras". En las primeras se da la captación de energía luminosa por los pigmentos que absorben luz convirtiéndola en energía química del ATP (Adenosín Trifosfato) y de ciertos agentes reductores, especialmente el NADPH (forma reducida de la Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato, NADP). En este proceso, los átomos de hidrógeno se ven separados de las moléculas de agua y son empleados para reducir al NADP, liberándose oxígeno molecular, que es un subproducto de la fotosíntesis en las plantas; simultáneamente, el ADP (Adenosín Difosfato) se fosforila a ATP.

En las reacciones oscuras los productos ricos en energía de la primera fase, el NADPH y el ATP, se emplean como fuentes energéticas para efectuar la reducción del CO<sub>2</sub> y producir glucosa (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>); simultáneamente, el NADPH se reoxida a NADP y el ATP se escinde de nuevo en ADP y fosfato. Este conjunto de reacciones son

convencionales, catalizadas por enzimas y no necesitan de la luz.

Es hecho bien documentado que las plantas mantenidas en la oscuridad, por un cierto tiempo, no inician inmediatamente el proceso fotosintético a su tasa máxima cuando la luz incide de nuevo sobre ellas. Existe un tiempo de retraso hasta que alcanzan el máximo del proceso. A este fenómeno se le conoce como inducción fotosintética.

Desde que se inicia el desarrollo de una planta en un medio natural, fundamentalmente el suelo, tiene lugar un conjunto de interacciones entre la planta y las poblaciones microbianas del medio. [4]

La repercusión de los microorganismos patógenos o simbioses en la vida de la planta es un objetivo de gran importancia. Tal interés deriva en que los microorganismos ejercen acciones para la planta que ésta no puede efectuar por sí sola (o las realiza con dificultad). Los dos ejemplos más representativos de esta simbiosis son las implicadas en la fijación de nitrógeno y las micorrizas (o radícolas). La inmensa mayoría de las plantas que crecen sobre la corteza terrestre viven asociadas, en forma de simbiosis mutua, con ciertos hongos del suelo dando lugar a las llamadas micorrizas (hongo-raíz). El hongo coloniza biotróficamente la corteza de la raíz, llegando a ser parte integrante de dicho órgano, en el que se desarrolla un micelio extramatricial que, a modo del sistema radical altamente efectivo, ayuda a la planta a adquirir nutrientes del suelo. Se conoce que las micorrizas juegan un papel clave en la supervivencia de las plantas y en el reciclamiento de nutrientes del ecosistema, así como también contribuyen a la optimización fisiológica de la planta mediante acciones, fundamentalmente basadas en el aporte de nutrientes minerales. Por ello, las micorrizas son críticas en suelos de baja fertilidad y provocan la llamada "compensación fotosintética" que se manifiesta en incrementos del área foliar específica, en un aumento de la tasa fotosintética y, en suma, la planta desarrolla adaptaciones para soportar a sus simbioses mutualistas.

Los métodos fototérmicos y fotoacústicos y su relevancia en la investigación fotosintética.

La fotoacústica es una técnica de investigación que utiliza la habilidad que tienen ciertas radiaciones electromagnéticas pulsadas, para generar sonido después de la absorción por la muestra investigada. Este efecto es comúnmente explicado por la transformación de la energía de la luz en calor, el cual se origina a la misma frecuencia con la que es excitado. La modulación coherente de temperatura conduce a ciclos de expansión y contracción que excita ondas sonoras. Este mecanismo se denomina efecto fototérmico. Ver Figura 3.



Figura 3. Esquema de una celda fotoacústica abierta.

Aunque el mecanismo fototérmico ocurre universalmente, otros mecanismos también contribuyen a la señal fotoacústica en casos especiales [1].

En sistemas fotosintéticos hay dos de tales mecanismos:

a) Cambios de volumen, como resultado directo del cambio en la empaquetadura molecular que se siguen en las reacciones fotoquímicas, y

b) Aumentos o disminución de gas, que producen cambios de presión debido a penetrabilidad o eliminación rápida de material gaseoso dentro de un volumen restringido. Este último mecanismo llamado fotobárico ocurre en hojas y líquenes, donde la fase gaseosa está adyacente a la celda fotosintética, y por lo general involucra la evolución de oxígeno, aunque la entrada de oxígeno a través del fotosistema I (PS I) (Reacción de Mehler)

también puede estar superimpuesto. El compromiso de cada mecanismo a la señal fotoacústica puede ser separado uno de otro. Cada contribución conduce a partes independientes de información acerca del proceso fotosintético. La contribución fototérmica suministra información sobre la cantidad de conversión de luz en calor e, indirectamente, sobre la cantidad de energía almacenada en los intermedios y productos de la reacción química. Los cambios de volumen indican cambios estructurales. La señal fotobárica es un instrumento muy sensible y analítico para la actividad fotosintética de hojas y líquenes, registrando separadamente la actividad del fotosistema II (PS II) por evolución de oxígeno y la actividad PS I por la absorción de oxígeno. Estas características hacen de la fotoacústica un método único y no invasivo para experimentos en fotosíntesis, particularmente con ventajas especiales para el estudio de la fotosíntesis de la hoja.

Existen otros medios para detectar solamente el efecto fototérmico, basados sobre mediciones de cambios de temperatura. Por ejemplo, en radiometría fototérmica (PTR), el calor modulado está rastreado por la modulación correspondiente en la cantidad de radiación infrarroja emitida por la muestra, señalada por un detector infrarrojo. Otro ejemplo es el uso de los cambios espaciales y temporales del índice de refracción, causados por la agitación modulada de calor. Esto puede probarse utilizando un haz láser débil, valiéndose de las desviaciones resultantes de la dirección inicial del haz [deflexión fototérmica del haz (PBD) o efecto "mirage"]. Estos métodos han sido poco usados en fotosíntesis, pero son útiles para determinar la contribución fototérmica a la señal PA total.

Cuando se estudia la evolución de oxígeno fotosintético, con la técnica fotoacústica, una luz de longitud de onda de  $680 \times 10^{-9} \text{m}$  se hace incidir sobre la hoja, con el fin de excitar a la clorofila a. Pará utilizar el fenómeno de inducción fotosintética, la planta es colocada en la obscuridad por un intervalo de tiempo, el cual depende del tipo de planta, y después una de sus

hojas (aún unida a la planta) se coloca sobre la celda fotoacústica y se inicia el experimento. La Figura 4 reproduce una curva típica obtenida con este procedimiento [1].

En esta curva se observa la señal fotoacústica como una función del tiempo. El comportamiento general de la evolución temporal de la señal mostrada es de tal forma que, comenzando desde un nivel inicial, alcanza un nivel de saturación mayor que el nivel inicial, después de pasar una región de transición donde la curvatura cambia de signo.

Este tipo de conducta puede ser representada por una curva logística, que sigue la siguiente expresión, como una función del tiempo:

$$S(t) = S_0 + \frac{\Delta S e^{\frac{(t-t_0)}{\Delta t}}}{\left(1 + e^{\frac{(t-t_0)}{\Delta t}}\right)}$$

En esta ecuación,  $S_0$ , es el valor inicial de la señal de la celda fotoacústica y corresponde a la contribución térmica;  $S$  es la excursión de la señal al nivel de saturación;  $t_0$  representa el tiempo cuando la velocidad de evolución de oxígeno (la derivada de  $S$ ) alcanza su máximo y  $t$  es el intervalo de tiempo alrededor de  $t_0$ , entre el valor de  $S_0 + 0,27 S$ , y el valor final, el cual corresponde al tiempo donde la curva logística alcanza el valor  $S_0 + 0,73 S$ .

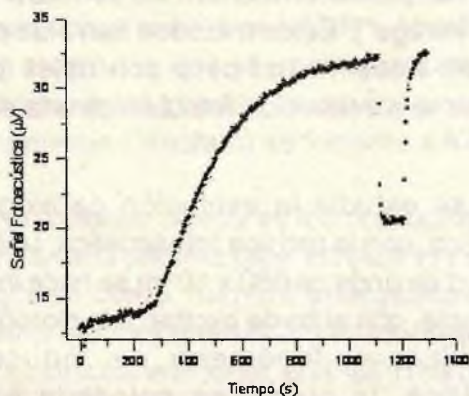


Figura 4. Curva típica que muestra la generación de oxígeno

Un parámetro importante es la derivada ( $dS/dt$ ) máx. de la curva y es la velocidad de apertura estomatal en la hoja, ya que debe recordarse que estas son colocadas por algún tiempo en la obscuridad para generar el efecto de inducción fotosintética.



### Conclusión

Nuestro compromiso crucial con la protección del ambiente, la provisión de alimentos y el mantenimiento de la vida se debe principalmente en los planes y empleo de alta tecnología para la recuperación de tierras. Dentro de estos se encuentra la investigación fotoacústica para determinar qué tipo de fertilizantes, abonos y producción de hongos y sustancias simbióticas son aptas para el mejoramiento de las cosechas, investigando la evolución de la cantidad de oxígeno que en forma directa indica la fertilidad de la planta.

### Consultas bibliográficas

- [1]. J.P. Valcárcel M., Estudio de transporte de oxígeno fotosintético y de calor, por espectroscopias fototérmicas, Tesis de Doctorado, Octubre 1997.
- [2]. H. Margenau, C.G. Montgomery, WW. Watson. Principios y aplicaciones de la Física, Editorial Reverté, S.A. 1960.
- [3]. Investigación y Ciencia, 151, 84-92. 1989
- [4] J.M. Barea, Micorrizas vesículo-arbusculares, Microbiología, Manuales Universitarios, Universidad de Sevilla, Sevilla (España), 1990.