

ZELAWSKI W. i GÓRAL I.

## GAZOWY ANALIZATOR (I R) W BADANIACH Z ZAKRESU FIZJOLOGII I EKOLOGII ROŚLIN

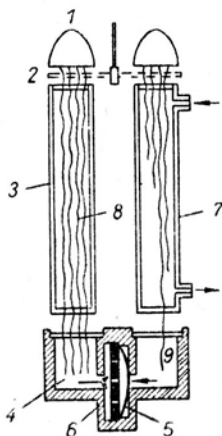
W ciągu ostatnich kilkunastu lat, w badaniach wymiany gazowej roślin znalazła szerokie zastosowanie metoda analizy zawartości CO<sub>2</sub> lub pary wodnej, oparta na pomiarze absorpcji promieni podczerwonych. W pracowniach fizjologicznych wielu ośrodków zagranicznych metoda ta jest powszechnie stosowana do badań fotosyntezy, oddychania oraz transpiracji. Również w badaniach ekologicznych, prowadzonych w warunkach polowych wypiera ona coraz częściej mniej dokładne i bardziej pracochłonne metody.

W Polsce analizatory oparte na tej zasadzie były do niedawna stosowane wyłącznie w przemyśle (do oznaczania CO, SO<sub>2</sub> i innych gazów), w górnictwie (w systemach alarmujących pojawienie się metanu) oraz w medycynie (do pomiarów oddychania).

Analizatory typu URAS (Ultra-Rot-Absorptions-Schreiber) lub IRGA (Infra-red-gas-analyser), pozwalające mierzyć stężenia CO<sub>2</sub> w granicach jego normalnej zawartości w powietrzu, nie znalazły u nas dotychczas szerszego zastosowania. Wobec wielu zalet tej metody — w szczególności jej czułości, szybkości pomiaru, możliwości stosowania automatycznego zapisu i prawie jednoczesnego pomiaru na kilku obiektach — warto omówić niektóre szczegóły związane z budową, obsługą i kalibracją gazowego analizatora (I R).

Zasada pomiaru (rys. 1) polega na tym, że gazy zbudowane z dwóch lub więcej różnych atomów wykazują silne pochłanianie promieniowania długofalowego w zakresie od 2 do 15  $\mu$ . W aparaturze znajdują się dwie kiuwety, z których jedna jest «zerowa» i nie zawiera oznaczonego składnika, natomiast przez drugą przepływa strumień badanego gazu. Osłabienie promieniowania przechodzącego przez kiuwetę roboczą podlega prawu Lamberta-Beera. Znajdujący się poniżej obu kiuwet odbiornik promieniowania wypełniony jest mieszkanką zawierającą gaz, do oznaczania którego przyrząd jest przystosowany (np. 10% CO<sub>2</sub>). Odbiornik zbudowany jest z dwóch jednakowych komór, przedzielonych kondensatorem membranowym. Wskutek tego, że pomiędzy źródłem promieniowania i okienkami kiuwet znajduje się przysłona obracająca się z określoną częstotliwością, gaz w komorach odbiornika promieniowania rytmicznie nagrzewa się i zmienia swą objętość. Jeżeli stężenie badanego gazu w obu kiuwetach jest jednakowe, wówczas kondensator membra-

nowy nie wykonuje żadnych drgań. Natomiast zmiany stężenia badanego gazu w kiuwecie roboczej powodują drgania membrany kondensatora — tym większe im większa jest różnica stężeń w obu kiuwetach. Drgania te są źródłem zmian napięcia zmiennego, dającego się przekazać przy pomocy odpowiedniego wzmacniacza na galwanometr i rejestrator.

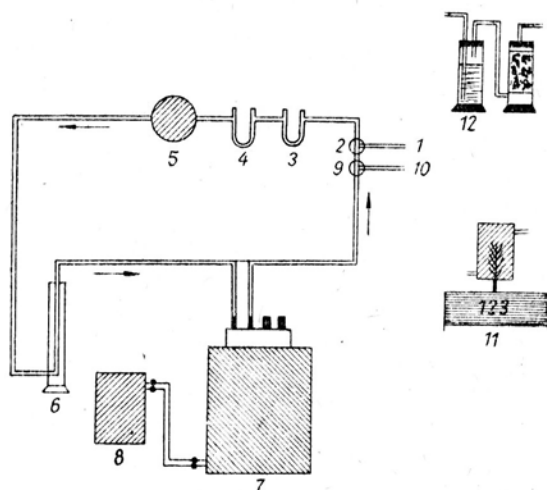


Rys. 1. Zasada analizatora gazowego-IR (wg instrukcji aparatu «InfraIry»). 1) Źródła promieniowania podczerwonego, 2) Przysłona wirująca, 3) Kiuweta porównawcza, pozbawiona badanego gazu, 4) Odbiornik promieniowania podczerwonego wypełniony badanym gazem, 5) i 6) Kondensator membranowy, 7) Kiuweta pomiarowa, przez którą przepływa badany gaz, 8) Wiązka promieni podczerwonych

Najczęściej stosowane analizatory do badań wymiany gazowej roślin umożliwiają pomiar stężeń dwutlenku węgla w zakresie od 0,00 do 0,05 lub do 0,1 % objętościowego  $\text{CO}_2$ . Odpowiednio przystosowany analizator gazowy może być również użyty do badania transpiracji. Pomiar zawartości pary wodnej w powietrzu odbywa się na tej samej zasadzie; różnica polega na tym, że odbiornik promieniowania napełniony jest nie 10%  $\text{CO}_2$ , lecz gazowym amoniakiem. Maksimum pochłaniania promieni podczerwonych przez amoniak w stanie gazowym jest bardzo zbliżone do maksimum pochłaniania pary wodnej, a zastosowanie amoniaku pozwala uniknąć zjawiska kondensacji. Przy stosowaniu analizatorów do pomiarów transpiracji należy zabezpieczyć przewody doprowadzające powietrze do kiuwety pomiarowej w taki sposób, aby uniemożliwić skraplanie pary wodnej na chłodniejszych odcinkach układu.

Z analizatorami omawianego typu można pracować w układzie zamkniętym lub otwartym. Pomiar w układzie zamkniętym polega na tym, że powietrze krążące pomiędzy aparatem a kamerą doświadczalną nie kontaktuje się z atmosferą zewnętrzną, a badany obiekt w wyniku fotosyntezy lub oddychania zmienia pierwotną koncentrację  $\text{CO}_2$ . Jeżeli aparat jest dokładnie wykalibrowany, to można ściśle ustalić czas potrzebny w danych warunkach doświadczalnych do zasymilowania

lub wydzielenia określonej ilości  $\text{CO}_2$ . System ten można stosować również wtedy, gdy absolutne wartości koncentracji nie są znane, a problem eksperymentalny pozwala na posługiwanie się wskaźnikami względnymi. Zaletą systemu zamkniętego jest jego duża dokładność (przebieg fotosyntezy i oddychania można tutaj mierzyć w czasie bardzo krótkich, kilkudziesięciosekundowych ekspozycji), natomiast wadą jest ciągła zmiana koncentracji  $\text{CO}_2$  w czasie doświadczenia. W pomiarach intensywności fotosyntezy zmiana koncentracji dwutlenku węgla w atmosferze może mieć niekiedy istotne znaczenie wobec faktu, że poziom wysycenia tego procesu znajduje się na ogół przy wyższych stężeniach  $\text{CO}_2$  niż jego normalna zawartość w powietrzu (0,03% obj.). Dlatego przy pomiarach w układzie zamkniętym nie jest wskazane mierzenie ubytku  $\text{CO}_2$  w określonym czasie, lecz raczej pomiar czasu



Rys. 2. Schemat pracy analizatora w układzie zamkniętym (oryg.). 1) Wlot powietrza z kamery doświadczalnej, lub z układu do «zerowania». 2) Kran trójdrożny, 3) U-rurka z chlorkiem cynku, 4) U-rurka z nadchloranem magnezu, 5) Pompa membranowa, 6) Rotametr lub inny wskaźnik szybkości przepływu powietrza, 7) Analizator, 8) Rejestrator, 9) Kran trójdrożny, 10) Wylot do kamery doświadczalnej, 11) Kamera doświadczalna z rośliną, 12) Układ do «zerowania» złożony z pochłaniacza  $\text{CO}_2$  i pary wodnej

potrzebnego do zmiany koncentracji  $\text{CO}_2$  w określonych granicach. Lepiej gdy granice te nieznacznie odbiegają od naturalnego stężenia  $\text{CO}_2$  w powietrzu (np. zakres od 350—250 ppm). System zamknięty jest bardzo przydatny gdy chodzi o badanie zależności fotosyntezy od stężenia  $\text{CO}_2$  i ustalenie punktu kompensacji, tj. tego granicznego stężenia  $\text{CO}_2$ , przy którym fotosynteza równa się oddychaniu.

Schemat doświadczalnego układu w przypadku stosowania systemu zamkniętego przedstawia rys. 2.

Do obliczenia intensywności fotosyntezy lub oddychania przy pomiarach w układzie zamkniętym potrzebna jest znajomość objętości układu i wartości jednej

działki skali (w mg CO<sub>2</sub>). Intensywność procesu wyraża się wówczas wzorem

$$i = \frac{st_p - st_k}{t} \times k, \text{ gdzie:}$$

$i$  — intensywność procesu w mg CO<sub>2</sub>/min.

$st_p$  — stężenie początkowe CO<sub>2</sub> w działkach skali

$st_k$  — stężenie końcowe CO<sub>2</sub> w działkach skali

$t$  — czas ekspozycji w minutach

$k$  — wartość jednej działki skali w mg CO<sub>2</sub> (zależnie od objętości układu)

Układ otwarty polega na przemiennym włączeniu do analizatora powietrza kontrolnego (zewnętrznego) i powietrza, które przechodzi przez komorę z badanym obiektem roślinnym. W tym przypadku intensywność procesu oblicza się z różnicy między stężeniem CO<sub>2</sub> w powietrzu kontrolnym i badanym. Do obliczenia ilości pochłoniętego lub wydzielonego CO<sub>2</sub> potrzebna jest dokładna znajomość szybkości przepływu powietrza w układzie. Obliczenie przeprowadza się wg następującego wzoru:

$$i = K(st_{pow.} - st_{bad.})$$

gdzie:  $i$  — intensywność procesu w mg CO<sub>2</sub>/min.

$K$  — wartość 1 działki skali (zależnie od szybkości przepływu powietrza) w mg CO<sub>2</sub>/min.

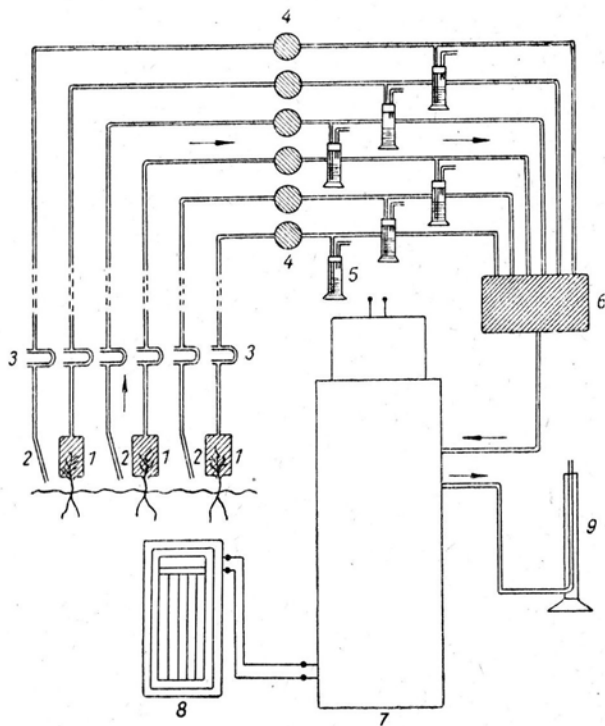
$st_{pow.}$  — stężenie CO<sub>2</sub> w powietrzu kontrolnym w działkach skali

$st_{bad.}$  — stężenie CO<sub>2</sub> w powietrzu badanym w działkach skali

Układ otwarty posiada wiele zalet w porównaniu z układem zamkniętym. Przede wszystkim jeżeli wielkość obiektu jest właściwie dobrana, to nie dopuszcza się do nadmiernego obniżenia koncentracji CO<sub>2</sub> w kamerze, przez co warunki doświadczenia są bardziej zbliżone do naturalnych. Dopływ stale świeżego powietrza nie podlegającego nadmiernemu wysuszeniu — jak to może mieć miejsce w układzie zamkniętym — stwarza również bardziej normalne warunki. Poza tym przy układzie otwartym można w pełni wykorzystać możliwość samorejestracji w tych przypadkach, gdy chodzi o pomiary ciągle zmian intensywności procesów. Do pełnej automatyzacji zapisu wymiany gazowej służą rejestratory sprzężone z zegarowym przełącznikiem kanałów, pozwalające wykonywać w tym samym czasie pomiary z kilku kamer doświadczalnych. Zwykle stosuje się 6-kanałowe przełączniki gazów, przy których 1, 2 lub 3 kanały służą do przeprowadzania powietrza kontrolnego, pozostałe zaś połączone są z kamerami doświadczalnymi. Jeżeli przełączenie kanału odbywa się co minutę, to rejestrator zapisuje punkt pomiarowy dla każdego źródła badanego gazu w odstępach co 6 minut. Schemat takiego urządzenia przedstawia rys. 3.

Odmianą systemu otwartego jest system dyferencjalny, którego zasada polega na tym, że rezygnuje się z kiuwety «zerowej» (rys. 1) i używa się jej do jednoczesnego przepuszczania powietrza kontrolnego. W tym przypadku wskazania przyrządu

i zapis rejestratora podają od razu różnicę koncentracji  $\text{CO}_2$  w powietrzu kontrolnym i badanym, przez co można znacznie podwyższyć dokładność odczytu przyrządu, zwiększając odpowiednio jego czułość. Warunkiem prawidłowej pracy takiego analizatora jest bardzo równomierny przepływ gazu przez obie kiuwety. Wskutek ciągłych wahań stężenia  $\text{CO}_2$  w powietrzu zewnętrznym nierównoczesność przepływu powietrza przez obie kiuwety prowadzi do dużych wahań wartości pomiarowych.

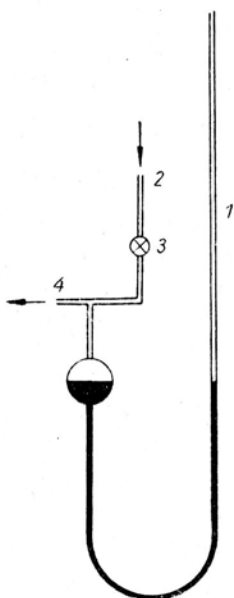


Rys. 3. Schemat pracy analizatora w układzie otwartym (wg Tranquilliniego). 1) Kamery doświadczalne z roślinami, 2) Wloty powietrza kontrolnego (zewnętrznego), 3) U-rurki z pochłaniaczem pary wodnej, 4) Pompy membranowe, 5) Bezpieczniki płynowe, przez które płynie powietrze, gdy zawór do analizatora jest zamknięty, 6) 6-kanalowy przełącznik gazu, 7) Analizator, 8) Rejestrator, 9) Miernik szybkości przepływu gazu (rotametr)

Poważną wadę systemu dyferencjalnego stanowi to, że podaje on zawsze wartość różnicy stężenia w obu kiuwetach, niezależnie od tego czy różnica ta ma wartość dodatnią czy ujemną. Może się zatem zdarzyć, że w pewnych warunkach doświadczalnych (np. w pobliżu kompensacji świetlnej) trudno będzie odróżnić, czy zmierzona wartość różnicy pochodzi z oddychania czy fotosyntezy.

We wszystkich trzech systemach analizy absorpcyjnej konieczne jest utrzymanie pełnej hermetyczności układu. Wszelkie, nawet najdrobniejsze nieszczelności mogą powodować duże błędy pomiaru. Nie można stosować połączeń gumowych. Przewody plastikowe trzeba sprawdzić przed ich włączeniem i upewnić się, czy nie po-

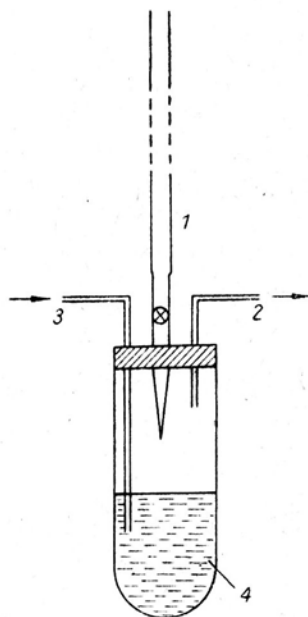
siadają zdolności adsorpcyjnych oraz czy nie przepuszczają  $\text{CO}_2$ . Najlepiej stosować tam — gdzie to możliwe — rurki szklane, przy czym zwracać należy uwagę, aby w układzie nie tworzyły się martwe przestrzenie (zacisza), w których wymiana powietrza nie jest całkowita. Do sprawdzenia szczelności układu nadaje się proste urządzenie manometryczne (rys. 4), które można łatwo włączać w układ przed rozpoczęciem pomiarów. Zwrócić jednak należy uwagę, że większość analizatorów posiada kiuwety z przyklejonymi okienkami mikowymi, wobec czego stosowanie ciśnień większych jak 600 mm słupa wody może być dla nich niebezpieczne.



Rys. 4. Urządzenie manometryczne do pomiaru szczelności i do kalibracji objętości układu. 1. Rurka manometryczna z podziałką, 2) Wlot, przez który pompuje się powietrze do około 60 cm słupa wody, 3) Kran trójdrożny, 4) Połączenie do układu

Dość poważnym problemem pracy z analizatorami gazów jest wysuszenie powietrza przed jego wejściem do kiuwety pomiarowej. Konieczność wysuszenia wynika stąd, że zakres pochłaniania podczerwieni przez dwutlenek węgla i parę wodną częściowo pokrywa się, przez co niewielkie nawet ilości pary wodnej w powietrzu mogą zniekształcać wyniki pomiaru. W różnych pracowniach stosuje się różne środki osuszające, przy czym nie ma dotychczas jednolitego poglądu, który z nich jest lepszy. Niektóre wykazują pewną adsorpcję  $\text{CO}_2$  i z tego powodu są przyczyną błędów pomiarowych, inne pochłaniają wodę zbyt powoli — co jest uciążliwe przy badaniu roślin silnie transpirujących, jeszcze inne w miarę uwodnienia zeszkorupiają się, powodując trudności przepływu powietrza w układzie. Najczęściej stosowane to: żel krzemionkowy, chlorek wapnia, chlorek cynku, kwas siarkowy, nadchloran magnezu; kwas siarkowy w urządzeniu pozwalającym na

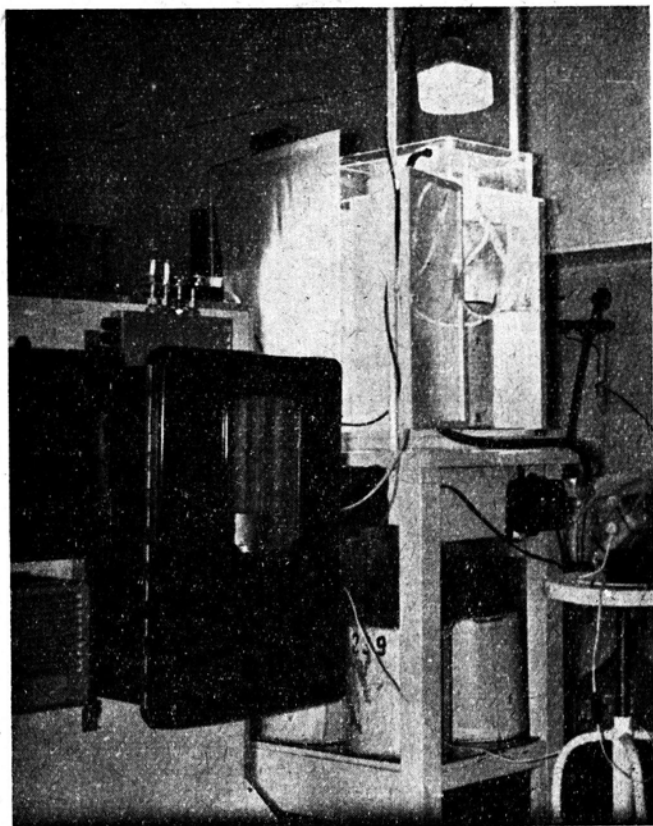
jego ciągle odnawianie jest wg danych Nielsena i Madsena (1963) najwłaściwszym środkiem osuszającym, jednak praca z nim jest kłopotliwa a wydzielające się pary tlenku siarki mogą być szkodliwe dla analizatora przy dłuższej jego eksploatacji. Żel krzemionkowy wolno pochłania wodę a jednocześnie wykazuje pewną absorpcję  $\text{CO}_2$ . Z naszych doświadczeń wydaje się, że najbardziej właściwym pochłaniaczem jest układ dwóch U-rurek, wypełnionych kolejno bezwodnym chlorkiem cynku i nadchloranem magnezu. Pochłaniacze należy często zmieniać, zależnie od stopnia ich zużycia.



Rys. 5. Urządzenie do ilościowego wydzielenia  $\text{CO}_2$ . 1) Biureta z mianowanym roztworem węglanu, 2) i 3) Wlot i wylot połączone z układem zamkniętym, 4) Kwas siarkowy rozcieńczony 1:1

Kalibracja analizatora nastęrcza na ogół dość znaczne trudności. W wielu laboratoriach używa się do tego celu fabrycznie przygotowanych mieszanek gazów wzorcowych o ściśle określonych koncentracjach  $\text{CO}_2$ . Pomijając koszt i trudności otrzymania takich mieszanin należy zwrócić uwagę na fakt, że przechowywane w butlach stalowych zmieniają po pewnym czasie swój skład. Dlatego, jeśli praca wymaga ustalenia danych absolutnych, oparcie się na wzorcach przygotowanych fabrycznie nie jest godne zalecenia. Lepiej jest przeprowadzić kalibrację we własnym zakresie, co wprawdzie jest dosyć kłopotliwe, jednak znacznie pewniejsze.

Do wykalibrowania układu potrzebna jest przede wszystkim znajomość jego wewnętrznej objętości. Ze względu na skomplikowaną drogę strumienia gazu przez wszystkie elementy analizatora (pompa, rotometr, pochłaniacze, krany, kiuwety) pomiar bezpośredni jest prawie niemożliwy, gdyż obciążony byłby dużym błędem.



Rys. 6. Widok z przodu analizatora gazowego IR i układu oświetleniowego w pracowni fizjologicznej Katedry Ogólnej Hodowli Lasu SGGW w Warszawie

W niektórych laboratoriach stosuje się pomiar objętości przez włączenie do układu zamkniętego naczynia o znanej objętości i określonej, choć dowolnej koncentracji  $\text{CO}_2$ . Jeżeli pozostałe części układu (o nieznannej objętości) posiadają również określoną koncentrację  $\text{CO}_2$  (niższą lub wyższą od pierwszej), to przez zmieszanie powietrza obu układów otrzyma się koncentrację wypadkową, według której łatwo obliczyć objętość układu.

$$x = A \frac{st_w - st_A}{st_x - st_w}$$

gdzie:  $x$  — objętość układu

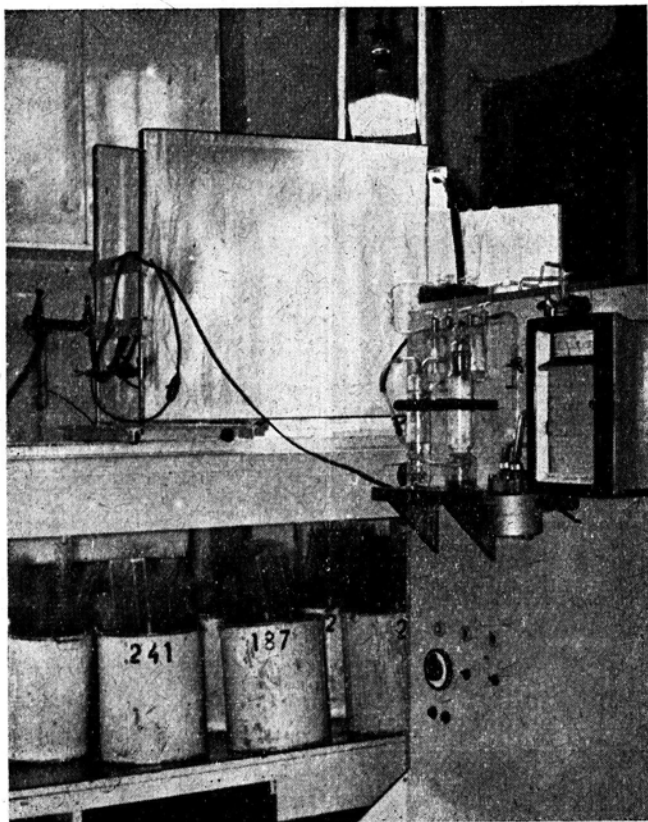
$A$  — objętość dodatkowa włączona do układu

$st_A$  — stężenie  $\text{CO}_2$  w objętości  $A$

$st_x$  — stężenie  $\text{CO}_2$  w układzie o objętości  $x$

$st_w$  — stężenie  $\text{CO}_2$  — wypadkowe





Rys. 7. Widok z tyłu analizatora gazowego-IR i układu oświetleniowego w pracowni fizjologicznej Katedry Ogólnej Hodowli Lasu SGGW w Warszawie

Taki pomiar objętości układu — chociaż teoretycznie uzasadniony — napotyka jednak w praktyce na poważne trudności wskutek tego, że ukrycie kranów trójdrożnych jest tutaj nieuniknione, a to pociąga za sobą dodatkową możliwość nieuszczelnności układu, nierównomierności przepływu powietrza i trudności dokładnego i szybkiego wymieszania się obu stężeń w układzie.

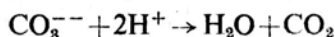
Lepsze rezultaty uzyskuje się na drodze manometrycznej. Wprowadza się do układu pewien nadmiar powietrza, mierzy się ciśnienie barometryczne i ciśnienie w układzie (manometrem wodnym), a następnie nadmiar powietrza wypuszcza się z układu ilościowo do kiuwety pomiarowej. Stosunek ciśnienia dodatkowego do ciśnienia barometrycznego jest taki sam jak stosunek zmierzonej objętości powietrza dodatkowego w układzie do niewiadomej objętości układu. Taki sposób pomiaru pozwala ustalić objętość układu z dokładnością do około 0,1%. Posiada on jeszcze tę zaletę, że jego dokładność można w każdej chwili sprawdzić na dowolnym układzie o znanej objętości.

Rozumie się samo przez się, że dołączenie do układu dodatkowych elementów w czasie przeprowadzania doświadczeń (kamery pomiarowe, przewody) wymaga uwzględnienia ich objętości w obliczeniach.

Ustawianie punktu zerowego nie jest kłopotliwe, jeśli posiada się azot lub powietrze pozbawione CO<sub>2</sub>. Gazy techniczne często jednak nie odpowiadają temu warunkowi. Wówczas lepiej zastosować układ z płuczką zawierającą 20% KOH i dodatkową kolumnę do pochłaniania śladów pary wodnej wydobywających się z roztworu ługu. Wielokrotne przepuszczenie powietrza w układzie zamkniętym przez ten system oczyszczający pozwala zbliżyć się do wartości zerowej i ustawić strzałkę wskaźnika w najniższym położeniu.

Kalibrację wartości poszczególnych punktów skali przeprowadza się wydzielając kwasem siarkowym ilościowo CO<sub>2</sub> z mianowanego roztworu Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. W tym celu należy podłączyć do układu naczynie z kwasem siarkowym i biuretą (rys. 5).

Wyprażony w temperaturze 270° Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> lub NaHCO<sub>3</sub> rozpuszcza się w świeżo przegotowanej wodzie podwójnie destylowanej i wprowadza do biurety w taki sposób, aby uniknąć rozpuszczania się w nim CO<sub>2</sub> z powietrza. Następnie usuwa się z układu CO<sub>2</sub> przez przepuszczenie powietrza przez płuczkę z KOH. Po odłączeniu płuczki wkrapla się mianowany roztwór węglanu do roztworu kwasu siarkowego (rozcieńczonego wodą w stosunku 1:1). Zachodzi wówczas reakcja



W tych warunkach, wobec nadmiaru H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> reakcja zachodzi ilościowo, a znając objętość układu można wyliczyć, jakie stężenie osiągnie się po dodaniu kolejnych objętości roztworu węglanu.

Układ poszczególnych elementów analizatora zależy od konkretnych zadań eksperymentalnych i możliwości lokalowych pracowni. W niektórych pracowniach montuje się analizator na stałe, w innych na ruchomych postumentach lub wózkach (rys. 6), pozwalających przenieść przyrząd do innego pomieszczenia. Polster w NRD posiada możliwość montowania analizatora na przyczepie samochodowej lub w specjalnie dostosowanym do badań terenowych mikrobusie. W pracowni Polstera i w innych niemieckich zakładach naukowych stosuje się dwa analizatory sprzężone, które pozwalają jednocześnie badać fotosyntezę (lub oddychanie) i transpirację. Krotkow w Kanadzie włącza w układ zamknięty licznik Geigera-Müllera, co pozwala na jednoczesny pomiar zawartości C<sup>14</sup>O<sub>2</sub> i ogólnej ilości dwutlenku węgla. Klesznin (ZSRR) proponuje urządzenie automatycznie regulujące stały poziom koncentracji CO<sub>2</sub> w układzie zamkniętym.

Możliwość zastosowania gazowego analizatora IR do badań w różnych warunkach doświadczalnych, jego dokładność i szybkość odczytu powodują, że przyrząd ten stopniowo staje się jednym z ważniejszych elementów podstawowego wyposażenia pracowni zajmujących się fizjologią i ekologią roślin.

## LITERATURA

- Huber B., 1950. Registrierung des  $\text{CO}_2$ -Gefälles und Berechnung des  $\text{CO}_2$ -Stromes über Pflanzengesellschaften, mittels Ultrarotabsorptionsschreiber. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 63, 53—63.
- Lister G. R., Krotkov G., Nelson C. A., 1961. A closed-circuit apparatus with an infrared  $\text{CO}_2$  analyser and a Geiger tube, for continuons measurements of  $\text{CO}_2$  exchange in photosynthesis and respiration. Can. J. Botany 39, 581—591.
- Nielsen G., Madsen A., 1964. An apparatus designed for drying of streaming air. Scand. Journ. Clinical and Laboratory Investigation 16, 115—118.
- Polster H., Fuchs S., 1960. Der Einfluss intermittierender Belichtung auf die Transpiration und Assimilation von Fichte und Lärche bei Dürrebelastung. Biol. Zbl. 79, 465.
- Polster H., Weise G., Neuwirth G., 1961. Fortschritte in der Verwendung von URAS-Geräten zu Laboratoriums — und Freiland-messungen des  $\text{CO}_2$ -Stoffwechsels und der Transpiration. Biol. Beitr. 1, 105.
- Roźdestwenskij W. J., Czułkin W. G., Klesznin A. F., 1965. Awtomaticzeskoje poddierzanie postojanogo diapazona koncentracji  $\text{CO}_2$  w ustanowkach dla izuczenia fotosinteza rastienij. Fizjologia rastienij 12, 178—181.
- Tranquilini W., 1952. Der Ultrarot-Absorptionsschreiber im Dienste ökologischer Messungen des pflanzlichen  $\text{CO}_2$ -Umsatzes. Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 65, 102.