

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

SÉRGIO PAMPLONA SCHUBERT

**DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CLOROFILA:
PROJETO ELETRÔNICO E VALIDAÇÃO DE MODELO
MATEMÁTICO APLICADO A PIMENTA *CAPSICUM CHINENSE*.**

CAMPO MOURÃO

2021

SÉRGIO PAMPLONA SCHUBERT

**DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CLOROFILA:
PROJETO ELETRÔNICO E VALIDAÇÃO DE MODELO
MATEMÁTICO APLICADO A PIMENTA *CAPSICUM CHINENSE*.**

**Determination of the chlorophyll concentration: electronic design and
validation of mathematical model applied to pepper *Capsicum chinense*.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Eletrônica, do Departamento Acadêmico de Engenharia Eletrônica, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Prof. Me. Lucas Ricken Garcia

CAMPO MOURÃO

2021

SÉRGIO PAMPLONA SCHUBERT

**DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CLOROFILA: PROJETO
ELETRÔNICO E VALIDAÇÃO DE MODELO MATEMÁTICO APLICADO A
PIMENTA *CAPSICUM CHINENSE***

Trabalho de conclusão de curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título
de Bacharel em Engenharia Eletrônica da
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
(UTFPR).

Data de aprovação: 14/maio/2021

Eduardo Giometti Bertogna
Doutorado em Engenharia Elétrica
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Paulo Denis Garcez da Luz
Doutorado em Engenharia Elétrica
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Lucas Ricken Garcia
Mestrado em Engenharia Elétrica e Informática Industrial
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

CAMPO MOURÃO

2021

AGRADECIMENTOS

Certamente estes parágrafos não irão atender a todas as pessoas que fizeram parte dessa importante fase de minha vida. Portanto, desde já peço desculpas àquelas que não estão presentes entre essas palavras, mas elas podem estar certas que fazem parte do meu pensamento e de minha gratidão.

Agradeço ao meu orientador Prof. Me. Lucas Ricken Garcia pela maestria, sabedoria e paciência com que me guiou nesta trajetória.

A Me. Thaysa Moya que com muita prontidão auxiliou a realização de análises laboratoriais.

Ao Lucas Peres que contribuiu com seus conhecimentos em projetos mecânicos.

A Coordenação do Curso, pela prontidão e disposição para auxiliar com dúvidas e orientações.

Gostaria de deixar registrado também, o meu reconhecimento à minha família, pois acredito que sem o apoio deles seria muito difícil vencer esse desafio.

Também agradeço a Hellen F. Paulino, que acompanhou essa jornada e esteve presente apoiando e incentivando.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa

RESUMO

O clorofilômetro é um importante equipamento eletrônico utilizado para obter o teor de clorofila, essa informação é importante para profissionais da área agrícola, pois com o teor de clorofila é possível obter uma estimativa da quantidade de adubo nitrogenado é necessário para aplicar na plantação. Apesar de existirem diversos estudos validando a utilização do clorofilômetro, é difícil encontrar estudos que apresentam informações específicas sobre seu desenvolvimento, onde, uma importante etapa a ser considerada para sua construção é o processamento do sinal obtido na entrada do sistema. Dessa forma, foi desenvolvido um equipamento capaz realizar a aquisição e o processamento dos sinais no sistema de entrada, obtendo a concentração de clorofila, de forma não invasiva, em uma amostra de folha de pimenta biquinho (*Capsicum chinense*), apenas inserindo a folha entre o instrumento de leitura do equipamento. Foram realizados testes laboratoriais para utilizar como referencial comparativo com os resultados obtidos através do equipamento desenvolvido neste trabalho (clorofilômetro).

Palavras-chave: Clorofilômetro; Processamento do sinal; Concentração de Clorofila.

ABSTRACT

The chlorophyll meter is an important electronic equipment used to obtain the chlorophyll content, this information is important for professionals in the agricultural area, because with the chlorophyll content it is possible to obtain an estimate of the amount of nitrogen fertilizer it is necessary to apply in the plantation. Although there are several studies validating the use of the chlorophyll meter, it is difficult to find studies that present specific information about its development, where an important step to be considered for its construction is the processing of the signal obtained at the entrance of the system. In this way, an equipment capable of acquiring and processing the signals in the input system was developed, obtaining the chlorophyll concentration, non-invasively, in a sample of the puffed pepper leaf (*Capsicum chinense*), only inserting the sheet between the instrument's reading instrument. Laboratory tests were performed to use as a comparative reference with the results obtained through the equipment developed in this work (chlorophyll meter).

Keywords: Chlorophyllometer; Signal processing; Chlorophyll concentration.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Absorbância da clorofila em relação aos comprimentos de onda da luz	17
Figura 2 – Espectrofotômetro, para análise de absorbância	18
Figura 3 – Clorofilômetro SPAD-502	19
Figura 4 – Diagrama do sistema básico de um clorofilômetro	20
Figura 5 – Curva de um LED com comprimento de onda de 655 nm	21
Figura 6 – Diagrama de Blocos do Sistema	23
Figura 7 – Diagrama de esquemático do <i>hardware</i>	24
Figura 8 – Sensibilidade espectral Relativa x Comprimento de Onda	25
Figura 9 – Topologia utilizada para o circuito amplificador	25
Figura 10 – Fluxograma básico do firmware	28
Figura 11 – Fluxograma da leitura dos valores de referência	28
Figura 12 – Fluxograma da interrupção	29
Figura 13 – Saída V_o do circuito amplificador de transimpedância	30
Figura 14 – Fluxograma da rotina de leitura do canal ADC	30
Figura 15 – Instrumento de leitura com visão dos LEDs	31
Figura 16 – Instrumento de leitura com visão do fotodiodo e da chave táctil	31
Figura 17 – Instrumento de leitura com visão interna	32
Figura 18 – Etapas do processo de validação de resultados	33
Figura 19 – PCB e Instrumento de leitura	36
Figura 20 – PCB confeccionada	37
Figura 21 – Instrumento de leitura	37
Figura 22 – Folhas utilizadas para as análises e as regiões de análise	38
Figura 23 – Análise com clorofilômetro	38
Figura 24 – Cubetas com as amostras extraídas da folha	39
Figura 25 – Cubetas com as amostras após a incubação	39
Figura 26 – Comparação de métodos por região - Folha 1	41
Figura 27 – Comparação de métodos por região - Folha 2	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados Gerais das Análises	40
Tabela 2 – Comparativo da análise por região	40
Tabela 3 – Comparativo da análise por folha	41

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

SIGLAS

3D	Tridimensional
ABS	Acrilonitrila Butadieno Estireno
A/D	<i>Analogic / Digital</i>
ADC	<i>Analog Digital Converter</i>
ATP	Trifosfato de Adenosina
CCI	<i>Chlorophyll content index</i>
Chl a	Clorofila <i>a</i>
Chl b	Clorofila <i>b</i>
DC	<i>Direct Current</i>
DMSO	Dimetilsulfóxido
I2C	<i>Inter-Integrated Circuit</i>
ISN	Índice de Suficiência de Nitrogênio
LED	<i>Light Emitting Diode</i>
NADH	Dinucleotídeo de Nicotinamida e Adenina Reduzido
NADPH	Fosfato de Dinucleotídeo de Adenina e Nicotinamida
PCB	<i>Printed Circuit Board</i>
PPGTA	Programa de Pós Graduação de Tecnologia de Alimentos
SPAD	<i>Soil Plant Analysis Development</i>
SPI	<i>Serial Peripheral Interface</i>
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	OBJETIVO GERAL	12
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
1.3	JUSTIFICATIVA	12
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1	CLOROFILA	15
2.2	ABSORÇÃO DE LUZ PELA CLOROFILA	15
2.3	RELAÇÃO DA CLOROFILA PARA INDICAR NÍVEIS DE NITRO- GÊNIO	16
2.4	ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO E DO TEOR DE CLOROFILA . .	18
2.5	FUNCIONAMENTO DE UM CLOROFILÔMETRO	19
2.6	DESENVOLVIMENTO DE UM CLOROFILÔMETRO	20
3	METODOLOGIA	23
3.1	DESENVOLVIMENTO DO <i>HARDWARE</i>	23
3.2	DESENVOLVIMENTO DO <i>FIRMWARE</i>	27
3.3	PROTOTIPAÇÃO	31
3.4	MODELAMENTO MATEMÁTICO	32
3.5	VALIDAÇÃO DO MODELAMENTO MATEMÁTICO	33
3.5.1	LEITURA DA FOLHA COM O CLOROFILÔMETRO	33
3.5.2	ANÁLISE DE ABSORBÂNCIA COM O ESPECTROFOTÔMETRO	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1	PROTOTIPAÇÃO	36
4.2	ANÁLISES	36
5	CONCLUSÃO	42
	REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

As clorofilas, são pigmentos encontrados nos cloroplastos de todos os vegetais verdes. Elas desempenham um importante papel no processo fotossintético, que está ligado a diversos fatores determinantes para a fisiologia dos vegetais, como por exemplo, o crescimento e adaptabilidade em diversos ambientes (ENGEL; POGGIANI, 1991).

Além do fato das clorofilas estarem relacionadas ao crescimento dos vegetais, é possível relacionar as clorofilas com fatores nutricionais. Isso ocorre, pelo fato do nitrogênio que é um importante nutriente para os vegetais, estar em sua maioria concentrado nos cloroplastos, mesmo local onde as clorofilas são sintetizadas (TAIZ; ZEIGER, 2004). Desse modo, as clorofilas se relacionam positivamente com o nitrogênio (JUNIOS *et al.*, 1996). Por isso, a análise de clorofila é utilizada para verificar status de nitrogênio em algumas plantas, como o milho, soja, trigo e feijão. O status de nitrogênio indica se há deficit ou não desse nutriente na planta de interesse. Ele pode ser expresso de varias formas, isso irá depender do profissional que está realizando a análise. (ARGENTA *et al.*, 2001; VIANA, 2007; ENGEL; POGGIANI, 1991). Analisar diretamente o nitrogênio é uma tarefa complicada porém essencial quando é desejável realizar a adubação nitrogenada em uma plantação, essa análise pode ser simplificada realizando uma análise indireta do nitrogênio através da determinação do teor de clorofila no cultivo. (ARGENTA *et al.*, 2001). Esse processo ocorre na maioria das grandes plantações e lavouras. O aprimoramento do método utilizado para essa análise resulta em melhor precisão na utilização do adubo nitrogenado e melhor rendimento na colheita da plantação (AMADO *et al.*, 2002).

As clorofilas não absorvem totalmente a luz, elas são sensíveis apenas a luz vermelha e azul, as outras faixas de luz são parcialmente ou totalmente refletidas pelas plantas. Isso explica o motivo dos vegetais clorofilados apresentarem uma coloração esverdeada (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Os equipamentos que determinam a concentração de clorofila, realizam uma análise sobre a quantidade de luz absorvida pela planta nas regiões de onda onde a clorofila possui sensibilidade a luz. Os procedimentos para essa análise são classificados de duas maneiras: invasivo e não invasivo.

O método invasivo, é realizado em laboratório através de um espectrofotômetro e para ser realizado é necessário o recolhimento de uma amostra de folha, o que é invasivo a planta (RICHARDSON *et al.*, 2002).

O método não invasivo, surgiu através do desenvolvimento de analisadores de clorofila portáteis, que permitiram realizar a análise instantaneamente e diretamente no vegetal de interesse, não havendo a necessidade em extrair uma amostra de folha para a análise (RICHARDSON *et al.*, 2002). Os equipamentos que fazem essa análise são chamados de clorofilômetros, o primeiro a surgir no mercado foi o Minolta SPAD-501 e logo depois foi substituído comercialmente pelo SPAD-502 (*Soil Plant Analysis Development*) desenvolvido no Japão pela *Minota Corporation* (SCHEPERS *et al.*, 2000).

O funcionamento do clorofilômetro é baseado na reflectância e absorbância da luz. Dessa forma, o equipamento é utilizado posicionando uma folha da planta (sem que haja extração dessa folha) entre LEDs (*Light Emitting Diode*) utilizados como emissores de luz e um fotodiodo para realizar a aquisição do sinal da luz que é refletida ou absorvida na folha, assim, um microprocessador que possui um algoritmo para realizar o processamento dos sinais, obtém o teor de clorofila expresso em um índice relativo que varia de acordo com o fabricante do clorofilômetro (SPECTRUM TECHNOLOGIES INC., 2009).

A grande dificuldade no desenvolvimento de um clorofilômetro, é relacionar o sinal elétrico captado pelos fotodiodos com os níveis de clorofila na folha, os desenvolvedores mantêm esse processo sobre patente e não o divulgam por motivos comerciais.

Além disso, outra grande dificuldade encontrada no desenvolvimento desse equipamento, é referente a seu resultado ser expresso em um índice relativo a transmitância de luz na folha. Ou seja, a maioria dos clorofilômetros não conseguem expressar os valores absolutos de clorofila presentes na folha. Devido a esse fato os clorofilômetros podem ser considerados menos precisos se comparado ao método invasivo (PARRY *et al.*, 2014).

Portanto, para realizar o desenvolvimento de um clorofilômetro, é necessário estudar e escolher criteriosamente os LEDs e fotodiodos utilizados no equipamento, pois estes componentes estão diretamente ligados a etapa de aquisição do sinal, o que interfere no formato como será realizado o processamento do sinal adquirido. Desse modo, é interessante realizar um estudo que possa desenvolver o modelamento matemático para o processamento dos sinais que são adquiridos na leitura da folha, esse estudo relaciona os LEDs e fotodiodos com o processamento do sinal no clorofilômetro.

1.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um equipamento, bem como sua construção eletrônica, capaz de obter a concentração de clorofila em uma folha de forma não invasiva, ou seja apenas inserindo a folha no equipamento, sem que ela seja extraída de sua planta e isso deverá ocorrer utilizando LEDs e fotodiodos junto com o circuito de amplificação para obter o sinal de interesse. A concentração de clorofila deve ser expressa em $\mu\text{mol}/\text{m}^2$, dessa forma, é importante validar o equipamento e sua relação matemática utilizada, comparando resultados obtidos através de análises com o equipamento desenvolvido neste trabalho (clorofilômetro) com os equipamentos laboratoriais (espectrofotômetro).

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A seguir são apresentados os objetivos específicos deste trabalho, que serão divididos em:

- Desenvolver o circuito de aquisição de sinais.
- Desenvolver o *hardware* do sistema.
- Desenvolver o *firmware* para a aquisição de sinais.
- Determinar o modelamento matemático para o processamento de sinais.
- Obter a concentração de clorofila através do método não invasivo (com o clorofilômetro).
- Realizar análises através do método não invasivo e comparar com os resultados obtidos com o clorofilômetro.

1.3 JUSTIFICATIVA

O clorofilômetro, é um importante equipamento utilizado para análise da clorofila em campo, a quantidade de clorofila apontada por esse equipamento é utilizado para determinar a necessidade de adubação nitrogenada em diversas culturas (ARGENTA *et al.*, 2001). A utilização do clorofilômetro em relação a outros equipamentos e métodos para essa aplicação implicam em algumas vantagens práticas que fazem o procedimento ser relativamente simples, vantagens estas como: realização da análise em campo, maior velocidade de processamento da amostra,

realização do procedimento sem a extração ou destruição da amostra. Essas vantagens na prática geram economia de tempo e recursos financeiros, o que torna o clorofilômetro interessante para o mercado (SILVEIRA *et al.*, 2003) .

Grande parte dos estudos e pesquisas que encontram-se sobre clorofilômetros, apenas apresentam a comparação dos resultados obtidos desses equipamentos com resultados obtidos através de procedimentos já validados e realizados em laboratório. Entretanto, para realizar a construção de um clorofilômetro é preciso compreender como o equipamento correlaciona os sinais de entrada do sistema, para a partir deles, obter a concentração de clorofila na folha da planta analisada. Porém, é difícil encontrar trabalhos que forneçam tais informações, pois geralmente não é interessante para o desenvolvedor divulgar procedimentos que possam auxiliar um concorrente comercial, assim há uma certa carência de artigos que apresentem formas de correlacionar e processar os sinais de entrada do clorofilômetro.

De acordo com o exposto, o desenvolvimento de um clorofilômetro, que obtém como resultado a concentração de clorofila, pode contribuir para o estudo e desenvolvimento de novos equipamentos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Ao longo dos anos, os avanços tecnológicos na agricultura obtiveram grandes resultados, dessa forma, surgindo o conceito de agricultura de precisão. Esse conceito de plantio consiste em realizar um monitoramento local das plantações, gerando dados que auxiliam a melhorar a eficiência e rendimento da lavoura, reduzir impactos ambientais e maximizar os lucros. Pode-se utilizar os dados da agricultura de precisão em diversas aplicações de acordo com a necessidade, como por exemplo, na otimização do uso de insumos agrícolas (SENA JUNIOR *et al.*, 2008).

Os insumos agrícolas são utilizados para influenciar diretamente o rendimento das lavouras, através da nutrição e proteção das plantas. Um importante nutriente estudado a fim de melhorar a produtividade do plantio é o nitrogênio, pois ele está presente em importantes biomoléculas da planta, como NADH (dinucleotídeo de nicotinamida e adenina reduzido), ATP (trifosfato de adenosina) e NADPH (fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida). Portanto, a adubação com nitrogênio é realizada em grande parte das lavouras e plantações comerciais para melhorar a produtividade e o rendimento das mesmas (BREDEMEIER; MUNDSTOCK, 2000).

Existem formas de aumentar a eficiência do uso de adubo nitrogenado por meio da análise do teor de clorofila nas plantas. Essa análise é a forma mais indicada para determinar os níveis de nitrogênio uma vez que analisar diretamente o nitrogênio é um processo complicado e trabalhoso. Já a determinação do teor de clorofila, através de métodos ópticos, é uma alternativa com implementação relativamente simples (ARGENTA *et al.*, 2001).

A clorofila é um ótimo indicador de nitrogênio na planta, por isso seu estudo e determinação se tornou ainda mais relevante (ARGENTA *et al.*, 2001). Existem algumas formas de determinar os níveis de clorofila em uma planta, dentre elas existe a utilização de métodos ópticos não invasivos, que estão se tornando populares a medida que pesquisas validam seus resultados para aplicações em áreas de interesse do mercado agrícola (RICHARDSON *et al.*, 2002).

Como o objetivo deste trabalho é utilizar a leitura dos sinais de absorbância da clorofila, realizado por LEDs e fotodiodos, com a intenção de encontrar uma forma de relacionar a leitura obtida com os níveis de clorofila da planta, para isso é necessário compreender o funcionamento dos métodos ópticos utilizados nessa forma de análise. Em vista disso, para melhorar a compreensão do assunto, antes serão abordados conceitos sobre a clorofila, o nitrogênio e os equipamentos

existentes no mercado que são utilizados para realizar a análise da clorofila.

2.1 CLOROFILA

A clorofila desempenha um papel muito importante para a planta durante o processo de fotossíntese, uma vez que compõe o processo de transformação e aproveitamento energético que ocorre nas plantas. A palavra fotossíntese, significa síntese utilizando a luz. Portanto a luz é um ponto muito importante nesse processo, sendo que a fotossíntese é o único processo biológico conhecido que aproveita a energia luminosa para obter energia química (TAIZ; ZEIGER, 2004). Esse processo é vital para as plantas e ocorre graças a presença de pigmentos capazes de absorverem e conservarem em forma de energia química parte da energia luminosa que incide sobre a planta (SOARES, 2006).

Os principais pigmentos que participam do processo de fotossíntese são as clorofilas, elas realizam o primeiro estágio da fotossíntese chamado de fotoquímica. São encontradas nas folhas das plantas, localizadas nos cloroplastos ou nos cromatóforos, sendo constituídas por compostos de porfirina. Atualmente são conhecidos cerca de 10 tipos diferentes de clorofila, porém apenas dois tipos são encontrados em níveis relevantes nas plantas verdes, a clorofila *a* (Chl *a*) e a clorofila *b* (Chl *b*) (SOARES, 2006). A Chl *a* é o pigmento principal seguido da Chl *b*, a proporção das quantidades que cada uma aparece em uma planta, respectivamente, segue uma relação aproximada de 3:1. Além disso, outra diferença entre as duas clorofilas é o comportamento que apresentam em relação a absorção de luz (STREIT *et al.*, 2005). Também existem as clorofilas *c* e *d*, porém elas aparecem em alguns protistas e cianobactérias (TAIZ; ZEIGER, 2004), fator que as tornam menos relevantes para este estudo.

Em relação a luz, as clorofilas apresentam comportamentos específicos para diferentes faixas de cores da luz (TAIZ; ZEIGER, 2004), para facilitar a compreensão do comportamento da clorofila serão abordados conceitos e propriedades sobre ondas eletromagnéticas.

2.2 ABSORÇÃO DE LUZ PELA CLOROFILA

Uma onda eletromagnética possui duas frentes de onda oscilando perpendicularmente entre si, uma frente de onda é o campo elétrico e a outra frente de onda é o campo magnético. Dessa forma, a onda eletromagnética não precisa de um meio material para se propagar, podendo se propagar até no vácuo. A onda eletromagnética é classificada de acordo com sua frequência

ou pelo seu comprimento de onda, algumas das classificações são: infravermelho, ondas de rádio, micro-ondas, canais de televisão e inclusive a luz visível (HALLIDAY *et al.*, 2009).

O olho humano possui uma sensibilidade para ondas eletromagnéticas apenas nas faixas dos comprimentos de ondas entre 400 nm a 700 nm, esse intervalo é o que compreende-se como luz visível (HALLIDAY *et al.*, 2009). Assim como o olho humano, as clorofilas também possuem uma sensibilidade específica para a absorção de ondas eletromagnéticas, sendo sensível para as regiões de luz azul (aproximadamente 430 nm) e para as regiões da luz vermelha (aproximadamente 660 nm). A luz do sol, é a principal fonte de luz para as plantas e contém todas as faixas dos comprimentos de ondas da luz visível, dessa forma quando a luz do sol incide sobre uma planta, a clorofila absorve os fótons de luz vermelha e azul, refletindo as outras componentes de luz que não foram absorvidas pela clorofila. Entre as faixas de frequências da luz azul e da luz vermelha, está a luz verde com o comprimento de onda de aproximadamente 550 nm, a clorofila é pouco sensível a luz nesse comprimento de onda, assim ela não absorve os fótons da luz verde, por isso a coloração da clorofila é verde. (TAIZ; ZEIGER, 2004).

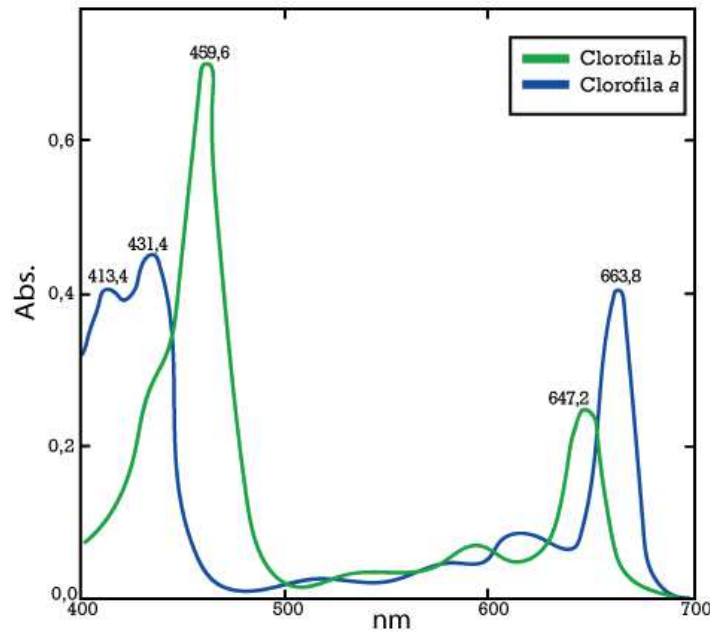
Como já dito, os dois principais tipos de clorofilas que uma planta verde apresenta é a Chl *a* e Chl *b*, apesar das duas serem sensíveis para a luz nas regiões do azul e do vermelho, elas possuem um pico de sensibilidade para luz em intervalos de comprimentos de ondas distintos, a Chl *a* possui o pico de sensibilidade entre as faixas de 400 nm a 450 nm (azul) e 630 nm a 650 nm (vermelho), enquanto a Chl *b* possui entre os intervalos de 450 nm a 480 nm (azul) e 650 nm a 680 nm (vermelho). Dessa modo, a Chl *b* auxilia a Chl *a* na absorção de luz, em momentos em que a incidência de luz é mais baixa, aumentando a eficiência do processo de absorção da luz (BORRMANN, 2009). A Figura 1 mostra um gráfico que representa a sensibilidade das clorofilas em relação a luz na faixa de 400 a 700 nm (intervalo da luz visível).

2.3 RELAÇÃO DA CLOROFILA PARA INDICAR NÍVEIS DE NITROGÊNIO

Através da clorofila, é possível estimar a disponibilidade de nitrogênio na planta, pelo fato do nitrogênio estar, em sua maioria, presente nos cloroplastos, mesmo local onde ocorre a síntese das moléculas de clorofila (NOGUEIRA *et al.*, 2013).

O nitrogênio é um importante nutriente para as plantas e sua deficiência é apontada como um dos principais fatores que limitam o crescimento dos vegetais (CRUZ *et al.*, 2007). Seu monitoramento é importante para otimizar o uso de adubos nitrogenados em plantações. Analisar diretamente os níveis de nitrogênio da planta é complicado, pois os métodos matemáticos

Figura 1 – Absorbância da clorofila em relação aos comprimentos de onda da luz



Fonte: Adaptado de Borrmann (2009).

existentes para esse tipo de análise dependem de variáveis que são difíceis de serem extraídas tanto do solo como das plantas, por isso estimar diretamente o nitrogênio não é uma forma muito popular para este tipo de análise.

O surgimento de equipamentos chamados de clorofilômetros, possibilitou a análise do nitrogênio de uma forma mais simples de ser implementada, através da leitura do teor de clorofila que estes equipamentos fornecem. A utilidade desses equipamentos se deve pelo fato de que eles são portáteis, de baixos custos e geram os dados instantes após a medição, assim não há necessidade de realizar a coleta de amostras para serem analisadas em laboratório (ARGENTA *et al.*, 2001).

A clorofila se relaciona positivamente com os níveis de nitrogênio nas plantas, dessa forma há diversas metodologias empregadas utilizando o clorofilômetro para quantificar o nitrogênio em uma cobertura de lavoura (MAIA *et al.*, 2012).

A determinação do Índice de Suficiência de Nitrogênio (ISN) é uma prática bem disseminada, que obtém a quantidade de nitrogênio a ser aplicado para suprir déficits nutricionais em uma lavoura. Esse método, consiste em realizar uma normalização das leituras do clorofilômetro para cada área de cultivo, minimizando influências de fatores como: idade, teor de água na planta, população de plantas, estresse ambiental e fatores bióticos (SILVEIRA *et al.*, 2003).

2.4 ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO E DO TEOR DE CLOROFILA

Há duas formas de se analisar as clorofilas das plantas, através do método invasivo ou do método não invasivo.

Os métodos invasivos são realizados geralmente em laboratório e apresentam uma ótima precisão em seus resultados, porém para realizar a análise da clorofila implica-se algumas desvantagens como: a necessidade de realizar a coleta de amostras da folha, o que torna o processo destrutivo à planta e o fato da amostra ser analisada em um laboratório, gerando demanda de tempo e recursos financeiros (JESUS; MARENCO, 2008).

As análises que ocorrem em laboratório, são realizadas por um processo de extração das clorofilas em um solvente, geralmente acetona ou álcool, em seguida essa solução é submetida a um espectrofotômetro (Figura 2), que determina o índice de absorbância em uma solução contendo a amostra da folha para diferentes comprimentos de ondas (RICHARDSON *et al.*, 2002). Após obter o índice de absorbância, os valores devem ser relacionados com a concentração de clorofila, uma forma para obter essa relação, é através de equações padrões publicadas por Arnon (1949).

Figura 2 – Espectrofotômetro, para análise de absorbância



Fonte: Bunker (2019).

Outra abordagem para análise do teor de clorofila, é através do método não invasivo. Esse tipo de método utiliza sensores ópticos para analisar a reflectância da planta intacta, gerando um resultado que expressa um índice do teor relativo de clorofila, diferente do método invasivo, que apresenta a concentração de clorofila por grama foliar. As vantagens na utilização do método óptico são: análises realizadas instantaneamente, medições em campo realizadas diretamente nas plantas e baixo custo para realizar a análise. Além disso, as análises dos níveis de nitrogênio utilizando o índice relativo de clorofila não são influenciadas pelo consumo em excesso do nitrogênio na planta, que é armazenado sob forma de nitrato, desse modo, fornecendo uma boa precisão sobre status de nitrogênio na planta (RICHARDSON *et al.*, 2002).

Os clorofilômetros são medidores de reflectância portáteis, que analisam o teor de

clorofila em uma planta. Eles funcionam com diodos emissores de luz, que incidem uma luz sobre a folha da planta com um comprimento de onda entre as regiões de sensibilidade de absorção da clorofila. Utilizando fotodiodos como receptores é possível comparar o sinal emitido com o sinal refletido pela folha, dessa forma, através do processamento do sinal é estimado qual a quantidade de luz que está sendo absorvida pela clorofila, com essas estimativas é gerado um índice relativo do teor de clorofila, no qual fica a critério do desenvolvedor estabelecer o índice utilizado para entregar os resultados (RICHARDSON *et al.*, 2002).

2.5 FUNCIONAMENTO DE UM CLOROFILÔMETRO

O primeiro equipamento comercial que surgiu como clorofilômetro, é o SPAD-502 (Figura 3), porém a mesma empresa já havia desenvolvido anteriormente o SPAD-501 para aplicação em suas pesquisa (Minolta, Japão) , o SPAD-502 surgiu na década de 90 e vem sendo muito estudado e utilizado desde então (JESUS; MARENCO, 2008). Como visto anteriormente as clorofilas possuem dois picos de absorbância da luz, esses picos estão na região da luz vermelha e da luz azul. Desse modo, o SPAD-502 utiliza dois LEDs emissores e um fotodiodo receptor, um LED emite luz vermelha, com o comprimento de onda em aproximadamente 650 nm, o outro LED emite luz infravermelha próximo, com o comprimento de onda em 940nm. A luz é refletida pela folha e atinge o fotodiodo receptor, realizando a leitura da luz como sinais de tensão elétrica. Esses sinais são analógicos, portanto são convertidos em sinais digitais, através de um conversor A/D (*anlogic/digital*), após o sinal ser convertido, ele é processado e apresentado em um *display* para o usuário (SPECTRUM TECHNOLOGIES INC., 2009). O resultado apresentado, é referente a análise da Ch *a*, por aparecer em quantidades mais elevadas do que a Ch *b*, assim a Ch *a* possui uma relevância maior na determinação do teor de clorofila.

Figura 3 – Clorofilômetro SPAD-502



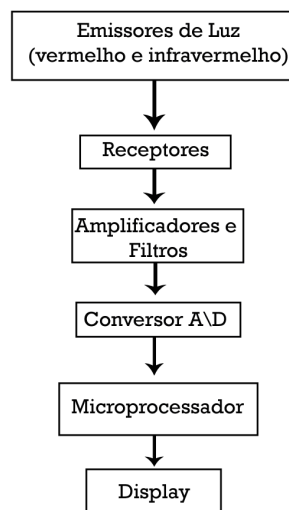
Fonte: TECNAL (2019).

Existem outros equipamentos no mercado classificados como clorofilômetro, porém a forma como esses equipamentos utilizam para realizar a análise do teor de clorofila é similar ao que acontece no SPAD-502, como por exemplo o ClorofiLOG da Falker (2015), que funciona de forma similar ao SPAD-502, entretanto ao invés de utilizar duas faixas de comprimentos de ondas para realizar a análise, ele utiliza três faixas, gerando uma análise complementar sobre a $Ch\ b$ (FALKER, 2015).

2.6 DESENVOLVIMENTO DE UM CLOROFILÔMETRO

O desenvolvimento básico de um sistema para análise do teor de clorofila, por meio de reflectância é apresentado na Figura 4.

Figura 4 – Diagrama do sistema básico de um clorofilômetro



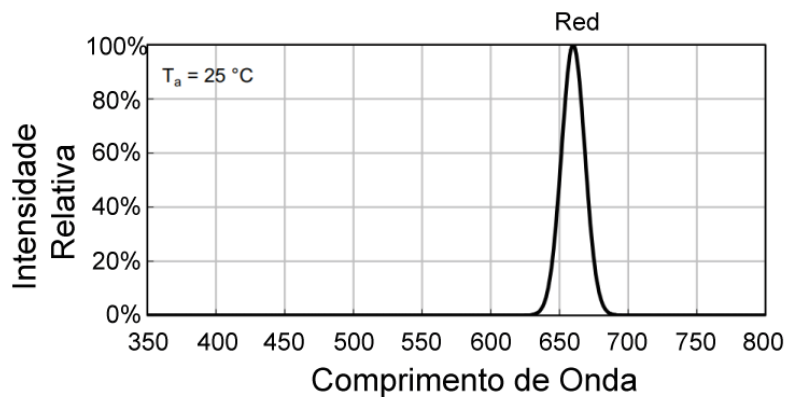
Fonte: Adaptado de SPECTRUM TECHNOLOGIES INC. (2009).

Nos emissores de luz são utilizados dois LEDs, um com comprimento de onda na região do vermelho e outro com comprimento de onda na região do infravermelho próximo. Como as clorofilas possuem um pico de sensibilidade entre 630 nm a 680 nm, o LED vermelho é utilizado entre esse intervalo de comprimento de onda para estimar a quantidade de luz vermelha que é absorvida pela folha, conseqüentemente estimar a quantidade de clorofila através dessa análise. O segundo LED é utilizado na faixa de 940nm, na região do infravermelho próximo, este é utilizado como uma onda de referência para eliminar diferenças da folha no sinal.

Existe uma grande diferença na análise de reflectância realizada em um sistema que utiliza LEDs ao invés de realizar a análise de reflectância com um espectrofotômetro. O LED apresenta uma curva de intensidade da luz de acordo com o comprimento de onda, é possível

observar na Figura 5, portanto a luz emitida pelo LED não possui comprimento de onda fixo, porém sua luminosidade apresenta uma maior intensidade para o comprimento de onda que está no pico da curva do gráfico. Já o espectrofotômetro realiza a análise varrendo um intervalo muito pequeno de comprimento de onda, até que todo o espectro escolhido seja analisado. Isso representa para sistemas ópticos com LEDs uma dificuldade em filtrar interferências de outros espectros na análise.

Figura 5 – Curva de um LED com comprimento de onda de 655 nm



Fonte: Adaptado de Kingbright (2019).

O fotodiodo é utilizado como receptor dos sinais de luz. Ele opera como sensor fotoelétrico, portanto, quando a energia luminosa incide sobre o fotodiodo, provoca o deslocamento de elétrons que gera, como uma rápida resposta, uma corrente na ordem de mA (miliampere). Comercialmente existem fotodiodos sensíveis para as faixas de comprimento de onda do ultravioleta ao infravermelho (THOMAZINI; ALBUQUERQUE, 2010). Assim, no desenvolvimento do clorofilômetro são utilizados, convenientemente, fotodiodos com sensibilidade nas regiões de emissão dos LEDs do sistema (vermelho e infravermelho próximo).

Amplificadores e filtros, possuem o papel de aumentar o ganho do sinal que é adquirido pelo fotodiodo. Essa necessidade ocorre pelo fato de que, o sinal é transmitido na ordem de mV (milivolts), e para uma boa leitura é melhor utilizar o sinal na escala de V (Volts). Os filtros auxiliam a eliminar ruídos indesejáveis que causam interferências na análise do sinal (MALVINO, 1997).

O processamento do sinal, ocorre no microprocessador, um circuito integrado, que através de uma memória programável, um *clock* (relógio interno) e inúmeras portas lógicas, consegue realizar instruções de operações lógicas, aritméticas e digitais. Para esta etapa, pode ser utilizado também um microcontrolador, este possui um sistema microprocessado, com uma

arquitetura mais aprimorada, possibilitando a execução de tarefas mais complexas (LIMA; VILLAÇA, 2012). Através de um algoritmo, programado na memória do microprocessador, é realizado a tarefa de interpretar o sinal adquirido através do fotodiodo e estimar um valor correspondente ao teor relativo de clorofila na folha analisada.

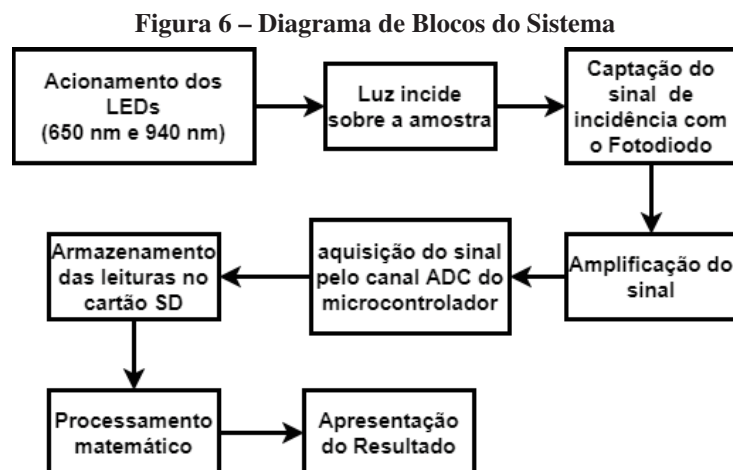
Geralmente, por meio de um *display*, o resultado da análise é apresentado para usuário do equipamento instantes após o procedimento.

3 METODOLOGIA

O presente trabalho, foi desenvolvido em cinco macro etapas, sendo elas: desenvolvimento do *hardware*, desenvolvimento do *firmware*, prototipação, utilização e validação de modelamento matemático, com a consequente validação do equipamento desenvolvido.

A elaboração do projeto de *hardware* consistiu na construção de um sistema eletrônico para a aquisição e processamento dos sinais de entrada. O *firmware* foi desenvolvido para o controle o processamento de dados implementado no microcontrolador. Na fase de prototipação ocorreu o desenvolvimento de uma PCB (*Printed circuit board*) de acordo com o hardware projetado e o desenvolvimento de um modelo 3D (tridimensional) através de modelamento e impressão 3D, para utilizar junto ao hardware na aquisição de sinais, posicionando os LEDs e o fotodiodo utilizados na análise da folha. O modelamento matemático, possibilitou a interpretação dos sinais adquiridos através do sistema eletrônico a fim de obter a concentração de clorofila. Por último a validação do modelamento matemático e, consequente validação do equipamento, que consistiu em análises de clorofila obtendo dados do método invasivo e do método não invasivo (clorofilômetro desenvolvido neste trabalho).

Para maior clareza e entendimento, a Figura 6 apresenta o diagrama de bloco do sistema.



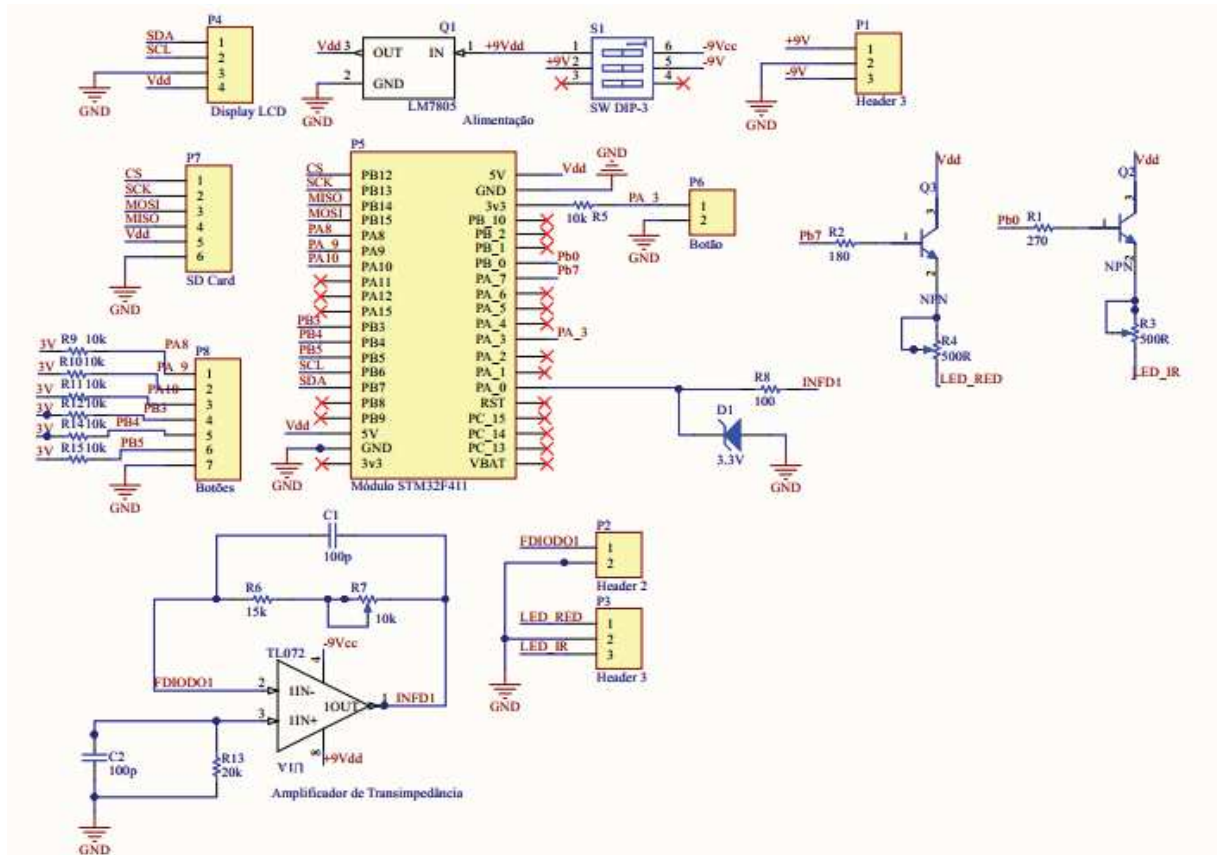
Fonte: Autoria Própria (2021).

3.1 DESENVOLVIMENTO DO *HARDWARE*

O hardware foi projetado para realizar a aquisição e processamento dos sinais de interesse para a análise não invasiva. Desse modo, o hardware deveria possuir uma construção

que tornasse sua utilização simples. A Figura 7, apresenta o hardware projetado.

Figura 7 – Diagrama de esquemático do hardware

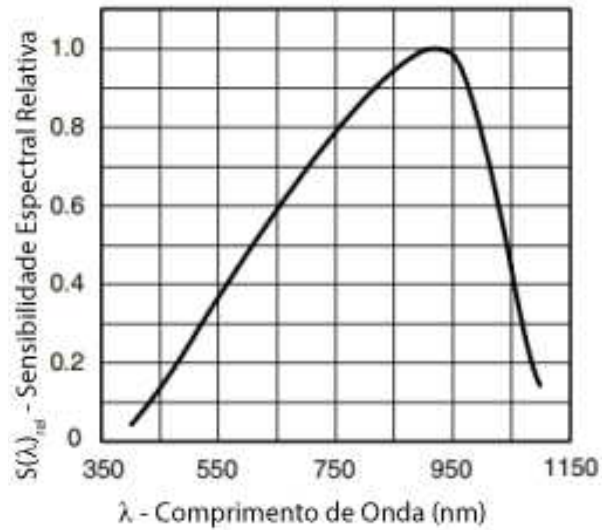


Fonte: Autoria Própria (2021).

Os sinais de interesse, são provenientes de dois LEDs, um infravermelho com comprimento de onda em 940 nm e outro vermelho com comprimento de onda em 650 nm. A luz emitida por esses dois LEDs, atravessa a folha da planta e é captada por um fotodiodo posicionado abaixo da folha. O fotodiodo escolhido foi o BPW34. A Figura 8 demonstra a sensibilidade relativa do BPW34, ao qual é possível observar que esse fotodiodo possui uma sensibilidade espectral máxima para o comprimento de 950 nm, em 650 nm possui sensibilidade de 60% em comparação com o a sensibilidade de 950 nm, por isso o LED infravermelho é utilizado, além de eliminar a diferença de espessura da folha, também serve como referência de sinal.

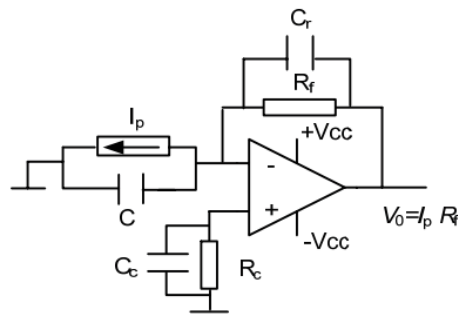
O sinal obtido através do fotodiodo é da ordem de miliamperes, portanto para amplificar esse sinal é utilizado um circuito amplificador de transimpedância (Figura 9), que atua convertendo a corrente de entrada em uma tensão de saída proporcional, dessa forma, é possível realizar a leitura desse sinal através de um ADC (*Analog Digital Converter*) presente no microcontrolador.

Figura 8 – Sensibilidade espectral Relativa x Comprimento de Onda



Fonte: Adaptado de Vishay (2019).

Figura 9 – Topologia utilizada para o circuito amplificador



Fonte: Martínez *et al.* (2009).

Ainda na Figura 9, são presentes os seguintes componente na topologia do circuito amplificador de transimpedância:

- I_p – Fotocorrente.
- R_f – Resistor de *feedback*.
- C_r – Capacitor de estabilização.
- R_c – Resistor de correção.
- C_c – Capacitor de compensação;
- V_o - Tensão de saída

A corrente gerada pelo fotodiodo provem da incidência luminosa, na Figura 9 ela é representada como I_p e chamada de fotocorrente. Essa corrente flui através do do circuito. O sinal de saída passa pelo resistor de *feedback* R_f responsável por corrigir o ganho DC (Direct Current) do circuito e formar uma realimentação com a entrada inversora do amplificador operacional, no caso deste projeto de hardware foi utilizado o amplificador TL072A (componente U1A da Figura 7). Os demais elementos do circuito são: capacitor de estabilização, resistor de correção e capacitor de compensação possuem a função de estabilização, correção e compensação. A saída do circuito amplificador de transimpedância é a tensão V_o , dimensionada através da fotocorrente e do resistor de *feedback* (NASCIMENTO *et al.*, 1999).

O dimensionamento do circuito amplificador, foi estipulado pela a tensão alvo para a saída V_o , que era de 3,3V, pois o microcontrolador utilizado suporta até 3,3V de entrada nos canais ADC. Dessa forma, a corrente do sinal infravermelho foi utilizada para determinar o dimensionamento do circuito, pois o sinal infravermelho é responsável por gerar a maior saída. É possível notar na Figura 7, que o resistor de *feedback* é composto por um resistor em série com um trimpot (R7), isso foi implementado para poder ajustar o ganho de tensão na fase de prototipação.

A saída do circuito amplificador é ligada a placa de desenvolvimento que possui o microcontrolador utilizado, que foi o módulo STM32F411 (P5), uma placa de desenvolvimento com as seguintes características:

- Núcleo ARM Cortex M4.
- 512 kB de memória Flash.
- 128 kB de SRAM.
- 12 bits de resolução ADC.
- 100 MHz de frequência máxima de operação.

O microcontrolador é responsável por executar o *firmware* desenvolvido, para o modelamento matemático, aquisição dos sinais e apresentação dos resultados. Portanto, alguns periféricos são utilizados junto ao microcontrolador.

Um módulo de cartão micro SD é utilizado para armazenar as leituras realizadas pelo canal ADC do microcontrolador. Isso foi implementado para auxiliar o desenvolvimento do modelamento matemático, para que as leituras fossem analisadas posteriormente em um software

de cálculo numérico. Esse módulo se comunica com o microcontrolador por meio de interface SPI (*Serial Peripheral Interface*).

Para apresentar o resultado obtido após o processamento matemático, foi necessário adicionar um *display*, assim, foi utilizado um módulo LCD 16x02 (*Inter-Integrated Circuit*) juntamente um conversor serial I2C (*Inter-Integrated Circuit*). O conversor escolhido foi o módulo pcf8574 muito comum para esse tipo de aplicação, o display LCD foi ligado externamente da placa com o módulo pcf8574 ao qual foi conectado na barra de pinos P4 da Figura 7.

Um botão do tipo chave tátil, é conectado a entrada digital do microcontrolador, essa chave é responsável por desencadear a interrupção que inicia a leitura da folha. Esse botão é posicionado na peça 3D desenvolvida, e o sistema será detalhado posteriormente na etapa de prototipação.

Para alimentar o sistema, foi utilizado uma fonte simétrica de $\pm 9V$ que alimenta o amplificador operacional do circuito amplificador de transimpedância. Como a placa de desenvolvimento utilizada, e os demais módulos operam com 5V, essa tensão foi ajustada com um regulador de tensão LM7805.

Na Figura 7 o barra de pinos P8 foi implementada para uma possível utilização de botões ou teclado, caso fosse necessário, porém como não foi necessário essa barra de pinos não foi utilizada.

3.2 DESENVOLVIMENTO DO *FIRMWARE*

O *firmware* foi desenvolvido em linguagem C, através da plataforma *ARM mbed online* a qual possui compatibilidade de projeto com o microcontrolador utilizado. Na Figura 10, é apresentado um fluxograma básico do código implementado, a partir dele serão detalhadas as rotinas do *firmware*

A etapa de inicialização, é responsável por inicializar parâmetros do *display*, após isso ocorrer é realizado a obtenção dos sinais utilizados como referência no sistema. Essa etapa é importante pois esses dados são utilizados no processamento matemático, e os valores de referência variam de acordo com a luminosidade do ambiente onde acontecerá a leitura da folha, assim logo após a a inicialização do *firmware* os valores de referências são determinados. São três valores de referência, e são obtidos individualmente, sem a presença de folha, da seguinte forma: leitura do fotodiodo com o LED infravermelho aceso e o LED vermelho apagado, leitura do fotodiodo com o LED vermelho aceso e o LED infravermelho apagado, e por último, leitura

Figura 10 – Fluxograma básico do firmware



Fonte: Autoria própria (2021).

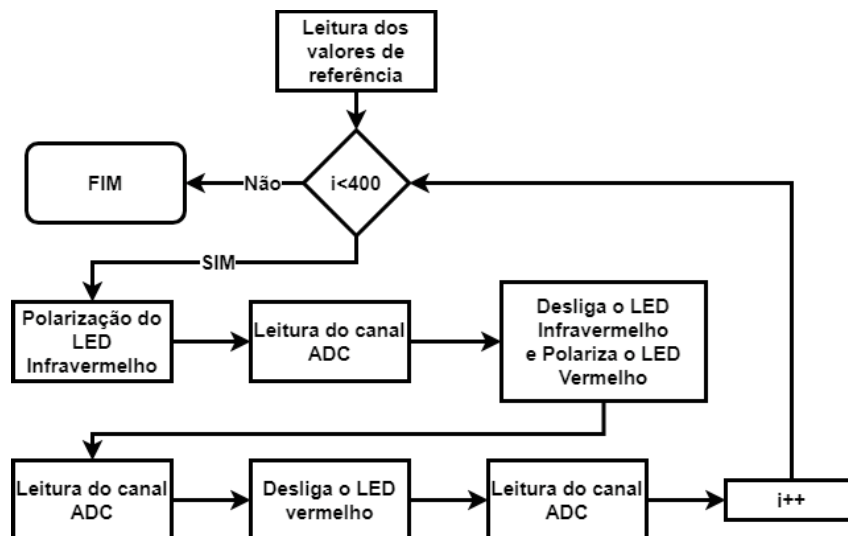
do fotodiodo com o LED vermelho e infravermelho apagados, sem que haja folha.

Dessa forma são obtidos:

- V_{IR-ref} – Tensão de referência LED infravermelho
- $V_{Red-ref}$ – Tensão de referência LED vermelho.
- $V_{ausente-ref}$ – Tensão de referência na ausência de luz.

Na fluxograma da Figura 11 é possível entender como essa rotina acontece.

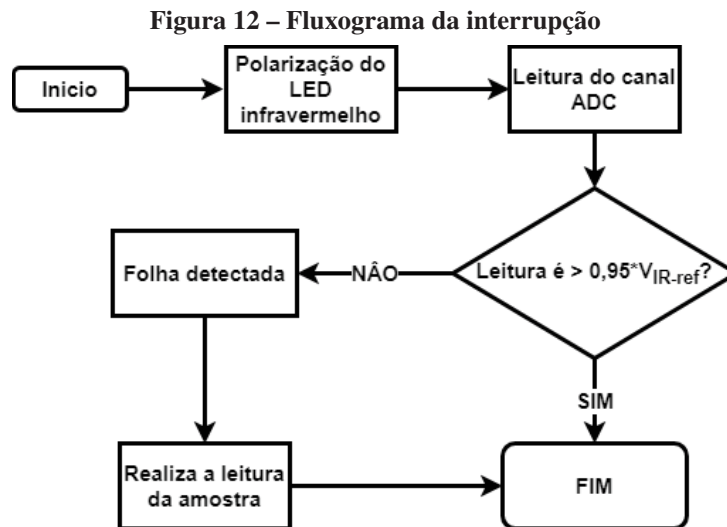
Figura 11 – Fluxograma da leitura dos valores de referência



Fonte: Autoria própria (2021).

Após realizar a determinação dos valores de referência, o sistema fica aguardando a interrupção que é desencadeada por um botão posicionado no instrumento de leitura da folha.

Quando o botão é pressionado é acionado uma rotina que verifica se existe a presença de uma folha para realizar a leitura, caso exista a amostra irá ocorrer sua leitura, caso contrário o sistema retorna para o estado inicial e aguarda a interrupção. A Figura 12 apresenta o fluxograma que detalha essa rotina.



Fonte: Autoria própria (2021).

No caso da presença de uma folha, a rotina de leitura do canal ADC é acionada. Essa rotina realiza sucessivas leituras intercalando o acionamento dos LEDs infravermelho e vermelho, salvando cada leitura em um arquivo de extensão txt presente no cartão micro SD.

Portanto, são realizadas as mesmas três leituras da rotina de calibragem, porém agora é com a presença de uma folha:

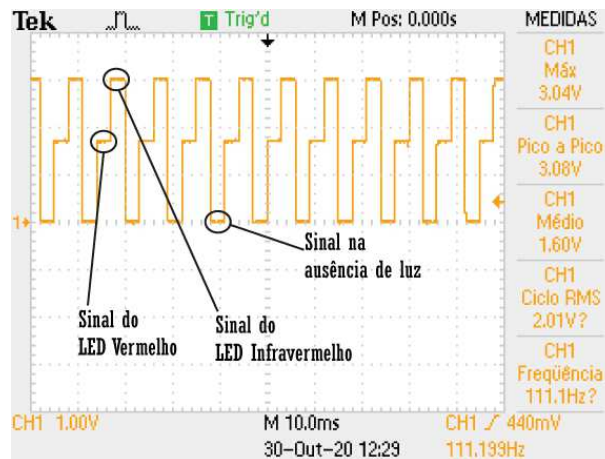
- I. Leitura do fotodiodo com o LED infravermelho aceso e o LED vermelho apagado.
- II. Leitura LED vermelho aceso e o LED infravermelho apagado.
- III. Leitura com o LED vermelho e infravermelho apagado.

Essa rotina ocorre até que tenham ocorrido 300 leituras de cada valor, para suavizar a média das leituras.

Com a captura de tela de um osciloscópio conectado a saída V_o do circuito amplificador de transimpedância, apresentado na Figura 13, é possível compreender como ocorre a polarização dos LEDs e como é o sinal adquirido pelo microcontrolador, sem que haja uma folha entre os LEDs e o fotodiodo.

Dessa forma, a Figura 14 apresenta o fluxograma da rotina de leitura do canal ADC.

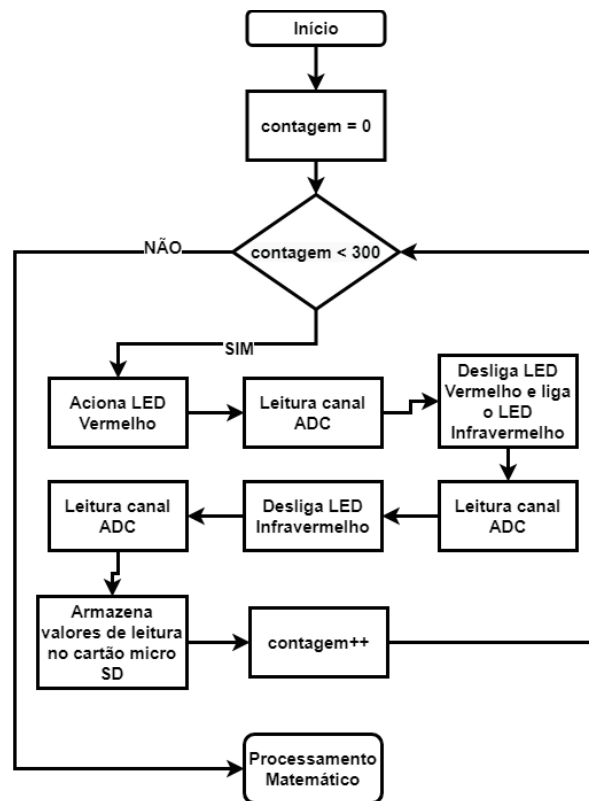
Figura 13 – Saída V_o do circuito amplificador de transimpedância



Fonte: Autoria própria (2021).

Após completar a aquisição do sinal, ocorre o processamento matemático dos dados utilizados. O processamento matemático é a implementação do modelamento matemático no microcontrolador. Ao final dessa etapa, o resultado com o valor da concentração de clorofila é apresentado no display LCD.

Figura 14 – Fluxograma da rotina de leitura do canal ADC



Fonte: Autoria própria (2021).

3.3 PROTOTIPAÇÃO

A etapa de prototipação, consistiu na confecção de uma PCB para implementar o projeto de *hardware* do trabalho e através de modelamento e impressão 3D, foi desenvolvido uma peça com material ABS (Acrilonitrila Butadieno Estireno), para o auxílio na hora de realizar leitura da folha. Esse instrumento de leitura foi desenvolvido com o auxílio do projetista mecânico Lucas Peres, e o desenvolvimento dessa peça foi fundamental, pois através dela é possível posicionar os LEDs, fotodiodo e chave táctil (para a interrupção da rotina de leitura) de forma que cada leitura seja realizada sobre as mesmas condições em relação aos componentes citados, isso aumentou a confiabilidade em relação ao sinal de aquisição.

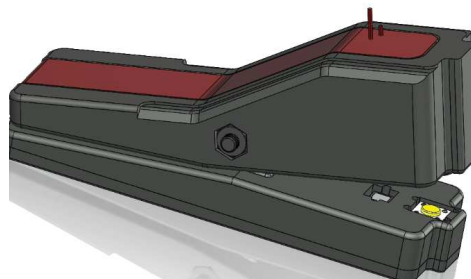
A Figuras 15, 16 e 17, apresentam a construção interna do instrumento de leitura, além de mostrar o posicionamento da chave táctil, do fotodiodo e dos LEDs. Note que nas imagens aparecem LEDs de tamanhos diferentes, porem os LEDs utilizados na prática são de 5mm.

Figura 15 – Instrumento de leitura com visão dos LEDs



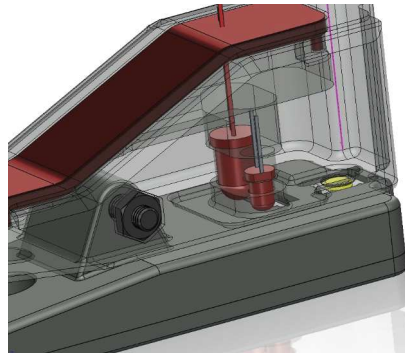
Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 16 – Instrumento de leitura com visão do fotodiodo e da chave táctil



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 17 – Instrumento de leitura com visão interna



Fonte: Autoria própria (2021).

3.4 MODELAMENTO MATEMÁTICO

O objetivo desse trabalho foi obter a concentração de clorofila através de um instrumento óptico, para isso primeiro foi necessário obter o teor relativo de clorofila na folha analisada e posteriormente converter esse valor em concentração de clorofila.

Para obter o teor relativo de clorofila, é necessário calcular o CCI (*Chlorophyll content index*) da folha analisada, abaixo é apresentado como realizar esse cálculo.

$$CCI = \frac{\% \text{ TRANSMISSÃO } 940 \text{ nm}}{\% \text{ TRANSMISSÃO } 650 \text{ nm}} \quad (1)$$

A transmissão em 940 nm e em 650 nm são obtidas através das leituras com o fotodiodo no clorofilômetro e calculadas da seguinte forma:

$$\% \text{ TRANSMISSÃO }_{940} = \frac{(V_{IR} - V_{ausente})}{(V_{IR-ref})} \times 100 \quad (2)$$

$$\% \text{ TRANSMISSÃO }_{650} = \frac{(V_{RED} - V_{ausente})}{(V_{RED-ref})} \times 100 \quad (3)$$

- V_{IR} - Sinal LED Infravermelho com presença de folha.
- V_{IR-ref} - Sinal LED Infravermelho de referência.
- V_{RED} - Sinal LED Vermelho com presença de folha.
- $V_{RED-ref}$ - Sinal LED Vermelho de referência.
- $V_{ausente}$ - Sinal de referência na ausência de luz.

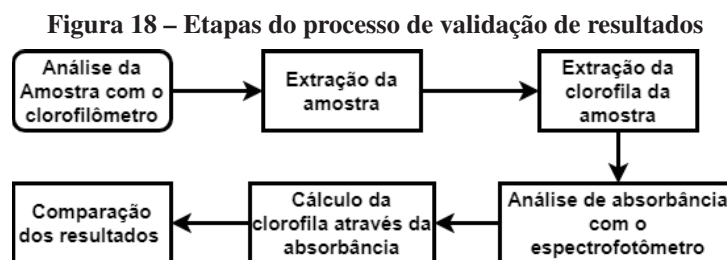
A rotina de leitura do *firmware* realiza 300 leituras do canal ADC, ou seja, são adquiridos 300 valores do sinal infravermelho com presença de folha e do sinal vermelho presença de folha, obtendo uma grande amostragem das leituras, possibilitando fazer uma média para suavizar ruídos na aquisição dos sinais. Dessa forma, o CCI é calculado 300 vezes, uma vez para cada leitura amostrada, após o cálculo do CCI é realizado sua média, obtendo assim o teor de clorofila.

A conversão do CCI para o teor de clorofila é realizada através da tabela de equações publicada por Parry *et al.* (2014). Para este trabalho, foi utilizado folha de pimenta *Capsicum chinense* como planta padrão para análise da clorofila, a Equação 4 apresenta a equação de conversão para a pimenta.

$$\text{Equação de Conversão } (\mu\text{mol m}^{-2}) = -19 + 39 * (\text{CCI})^{0,69} \quad (4)$$

3.5 VALIDAÇÃO DO MODELAMENTO MATEMÁTICO

A validação é realizada para verificar se os resultados obtidos através de análises ópticas com o equipamento desenvolvido (clorofilômetro), são satisfatórios quando comparados a um método de análise laboratorial. Assim, para as análises foram utilizadas amostras da folha de pimenta, sendo a primeira análise com o clorofilômetro (não invasivo) e logo depois com o espectrofotômetro (invasivo). A Figura 18 mostra o fluxo do processo de validação.



Fonte: Autoria própria (2021).

3.5.1 LEITURA DA FOLHA COM O CLOROFILÔMETRO

Foram utilizadas duas folhas diferentes da mesma pimenteira, para obter uma diversidade nos resultados da análise, as folhas escolhidas apresentavam tons de verde diferentes. As leituras foram realizadas em 3 regiões diferentes de cada folha, e para cada região foram realizadas 4 leituras, totalizando 24 leituras para toda a análise.

Após a realização da leitura de cada região, foram realizadas as extrações das amostras das folhas, cada amostra possuía 196 cm^2 de área e foram retiradas da mesma região onde ocorreu a leitura com o clorofilômetro.

3.5.2 ANÁLISE DE ABSORBÂNCIA COM O ESPECTROFOTÔMETRO

Esse processo de análise da clorofila, requer a extração prévia do pigmento em um solvente para que o mesmo seja submetido ao espectrofotômetro onde será analisado a absorvância da amostra da folha e através de equações já definidas na literatura é possível utilizar os valores de absorvância para obter a concentração de clorofila. Para que a análise com o espectrofotômetro tenha uma boa confiabilidade é necessário definir dois pontos importantes: o solvente para diluir a amostra, e a equação correta para obter a concentração de clorofila.

O solvente pode variar de acordo com a substância de interesse para a análise, no caso da extração de clorofila Parry *et al.* (2014) indicam que o DMSO (Dimetilsulfóxido) é o solvente que apresenta a melhor eficiência em relação a outros solventes utilizados para a extração de clorofila, além de, não ser necessário a maceração da amostra para utilizar esse solvente, pois apenas a imersão da amostra no solvente já é suficiente para obter a solução com a clorofila extraída.

A equação utilizada para obter a concentração de clorofila é determinada através de três variáveis, sendo elas: o solvente a ser utilizado, a proporção de solvente utilizada na diluição da amostra e a resolução do espectrofotômetro (PORRA *et al.*, 1989).

Dessa forma, o roteiro abaixo foi elaborado e seguido para a análise de absorvância.

- Realizar a extração da amostra do tecido foliar no mesmo local onde ocorreu a leitura com o clorofilômetro.
- Submeter a amostra em um tubo de vidro com 10 ml de DMSO.
- O tubo deve ser incubado em banho térmico a 65°C com agitação constante até que a amostra de tecido foliar se torne incolor.
- Para garantir a extração, é aconselhável que as amostras sejam incubadas por pelo menos 180 minutos.
- Após a incubação, transferir uma alíquota de 3 ml para a cubeta de quartzo de grau óptico 10 mm, e medir a absorvância de luz nos seguintes comprimentos de onda: 649nm e

665nm.

A equação utilizada para obter a concentração de clorofila é a determinada por Wellburn (1994), para espectrofotômetros com resolução de 1 – 4 nm.

$$C_a = 12,19A_{665} - 3,45A_{649} \quad (5)$$

$$C_b = 21,99A_{649} - 5,32A_{665} \quad (6)$$

$$Chl = C_a + C_b \quad (7)$$

Onde:

- C_a - Clorofila *a*.
- C_b - Clorofila *b*.
- A_{649} - Absorbância em 649 nm.
- A_{665} - Absorbância em 665 nm.
- Chl - Clorofila total.

As análises laboratoriais foram realizadas no laboratório do Programa de Pós Graduação de Tecnologia de Alimentos (PPGTA) da UTFPR-CM, com o suporte de equipamentos e profissionais deste laboratório. Dessa forma, o espectrofotômetro utilizado foi o USB-650-UV *Ocean Optics Red Tide Spectrometer* que possui resolução fixa em 2 nm, é possível que a concentração de clorofila encontrada através da equação descrita acima possua um desvio, mas pelo fato de não ter sido encontrado artigos que determinem uma equação específica para essa resolução utilizando o DMSO, as Equações 5, 6 e 7 foram estabelecidas para essa análise.

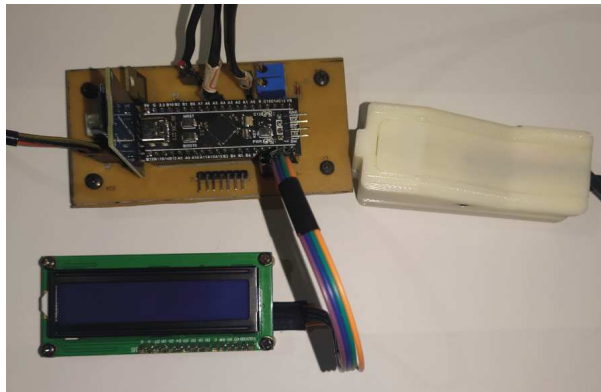
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este capítulo apresenta os resultados obtidos com a etapa de prototipação e com a etapa de validação, na qual foram realizadas as análises através do método óptico (clorofilômetro) e do método laboratorial, verificando se o clorofilômetro realmente é eficiente e traz benefícios se quando comparado com os resultados do método laboratorial.

4.1 PROTOTIPAÇÃO

O resultado obtido com o projeto de hardware foi uma PCB tamanho 10 cm x 5 cm realizando a integração do instrumento de leitura e periféricos com a placa de desenvolvimento STM32F411. As Figuras 19, 20, 21 apresentam fotos do hardware juntamente com o instrumento de leitura.

Figura 19 – PCB e Instrumento de leitura



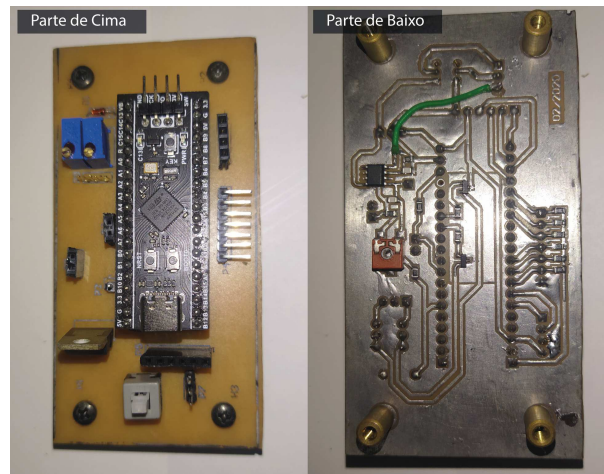
Fonte: Autoria própria (2021).

4.2 ANÁLISES

Como descrito na metodologia, foram utilizadas duas folhas da pimenteira *Capsicum chinense*, para cada folha foi realizada a análise da concentração de clorofila em 3 regiões diferentes. A Figura 22 apresenta as duas folhas utilizadas para as análises, a numeração que aparece marcada nas folhas indicam as regiões onde foram realizadas as leituras com o clorofilômetro e a extração da amostra para utilizar na análise de absorvância.

A Figura 23 mostra a análise com o clorofilômetro e o instrumento de leitura sendo realizada.

Figura 20 – PCB confeccionada



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 21 – Instrumento de leitura



Fonte: Autoria própria (2021).

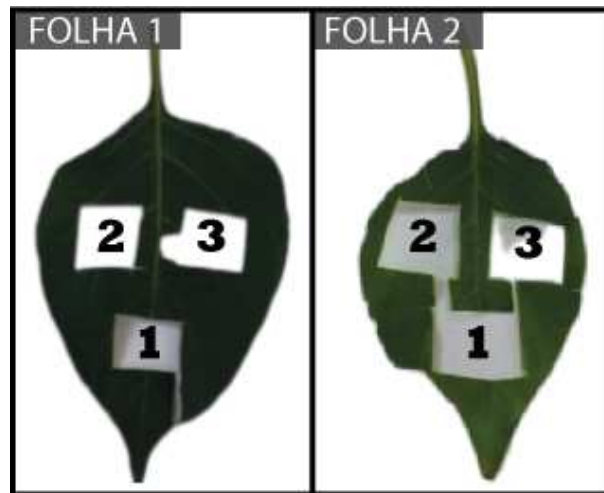
Após a conclusão das 24 leituras com o clorofilômetro, as amostras da folha foram extraídas e submersas em DMSO. A Figura 24 mostra os tubos de ensaio contendo as amostras em DMSO, antes da incubação em banho térmico.

Após 180 minutos em banho térmico com agitação constante, os tubos de ensaios foram retirados, é observar a diferença de clorofila em cada folha. A folha 1 possuía uma coloração com verde escuro, enquanto a folha 2 possuía uma coloração com o verde mais claro, isso fica evidente quando a é observado solução de DMSO (Figura 25) após a incubação.

Abaixo foram apresentados os resultados obtidos com cada análise para cada região. Com o clorofilômetro foram realizadas quatro leituras para cada região, e com a análise de absorvância utilizando o espectrofotômetro foi obtido apenas um valor de concentração de clorofila para cada região de análise.

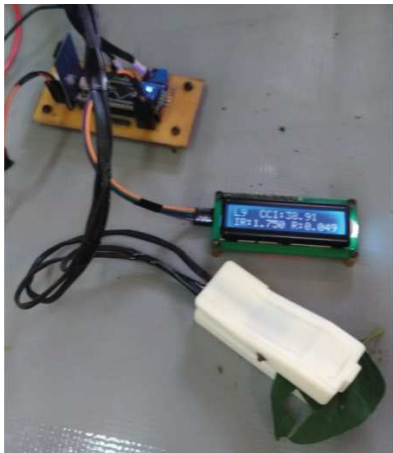
A Tabela 1, mostra os dados coletados com os equipamentos e o erro entre a concentração de clorofila obtida com o método laboratorial e o método óptico. O método laboratorial é utilizado como referência, pois o valor obtido com ele é o mais próximo do valor real de clorofila

Figura 22 – Folhas utilizadas para as análises e as regiões de análise

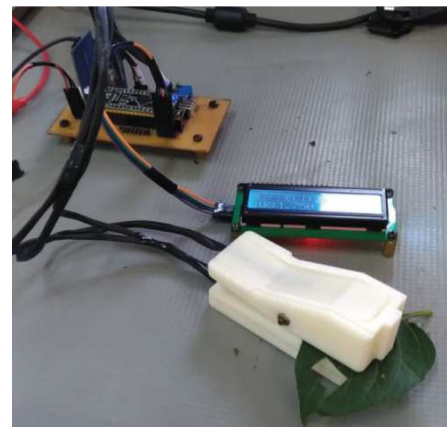


Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 23 – Análise com clorofilômetro



(a) Leitura da folha com o clorofilômetro



(b) Leitura da folha com o clorofilômetro em outro ângulo.

Fonte: Autoria Própria (2021).

contido na folha. Além disso, a tabela também apresenta os valores de CCI calculados em cada leitura do clorofilômetro, esses valores não variam linearmente com a concentração de clorofila. É possível notar que os valores do CCI possuem uma variação muito pequena de uma leitura para outra, porém os valores de concentração de clorofila obtidos com o clorofilômetro apresentam uma variação maior entre os intervalos das leituras. Isso ocorre, pois foi utilizado a equação de Parry *et al.* (2014) para aproximar os valores de CCI para concentração de clorofila, essa equação corrige o comportamento não linear que a curva do teor relativo de clorofila apresenta.

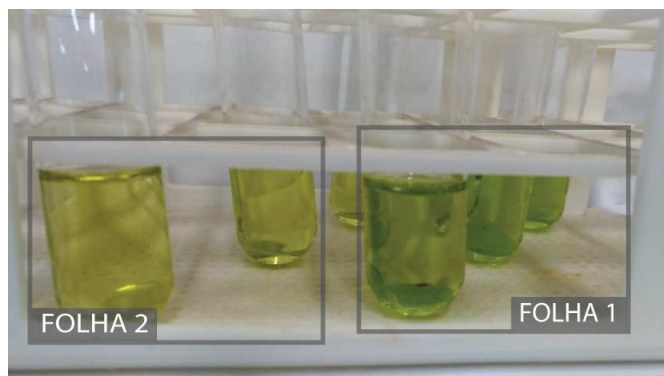
A Tabela 2, mostra o resultado obtido por região de análise nas folhas, foi realizado a média das quatro leituras com o clorofilômetro em cada região e comparado com o método laboratorial. É notável que na folha dois, a região 1 obteve uma variável erro em maior quantidade.

Figura 24 – Cubetas com as amostras extraídas da folha



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 25 – Cubetas com as amostras após a incubação



Fonte: Autoria própria (2021).

Esse erro pode ser explicado pelo processo de extração da clorofila, pois o tempo de três horas de incubação para amostra coletada, pode não ter sido suficiente para extrair totalmente a clorofila da folha para a solução de DMSO, isso explica o baixo valor obtido para a concentração de clorofila dessa amostra se comparada com as demais regiões da mesma folha. Outra hipótese para esta discrepância é o próprio erro operacional na execução do método.

As figuras 26 e 27 apresentam os dados da Tabela 2 em forma de gráfico mostrando o desvio padrão em cada região. É possível notar que o desvio padrão permanece baixo para todas as regiões, exceto para a região 1 da folha 2, isso demonstra que possivelmente ocorreu algum fator externo que tenha interferido na análise dessa região, o fato de que as diferenças de clorofila para as regiões da folha 2 ocorreu em maior parte para as análises laboratoriais sugere que o tempo de 180 minutos em banho térmico não foi suficiente para extrair a clorofila da folha

Tabela 1 – Resultados Gerais das Análises

Folha	Região	Leitura	Chl ($\mu\text{mol}/\text{m}^2$)	Chl ($\mu\text{mol}/\text{m}^2$) (Clorofilômetro)	CCI	Erro %
1	1	1	430.1745	417.8674	33.1667	2.8610
1	1	2	430.1745	423.8808	33.8304	1.4631
1	1	3	430.1745	439.6085	35.5854	2.1931
1	1	4	430.1745	464.5839	38.428	7.9999
1	2	1	442.7045	452.4273	37.0359	2.1962
1	2	2	442.7045	418.5873	33.246	5.4477
1	2	3	442.7045	467.2323	38.7334	5.5404
1	2	4	442.7045	468.7160	38.9048	5.8756
1	3	1	422.2352	462.0671	38.1385	9.4336
1	3	2	422.2352	448.1083	36.5452	6.1277
1	3	3	422.2352	452.4166	37.0347	7.1480
1	3	4	422.2352	465.1977	38.4987	10.1750
2	1	1	104.7649	155.1240	8.7444	48.0687
2	1	2	104.7649	159.7838	9.0856	52.5166
2	1	3	104.7649	156.8857	8.8729	49.7503
2	1	4	104.7649	156.4314	8.8397	49.3166
2	2	1	173.9970	174.7285	10.2066	0.42039
2	2	2	173.9970	188.5308	11.2772	8.3529
2	2	3	173.9970	159.7605	9.0839	8.182
2	2	4	173.9970	177.7062	10.4348	2.1318
2	3	1	176.2273	175.4088	10.2586	0.46445
2	3	2	176.2273	178.6050	10.5039	1.3492
2	3	3	176.2273	177.8187	10.4434	0.90304
2	3	4	176.2273	167.2156	9.638	5.1137

Tabela 2 – Comparativo da análise por região

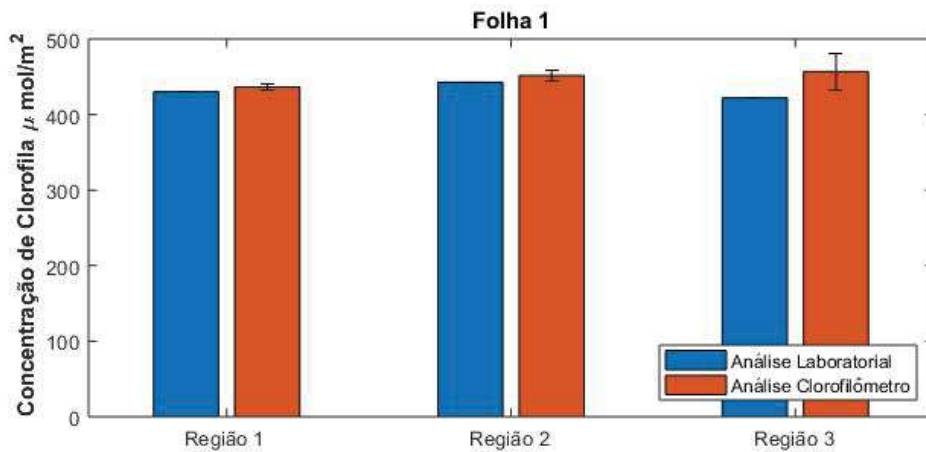
Folha 1			
Região	Chl ($\mu\text{mol}/\text{m}^2$)	Chl ($\mu\text{mol}/\text{m}^2$) (Clorofilômetro)	Erro %
1	430.1745	436.4851	1.467
2	442.7045	451.7407	2.041
3	422.2352	456.9474	8.221
Folha 2			
Região	Chl ($\mu\text{mol}/\text{m}^2$)	Chl ($\mu\text{mol}/\text{m}^2$) (Clorofilômetro)	Erro %
1	104.7649	157.0562	49.913
2	173.9975	175.1815	0.681
3	176.2273	174.7620	0.831

para a solução de DSMO.

A Tabela 3 fornece os dados por folha, assim foi calculado os valores médios de cada região para estimar a concentração de clorofila em cada folha. Na análise da folha 1 foi possível obter o resultado com maior precisão, apresentando apenas 3.865% de erro. Já na folha 2 o resultado apresentou um erro maior devido a leitura da região 1 dessa folha ter apresentado uma grande discrepância entre os valores de concentração de clorofila obtidos, porém desconsiderando essa região o resultado apresentado com essa folha possui apenas.

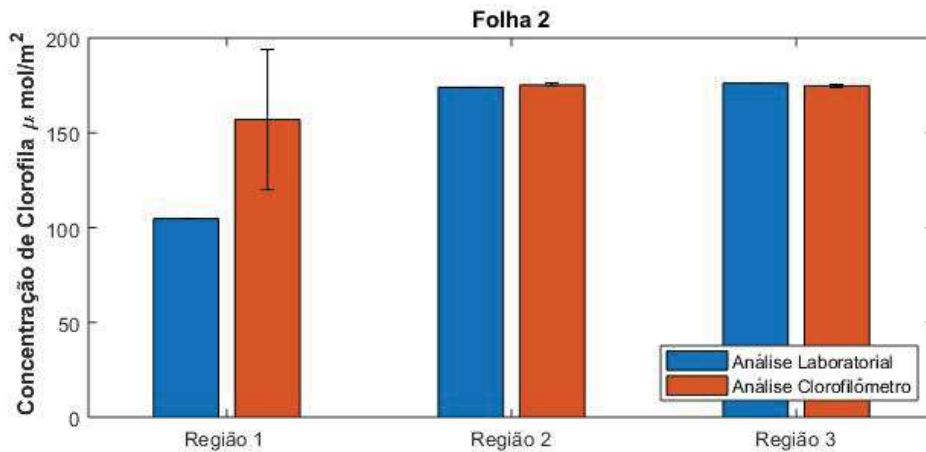
As demais diferenças entre os valores podem ser atribuídas ao comportamento da luz

Figura 26 – Comparação de métodos por região - Folha 1



Fonte: Autoria própria (2021).

Figura 27 – Comparação de métodos por região - Folha 2



Fonte: Autoria própria (2021).

Tabela 3 – Comparativo da análise por folha

Folha	Chl ($\mu\text{mol}/\text{m}^2$)	Chl ($\mu\text{mol}/\text{m}^2$) (Clorofilômetro)	Erro %
1	431.7047	448.3911	3.865
2 ¹	175.1122	174.9717	0.080

¹Valores desconsiderando a região 1 da folha 2 no cálculo.

quando atravessa a folha, pois a clorofila fica armazenada nos cloroplastos da planta, e cada planta possui uma disposição diferente desses cloroplastos fazendo com que a luz se propague de forma não uniforme até atingir o fotodiodo. Por isso é importante utilizar a equação correta de aproximação do teor relativo de clorofila (CCI) para concentração de clorofila, cada espécie possui sua curva de aproximação, de acordo com sua própria fisiologia e disposição da clorofila na folha (PARRY *et al.*, 2014).

5 CONCLUSÃO

A partir das pesquisas realizadas sobre o clorofilômetro, descobriu-se a relevância que este equipamento desempenha para determinar o teor da clorofila, pois sua utilização representa uma economia de tempo, dinheiro, além de proporcionar uma mobilidade de pesquisa para o usuário do equipamento, facilitando análises realizadas em campo.

Nas pesquisas realizadas para compreender o desenvolvimento do clorofilômetro, não foram encontrados trabalhos que explicam como acontece o processamento de dados responsável por interpretar os sinais de entrada do sistema para estimar a concentração de clorofila da folha analisada. Essa escassez de informações específicas, referente ao desenvolvimento do equipamento é natural, por se tratar de um produto comercial, de modo que os desenvolvedores não possuem o interesse em compartilhar pesquisas e descobertas que possam contribuir com o desenvolvimento de outros equipamentos similares em empresas concorrentes.

Desta forma, o desenvolvimento deste trabalho abordou metodologias para obter a concentração de clorofila em uma pimenteira de forma não invasiva, apresentando também resultados em termos do teor relativo de clorofila. O estudo e desenvolvimento desse clorofilômetro ofereceu uma base teórica para que novos aparelhos sejam desenvolvidos com uma maior facilidade, pois a etapa de maior complexidade na construção de um clorofilômetro é a aquisição e processamento dos sinais.

Os resultados obtidos com as análises se provaram satisfatórios, levando em consideração que o equipamento busca oferecer uma análise rápida e de forma não invasiva, portanto, o método utilizado cumpri os requisitos propostos, mesmo apresentando um erro em torno de 3% para a folha 1 e 0,8% para a folha 2, quando comparados ao resultados do método laboratorial.

Para trabalhos futuros, um estudo com uma ênfase no comportamento da luz na folha e no instrumento de leitura seriam relevantes para essa pesquisa, pois um aprimoramento na construção mecânica do instrumento de leitura pode otimizar a propagação da luz até a sua incidência no fotodiodo, esse aprimoramento pode refletir em uma precisão nos resultados. Além disso, seria válido testar outras equações de aproximação para outras espécies, como por exemplo para a soja e para o milho.

REFERÊNCIAS

AMADO, Telmo José Carneiro; MIELNICZUK, Joao; AITA, Celso. Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no rs e sc adaptada ao uso de culturas e cobertura do solo sob sistema plantio direto. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 26, n. 1, p. 241–248, 2002. Disponível em: www.lume.ufrgs.br/handle/10183/173099. Acesso em: 15 de abr. de 2019.

ARGENTA, Gilberto; SILVA, Paulo Regis Ferreira da; BORTOLINI, Clayton Giani; FORSTHOFER, Everton Leonardo; STRIEDER, Mércio Luiz. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2, p. 158–167, 2001. Disponível em: www.scielo.br/pdf/rbfv/v13n2/9365.pdf.

ARNON, Daniel. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenoloxidase in beta vulgaris. **PLANT PHYSIOLOGY**, v. 24, n. 1, p. 1–15, 1949.

BORRMANN, Daniela. **Efeito do déficit hídrico em características químicas e bioquímicas da soja e na degradação da clorofila, com ênfase na formação de metabólitos incolores**. 2009. Março 2001. 102 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) — Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009. Disponível em: <https://tecna.com.br/produtos/medidor-de-clorofila-portatil-spad-502-plus-konica-minolta/>. Acesso em: 19 de maio de 2019.

BREDEMEIER, Christian; MUNDSTOCK, Claudio Mario. Regulação de absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, v. 30, n. 2, p. 365–372, 2000.

BUNKER. **ESPECTROFOTÔMETRO UV-VIS - 190 A 1100NM**. 2019. Disponível em: <https://www.lojabunker.com.br/Espectrofotometro-UV-VIS-190-a-1100nm>. Acesso em: 19 de maio de 2019.

CRUZ, Jailson Lopes; PELACANI, Claudinéia Regina; CARVALHO, José Eduardo Borges de; SOUZA FILHO, Luiz Francisco da Silva; QUEIROZ, Dyane Coelho. Níveis de nitrogênio e a taxa fotossintética do mamoeiro “golden”. **Ciência Rural**, v. 37, n. 1, p. 64–71, 2007. Disponível em: repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/15877. Acesso em: 26 de abr. de 2019.

ENGEL, Vera Lex; POGGIANI, Fabio. Study of foliar chlorophyll concentration and its light absorption spectrum as related to shading at the juvenile phase of four native forest tree species. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 3, p. 39–45, 01 1991.

FALKER. **Clorofilog medidor eletrônico de teor de clorofila**. 2015. Disponível em: www.falker.com.br/produto-clorofilog-medidor-clorofila.php. Acesso em: 15 de abr. de 2019.

HALLIDAY, David; HESNICK, Robert; WALKER, Jearl. **Fundamentos de Física: óptica e física moderna**. 8ª. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2009. Tradução e revisão técnica Ronaldo Sérgio de Biasi.

JESUS, Simone Verdes de; MARENCO, Ricardo Antonio. O spad-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 4, p. 815–818, 2008. Disponível em: repositorio.inpa.gov.br/handle/123/3531. Acesso em: 10 de abr. de 2019.

JUNIOS, Enes Furlani; NAKAGAWA, Julio; BULHOES, Luciano José; MOREIRA, José Aluisio Alves; GRASSI FILHO, Hélio. Correlação entre leituras de clorofila e níveis de nitrogênio aplicados em feijoeiro. **Instituto Agrônomo de Campinas**, v. 55, n. 1, p. 171–175, 1996.

KINGBRIGHT. **T-1 (3mm) Solid State Lamp**. 2019. Disponível em: <https://html.alldatasheet.com/html-pdf/743653/KINGBRIGHT/WP710A10LSRD/1827/3/WP710A10LSRD.html>. Acesso em: 04 de jun. de 2019.

LIMA, Charles Borges de; VILLAÇA, Marco V. M. **AVR e Arduino: técnicas de projeto**. 2ª. ed. Florianópolis: dos autores, 2012.

MAIA, Suelen Cristina Mendonça; SORATTO, Rogério Peres; NASTARO, Beatriz; FREITAS, Lucas Barbosa de. The nitrogen sufficiency index underlying estimates of nitrogen fertilization requirements of common bean. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, scielo, v. 36, p. 183 – 192, 02 2012. ISSN 0100-0683. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-06832012000100019&nrm=iso. Acesso em: 13 de fev. de 2020.

MALVINO, Albert Paul. **Eletrônica**. 4. ed. São Paulo: Pearson Education, 1997. V. 2.

MARTÍNEZ, Miguel; MARQUEZ, Jose Andujar; ENRIQUE, Juan. A new and inexpensive pyranometer for the visible spectral range. **Sensors (Basel, Switzerland)**, v. 9, p. 4615–34, 06 2009. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/221979931_A_New_and_Inexpensive_Pyranometer_for_the_Visible_Spectral_Range. Acesso em: 20 de out. de 2019.

NASCIMENTO, Antônio Ricardo Zaninelli do; ALMEIDA, José Carlos Juliano de; FERREIRA, Elnatan Chagas; AVILEZ FILHO, Oséas Valente de; MATTEI, André Luis Pierre. Circuito amplificadores de transimpedância integrados a fotodiodos. **Revista Científica Periódica - Telecomunicações**, v. 02, n. 02, p. 32–39, 1999. Disponível em: <https://www.inatel.br/revista/downloads/marco-setembro-1999-s883750-1/223-circuitos-amplificadores-s233965-1/file>. Acesso em: 20 de out. de 2019.

NOGUEIRA, Natiélia O; MARTINS, Lima D.; TOMAZ, Marcelo A.; ANDRADE, Felipe V.; PASSOS, Renato R. Teor de nitrogênio, clorofila e relação clorofila-carotenoide

em café arábica em solo submetido a diferentes corretivos de acidez. **Agrária - Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 3, p. 390–395, 2013. Disponível em: www.sbicafe.ufv.br/handle/123456789/11140. Acesso em: 15 de abr. de 2019.

PARRY, Christopher; BLONQUIST JR, J. Mark; BUGBEE, Bruce. In situ measurement of leaf chlorophyll concentration: analysis of the optical/absolute relationship. **Plant, Cell & Environment**, v. 37, n. 11, p. 2508–2520, 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/pce.12324>.

PORRA, Robert. J.; THOMPSON, William A.; KRIEDEMANN, Paul E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls *a* and *b* extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. **Biochimia et Biophysica Acta**, p. 384 – 394, 04 1989.

RICHARDSON, Andrew D.; DUGAN, Shane P.; BERLYN, Graeme P. Blackwell science ltd an evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. **New Phytologist**, v. 153, p. 185–194, 2002.

SCHEPERS, James S; BLACKMER, Tracy M; FRANCIS, Dennis D. **Handbook of Reference Methods for Plant Analysis**. Florida-EUA: CRC Press LLC, 2000.

SENA JUNIOR, Darly G. de; PINTO, Francisco de A. de C.; QUEIROZ, Daniel M. de; SANTOS, Nerilson T.; KHOURY JUNIOR, Joseph K. Discriminação entre estágios nutricionais na cultura do trigo com técnicas de visão artificial e medidor portátil de clorofila. **Engenharia Agrícola**, v. 28, n. 1, p. 187–195, 2008. Disponível em: www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=SCBR.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mf=011968. Acesso em: 15 de abr. de 2019.

SILVEIRA, Pedro Marques da; BRAZ, Antônio Joaquim Braga Pereira; DIDONET, Agostinho Dirceu. Uso do clorofilômetro como indicador da necessidade de adubação nitrogenada em cobertura no feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasil**, v. 38, n. 9, p. 1083–1087, 2003.

SOARES, Rafael Ribeiro da Silva. **Estudo de propriedades da Clorofila *a* e da Feofitina *a* visando a Terapia Fotodinâmica**. 2006. Abril 2019. 81 p. Dissertação (Mestrado em Química) — Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2006.

SPECTRUM TECHNOLOGIES INC. **SPAD 502 Plus Chlorophyll Meter**. [S.l.], 2009. 23 p. Disponível em: https://www.specmeters.com/assets/1/22/2900P_SPAD_502.pdf. Acesso em: 15 de abr. de 2019.

STREIT, Nivia Maria; CANTERLE, Liana Pedrolo; CANTO, Marta Weber do; HECKTHEUER, Luísa Helena Hycheki. As clorofilas. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 748–755, 2005. Disponível em: www.redalyc.org/html/331/33135343/. Acesso em: 10 de abr. de 2019.

TAIZ, Lincoln; ZEIGER, Eduardo. **Fisiologia Vegetal**. 3ª. ed. Porto Alegre: ARTMED, 2004. 139-160 p.

TECNAL. **Medidor de clorofila portátil SPAD-502-PLUS**. 2019. Disponível em: <https://tecnal.com.br/produtos/medidor-de-clorofila-portatil-spad-502-plus-konica-minolta/>. Acesso em: 19 de maio de 2019.

THOMAZINI, Daniel; ALBUQUERQUE, Pedro Urbano Braga de. **Sensores Industriais: fundamentos e aplicações**. 7ª. ed. São Paulo: Érica LTDA, 2010.

VIANA, Eloise Mello. **Interação de nitrogênio e potássio na nutrição, no teor de clorofila e na atividade da reutase do nitrato em plantas de trigo**. 2007. 2007. 95 p. Dissertação (Solos e Nutrição de Plantas) — Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

VISHAY. **Silicon PIN Photodiode**. 2019. Disponível em: www.vishay.com. Acesso em: 20 de out. de 2019.

WELLBURN, Allan R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Plant Physiol**, v. 144, p. 307 – 313, 03 1994.