



Universidade Estadual de Maringá

Pós-graduação em Física

Franciana Pedrochi

ESTUDO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS “IN VITRO” E “IN VIVO” UTILIZANDO A ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA

Orientador: Prof. Dr. Mauro Luciano Baesso

Maringá-Pr, Maio de 2004

"La muerte no es verdad cuando se ha cumplido bien la obra de la vida"

José Martí

*Dedico carinhosamente à Jucimara
Gomes “in memoriam”, pelo grande carinho
e amizade em vida.*

Agradecimentos

Aos meus pais, Osmar Solan Pedrochi e Mercedes Anaia Pedrochi, pela educação, amor, dedicação e por sempre me permitirem reger minha vida;

Ao Antonio Portilho Pedrochi, por ser mais que um avô;

À Vida e ao que há de Maior, pelas oportunidades;

Aos meus queridos irmãos, Wellen Eder Pedrochi e Osmar Pedrochi Junior, por acreditarem em mim;

Ao Alysso Steimacher pelo amor, companheirismo, compreensão e principalmente pela paciência;

À Cynthia C. Correia e Layza Fialho Soares pela compreensão e amizade, e em especial à Patrícia Rodrigues da Silva pela amizade e companheirismo de tantos anos;

Às grandes amigas que conquistei durante a graduação, em especial aos queridos Andreza Destefano, Ademar M. C. Filho e Nelson G. C. Astrath, pela companhia em tantos momentos, Kleto M. Zan, Gustavo M. Dearo Simonetti, Lara F. Mantovani e Sabrina Camargo por serem tão especiais;

Ao Marcos Cesar Danhoni Neves, pelo carinho e amizade, pelas lições de vida e luta e pelo imenso aprendizado;

Aos professores e amigos, César C. Colucci, José Carlos de Souza, Luiz Roberto Evangelista, Edivânia Godói, Rênio S. Mendes, Alice Iramina e Polônia Altoé Fusinato;

Aos Professores Antonio Medina Neto e Antonio Carlos Bento, pela ajuda em todas as horas e principalmente pela amizade;

Aos amigos do GEFF, em especial à Daniele T. Dias, Tânia Coelho, Jurandir H. Rohling, Paulo R. Pedreira, Otávio A. Sakai e Elderi Nogueira;

Ao Professor Valdecir A. Dalpasquale e à Maria de Lourdes S. Luz, do DAG-UEM, pelo fornecimento das amostras de milho e a realização das medidas de Karl Fischer;

Ao Professor Mauro Luciano Baesso, pela orientação, dedicação, amizade e principalmente pela confiança em meu trabalho.

A todos, muito obrigada!

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| SUMÁRIO | V |
| Resumo | XI |
| Abstract | XII |
| CAPÍTULO 1..... | 13 |
| INTRODUÇÃO | 13 |
| CAPÍTULO 2EQUATION CHAPTER 2 SECTION 1 | 17 |
| ASPECTOS HISTÓRICOS E INTRODUÇÃO DE PARÂMETROS TEÓRICOS | 17 |
| 2.1 Um pouco da História do efeito fotoacústico | 17 |
| 2.2 Efeito Fototérmico..... | 18 |
| 2.3 Efeito Fotoacústico | 21 |
| 2.4 A Luz e a MatériaEquation Chapter 2 Section 5..... | 25 |
| 2.5 Uma breve introdução à Termodinâmica Equation Chapter 2 Section 6... | 27 |
| CAPÍTULO 3..... | 30 |
| TEORIA DO EFEITO FOTOACÚSTICO E MÉTODOS DE ANÁLISE..... | 30 |
| 3.1 A Célula para Espectroscopia FotoacústicaEquation Chapter 3 Section 1 | 30 |
| 3.2 Produção de Calor na Amostra- Equação de difusão térmica Equation Chapter 3 Section 2..... | 33 |
| 3.3 Equação Geral de Difusão Equation Chapter 3 Section 3..... | 34 |
| 3.4 Sinal Fotoacústico Equation Chapter 3 Section 4..... | 37 |
| 3.5 Perfil de ProfundidadeEquation Chapter 3 Section 5 | 41 |
| 3.6 Metodologia Experimental para a Espectroscopia Fotoacústica Equation Chapter 3 Section 6..... | 43 |
| 3.7 Técnicas de Medidas de Capacidade TérmicaEquation Chapter 3 Section 7 | 45 |
| CAPÍTULO 4..... | 49 |
| FISIOLOGIA DO MILHO E ESTRUTURA DA PELE – ASPECTOS GERAIS | 49 |
| 4.1 Milho (Zea mays) Equation Chapter 4 Section 1 | 49 |
| 4.2 Métodos para a determinação de umidade e secagem de grãos Equation Chapter 4 Section 2..... | 51 |

| | | |
|--|------------------------------|-----------|
| 4.3 Pele Humana e os danos causados pelo Sol | Equation Chapter 4 Section 3 | 53 |
| 4.4 Proteção Solar | | 57 |
| CAPÍTULO 5 | | 59 |
| PROCEDIMENTOS E MONTAGENS EXPERIMENTAIS | | 59 |
| 5.1 Preparação das Amostras de Milho (Zea mays) | Equation Chapter 5 Section 1 | 59 |
| 5.2 Montagem Experimental para Medidas de Espectroscopia Fotoacústica com Célula Fechada | Equation Chapter 5 Section 2 | 60 |
| 5.3 Montagem Experimental e Procedimento para as Medidas de Calor Específico | | 62 |
| 5.4 Preparação e Montagem para as Medidas “in vivo” | Equation Chapter 5 Section 4 | 64 |
| CAPÍTULO 6 | | 66 |
| RESULTADOS E DISCUSSÕES | | 66 |
| 6.1 Medidas e ajustes para as amostras de milho | Equation Chapter 6 Section 1 | 66 |
| 6.2 Medidas com protetor solar | | 79 |
| 6.2.1 Determinação da resposta espectral dos produtos | | 79 |
| 6.2.2 Medidas “in vivo” | | 80 |
| 6.2.3 Ajustes e Tratamento Estatístico | | 84 |
| CAPÍTULO 7 | | 89 |
| CONCLUSÕES | | 89 |
| Apêndice A | | 91 |
| A-1 Condução de Calor-Dedução da equação da difusão de calor | Equation Chapter 1 Section 1 | 91 |
| Apêndice B | | 93 |
| B-1 Bandas “overtones” | Equation Chapter 2 Section 1 | 93 |
| B-2 Transmitância e absorbância | | 93 |
| Referências bibliográficas | | 95 |

Índice de Figuras

| | |
|---|----|
| Fig. 2.1: Processos de decaimento para a geração de calor na amostra. | 19 |
| Fig. 2.2: Fenômeno fototérmico devido à iluminação superficial utilizando uma fonte de luz modulada. | 20 |
| Fig. 2.3: A absorção óptica é determinada pela distância l_p que a radiação luminosa penetra na amostra. | 22 |
| Fig. 2.4: Difusão térmica. | 23 |
| Fig. 2.5: Expansão térmica. | 24 |
| Fig. 2.6: Flexão Termoelástica. | 24 |
| Fig. 3.1: Esquema de uma célula fotoacústica convencional. | 31 |
| Fig. 3.2: Representação vetorial (fasorial) do sinal fotoacústico ^[18] | 40 |
| Fig. 3.3: Esquema da incidência de feixes luminosos sobre uma grade de difração. | 44 |
| Fig. 4.1: Estrutura do grão de milho. | 50 |
| Fig. 4.2: Camadas estruturais da pele: Epiderme, derme e hipoderme. | 55 |
| Fig. 4.3: A radiação UVA (ultravioleta A) penetra mais profundamente na pele, chegando até a derme. | 56 |
| Fig. 5.1: Arranjo experimental da Espectroscopia Fotoacústica para medidas “in vitro”. | 61 |
| Fig. 5.2: Detalhe da célula fotoacústica para medidas “in vitro”. | 62 |
| Fig. 5.3: Montagem experimental para medidas de C_p , com detalhe do substrato. | 63 |
| Fig. 5.4: Arranjo experimental da Espectroscopia Fotoacústica para medidas “in vivo”. | 65 |
| Fig. 5.5: Detalhe da célula fotoacústica para medidas “in vivo”. | 65 |
| Fig. 6.1: Evolução do valor da massa do milho dissecado em função do tempo de exposição ao ar. | 67 |
| Fig. 6.2: Espectros de absorção na região do infravermelho próximo das amostras 3 e 4 com umidades de 13,7%. | 67 |
| Fig. 6.3: Espectros de absorção para as amostras de 13,7% de umidade na região do infravermelho médio. | 68 |
| Fig. 6.4: Espectros de absorção para as amostras de 17,1% de umidade na região do infravermelho médio. | 69 |
| Fig. 6.5: Espectros de absorção para as amostras de 14,6% de umidade na região do infravermelho médio. | 70 |
| Fig. 6.6: Espectros de absorção para as amostras de 20,8% de umidade na região do infravermelho médio. | 70 |

| | |
|--|----|
| <i>Fig. 6.7: Diferença entre as amplitudes dos picos referentes à água livre em espectros de amostras com processos de secagem diferentes.</i> | 71 |
| <i>Fig. 6.8: Espectro fotoacústico e ajuste gaussiano para a amostra 5 com 13,7% de umidade</i> | 71 |
| <i>Fig. 6.9: Valor médio das razões entre as áreas dos picos: 2(água livre) e 4(pico constante); 3(água estrutural) e 4(pico constante).</i> | 73 |
| <i>Fig. 6.10: Taxas de variação dos valores obtidos pelo método Karl Fischer e pela PAS.</i> | 74 |
| <i>Fig. 6.11: Evolução temporal do pico da água livre na região do infravermelho médio.</i> | 75 |
| <i>Fig. 6.12: Ajuste dos espectros de evolução da umidade em função do tempo.</i> | 75 |
| <i>Fig. 6.13: Evolução temporal da umidade para a amostra dissecada na região do infravermelho médio.</i> | 76 |
| <i>Fig. 6.14: Espectros de absorção da amostra dissecada em de 0 e 60 minutos de exposição ao ar da sala.</i> | 76 |
| <i>Fig. 6.15: Ajuste dos espectros de absorção em uma amostra de milho dissecado em função do tempo de exposição ao ar da sala.</i> | 77 |
| <i>Fig. 6.16: Medidas de calor específico em função da umidade das amostras de milho; os valores médios da área para a banda da água livre obtidos com a fotoacústica são mostrados novamente para comparação.</i> | 77 |
| <i>Fig. 6.17: Variação dos valores de calor específico medidos e calculados.</i> | 78 |
| <i>Fig. 6.18: Espectros de absorção dos produtos MR2003A, MR2003B e MR2003C, com a frequência de modulação em 40Hz, aplicados sobre a lâmina de vidro.</i> | 79 |
| <i>Fig. 6.19: Espectros de transmissão dos produtos MR2003A, MR2003B e MR2003C, alisados com 10 pontos.</i> | 80 |
| <i>Fig. 6.20: Espectro fotoacústico “in vivo”, obtido no voluntário “Ren”.</i> | 81 |
| <i>Fig. 6.21: Espectro fotoacústico do produto MR2003A “in vivo” para o voluntário “FeS” que apresentou uma rápida penetração do produto.</i> | 82 |
| <i>Fig. 6.22: Intensidade do sinal fotoacústico em 330nm em função do tempo, de forma continuada.</i> | 83 |
| <i>Fig. 6.23: Foto da mudança de cor da pele induzida pela luz. Mancha de aproximadamente 5mm de diâmetro, localizada próximo ao centro do foco.</i> | 83 |
| <i>Fig. 6.24: Ajuste exponencial do valores de área dos espectros do produto MR2003C aplicado no voluntário “Al”.</i> | 85 |
| <i>Fig. 6.25: Comportamento linear da área sob a curva de absorção em função do tempo de aplicação do produto MR2003B, voluntário “Ren”.</i> | 85 |
| <i>Fig. 6.26: Taxa de penetração dos produtos para cada um dos voluntários e seus valores médios.</i> | 86 |

Fig. 6.27: Média da taxa de penetração dos três produtos para cada voluntário..... 86
Fig. 6.28: Valores médios da taxa de penetração para cada um dos protetores. 87

Índice de Tabelas

| | |
|--|-----------|
| <i>Tabela 1: Parâmetros fototérmicos utilizados.....</i> | <i>32</i> |
| <i>Tabela 2: Casos limites do efeito fotoacústico.</i> | <i>43</i> |
| <i>Tabela 3: Sensibilidade e reação a radiação ultravioleta^[3].....</i> | <i>57</i> |
| <i>Tabela 4: Relação FPS/Retenção de raios UVB em %^[31].....</i> | <i>58</i> |
| <i>Tabela 5: Bandas de absorção do espectro na região do infravermelho médio.</i> | <i>69</i> |
| <i>Tabela 6: Parâmetros do ajuste com funções gaussianas para os espectros fotoacústicos das amostras de milho na região do infravermelho médio.....</i> | <i>72</i> |

Resumo

Neste trabalho, utilizamos a Espectroscopia Fotoacústica para determinar: 1) A umidade de grãos de milho e 2) A penetração de três protetores solares na pele humana *“in vivo”*.

No primeiro estudo, analisamos amostras de milho pipoca com diferentes teores de umidade. A partir da comparação qualitativa com dados obtidos com o Método Karl Fischer, método de referência para medidas de umidade de cereais, mostramos a eficiência da Fotoacústica para a determinação da umidade do milho. Utilizamos como medidas complementares dados de calor específico das amostras, obtidos por calorimetria de relaxação térmica, dados estes que também apresentaram boa concordância com os valores de referência.

Para o estudo na pele humana *“in vivo”*, utilizamos a Espectroscopia Fotoacústica na análise de três protetores solares. Através deste estudo, pudemos comprovar a diferenciação entre os produtos em termos da taxa de propagação e distribuição das substâncias através da pele.

Os resultados demonstram que esta técnica foi capaz de diferenciar os três protetores solares em termos da taxa de propagação e distribuição na pele. Sendo portanto de grande valia para estudos *“in vivo”*.

Abstract

In this work the Photoacoustic Spectroscopy was used to determine: 1) The moisture content of corn grain and 2) The penetration of three different sunscreens into the human skin "*in vivo*".

In the first study, samples of popcorn with different degree of moistures were analyzed. The optical absorption bands at the mid infrared were measured using photoacoustic spectroscopy and were correlated to the sample moisture. The results were in agreement with moisture data determined by the well known reference method, the Karl Fischer. In addition, the thermal relaxation method was used to determine the sample specific heat as a function of the moisture content. The results were also in agreement with the two mentioned methods.

In the second study, the Photoacoustic Spectroscopy was employed to evaluate the penetration rate of three different sunscreens into the human skin "*in vivo*". The results showed not only the reduction of the sunscreens in the skin surface, the depth profile, but also permitted to discriminate the penetration rates between the products, which was done through an statistical treatment of the data. The results of this work reinforce the ability of the photoacoustic spectroscopy for "*in vivo*" measurements, suggesting that new experiments to evaluate the influence of individual characteristics related to the sunscreen penetration rate are needed.

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

A determinação do grau de umidade dos cereais é de extrema importância tanto no que se refere à conservação dos mesmos, quanto na definição do seu valor comercial.

Sabe-se que a umidade diminui a qualidade e o tempo de validade dos grãos. Além disso, as normas de comercialização permitem que os compradores de cereais (iniciativa privada, estatais, cooperativas) subtraiam a taxa de umidade dos grãos entregues pelos produtores, o que pode acarretar prejuízos para os mesmos, uma vez que os métodos utilizados por estes agentes para a avaliação da umidade dos cereais não são suficientemente precisos.

O milho (*Zea mays*) é uma das plantas mais cultivadas no mundo. Sua cultura, atualmente, é possível desde o Equador até o limite das terras temperadas e desde o nível do mar até altitudes superiores a 3.600m^[1].

No Brasil não é diferente. A cultura do milho encontra-se amplamente disseminada tanto devido à sua multiplicidade de usos na propriedade rural quanto à tradição de cultivo deste cereal pelos agricultores brasileiros. A partir do início da década de 70 até recentemente, em face de fatores como o crescimento da indústria de rações e das atividades de criação (principalmente avicultura, suinocultura e pecuária leiteira), o consumo interno de milho cresceu consideravelmente.

Os grãos utilizados na alimentação humana ou animal (ração), ditos grãos comerciais, necessitam de alguns cuidados indispensáveis para o seu beneficiamento, um deles e talvez um dos mais importantes, se refere ao controle da umidade.

Vários métodos para a obtenção do teor de umidade em grãos são conhecidos e estes podem ser divididos em métodos diretos e indiretos. Os métodos indiretos utilizam como parâmetro propriedades físicas dos grãos e sementes que são dependentes do teor de umidade, dentre elas estão as propriedades elétricas, como capacitância e condutividade

elétricas. Os métodos diretos, ou métodos de estufa, têm seus resultados dependentes da combinação entre tempo e temperatura de secagem. São considerados básicos e estão sujeitos à calibração por métodos de referência, como o método Karl Fischer. Baseiam-se na perda de água da amostra, de massa conhecida, através do aquecimento em estufa^[2].

Atualmente o método mais utilizado por cooperativas, empresas da iniciativa privada e estatais na recepção, classificação e comercialização dos principais grãos produzidos no Brasil, é aquele que determina a umidade com base na capacitância elétrica. Este método, chamado de determinador de umidade universal é de origem norte americana e foi largamente utilizado nos EUA por volta da década de 50 e abandonado no início da década seguinte, devido à sua ineficiência^[2].

No geral, a calibração dos métodos existentes é feita utilizando-se o método conhecido como Karl Fischer, que é considerado como método de referência. Neste método a amostra é submetida a um reagente químico que por sua vez reage apenas com a água e não com outras substâncias que porventura venham a ser liberadas pela semente por ocasião da moagem.

O que torna inviável a utilização em larga escala do método Karl Fischer é a sua demora no processo de determinação da porcentagem de umidade e o fato de ser um método destrutivo. Desta forma, considerando a importância sócio-econômica deste tema é altamente relevante que sejam desenvolvidos novos métodos mais precisos para a determinação da umidade dos grãos. Considerando que as bandas de absorção óptica da água na região do infravermelho são bem conhecidas, técnicas de espectroscopia óptica, como a Espectroscopia Fotoacústica (PAS), são extremamente promissoras para o estudo da umidade de grãos.

A preocupação com doenças cutâneas provocadas pela exposição ao sol cresce a cada dia, principalmente pelo fato de estarmos mais expostos à radiação solar devido à diminuição da camada de ozônio que envolve a Terra.

A pele possui um papel fundamental na fisiologia do corpo humano. Dentre suas principais funções estão a proteção do corpo às toxinas, à variações bruscas de temperatura e à perda excessiva de água. É composta por camadas que juntas formam um sistema complexo com estruturas microscópicas, dinâmicas e variáveis. Estas camadas são chamadas de córnea, epiderme, derme e hipoderme.

Dentre as funções da pele, pode-se dizer que uma das mais importantes, é a proteção do organismo contra a radiação solar. No entanto, a própria pele pode sofrer danos muito sérios devido à exposição ao sol. Os raios solares podem produzir alterações na pele, como: eritema (vermelhidão), pigmentação, queimaduras de primeiro e segundo grau, envelhecimento precoce e até mesmo câncer de pele^[3].

Uma das maneiras que o homem encontrou para se proteger do sol é o uso dos protetores solares (filtros solares, bloqueadores solares ou fotoprotetores). No entanto, apesar de todas estas aparentes vantagens no uso dos produtos para proteção solar, os processos físico-químicos que ocorrem entre a pele e as substâncias nela aplicadas não são bem entendidos, principalmente quando a radiação incidente é a ultravioleta. Além disso, ainda não se sabe como os cremes interagem com os componentes da pele quando da propagação dos mesmos através de suas camadas.

Os protetores disponíveis no mercado, normalmente trazem nas embalagens o fator de proteção solar (FPS), que varia de 4 a 70. No entanto, existe uma grande controvérsia em relação à eficácia dos produtos com níveis inferiores a 8 (fator mínimo recomendado pela FDA – Food and Drug Administration), assim como os superiores a 30^[4]. Os fatores muito baixos, segundo os dermatologistas, não garantem proteção mínima adequada e os fatores acima de 30 oferecem uma variação muito pequena no percentual de proteção. Sabe-se também que o FPS refere-se apenas à incidência de raios UVB. Ainda não foi definido um índice-padrão internacional para a proteção UVA, embora na maioria dos países desenvolvidos os produtos já venham com essa discriminação, determinada por um percentual.

A PAS tem sido amplamente utilizada não só na Física, como também na Química, Biologia, Medicina e Engenharia. Isto porque esta técnica possui algumas vantagens, sobre a espectroscopia convencional (de transmissão, reflexão e espalhamento). Uma destas diferenças (ou vantagens), é que a espectroscopia fotoacústica é uma medida direta da absorção (mede apenas a radiação absorvida que relaxa na forma de calor), de forma que a luz transmitida, refletida ou espalhada não interfere nas medidas. Assim, a técnica fotoacústica pode ser aplicada no estudo de materiais opacos, pouco absorvedores, géis, na forma de pó ou amorfos, que são materiais onde a espectroscopia óptica convencional não é adequada.

Outra diferença é que o detector de radiação na espectroscopia fotoacústica é a própria amostra, o que significa que a técnica pode ser usada em qualquer intervalo do espectro eletromagnético. Além disso, permite estudar não só propriedades ópticas do material como também as propriedades térmicas, e mais que isso, ela tem a capacidade única de permitir a análise do perfil de profundidade dos componentes absorvedores da amostra. Isto porque a espessura atingida na amostra depende da difusividade térmica da mesma e da frequência de modulação da luz empregada na geração do sinal fotoacústico.

Outra importante vantagem da espectroscopia fotoacústica consiste no fato de que esta é uma técnica não destrutiva e que, sobretudo, permite a realização de estudos em

sistemas biológicos *“in vivo”* de forma não invasiva, como por exemplo estudos da propagação de substâncias através da pele humana.

Portanto, os objetivos deste trabalho são:

1) Utilizar a Espectroscopia Fotoacústica para a determinação da umidade de grãos de milho e comparar os resultados com os métodos convencionais.

2) Utilizar a Espectroscopia Fotoacústica como método para a comprovação da eficácia de três diferentes protetores solares, avaliando *“in vivo”* a taxa de propagação dos mesmos na pele humana.

ASPECTOS HISTÓRICOS E INTRODUÇÃO DE PARÂMETROS TEÓRICOS

2.1 Um pouco da História do efeito fotoacústico

O efeito fotoacústico foi descoberto em 1880 por Alexander Graham Bell^[5] que na ocasião trabalhava em seu fonofone. Bell percebeu que a incidência de luz solar modulada (a 1000 Hz) num sólido em forma de diafragma conectado a um tubo produzia um som audível. Posteriormente, Bell estudou o efeito fotoacústico em líquidos e gases e concluiu que, “a natureza dos raios que produzem efeitos sonoros em substâncias diferentes depende da natureza das substâncias que são expostas à radiação, e que os sons são em cada caso devidos aos raios do espectro que são absorvidos pelo corpo”. Segundo sua dedução, a intensidade do sinal fotoacústico dependia da quantidade de luz absorvida pelo material na célula e o efeito fotoacústico em sólidos era dependente da absorção de luz.

No século XIX, sabia-se que o aquecimento de um gás (através da absorção de luz) numa câmara fechada gerava mudanças de pressão e volume no mesmo. Lord Rayleigh^[6] acreditava que o efeito se devia a um movimento mecânico no sólido. Ainda em 1881, afirmou que “a fonte primeira do sinal fotoacústico, em discos finos e flexíveis, era a vibração mecânica do disco como consequência do aquecimento desigual do mesmo, quando iluminado periodicamente”. Bell dizia que a luz modulada incidente numa amostra porosa expandia as partículas desta, provocando um ciclo de expulsão e reabsorção do ar nos poros. Rayleigh e Bell foram contestados por Preece^[7], que após suas experiências sugeriu a contração e a expansão do gás dentro da célula fotoacústica como sendo as causadoras do efeito. E. Mercadier^[8] concluiu que o aquecimento periódico fazia vibrar a

camada de gás em contato com a amostra. As duas últimas são as explicações que mais se aproximam da formulação atualmente aceita.

O sistema de detecção nos experimentos de Graham Bell era o próprio ouvido, o que tornava difícil a obtenção de dados quantitativos. A falta de detetores apropriados para o sinal fotoacústico transformou a descoberta em mera curiosidade. O interesse pelo estudo da fotoacústica só foi retomado com a invenção do microfone. Mesmo assim, as pesquisas na área se restringiram à aplicações em gases até 1973, quando se iniciaram estudos de espectroscopia em sólidos utilizando o efeito fotoacústico. Parker^[9], Rosencwaig^[10] e Gersho^[11] propuseram um modelo padrão de célula fotoacústica para amostras sólidas e desenvolveram toda a teoria que descreve o fenômeno. A partir dos experimentos demonstraram que o mecanismo básico responsável pelo surgimento do sinal fotoacústico era o fluxo periódico de calor entre a superfície da amostra e o gás contido na célula fotoacústica, se tratando, portanto, de um efeito fototérmico. Assim, a técnica passou a ser empregada nas mais diversas aplicações.

2.2 Efeito Fototérmico

Podemos observar efeitos fototérmicos em muitas situações em nossas vidas. Na praia, por exemplo, em horários de “Sol forte” é muito difícil caminharmos descalços na areia que estará muito quente. Isto se deve ao fato da areia absorver radiação solar e converter esta energia em calor. O calor adicionado resulta em um aumento de temperatura devido à capacidade térmica da areia ser muito baixa^[12]. Quando o calor é gerado mais rápido do que pode ser dissipado por mecanismos radiativos ou difusivos, a temperatura da areia aumenta. Portanto, a razão de dissipação de calor aumenta com a diferença de temperatura entre a superfície da areia, e o solo abaixo ou o ar acima dela. Sob condições de iluminação constante, a areia atinge uma temperatura de equilíbrio na qual a razão de geração de calor pelo efeito fototérmico é muito próxima da razão com a qual o calor é dissipado.

Portanto, podemos dizer que os efeitos fototérmicos são gerados pelo aquecimento de um material que ao absorver energia luminosa ou um feixe energético, converte a energia absorvida em calor. Esta geração de energia térmica pode ocorrer a partir de diversos processos de decaimento.

Os processos de decaimento não térmicos (fluorescência, fosforescência, fotoquímica, fotovoltaico, etc.) podem contribuir subsidiariamente para a geração de calor, de tal forma que as contribuições térmica e não térmica se somam produzindo calor na amostra

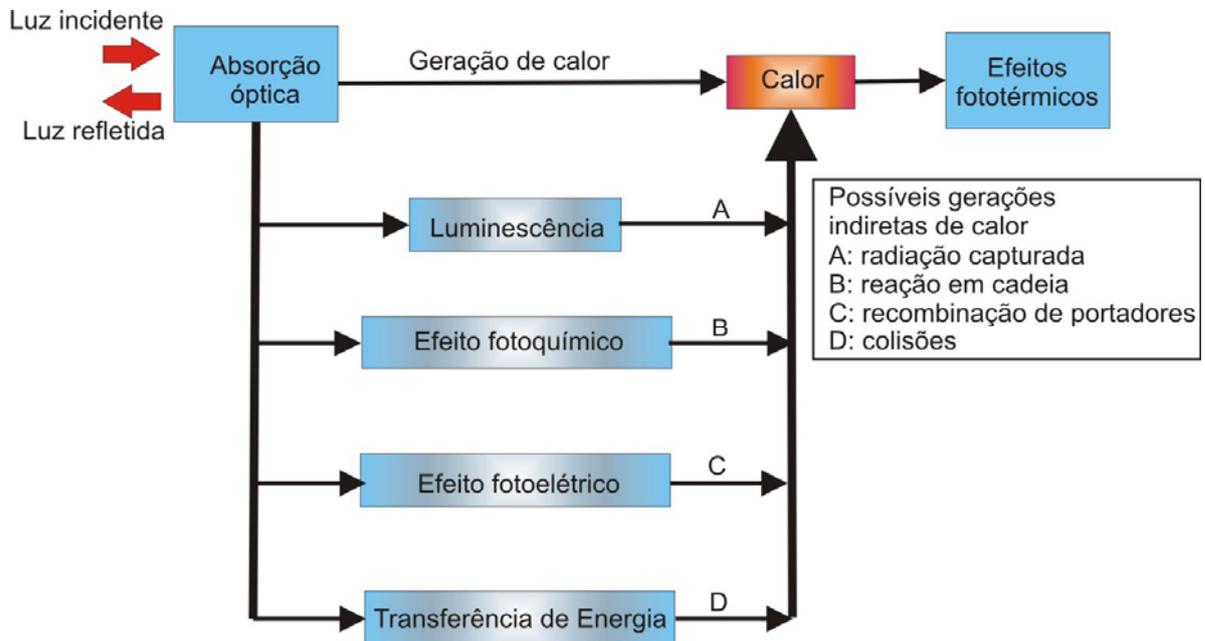


Fig. 2.1: Processos de decaimento para a geração de calor na amostra.

A flutuação de temperatura, resultado final do aquecimento fototérmico, pode ser detectada por transdutores específicos, gerando um sinal fototérmico ou um sinal fotoacústico.

O aquecimento fototérmico modulado pode resultar em muitos efeitos distintos na amostra, sendo que a forma de detecção está vinculada aos mecanismos de decaimento. Alguns desses efeitos são mostrados na Fig. 2.2.

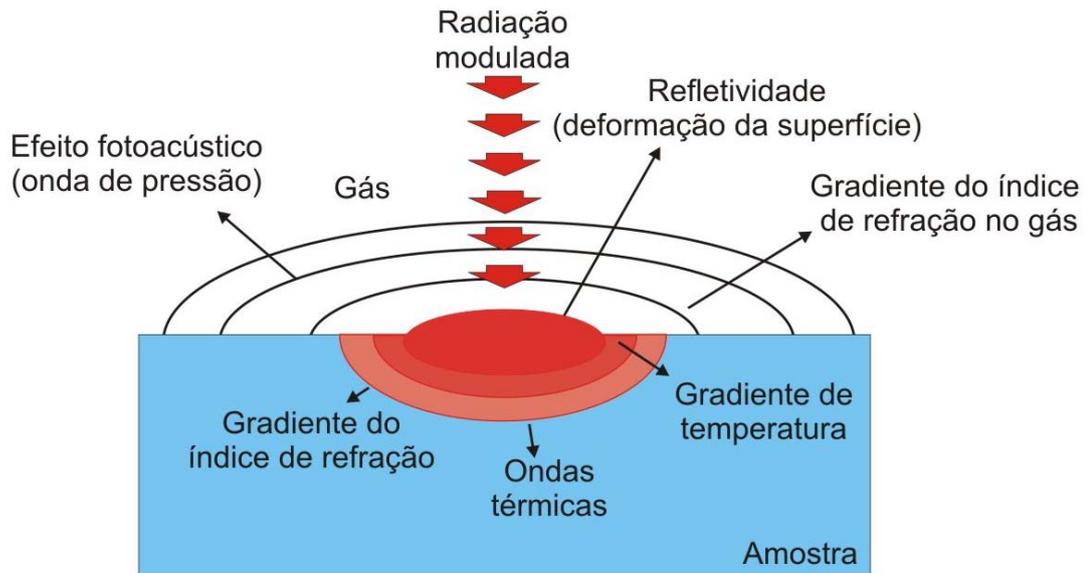


Fig. 2.2: Fenômeno fototérmico devido à iluminação superficial utilizando uma fonte de luz modulada.

Cada um desses efeitos gera uma ou mais técnicas de detecção fototérmica. No caso da fotoacústica, o sistema de detecção está em contato direto com a amostra, assim como na piezométrica^[12] e na fotopiroelétrica. Há outras técnicas em que o sistema de detecção não está em contato direto com a amostra, como é o caso das técnicas por deflexão de feixe, entre elas a lente térmica, o efeito miragem, a espectroscopia de microondas, a radiometria fototérmica infravermelha, o deslocamento superficial fototérmico, etc.

Nossos predecessores provavelmente tiveram um grande trabalho no estudo do efeito fototérmico muito antes de poderem aplicar e compreender conceitos mais abstratos como transmissão óptica, cores e outros fatores que os levaram às teorias modernas de espectroscopia. Muito do que hoje se sabe sobre efeito fototérmico foi desenvolvido durante o século XIX e outros avanços foram feitos simplesmente pelo reconhecimento e compreensão do que é hoje chamado de efeito fototérmico.

2.3 Efeito Fotoacústico

O efeito fotoacústico é gerado ao incidir-se um feixe de luz modulada na amostra que se quer analisar. Esta amostra deve estar dentro de uma célula fotoacústica fechada que contenha um gás, este gás podendo ser o próprio ar. A incidência da luz e sua absorção fazem com que haja uma excitação dos níveis internos de energia da amostra. Por um processo de desexcitação não radiativo, a radiação absorvida é transformada em energia térmica, ou seja, causa um aquecimento periódico local. Este aquecimento periódico da amostra gera uma onda de pressão no gás em contato com ela. Acoplado à câmara, há um microfone que detecta a variação da pressão no gás que resulta no sinal fotoacústico.

A obtenção de espectros de absorção óptica gerados pelo sinal fotoacústico devido à interação da matéria com uma radiação modulada de comprimento de onda conhecido caracteriza a Técnica Espectroscopia Fotoacústica.

A amostra não absorve totalmente a radiação eletromagnética que incide sobre ela. A luz que não é absorvida interage com o meio circunvizinho e é refletida de forma especular.

Da parte absorvida, uma fração interage imediatamente com as moléculas da superfície do material e o restante é absorvido gradativamente, interagindo com as camadas moleculares cada vez mais profundas. À medida que penetra na amostra o feixe luminoso tem sua intensidade diminuída. Esse enfraquecimento do feixe obedece a uma lei exponencial conhecida como Lei de Beer, e a distância de penetração do feixe na amostra, até que sua intensidade inicial se reduza ao valor de $1/e$, caracteriza a “absorção óptica do material”. O parâmetro l_{β} mede a absorção óptica da amostra, especificando seu caráter óptico, e é denominado de “comprimento de absorção óptica”. A Fig. 2.3 mostra a caracterização da amostra em função da distância l_{β} .

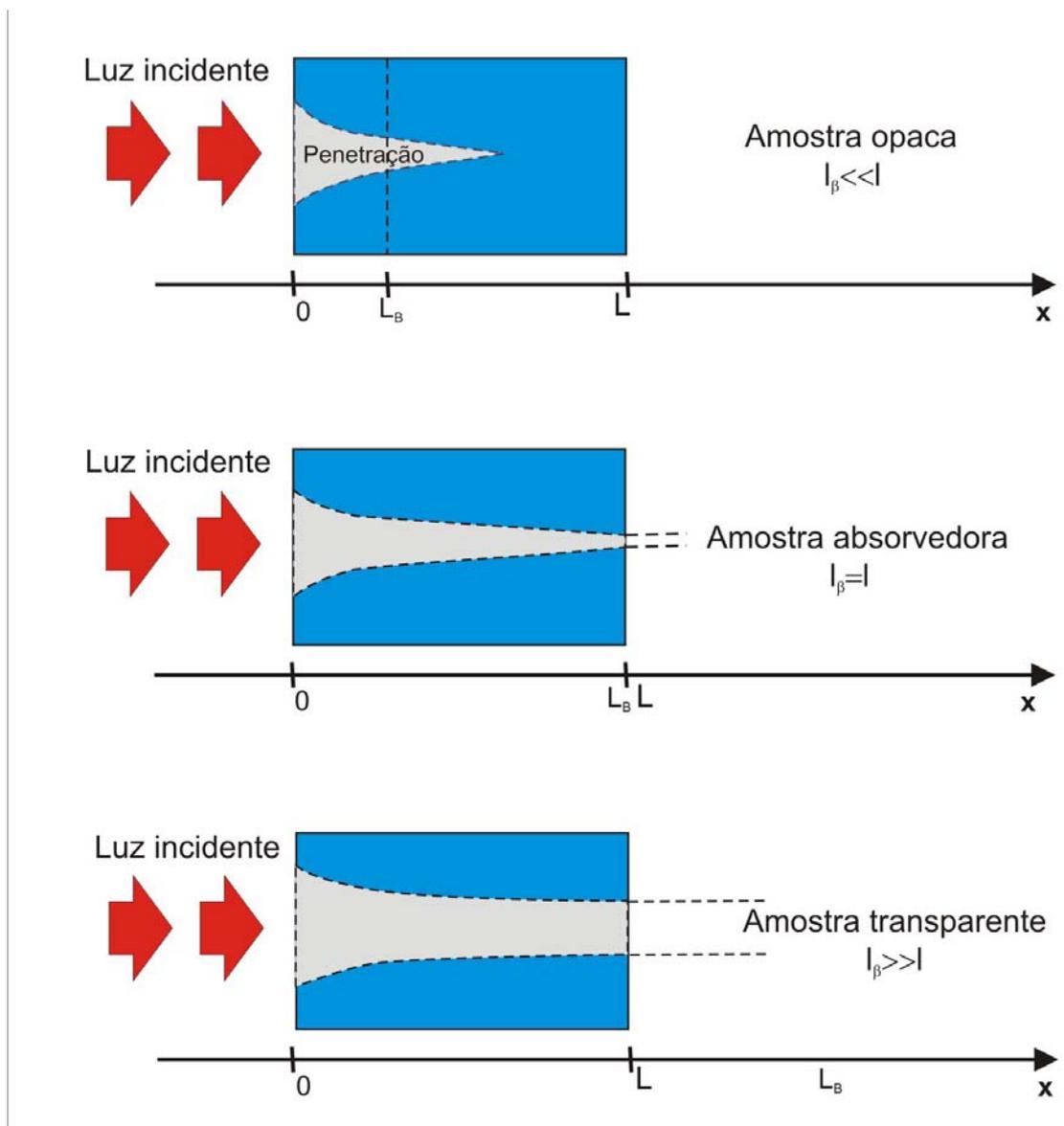


Fig. 2.3: A absorção óptica é determinada pela distância l_{β} que a radiação luminosa penetra na amostra.

Microscopicamente, a parte da radiação eletromagnética que é absorvida, no caso da luz visível ou ultravioleta, excita um estado eletrônico da molécula, e no caso da luz infravermelha, o estado excitado é o vibracional. O elétron excitado é promovido para os níveis mais elevados de energia, o que faz com que toda molécula seja excitada. O tempo de vida dos estados excitados de um átomo é muito curto. Em intervalos de tempo menores que 10^{-8} segundos, o elétron retorna ao estado fundamental, ocorrendo assim a desexcitação do átomo, liberando a energia absorvida. O processo de decaimento térmico, no qual uma grande parcela da energia absorvida é transferida para estados vibracionais

das moléculas, eleva a temperatura em um ponto da amostra. Isto só não ocorre se houver reação fotoquímica estimulada, ou se um novo fóton for emitido (luminescência).

Assim, em cada ponto da amostra ocorrem dois processos de transferência da energia térmica. Primeiro, por condução térmica, há uma transmissão dissipativa de calor para o resto da amostra. Em seguida, pela expansão térmica e excitação térmica não homogênea da amostra, ocorre a geração de ondas elásticas que se propagam de maneira não dissipativa para o resto da mesma^[13].

Os diferentes mecanismos pelos quais os pulsos de calor produzidos na amostra geram ondas acústicas no gás são: difusão térmica, expansão térmica, flexão térmica e efeito fotobárico.

Difusão Térmica: Neste processo, a incidência da luz modulada sobre a amostra produz um fluxo térmico desde a amostra até o gás circundante, provocando neste uma variação de temperatura com a mesma freqüência de modulação da luz. No entanto, apenas uma fina camada do gás, a que está próxima à interface amostra-gás, é que responde termicamente às flutuações de temperatura da amostra. Esta camada irá sofrer um processo cíclico de expansão/contração funcionando como um pistão vibratório sobre o resto da coluna de gás, gerando uma onda de pressão que flexionará a membrana do microfone acoplado ao sistema, o que resulta em sinal fotoacústico.

Este processo pode receber também o nome de pistão simples.

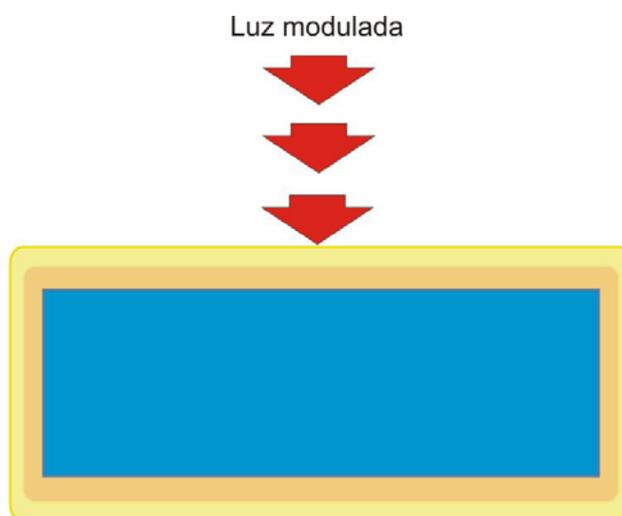


Fig. 2.4: Difusão térmica.

Expansão Térmica: Neste mecanismo, o aquecimento periódico da amostra, devido à absorção da luz modulada, faz com que a mesma se expanda e se contraia. Deste modo o seu movimento se soma com a vibração daquela fina camada de gás e atua sobre o resto da coluna de gás como um pistão, o qual provoca a onda acústica no gás.

Este modelo também é conhecido como modelo do pistão composto.

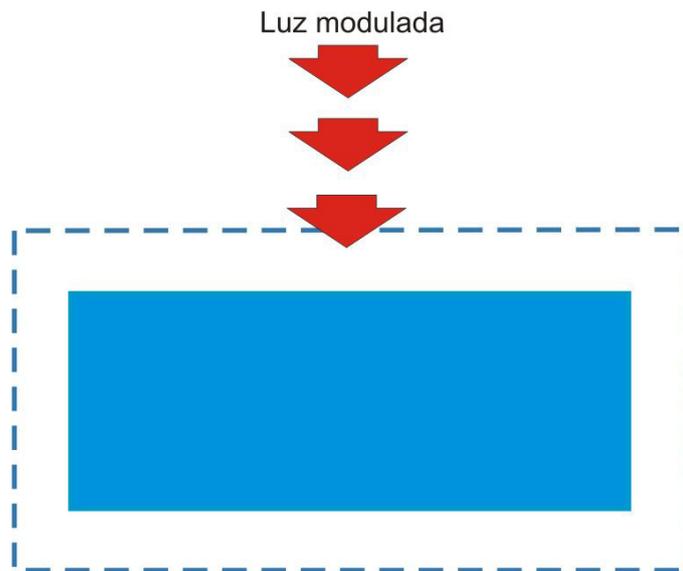


Fig. 2.5: Expansão térmica.

Flexão Termoelástica: este processo acontece quando há a formação de um gradiente de temperatura ao longo da espessura da amostra, e a mesma está com suas bordas presas. Este gradiente é gerado devido ao decréscimo da absorção à medida que a luz penetra no material. Isto faz com que a expansão térmica seja diferente para diferentes planos da amostra (perpendiculares ao gradiente), o que induz uma flexão desta na mesma direção do gradiente. Este processo é também periódico, gerando ondas de pressão no gás e conseqüentemente sinal fotoacústico.

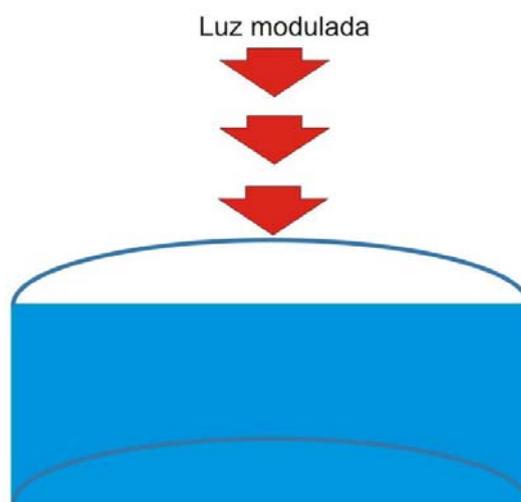


Fig. 2.6: Flexão Termoelástica

Efeito Fotobárico: Este quarto efeito dá-se em amostras fotoquimicamente ativas, com troca gasosa entre a amostra e o gás da célula fotoacústica.

Portanto, o aquecimento da amostra após incidência de radiação modulada depende não só da quantidade de calor que é gerado na amostra (coeficiente de absorção óptica β), como também da eficiência de conversão fototérmica (conversão de luz em calor) e de como esse calor se difunde pelo material (difusão térmica). Assim, através de técnicas fotoacústicas, estudos espectroscópicos podem ser realizados devido à dependência do sinal fototérmico com relação ao coeficiente de absorção óptica.

Devido ao fato de o sinal fotoacústico depender de como o calor se difunde através do material, é possível realizar não só a caracterização térmica da amostra (medidas de difusividade, condutividade e expansão térmicas), como também fazer o mapeamento do comportamento térmico das mesmas. Isto se deve ao fato de que a geração de ondas térmicas, devido à absorção de pulsos de energia, pode sofrer reflexão e espalhamento ao encontrar defeitos e impurezas dentro da amostra, afetando o sinal detectado.

A conversão fototérmica depende de como o calor gerado na amostra é trocado com sua vizinhança, o que permite determinar flutuações de temperatura e pressão no meio circunvizinho, ou seja, calcular parâmetros térmicos, ópticos, fotoelétricos, fotoquímicos, etc.

2.4 A Luz e a Matéria **Equation Chapter 2 Section 5**

A interação da radiação eletromagnética com a matéria faz com que as moléculas vibrem de maneira similar, comportando-se como um oscilador harmônico simples.

A energia potencial para um oscilador harmônico ideal é descrita por:

$$U_q = -\frac{1}{2} kx^2 \quad (2.5.1)$$

Sendo k uma constante de força (constante elástica) e x o deslocamento.

O tratamento quântico do oscilador harmônico fornece a energia E , restrita a níveis específicos:

$$E = h\nu_{osc} (n + 1/2) \quad (2.5.2)$$

em que $h = (6.63 \times 10^{-34} \text{ J.s})$ é a constante de Planck, n é o número quântico vibracional e $\nu_{osc} = c/\lambda$ é a frequência de vibração do oscilador.

Somente níveis de energia discretos serão permitidos, e a separação entre níveis será:

$$E = h \frac{c}{\lambda} \quad (2.5.3)$$

sendo c a velocidade da luz ($3 \times 10^8 \text{ ms}^{-1}$) e λ o comprimento de onda^[14].

Na equação acima podemos perceber a inversa proporcionalidade entre o comprimento de onda e a energia. Ou seja, para baixos comprimentos de onda teremos altas energias, como é o caso da espectroscopia UV-Vis (Ultravioleta-visível).

Como a luz é uma forma de energia, geralmente se representa a energia potencial total de uma molécula como uma soma das energias eletrônica, vibracional e rotacional:

$$E_{total} = E_{eletrônica} + E_{vibracional} + E_{rotacional} \quad (2.5.4)$$

Em cada forma a molécula possui uma quantidade de energia que não é contínua, mas uma série de níveis de estados discretos. As diferentes energias (eletrônica, vibracional e rotacional) têm a seguinte ordem:

$$E_{eletrônica} > E_{vibracional} > E_{rotacional} \quad (2.5.5)$$

Em algumas moléculas e átomos, fótons de UV e luz visível têm bastante energia para causar transições entre os diferentes níveis de energia eletrônica. O comprimento de onda de luz absorvida terá energia suficiente para mover um elétron de um nível de energia baixa para um de alta energia.

Estas transições resultam em muitas bandas de absorção estreitas e comprimentos de onda altamente característicos em diferentes níveis de energia das amostras.

O alargamento das bandas de absorção ocorre quando várias transições com diferentes energias estão presentes, ou seja, os níveis de energia vibracional e rotacional são superpostos nos níveis de energia eletrônica.

No espectro NIR (Infravermelho próximo) não são observadas vibrações fundamentais, e para um oscilador harmônico ideal as regras de seleção da mecânica quântica proíbem transições entre mais de um nível de energia.

Portanto, moléculas não são osciladores harmônicos ideais. Para estados vibracionais altos, o comportamento harmônico ocorre, mas no caso extremo, quando a molécula contém alto nível de energia potencial há a tendência de dissociação, não

retornando à posição de equilíbrio se tratando, portanto, de um comportamento anarmônico. Para uma melhor aproximação do comportamento atual, termos cúbicos e quadráticos são adicionados à equação da energia (2.5.2) ^{[15][14]}.

A energia para o oscilador anarmônico é fornecida pela seguinte modificação da equação (2.5.2):

$$E = h\nu_{osc}(n + 1/2) - h\nu_{osc}x_e(n + 1/2)^2 + h\nu_{osc}y_e(n + 1/2)^3 + \dots \quad (2.5.6)$$

onde x_e e y_e são constantes anarmônicas.

As vibrações anarmônicas moleculares têm como consequência mais importante permitir que ocorram as transições entre mais de um nível de energia. Estas transições aumentam para bandas de absorção dos “overtones” (harmônico similar ou que se repete).

A separação entre os níveis de energia é pequena para cada nível sucessivo. Usando somente os primeiros dois termos da equação (2.5.6), pode-se derivar uma equação geral de separação entre os níveis de energia n e $n-1$:

$$E_n - E_{n-1} = h\nu_{osc}(1 - 2nx_e) \quad (2.5.7)$$

2.5 Uma breve introdução à Termodinâmica **Equation Chapter 2 Section 6**

A Termodinâmica é um ramo da Física que busca compreender e interpretar algumas propriedades da matéria, quando suas variáveis macroscópicas estão sofrendo alterações. As variáveis macroscópicas são as que definem o estado macroscópico de um sistema termodinâmico, como por exemplo a temperatura T , a pressão P e o volume V . Um sistema termodinâmico simples, por sua vez, é definido como macroscopicamente homogêneo, isotrópico, livre de cargas, e que não sofre ação de campos elétricos, magnéticos e/ou gravitacionais.

Desde que a temperatura T dependa somente da pressão P e do volume V , é possível definir o estado de um sistema por duas das três variáveis P , V e T , como na forma da energia interna U do sistema.

Numa série de experiências diferentes e precisas, James Joule (1818-1889) demonstrou a equivalência entre a energia térmica U e a energia mecânica. As experiências

de Joule^[16], e de outros^[16], mostraram que nem a energia térmica nem a energia mecânica se conservam independentemente, mas que a energia mecânica perdida é sempre igual à energia térmica produzida. O que se conserva é o total da energia mecânica mais a energia térmica. Tais descobertas deram origem à primeira lei da termodinâmica, que é um enunciado sobre a conservação da energia:

$$\Delta U = Q + W, \quad (2.6.1)$$

que diz que a variação da energia interna de um sistema é igual ao calor Q líquido somado ao trabalho W efetivado pelo sistema. O calor é a energia transferida de um corpo para outro em virtude de uma diferença de temperatura entre eles.

Anterior à primeira lei, foi definida a lei que ficou conhecida como a lei zero da termodinâmica, que diz que se dois corpos estiverem em equilíbrio térmico com um terceiro corpo, estarão em equilíbrio térmico um com o outro^[17]. Uma maneira mais formal, entretanto mais fundamental de expressar a lei zero, é dizer que existe uma grandeza escalar, chamada temperatura, que é uma propriedade de todos os sistemas termodinâmicos (em estado de equilíbrio), tal que a igualdade de temperatura é uma condição necessária e suficiente para o equilíbrio térmico. Esta afirmação justifica o uso da temperatura como variável macroscópica de um sistema.

Como conseqüência da primeira lei da termodinâmica, podemos definir U como uma função de estado do sistema. Para um fluido simples, por exemplo, temos:

$$U = U(P, V) \text{ ou } U = U(P, T) \text{ ou } U = U(V, T) \quad (2.6.2)$$

Informações sobre a energia interna de um sistema podem ser obtidas através da determinação da capacidade térmica e do calor específico de uma substância.

Para o estudo da capacidade térmica e do calor específico, consideraremos um sistema cujo estado seja determinado por sua temperatura T e um ou mais parâmetros externos (como por exemplo, pressão, volume, campo magnético, etc.), que denominaremos y . Se adicionarmos uma quantidade de calor dQ ao sistema de maneira lenta, para que o processo possa ser considerado quase-estático, e mantivermos y constante, observaremos um aumento dT na temperatura do sistema. Assim, definiremos capacidade térmica C_y do sistema, a y constante, como sendo:

$$C_y = \left(\frac{dQ}{dT} \right)_y \quad (2.6.3)$$

Como a capacidade térmica C_y do sistema é uma grandeza física proporcional à quantidade de material do sistema, definiremos uma grandeza que depende somente da

natureza do material e não da quantidade sendo usada, o calor específico. Desta forma, o calor específico do sistema, por unidade de massa dado em J/gK, é:

$$c_y = \frac{1}{m} \left(\frac{dQ}{dT} \right)_y \quad (2.6.4)$$

e o calor específico molar do sistema, dado em J/mol K, é:

$$c_y = \frac{1}{n} \left(\frac{dQ}{dT} \right)_y \quad (2.6.5)$$

em que m é a massa do sistema e n é o número de moles correspondente.

Os parâmetros externos y mais comuns são a pressão P e o volume V . Em nosso estudo, apenas estes parâmetros externos serão considerados. Tomando a primeira lei da termodinâmica, na ausência de campos externos, temos:

$$dQ = dU + PdV \quad (2.6.6)$$

Se consideramos um processo a volume constante, temos que todo calor fornecido é transformado em energia interna U . Assim, o calor específico a volume constante c_v é

$$c_v = \frac{1}{m} \left(\frac{dU}{dT} \right)_v \quad (2.6.7)$$

Se, durante o processo, mantivermos a pressão constante, ao invés do volume, então parte do calor fornecido ao sistema será transformado em trabalho de modo que o aumento de temperatura será menor se comparado ao processo a volume constante, supondo que a quantidade de calor fornecida ao sistema seja a mesma em ambos os processos. Como consequência teremos sempre que:

$$c_p > c_v \quad (2.6.8)$$

A primeira lei da termodinâmica expressa uma generalização sobre a conservação da energia. Mas ela não diz tudo. De maneira simples, é fácil converter completamente em calor, sem qualquer outra alteração, o trabalho mecânico ou a energia interna de um sistema, mas é impossível remover calor, ou energia interna de um sistema e convertê-los completamente em trabalho mecânico, em processos cíclicos, sem provocar outras alterações.

Capítulo 3

TEORIA DO EFEITO FOTOACÚSTICO E MÉTODOS DE ANÁLISE

3.1 A Célula para Espectroscopia Fotoacústica Equation Chapter 3 Section 1

Vários mecanismos, portanto, podem gerar sinal fotoacústico, entre eles a difusão e expansão térmicas, a flexão termoelástica, a difusão de massa, etc.. A principal base de geração do sinal fotoacústico é a expansão e contração da estreita camada de gás adjacente à superfície aquecida da amostra, devido à absorção intermitente de luz modulada. Essa camada fronteira do gás se expande e se contrai periodicamente com o calor, provocando ondas de pressão (ondas acústicas) que se propagam pelo gás até atingirem um microfone. Este microfone, sensível à estas pequenas variações de pressão, se localiza em uma das paredes laterais da célula e faz a conversão destas variações em sinal fotoacústico.

A configuração unidimensional padrão da célula fotoacústica é visualizada na Fig. 3.1. Este modelo padrão que procura descrever quantitativamente o sinal PA (modelo RG), em amostras sólidas, foi inicialmente proposto por Rosencwaig e Gersho^{[10][11]}, e é conhecido por “modelo de pistão térmico”. Ele consiste de uma amostra sólida colocada dentro de uma pequena célula cheia de gás, podendo ser inclusive o ar, a uma distância “ l_g ” de uma janela de vedação transparente, por onde se incide um feixe de luz modulada. Nas paredes laterais da célula é inserido um microfone capacitivo que capta as conseqüentes flutuações de pressão no gás.

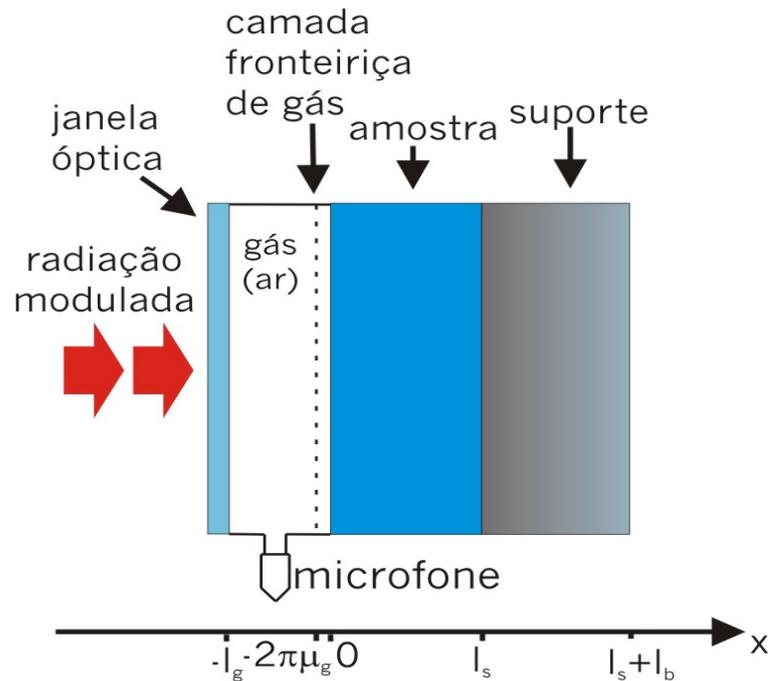


Fig. 3.1: Esquema de uma célula fotoacústica convencional.

Com o aumento da frequência de modulação da luz a intensidade do sinal fotoacústico decresce, dificultando a espectroscopia em altas frequências. No entanto pode-se trabalhar em uma frequência típica em que ocorre uma ressonância do som (ressonância de Helmholtz) dentro do volume do gás contido na célula, amplificando muito a intensidade do sinal fotoacústico.

No modelo de difusão RG^[11], assume-se que o gás e o suporte da amostra não absorvam a luz. Para facilitar o entendimento das equações existentes neste trabalho, definimos alguns parâmetros físicos, conforme a Tabela 1:

Tabela 1: Parâmetros fototérmicos utilizados.

| Parâmetro | Denominação | Unidade(CGS) |
|----------------------------------|--|---------------------|
| l_s | Espessura da amostra | cm |
| l_b | Espessura do suporte | cm |
| l_g | Espessura do gás | cm |
| k_i | Condutividade térmica | cal / s.cm°C |
| ρ_i | Densidade de massa | g / cm ³ |
| c_i | Calor específico | J/ g.K |
| $\alpha_i = k_i / \rho_i c_i$ | Difusividade térmica | cm ² / s |
| $a = (\omega / 2\alpha_i)^{1/2}$ | Coeficiente de difusão térmica | cm ⁻¹ |
| $\mu_i = 1 / a_i$ | Comprimento de difusão térmica | cm |
| $\sigma_i = (1 + j)a_i$ | Coeficiente complexo de difusão térmica | cm ⁻¹ |
| β | Coeficiente de absorção óptica | cm ⁻¹ |
| η | Eficiência da conversão luz-calor | adimensional |
| r | Coeficiente de reflexão da luz incidente na superfície | adimensional |
| $l_\beta = 1 / \beta$ | Comprimento de absorção óptica | cm |

Na Tabela 1, os índices i se referem a: s = amostra ; b = suporte ; g = gás.

3.2 Produção de Calor na Amostra- Equação de difusão térmica

Equation Chapter 3 Section 2

Considera-se que o calor gerado na amostra (sólido), se deve a uma fonte de luz monocromática com comprimento de onda λ e de intensidade descrita por uma equação do tipo:

$$I(t) = \frac{1}{2} I_0 (1 + \cos \omega t) \quad (3.2.1)$$

na qual I_0 é o fluxo de luz monocromática incidente [W/cm^2] e $\omega = 2\pi f$ é a freqüência angular de modulação.

Parte da luz incidente na amostra é por ela absorvida de forma que a intensidade do feixe luminoso diminui exponencialmente ao penetrar no material, segundo a Lei de Beer:

$$I(x, t) = I(t) e^{-\beta x} \quad (x \geq 0) \quad (3.2.2)$$

na qual β é o coeficiente de absorção óptica da amostra [cm^{-1}] para o comprimento de onda λ e a intensidade da luz absorvida $I(x, t)$. A Lei de Beer não é seguida nos casos em que a absorção se dá totalmente na superfície do material.

Microscopicamente, a luz incidente absorvida pela amostra interage com as moléculas do material excitando um estado eletrônico (no caso de luz visível e ultravioleta) ou vibracional (no caso de luz infravermelha). Após a excitação ocorre a desexcitação, ou seja, o retorno ao estado fundamental, no qual podem ocorrer uma série de decaimentos radiativos e não radiativos. A energia absorvida é convertida em calor por processo de decaimento não radiativo (relaxação térmica).

Substituindo (3.2.1) em (3.2.2), temos:

$$I(x, t) = \frac{1}{2} I_0 e^{-\beta x} (1 + \cos \omega t) \quad (3.2.3)$$

No modelo de R.G. considera-se que só há relaxação térmica, ou seja, que toda luz absorvida é convertida em calor. Desse modo, a densidade de potência absorvida, ou de calor produzido, em qualquer ponto x da amostra por unidade de tempo é escrita na forma:

$$s(x, t) = -\frac{dI(x, t)}{dx} \quad (3.2.4)$$

então,

$$s(x, t) = \frac{1}{2} \beta I_0 e^{-\beta x} (1 + \cos \omega t) \quad (3.2.5)$$

No Apêndice A, a equação (A.1.7) nos dá a densidade de calor gerado em um elemento dV , que para o caso unidimensional pode ser escrita como:

$$f(x, t) = \frac{\beta}{2\kappa} I_0 \eta e^{-\beta x} (1 + \cos \omega t) \quad (3.2.6)$$

Podemos agora obter a equação de difusão térmica para a amostra, para o caso unidimensional substituindo a equação (3.2.6) na equação (A.1.8):

$$\frac{\partial^2 \theta(x, t)}{\partial x^2} - \frac{1}{\alpha_s} \frac{\partial \theta(x, t)}{\partial t} + \frac{\beta}{2\kappa} I_0 \eta e^{-\beta x} (1 + \cos \omega t) = 0 \quad (3.2.7)$$

na qual, θ é a temperatura e η a eficiência com a qual a luz é absorvida em um comprimento de onda λ e convertida em calor, por processo de desexcitação não radiativa.

3.3 Equação Geral de Difusão **Equation Chapter 3 Section 3**

Rosencwaig e Gersho desenvolveram um modelo (RG) unidimensional, baseado na condução de calor da amostra para o gás, para explicar o efeito fotoacústico em sólidos^[11]. A configuração unidimensional padrão da célula fotoacústica é visualizada na Fig. 3.1. A luz modulada a uma frequência angular $\omega = 2\pi f$ e comprimento de onda λ , incide na amostra de espessura l_s após ter passado pela câmara de gás de espessura l_g . Atrás da amostra encontra-se o suporte de espessura l_b . A câmara de gás é vedada por uma janela de quartzo (transparente à radiação incidente) e para detectar as variações de pressão no gás existe um microfone acoplado a esta câmara.

As equações para difusão térmica para cada meio são escritas na forma:

$$\frac{\partial^2 \theta(x, t)}{\partial x^2} - \frac{1}{\alpha_s} \frac{\partial \theta(x, t)}{\partial t} + \frac{\beta}{2\kappa} I_0 \eta e^{-\beta x} (1 + \cos \omega t) = 0 \quad (3.3.1)$$

com $0 \leq x \leq l_s$ (equação da difusão térmica para a amostra)

$$\frac{\partial^2 \theta(x,t)}{\partial x^2} - \frac{1}{\alpha_g} \frac{\partial \theta(x,t)}{\partial t} = 0 \quad (3.3.2)$$

com $-l_g \leq x \leq 0$ (equação da difusão térmica para o gás)

$$\frac{\partial^2 \theta(x,t)}{\partial x^2} - \frac{1}{\alpha_b} \frac{\partial \theta(x,t)}{\partial t} = 0 \quad (3.3.3)$$

com $l_s \leq x \leq l_s + l_b$ (equação para o suporte)

Como o modelo RG considera que não há absorção da radiação incidente pelo gás nem pelo suporte, o termo $f(x,t)$ não aparece nas equações (3.3.2) e (3.3.3), pois não haverá, conseqüentemente, geração de calor nesses meios.

Somente a parte real das soluções é de nosso interesse, e é dada por:

$$T(x,t) = \text{Re } \theta(x,t) + \theta_0 \quad (3.3.4)$$

que representa a temperatura na célula relativa à temperatura ambiente θ_0 como uma função da posição e do tempo $T(x,t)$. No presente caso a absorção de luz e a flutuação térmica têm uma dependência temporal de acordo com a parte real de $e^{j\omega t}$.

Substituindo $(1 + \cos \omega t)$ por $e^{j\omega t}$ em (3.3.1), temos para cada uma das equações de difusão térmica, (3.3.1), (3.3.2) e (3.3.3), as seguintes soluções:

$$\theta_s(x,t) = (Ue^{\sigma_s x} + Ve^{-\sigma_s x} - Ee^{\beta x}) e^{j\omega t} \quad (3.3.5)$$

$$\theta_g(x,t) = \theta(0) e^{-\sigma_g x} e^{j\omega t} \quad (3.3.6)$$

na qual $T(0)$ é a temperatura na interface amostra-gás;

$$\theta_b(x,t) = B e^{[\sigma_b(l_b - x)]} e^{j\omega t} \quad (3.3.7)$$

com $\sigma_i^2 = \frac{j\omega}{\alpha_i}$ e $\sigma_i = (1 + j)a_i$ (coeficiente complexo de difusão térmica), sendo $\mu_i = \frac{1}{a_i}$ o

comprimento da difusão térmica.

As variáveis complexas U, V, θ e B serão especificadas pelas condições de contorno apropriadas e E é dado por:

$$E = \frac{\beta}{2k_s(\beta^2 - \sigma_s^2)} l_0 \eta \quad (3.3.8)$$

O modelo RG propõe que somente uma fina camada de gás de espessura $2\pi\mu_g$ ($\approx 0,1\text{cm}$, para $\omega/2\pi = 100\text{Hz}$) adjacente à superfície aquecida da amostra é capaz de responder termicamente à flutuação de temperatura na superfície da amostra, expandindo-se periodicamente de forma a exercer o papel de um pistão acústico sobre o resto do gás.

É necessário conhecer a distribuição de temperatura no gás para se calcular a expansão térmica da camada fronteira de gás e conseqüentemente a variação de pressão desejada.

Para uma amostra termicamente fina ($\mu_s > l_s$) a onda térmica originada numa de suas faces atinge a outra sofrendo apenas uma pequena atenuação, enquanto que em uma amostra termicamente grossa ($\mu_s < l_s$), uma onda térmica gerada em uma de suas faces tem sua amplitude significativamente atenuada ao atingir a outra face. Em seguida, na seção 3.5, teremos uma idéia melhor da classificação das amostras.

Resolvendo-se as equações de difusão para os três meios (amostra, gás e suporte), pode-se encontrar a temperatura na interface amostra-gás ($x = 0$), usando-se o termo de fonte adequado para a região da amostra e as condições de contorno nas interfaces $x = 0$ e $x = l_s$. As condições de contorno, para meios adjacentes i e j , usadas por RG são:

$$\theta_i = \theta_j \quad (3.3.9)$$

Esta condição é a da continuidade da temperatura: supõe-se não haver perda de calor em uma interface, despreza-se a resistência térmica de contato entre as superfícies, o que é válido no contato entre a amostra e um gás, mas não entre sólidos, ou entre um sólido e um líquido. Essa condição é muito restritiva, já que seu significado físico é que a transferência de calor na superfície de separação i e j seja instantânea.

A segunda condição de contorno garante a continuidade do fluxo de calor entre os dois meios, i e j .

$$k_i \frac{d}{dx} \theta_i = k_j \frac{d}{dx} \theta_j \quad (3.3.10)$$

Aplicando as condições de contorno às equações (3.3.5), (3.3.6) e (3.3.7) determinam-se os coeficientes U, V, B e θ , obtendo-se assim a distribuição de temperatura na célula em termos de parâmetros ópticos, térmicos e geométricos do sistema.

A temperatura na interface gás-amostra é dada por:

$$\theta_s(0) = \frac{\beta I_0}{2k_s(\beta^2 - \sigma_s^2)} \left(\frac{(r-1)(b+1)e^{\sigma_s l} - (r+1)(b-1)e^{-\sigma_s l} + 2(b-r)e^{-\beta l}}{(g+1)(b+1)e^{\sigma_s l} - (g-1)(b-1)e^{-\sigma_s l}} \right) \quad (3.3.11)$$

na qual:

$$b = \frac{k_b a_b}{k_s a_s} \quad (3.3.12)$$

$$g = \frac{k_g a_g}{k_s a_s} \quad (3.3.13)$$

$$r = (1-j) \frac{\beta}{2a_s} \quad (3.3.14)$$

Para cada situação física é necessário especificar determinadas condições, devido à complexidade da expressão para as flutuações de temperatura na amostra. Conhecendo as características do material que será estudado, podemos simplificar bastante a equação, já que vários termos da equação (3.3.11) são parâmetros exclusivos da amostra.

3.4 Sinal Fotoacústico **Equation Chapter 3 Section 4**

Na maioria dos sistemas, a flutuação térmica periódica é a principal fonte do sinal fotoacústico. A temperatura no gás oscila no tempo e depende da distância à interface amostra-gás. Este processo periódico de difusão produz uma variação periódica da temperatura dada pela equação (3.3.6).

A oscilação térmica é sentida em uma camada de gás de espessura $x = 2\pi\mu_g$, fora da qual nenhum efeito ocorre sobre o gás.

A média espacial da temperatura dentro desta camada pode ser determinada por:

$$\bar{\theta}(x,t) = \frac{1}{2\pi\mu_g} \int_0^{2\pi\mu_g} \theta_g(x,t) dx \quad (3.4.1)$$

Substituindo (3.3.6) em (3.4.1) e usando a aproximação $\exp(-2\pi) \ll 1$, encontramos:

$$\bar{\theta}(t) \cong \left(\frac{1}{2\sqrt{2\pi}} \right) \theta_s(0) e^{j(\omega t - \frac{\pi}{4})} \quad (3.4.2)$$

Nesta camada ($2\pi\mu_g$), o gás é suposto ideal e a pressão constante.

Usando a lei do gás ideal pode-se estimar o deslocamento do pistão de gás para o aquecimento periódico.

$$\delta x(t) = 2\pi\mu_g \frac{\bar{\theta}(t)}{T_0} \quad (3.4.3)$$

$$\delta x(t) = \frac{\theta_s(0)\mu_g}{\sqrt{2T_0}} e^{j(\omega t - \frac{\pi}{4})} \quad (3.4.4)$$

sendo T_0 , a temperatura média na amostra.

Assumindo que o restante do gás responde à ação deste pistão adiabaticamente, a pressão na célula devido ao deslocamento deste gás é derivado da lei do gás adiabático:

$$PV^\gamma = \text{constante} \quad (3.4.5)$$

na qual P ≡pressão do gás na célula, V ≡volume do gás na célula e γ ≡razão dos calores específicos C_p/C_v .

Assim, temos o incremento de pressão dado por:

$$\delta P(t) = \frac{\gamma P_0 \delta V}{V_0} \quad (3.4.6)$$

sendo P_0 ≡pressão ambiente, V_0 ≡volume e δV ≡incremento de volume.

Reescrevendo a equação (3.4.6) para o caso unidimensional:

$$\delta P(t) = \frac{\gamma P_0}{l_g} \delta x(t) \quad (3.4.7)$$

Substituindo (3.4.4) em (3.4.7), temos:

$$\delta P(t) = \frac{\gamma P_0 \mu_g}{l_g \sqrt{2T_0}} \theta_s(0) \cdot e^{j(\omega t - \frac{\pi}{4})} \quad (3.4.8)$$

na qual denominaremos:

$$Q = \gamma P_0 \frac{\theta_s(0) \mu_g}{\sqrt{2T_0} l_g} \quad (3.4.9)$$

Deste modo (3.4.8) pode ser escrita como:

$$\delta P(t) = Q e^{j(\omega t - \frac{\pi}{4})} \quad (3.4.10)$$

Pela equação (3.4.8) podemos ver que o aumento do sinal fotoacústico se dá com a diminuição do comprimento (ou espessura) da coluna de gás (l_g), e com a redução da temperatura T_0 . O movimento do pistão gera uma defasagem adicional de $\pi/4$, esse efeito se propaga quase instantaneamente para o microfone.

Para o caso geral em que a coluna de gás é termicamente grossa ($l_g > 2\pi\mu_g$), a contribuição do gás na dependência do sinal fotoacústico com a frequência, torna-se aproximadamente nula. O sinal máximo é para $l_g \approx \mu_g$. Com a diminuição da coluna do gás, para $l_g < 2\pi\mu_g$, a defasagem constante de $\pi/4$ diminui progressivamente.

Dessa maneira se evidencia a existência de uma relação direta entre o sinal acústico e a intensidade de luz absorvida pela amostra. O sinal fotoacústico $\tilde{S}_f = \tilde{Q} \cdot e^{-j\pi/4}$ é tomado como sendo a componente não temporal da variação de pressão, com uma intensidade $S_f = \|\tilde{S}_f\|$ e uma fase $\phi_f = \arctan \left[\frac{\text{Im}(\tilde{S}_f)}{\text{Re}(\tilde{S}_f)} \right]$ podendo ser representado como um vetor (fasor) no plano complexo, como mostra a Fig. 3.2.

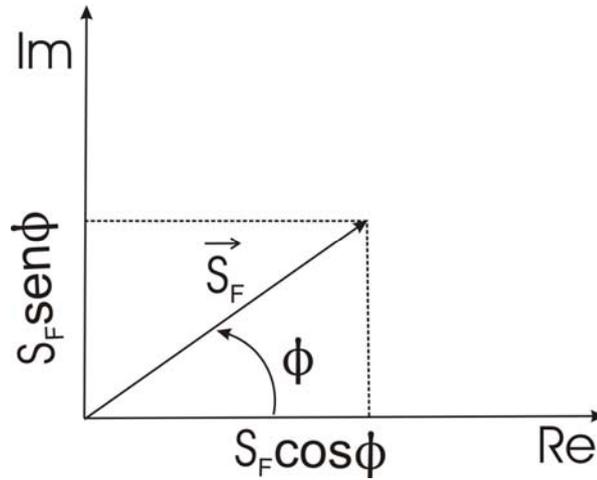


Fig. 3.2: Representação vetorial (fasorial) do sinal fotoacústico^[18].

Assim:

$$\delta P(t) = \tilde{S}_f e^{j\omega t} \quad (3.4.11)$$

sendo

$$\tilde{S}_f = S_f e^{j\phi_f} \quad (3.4.12)$$

deste modo, das equações (3.4.10), (3.4.11), (3.4.12), tem-se a equação geral para o sinal fotoacústico:

$$\tilde{S}_f = \frac{\gamma P_0 \mu_g \theta(0)}{\sqrt{2T_0 I_g}} e^{-j\frac{\pi}{4}} \quad (3.4.13)$$

na qual $\theta(0) = |\theta(0)| e^{j\phi}$;

Assim:

$$\tilde{S}_f = \frac{\gamma P_0 \mu_g |\theta(0)|}{\sqrt{2T_0 I_g}} e^{j\phi} \quad (3.4.14)$$

com $\phi = \varphi - \frac{\pi}{4}$

3.5 Perfil de Profundidade Equation Chapter 3 Section 5

O sinal fotoacústico depende, além das propriedades ópticas da amostra, das propriedades térmicas e geométricas da mesma. Uma das mais importantes é a difusividade térmica $\alpha_i = k_i / \rho_i c_i$ [cm^2 / s] que mede a velocidade com que o calor se propaga num meio, caracterizando-o fisicamente, pois é específica para cada material^{[21][22]}. A difusão de calor para um ponto da amostra, de acordo com a frequência de modulação da luz, $f = \omega / 2\pi$, será na forma de ciclos. E somente os pontos da amostra dentro do comprimento da absorção óptica, l_β , geram calor, sendo que a análise dessa transmissão periódica de calor é feita pelo comprimento de difusão térmica $\mu_i = (2\alpha_i / \omega)^{1/2}$. Este parâmetro é definido como sendo o ponto da amostra onde a magnitude da oscilação térmica se atenua a $1/e$.

A expressão (3.4.14) para o sinal fotoacústico e a equação (3.3.11) para as flutuações de temperatura na amostra são bastante complicadas para o tratamento de um caso geral. Mas pode-se simplificá-las analisando os parâmetros ópticos e térmicos do material.

Classificação óptica: classificam-se as amostras opticamente comparando sua espessura (l_s) com o comprimento de absorção óptica (l_β):

- se $l_\beta \ll l_s \rightarrow$ amostra opticamente opaca
- se $l_\beta \sim l_s \rightarrow$ amostra absorvedora
- se $l_\beta \gg l_s \rightarrow$ amostra opticamente transparente

Classificação térmica: classificam-se termicamente as amostras através da comparação de sua espessura com o comprimento de difusão térmica (μ_s):

- se $\mu_s \gg l_s \rightarrow$ amostra termicamente fina
- se $\mu_s \ll l_s \rightarrow$ amostra termicamente grossa

Mesmo uma amostra opaca pode ter seu espectro resolvido, desde que $\mu_s < l_\beta$. Em caso contrário a amostra se diz saturada, o que indica que toda luz absorvida gera sinal acústico. A saturação pode ser contornada diminuindo as dimensões da amostra (deixando de ser opaca), ou aumentando a frequência de modulação (a fim de reduzir μ_s). Pois com o aumento da frequência tem-se o sinal de camadas cada vez mais superficiais e devido à dependência do comprimento de difusão μ_s com a frequência de modulação, é possível

efetuar um perfil de profundidade no material. O que permite também fazer uma análise detalhada de uma amostra com duas camadas e espectros distintos^[23] e ainda, análises “*in vivo*” nas quais precisa-se controlar a profundidade a que a luz chega.

Como vimos, uma amostra será termicamente grossa quando $l_s \gg \mu_s$ (convenciona-se que $l_s > 2\pi\mu_s$), assim as propriedades térmicas do suporte não interferem no sinal fotoacústico. Uma amostra será termicamente fina quando $l_s \ll \mu_s$, de modo que a atenuação da oscilação térmica é desprezível para o calor gerado em qualquer ponto da amostra.

É importante salientar quanto à classificação térmica que o comprimento de difusão térmica, dado por:

$$\left(\mu_s = \sqrt{\frac{\alpha_s}{\pi f}} \right) \quad (3.5.1)$$

não é um parâmetro intrínseco do material, pois depende da freqüência de modulação da luz incidente. Deste modo, variando-se a freqüência (f), uma mesma amostra pode passar de termicamente fina para termicamente grossa. O valor de f , para o qual ocorre a transição é chamado de freqüência de corte (f_c). Obtém-se (f_c) portanto, igualando-se o comprimento de difusão térmica com a espessura da amostra:

$$\mu_s = l_s \Rightarrow f_c = \frac{\alpha_s}{\pi l_s^2} \quad (3.5.2)$$

Devido à relação direta de f_c com a espessura, pode-se escolher convenientemente a região de espessura térmica pela faixa de freqüência ou pela alteração da espessura da amostra.

Na tabela abaixo temos a dependência da amplitude do sinal fotoacústico com as propriedades ópticas e térmicas em alguns casos limites. Sendo I_f a intensidade do sinal com relação à freqüência e $Y = (\gamma P_0 \sqrt{\alpha_g} / I_g T_0)$ um fator de amplitude.

Tabela 2: Casos limites do efeito fotoacústico.

| Propriedades Térmicas | Termicamente Grosso | | Termicamente Fino | | |
|---|---|-------------------------------|--|-------------------------------|---------------------------|
| | $l \gg \mu_s$ | | $l \ll \mu_s$ | | |
| Propriedades ópticas | Transparente | Opaco | | Transparente | Opaco |
| | $l_\beta \gg l \gg \mu_s$ | $l \gg l_\beta \gg \mu_s$ | $l \gg \mu_s \gg l_\beta$ | $l \ll l_\beta \ll \mu_s$ | $l \ll \mu_s \ll l_\beta$ |
| Sinal Fotoacústico para fonte arbitrária | $\tilde{S}_f = \frac{(Y\omega^{-1/2}e^{-i\pi/4})}{\sigma_s(g+1)} \int_0^1 e^{\sigma_s x} f(x) dx$ | | $\tilde{S}_f = \frac{(Y\omega^{-1/2}e^{-i\pi/4})}{\sigma(g+b)} \int_0^1 f(x) dx$ | | |
| Sinal Fotoacústico com absorção de Beer | $\tilde{S}_f = (Y\omega^{-1/2}e^{-i\pi/4}) \frac{\beta l_0}{2k_s(\beta^2 - \sigma_s^2)(g+1)} (r-1)$ | | $\tilde{S}_f = (Y\omega^{-1/2}e^{-i\pi/4}) \frac{l_0}{(g+b)\sigma_s k_s} (e^{-\beta} - 1)$ | | |
| Fase | $\phi_F = 45^0$ | $\phi_F = 90^0$ | $\phi_F = 90^0$ | $\phi_F = 90^0$ | |
| Dependência com frequência | $\ S_f\ \propto \omega^{-3/2}$ | $\ S_f\ \propto \omega^{-1}$ | $\ S_f\ \propto \omega^{-1}$ | $\ S_f\ \propto \omega^{-1}$ | |
| Definição do espectro | Resolvido | Saturado | Resolvido | Saturado | |

3.6 Metodologia Experimental para a Espectroscopia Fotoacústica

Equation Chapter 3 Section 6

Abordaremos nesta seção alguns detalhes sobre a Espectroscopia Fotoacústica e seus principais componentes.

Como fonte de luz para o experimento, normalmente utiliza-se lâmpada de luz branca. Para que ocorra uma varredura espectroscópica do material que se quer analisar, a amostra deve ser atingida por uma estreita faixa do espectro, sendo necessária a utilização de um monocromador. Este aparelho é composto basicamente por fendas, por onde a luz entra e sai do, espelhos planos e parabólicos e por uma grade de difração.

As grades de difração são usadas para dispersar a luz, ou seja para que a luz se decomponha espacialmente em comprimentos de onda. Uma típica grade de difração consiste de um substrato, usualmente de uma “material óptico”, com um grande número de

ranhuras paralelas riscadas ou reproduzidas em sua superfície e recoberta com um material reflexivo, como o alumínio. A qualidade e o espaço entre as ranhuras são cruciais para a performance da grade. Devido à dificuldade de se fazer o processo de riscagem das grades foram criadas as grades holográficas. Estas são fabricadas por meio de um holograma interferométrico.

No monocromador, a fenda de entrada e o primeiro espelho fixo direcionam o feixe de luz para a grade de difração. Somente os comprimentos de onda que satisfazem a equação da grade passam através da fenda de saída. O restante da luz é espalhada e absorvida dentro do monocromador.

A equação para grades de difração, mais conveniente para o uso em monocromadores é:

$$m\lambda = 2a \cos \phi \sin \theta \quad (3.6.1)$$

sendo que o termo a é a diferença entre as normais à grade, ver Fig. 3.3, m é um inteiro e é a ordem de difração, λ é o comprimento de onda, ϕ é metade do ângulo entre o raio incidente e o raio difratado da grade e θ é o ângulo da grade com relação à posição da ordem zero da refração.

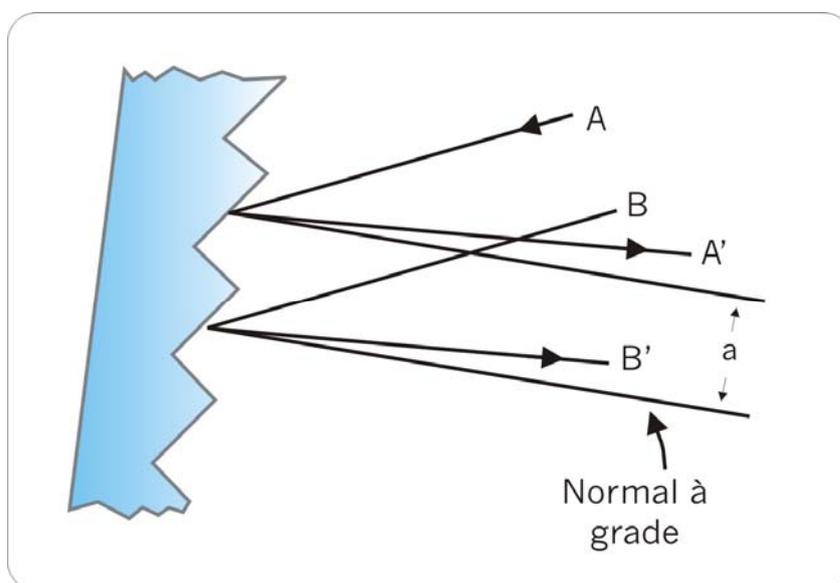


Fig. 3.3: Esquema da incidência de feixes luminosos sobre uma grade de difração.

As grades de difração não são igualmente eficientes para todos os comprimentos de onda. A eficiência pode ser regulada pela mudança do ângulo da superfície frontal da ranhura, ou seu formato e profundidade. A otimização da eficiência pelo formato apropriado da ranhura ficou conhecida como “blazing”. Portanto, o “Blaze” da grade de difração é o comprimento de onda para o qual ela é mais eficiente.

A banda passante é a largura do espectro que passa pelo monocromador quando este é iluminado por uma fonte de espectro contínuo. Esta largura pode ser diminuída pelas fendas até que o limite da banda passante seja atingido. Este limite é chamado de resolução do instrumento. Na análise espectral, a resolução é medida pela habilidade do instrumento para separar duas linhas espectrais que estão comprimidas.

Uma pequena gama de comprimentos de onda deixam a grade com o ângulo correto para passar pela fenda de saída. Pode-se desprezar os efeitos de dispersão de comprimentos de onda, pois a imagem óptica da fenda de entrada é a mesma que passará pela fenda de saída.

O feixe de luz que sai do monocromador usualmente contém luzes indesejáveis de outros comprimentos de onda. Para bloquear estas ordens superiores de difração são usados filtros.

Após a passagem pelo filtro, o feixe de luz é modulado e colimado para que atinja a amostra, dentro da célula fotoacústica, em seu foco.

3.7 Técnicas de Medidas de Capacidade Térmica Equation Chapter 3 Section 7

Atualmente são encontradas na literatura várias técnicas de calorimetria, as quais possibilitam ao pesquisador escolher qual se adapta melhor à sua pesquisa ou trabalho. Tal escolha pode depender do intervalo de temperatura, da quantidade de amostra, da sensibilidade na determinação de transições ou na precisão no valor absoluto da capacidade térmica desejada.

Os diversos tipos de calorímetros são classificados em quatro grupos, dependendo do método utilizado. São eles:

Calorímetro adiabático;

Calorímetro diferencial de varredura (DSC);

Calorímetro AC;

Calorímetro de relaxação.

No calorímetro adiabático o sistema é considerado isolado, ou seja, não troca calor com a vizinhança. A capacidade térmica é dada pela razão entre quantidade de calor e a variação de temperatura. Esse método tem boa precisão mas requer um isolamento térmico

muito eficiente, o que não é fácil de se conseguir, e para minimizar os efeitos de perda de calor, são necessárias grandes quantidades de amostra (~1g).^{[24][25]}

Calorímetros de Varredura (DSC) e AC são sistemas não adiabáticos nos quais o calor específico é obtido pela análise da resposta térmica do sistema à aplicação de pulsos de calor. O calorímetro DSC apresenta resultados qualitativos e geralmente seus resultados são normalizados usando um valor obtido por outra técnica. No AC é necessário fazer uma boa escolha do vínculo térmico entre o reservatório e o substrato, de modo que o tempo de relaxação do sistema seja muito maior que o da amostra.^{[24][25]}

O calorímetro de relaxação térmica, desenvolvido em 1972 por Bachman e colaboradores^[25] difere dos demais calorímetros, mas ainda apresenta algumas características semelhantes com a técnica AC, como por exemplo, vínculo térmico com o reservatório de calor, trocas de calor com o reservatório térmico (sistema não adiabático), utilização de pouca quantidade de amostra, etc. Uma das vantagens que ele possui em relação aos demais é que, com esta técnica, o tempo interno de relaxação pode ser melhor controlado, podendo ser adaptado para operar em grandes intervalos de temperatura. Podemos determinar com precisão um valor para o calor específico tanto em temperatura ambiente como em função da temperatura, e também determinar transições de fase primeira e segunda ordens. Esta técnica que determina o calor específico através da análise do tempo de relaxação térmica é uma das mais importantes, pois consegue associar a precisão do calorímetro adiabático com as facilidades experimentais e sensibilidade dos sistemas AC.

As medidas de calorimetria para este trabalho foram realizadas utilizando o método de relaxação térmica. Diferindo dos calorímetros convencionais de relaxação, que utilizam filme resistivo como fonte de potência, nosso calorímetro utiliza para tal função um laser de diodo, como será descrito posteriormente, na seção 5.3.

O método de relaxação térmica portanto, consiste em analisar a variação, em função do tempo, da temperatura na amostra após a aplicação de um pulso de calor ao substrato, onde a amostra se encontra. O substrato está fixado ao reservatório térmico por fios de cobre.

Primeiro, consideremos o sistema (reservatório térmico + substrato) a uma temperatura T_0 . Se fornecermos potência ao substrato através do laser de diodo, parte dessa energia será absorvida pelo substrato, aquecendo-o, ocasionando uma diferença de temperatura entre o sistema e o substrato ($T(t) > T_0$). Devido a essa diferença, haverá condução de calor através dos vínculos térmicos, ou seja, dos fios que sustentam o substrato, do ar que envolve o mesmo e através da radiação térmica. Assim teremos:

$$P = C \frac{d\Delta T}{dt} + K\Delta T \quad (3.7.1)$$

na qual, P é a potência total absorvida, C é a capacidade térmica do sistema, K é a condutância efetiva total do sistema e ΔT é a diferença de temperatura entre substrato e reservatório térmico.

À medida que o substrato absorve energia, há um aumento do ΔT e, conseqüentemente um aumento da quantidade de energia térmica transferida para o reservatório térmico. Após um tempo suficientemente longo, o sistema entra em um regime estacionário, no qual a energia fornecida ao substrato é transferida ao reservatório e a partir deste instante a diferença de temperatura ficará estável. Assim temos:

$$P = K\Delta T_{\max} \quad (3.7.2)$$

Se nesse instante, interrompermos a incidência de luz (potência) os fios conduzirão apenas a energia que ficou acumulada ($C\Delta T$) no substrato. Portanto, considerando $P = 0$ na equação (3.7.1) temos:

$$C \frac{d\Delta T}{dt} + K\Delta T = 0 \quad (3.7.3)$$

Conforme os fios conduzem calor a diferença de temperatura entre o substrato e o reservatório diminui gradativamente, até $T(t) = T_0$. Assim, usando a condição $\Delta T(0) = \Delta T_{\max}$, teremos:

$$\Delta T = \Delta T_{\max} e^{-t/\tau} \quad (3.7.4)$$

Na qual definimos o tempo de relaxação:

$$\tau = \frac{C}{K} \quad (3.7.5)$$

Assim conhecendo a potência absorvida pelo substrato e medindo a diferença de temperatura máxima ΔT_{\max} , obtemos a condutância térmica efetiva (K) usando a equação (3.7.2). Pelo ajuste da curva de decaimento $\Delta T(t) \times t$ podemos determinar o valor de tempo τ e usando as equações (3.7.2) e (3.7.5) podemos determinar a capacidade térmica (C) do substrato, dada pôr :

$$C = \tau K = \frac{\tau P}{\Delta T_{\max}} \quad (3.7.6)$$

Fixando a amostra, ou no caso de amostras em pó, fixando a “panelinha” (porta-amostra) no substrato (com pasta térmica), a capacidade térmica do sistema e conseqüentemente o tempo de relaxação aumentarão.

Com a curva de decaimento de temperatura do sistema (amostra-substrato) conseguimos retirar os mesmos parâmetros $\Delta T_{\text{sistema}}$ e τ_{sistema} . Com esses parâmetros e conhecendo a capacidade térmica do substrato (ou substrato+panelinha) podemos determinar o calor específico da amostra dado pôr:

$$C_{\text{amostra}} = \frac{C_{\text{sistema}} - C_{\text{substrato}}}{\text{Massa}_{\text{amostra}}} = \frac{\frac{P\tau_{\text{sistema}}}{\Delta T_{\text{sistema}}} - \frac{P\tau_{\text{substrato}}}{\Delta T_{\text{substrato}}}}{\text{Massa}_{\text{amostra}}} \quad (3.7.7)$$

Para obtermos a potência absorvida realizamos uma medida com uma amostra padrão de alumínio. Usando a equação (3.7.7) obtemos:

$$P = \frac{C_{\text{padrão}}}{\left(\frac{\tau_{\text{total}}}{\Delta T_{\text{total}}} - \frac{\tau_{\text{subs}}}{\Delta T_{\text{subs}}} \right)} \quad (3.7.8)$$

Conhecendo a potência absorvida pelo substrato, de posse das curvas de relaxação e da massa da amostra, através da equação (3.7.7) determinamos portanto, o calor específico para a amostra.

Capítulo 4

FISIOLOGIA DO MILHO E ESTRUTURA DA PELE – ASPECTOS GERAIS

4.1 Milho (*Zea mays*) **Equation Chapter 4 Section 1**

O milho é uma planta pertencente à família Gramineae/Poaceae, e seu nome científico é *Zea mays*. O milho é uma das plantas cultivadas de maior interesse, quanto à sua origem, estrutura e variação. As pesquisas têm desenvolvido tipos tão diferentes de milho que seu cultivo é possível desde o Equador até o limite das terras temperadas e desde o nível do mar até altitudes superiores a 3.600m. Essa adaptabilidade, representada por genótipos variados, é paralela à variedade de sua utilização como alimento, forragem ou na indústria^[1].

No Brasil, a cultura do milho encontra-se amplamente disseminada. Isto se deve tanto à sua multiplicidade de usos na propriedade rural quanto à tradição de cultivo desse cereal pelos agricultores brasileiros. A partir do início da década de 70 até recentemente, em face de fatores como o crescimento da indústria de rações e das atividades de criação (principalmente avicultura, suinocultura e pecuária leiteira), o consumo interno de milho cresceu consideravelmente.

A constituição morfológica das plantas e frutos determina o potencial de produção da espécie. O grande interesse do homem na sua produção reside principalmente na produção de grãos, para alimentação humana e animal.

O grão de milho é o fruto de uma semente, ou cariopse (Fig. 4.1) característico das gramíneas. O pericarpo (camada externa) é derivado da parede do ovário e pode ser incolor, vermelho, marrom ou variegado. A ponta do grão é a parte remanescente do tecido

(pedicelo) que conecta o grão ao sabugo. Dentro do grão estão o endosperma e o embrião^[1].

O endosperma é triplóide, originando-se da fusão de dois núcleos femininos e um núcleo masculino. Com exceção da sua camada mais externa constituída por uma (ou raramente algumas) camada de células de aleurona, o endosperma é constituído principalmente de amido.

O grão de milho possui uma variedade de nutrientes que são essenciais para o metabolismo humano e animal. Em sua constituição encontram-se proteínas, carboidratos, lipídeos, minerais e vitaminas; porém comumente considera-se a sua constituição básica de 60% de carboidratos, 10% proteínas e 4% de óleo^[26].

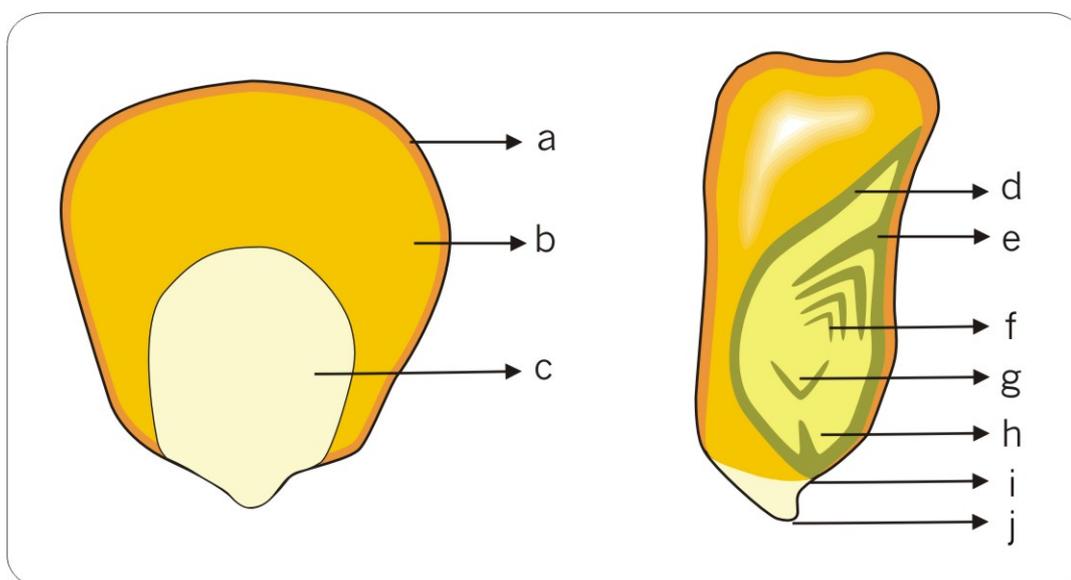


Fig. 4.1: Estrutura do grão de milho

Na Fig. 4.1, encontram-se listadas as principais partes do grão. São elas: a) pericarpo, b) endosperma, c) embrião, d) escutelo, e) coleóptilo, f) plúmula, g) radícula, h) coleorriza, i) camada de abscisão e j) pedúnculo.

Os vários tipos de milho (duro, dentado, farináceo, doce, ceroso, pipoca, QPM - "Quality Protein Maize") diferem em seu conteúdo de açúcar, teor e qualidade de proteína e também no tipo, forma e concentração dos grãos de amido.

É sabido que a água desempenha papel básico no processo de germinação, o que faz com que o tegumento ("pele" delgada que reveste o pericarpo) não apresente qualquer impedimento à entrada de água do meio ambiente.

A água presente em uma semente pode tanto estar em uma forma absorvida como em uma forma adsorvida. Na forma absorvida, as forças que agem são do tipo capilar, sendo essencialmente físicas e em pequena quantidade. Enquanto que no processo de

adsorção, as forças que agem são as da atração molecular, em maior quantidade que a capilar e podendo ser não somente de natureza física, mas química também.

Ao entrar na semente, a água estabelece ligação com as macromoléculas das partículas coloidais dispersas, principalmente, em seus tecidos de reserva. A água adsorvida representa um grau mais profundo de união, de maneira que há interação entre as moléculas do grão e as da água, fazendo com que ambas as moléculas se alterem de seus estados originais. Essa interação entre as duas substâncias (água e macromoléculas do sistema coloidal) recebe o nome de sorção e resulta tanto da entrada (adsorção) como da saída (dessorção) de água da semente.

Para os estudos de secagem e de armazenamento de grãos, a água que realmente interessa é a adsorvida, ou seja aquela que, segundo Hunt & Pixton (1974), resultaria em teores de água na faixa de 0 a 25%^[27].

4.2 Métodos para a determinação de umidade e secagem de grãos

Equation Chapter 4 Section 2

Os grãos denominados comerciais, para a alimentação humana ou animal (ração), necessitam de alguns cuidados indispensáveis no seu beneficiamento. Um deles, e talvez um dos mais importantes, se refere ao controle da umidade. Já que o êxito nos processos de colheita, secagem e armazenamento mantém estreita relação com o teor de umidade dos grãos, que assume importante papel nas transações comerciais, nas quais se desconta a umidade excedente.

Os processos de secagem mecânica podem ser entendidos como métodos destinados a diminuir artificialmente o teor de umidade dos grãos, até um limite adequado, sem comprometer as suas propriedades naturais. As três formas de umidade nos grãos, de interesse na secagem mecânica são:

- Umidade superficial, simplesmente aderida externamente;
- Umidade intersticial, sem função biológica, existe livre entre as moléculas dos grãos. É mantida por forças capilares e pelo diferencial da pressão osmótica. Esta umidade se refere à água livre.

- Umidade de constituição, existente nas moléculas dos grãos e que se encontra quimicamente ligada, possuindo função biológica. Se refere à água ligada ou estrutural.

Na secagem, a umidade retirada dos grãos diz respeito à umidade superficial e à umidade intersticial. Comumente se considera que estas umidades representam um percentual de 13% a 27%, sendo que a umidade de constituição representa até 13%. Enquanto a umidade nos grãos é variável, pois se altera com a temperatura e a umidade relativa do ar, a parte seca do grão permanece constante.

A umidade interna é retirada dos grãos através do aquecimento até o ponto em que se dá um diferencial de pressão suficiente para a passagem da umidade interna para a periferia do grão. A retirada da umidade superficial, por evaporação, é fácil e rápida, não se dando o mesmo com a umidade intersticial, que atravessa os tecidos do grão pela diferença de pressão osmótica e pela capilaridade. O processo de secagem não altera a umidade de constituição, mesmo quando se atinge o teor de 11%, o que é difícil já que, nesta faixa, a água se encontra fortemente adsorvida, ligada por forças de Van Der Waals.

O processo de secagem pode ser mais rápido ou mais lento, dependendo de alguns fatores como o teor de umidade inicial dos grãos e a localização da maior parte da água a ser removida, se interna ou externa.

Existem vários métodos de obtenção do teor de umidade em grãos e estes podem ser divididos em métodos diretos e indiretos.

Os métodos indiretos utilizam como parâmetro propriedades físicas dos grãos e sementes que são dependentes do teor de umidade, dentre elas propriedades elétricas, as quais são utilizadas em determinadores elétricos ou eletrônicos na determinação do teor de água. Os tipos mais comuns são aqueles que determinam a umidade com base na capacitância e na condutividade elétricas.

Os métodos diretos, ou métodos de estufa, têm seus resultados dependentes da combinação tempo e temperatura de secagem. São considerados básicos e estão sujeitos à calibração por métodos de referência. Baseiam-se na perda de água de amostras de massa conhecida através de aquecimento em estufa. O método de estufa oficial, utilizado no Brasil desde 1956, (Regras de Análise de Sementes – RAS, Ministério da Agricultura do Brasil), utiliza 105°C em 24 horas de secagem. Já o padrão da ASAE (American Society of Agricultural Engineering) recomenda o uso de 103°C por 72 horas. Estes métodos apresentam resultados aceitáveis sendo adotados por diversas instituições e organizações como método oficial, utilizado para a calibração de aparelhos de determinação indireta^[2]. Segundo as Regras de Análise de Sementes (Brasil 1992), *“A determinação do grau de umidade baseia-se na perda de peso das sementes quando secas em estufas. A água*

contida nas sementes é expelida em forma de vapor pela aplicação do calor em condições controladas, ao mesmo tempo em que são tomadas precauções para reduzir a oxidação, a decomposição ou a perda de substâncias voláteis durante a operação”.

Atualmente, o método mais utilizado por cooperativas, empresas da iniciativa privada e estatais na recepção, classificação e comercialização dos principais grãos produzidos no Brasil, é um método indireto que determina a umidade com base na capacitância elétrica. Este método, chamado de determinador de umidade universal, é de origem norte-americana e foi largamente utilizado nos EUA por volta da década de 50 e abandonado no início da década seguinte, devido à sua ineficiência^[2].

O método considerado dos mais precisos, e que devido a isso é utilizado para a calibração de vários outros, é conhecido como o método de Karl Fischer e denominado método de referência. Neste, a amostra é submetida a um reagente que por sua vez reage apenas com a água e não com outras substâncias que porventura venham a ser liberadas pela semente por ocasião da moagem. O reagente de Fischer tem na sua composição metanol, iodo, dióxido de enxofre e piridina; enquanto houver água na solução o iodo é reduzido ao ácido iodídrico, o qual é incolor.

4.3 Pele Humana e os danos causados pelo Sol **Equation Chapter 4 Section 3**

A pele possui um papel de extrema importância na fisiologia do corpo humano. Dentre suas principais funções estão:

- Proteger o resto do corpo das toxinas, do sol e de variações bruscas de temperatura;
- Ajudar o corpo a regular o calor e evitar perda excessiva de água;
- Dar indicativos sobre o estado físico e emocional, dentre outras.

As camadas que a compõem formam juntas um sistema complexo, formado por estruturas microscópicas, dinâmicas e variáveis. Estas camadas são chamadas de córnea, epiderme, derme e hipoderme.

A epiderme é composta por muitas camadas de células. Na camada base (a epiderme viva), novas células estão em constante reprodução, empurrando células mais antigas para a superfície. As células da pele perdem o seu núcleo, saem da base da epiderme, movem-se para a camada mais superficial da pele (Epiderme morta ou córnea), e

transformam-se em proteínas sem vida. Depois de contribuírem para uma função protetora, as células são expelidas para fora da pele. Este processo de evolução das células vivas demora cerca de 4 semanas. As células mortas constituem cerca de 95% das células da epiderme, os demais 5% são responsáveis pela produção e distribuição da melanina, a proteína responsável pela pigmentação da pele e que protege o corpo dos raios ultravioleta. A cor da pele é determinada pela quantidade de proteínas produzidas por estas células, não pelo número deste tipo de células^[28].

A córnea, portanto, é a mais externa das camadas que constituem a pele e pode ser considerada como parte da epiderme. É formada por células mortas, ricas em uma substância chamada queratina, a qual lhe confere resistência e dureza, funcionando como uma barreira protetora para as demais camadas da pele. A córnea sofre constantes descamações^[29].

A derme é o tecido conjuntivo, de espessura variável, sobre o qual se apóia a epiderme. Compreende um verdadeiro gel, rico em mucopolissacarídeos, a substância fundamental, e material fibrilar de três tipos: fibras colágenas, fibras elásticas e fibras reticulares. O limite da derme com a epiderme é formado por saliências, as papilas dérmicas (camada papilar), que correspondem a reentrâncias na epiderme^[30].

Contidos nesta estrutura estão sistemas e estruturas comuns de outros órgãos, como por exemplo, vasos sanguíneos, fibras nervosas e células musculares, mas fazendo parte unicamente da derme encontram-se as raízes dos pêlos, glândulas sebáceas e glândulas do suor.

A derme regula o calor através de uma rede de finos vasos sanguíneos. As extremidades dos nervos na derme são a base da sensibilidade ao toque. Esses nervos podem sentir, calor, frio e pressão podendo proporcionar dor ou prazer.

A hipoderme ou tecido subcutâneo é uma outra camada ou nível do tecido conectivo abaixo da derme, especializado e responsável pela formação de gordura. Ele está espalhado de forma não regular por todo o corpo, existindo muitas diferenças da forma como este está distribuído. O tecido subcutâneo serve como repositório de armazenamento de energia para ser distribuída; isto acontece quando a percentagem de calorias distribuídas é inferior à percentagem de calorias queimadas pela atividade física^[28].

Na Fig. 4.2, podemos visualizar as camadas estruturais da pele.

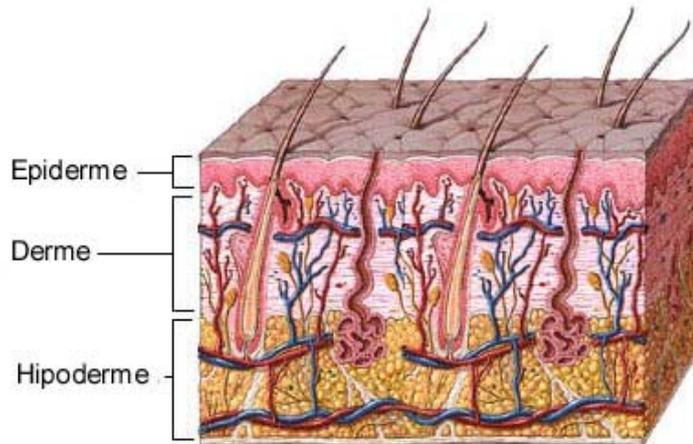


Fig. 4.2: Camadas estruturais da pele: Epiderme, derme e hipoderme

Como vimos, uma das funções mais importantes da pele, é a proteção do organismo com relação ao sol. No entanto, a própria pele pode sofrer danos muito sérios devido à exposição aos raios solares, tais como:

- Eritema: vermelhidão que ocorre 4 a 8 horas após a exposição solar;
- Pigmentação: caracteriza-se pelo bronzeamento imediato ou tardio, que na maioria das vezes é a causa da exposição prolongada ao sol;
- Queimadura de primeiro e queimadura de segundo grau: 1º grau é caracterizada por eritema (vermelhidão) e edema (inchaço) das áreas irradiadas, com desconforto relativo. Enquanto que a de 2º grau apresenta edema mais intenso, havendo a formação de bolhas. Dependendo da extensão e/ou intensidade do processo, o indivíduo pode apresentar: náuseas, febre, calafrios, taquicardias, delírio, prostração e até mesmo choque;
- Acelera o envelhecimento da pele (envelhecimento precoce): sol em excesso muda a textura da pele e diminui a elasticidade (capacidade de pele de retornar rapidamente à sua forma inicial após ser esticada), com acentuação dos sulcos da pele e aparecimento de rugas, manchas, etc.;
- Câncer de pele: O câncer de pele é o crescimento descontrolado de células anormais em uma das camadas da pele. Mais de 90% dos cânceres de pele ocorre nas partes do corpo exposta ao sol. O acúmulo de exposições isoladas, ocasionando queimaduras solares, podem ser a causa do câncer. A face, o pescoço, as orelhas, os ombros, e as mãos são os locais mais comuns de desenvolvimento do câncer de pele^[3].

O sol emite uma ampla gama de radiações, compreendendo baixíssimos comprimento de onda, as chamadas radiações ionizantes, radiações ultravioleta (A,B e C), luz visível, raios infravermelhos, até microondas e ondas de rádio.

Cerca de 40% da radiação solar, desde os menores comprimentos de onda até 290nm são absorvidos pela camada de ozônio. Do total de radiação provenientes do sol que chega à superfície terrestre, aproximadamente 40% são raios infravermelhos, 50% é luz visível e os 10% restantes são raios ultravioleta. Destes, 10% correspondem à radiação ultravioleta B (UVB) e 90% à ultravioleta A (UVA).

O espectro de radiação solar de maior interesse quanto à saúde humana é o da radiação ultravioleta, tanto UVB, cujos comprimentos de onda vão de 290 a 320nm, como UVA com comprimentos de onda de 320 a 400nm. A radiação UVC que produziria grandes danos à pele, desde queimaduras até câncer, é bloqueada totalmente pela camada de ozônio, pois compreende o intervalo de 200 a 290nm^[4].

A intensidade da radiação ultravioleta que atinge a superfície terrestre sofre alterações no decorrer do dia e estação do ano. A UVB tem maior incidência das 10:00 às 14:00 horas, enquanto a UVA é basicamente estável durante todo o dia. A radiação UVA possui comprimento de onda maior e penetra mais profundamente na pele, chegando até a derme^[3].

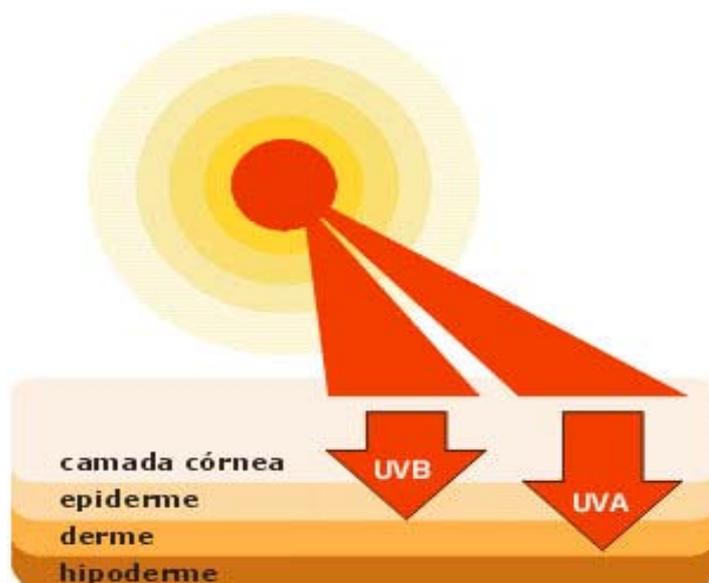


Fig. 4.3: A radiação UVA (ultravioleta A) penetra mais profundamente na pele, chegando até a derme.

Entretanto, para cada indivíduo, as condições morfofisiológicas da pele são diferentes. Deste modo, foram definidos por dermatologistas seis tipos de pele com relação à exposição solar, especialmente aos raios ultravioletas. As definições se encontram na Tabela 3:

Tabela 3: Sensibilidade e reação a radiação ultravioleta^[3].

| Tipo | Cor | Sensibilidade | Reação |
|-------------|---------------|----------------------|---------------------------------|
| I | Branca-Clara | Muito sensível | Sempre queima, nunca pigmenta |
| II | Branca | Muito sensível | Sempre queima, pigmenta pouco |
| III | Morena-Clara | Sensível | Queima e pigmenta moderadamente |
| IV | Morena-Escura | Pouco sensível | Queima pouco, sempre pigmenta |
| V | Parda | Pouquíssimo sensível | Nunca queima, sempre pigmenta |
| VI | Negra | Insensível | Nunca queima, sempre pigmenta |

4.4 Proteção Solar

Como vimos, a pele necessita de cuidados com relação ao sol, como usar roupas de trama fechada (algodão), chapéus, bonés, óculos escuros, etc.. Mas para quem está disposto a se expor diretamente ao sol, os dermatologistas recomendam o uso de protetores solares (filtros solares, bloqueadores solares ou fotoprotetores).

Os protetores são produtos com a capacidade de proteger a pele contra a queimadura solar além de prevenir ou minimizar os efeitos maléficos tardios resultantes de exposições repetidas à luz solar, tais como o envelhecimento precoce (fotoenvelhecimento) e o câncer de pele. Estes produtos podem se classificar em protetores químicos ou físicos.

Os protetores químicos são substâncias transparentes que absorvem a radiação ultravioleta. Os mais eficientes, segundo a SBCD (Sociedade Brasileira de Cirurgia Dermatológica), são: para UVA - Mexoryl SX, Parsol, Avobenzona; para UVB- Octil-metoxinamato (OMC) e Oxibenzona. Já os protetores físicos, são substâncias opacas que atuam como barreira física (devido ao tamanho de suas partículas) refletindo as radiações solares como um espelho. São eles o dióxido de titânio e óxido de zinco. Os produtos mais completos já possuem em sua formulação vitaminas anti-oxidantes capazes de diminuir os danos causados pelo sol^[3].

Os protetores disponíveis no mercado normalmente trazem nas embalagens o fator de proteção solar (FPS), que varia de 4 a 70. No entanto, existe uma grande controvérsia em relação à eficácia dos produtos com níveis inferiores a 8 (fator mínimo recomendado pela FDA – Food and Drug Administration), assim como os superiores a 30^[4]. Os índices muito baixos, segundo os dermatologistas, não garantem proteção mínima adequada, e os

índices acima de 30 oferecem uma variação muito pequena no percentual de proteção. Ou seja, não se deve imaginar que um FPS 60 permite o dobro de exposição que o fator 30. Na verdade, ele estará proporcionando apenas 1,6% a mais de proteção contra os raios UVB. Na tabela a seguir podemos observar esta evolução:

Tabela 4: Relação FPS/Retenção de raios UVB em %^[31].

| FPS | Retenção de raios UVB em % |
|------------|-----------------------------------|
| 8 | 87,5% |
| 15 | 93,3% |
| 20 | 95,0% |
| 30 | 96,7% |
| 40 | 97,5% |
| 45 | 97,8% |
| 60 | 98,3% |

Como podemos observar, o FPS refere-se apenas à incidência de raios UVB. Ainda não foi definido um índice-padrão internacional para a proteção UVA, embora na maioria dos países desenvolvidos os produtos já venham com essa discriminação, determinada por um percentual.

No entanto, apesar de todas estas aparentes vantagens no uso dos produtos para proteção solar, os processos físico-químicos não são bem entendidos. Deste modo, ainda não se sabe como os cremes interagem com os componentes da pele quando da propagação dos mesmos através de suas camadas.

Capítulo 5

PROCEDIMENTOS E MONTAGENS EXPERIMENTAIS

5.1 Preparação das Amostras de Milho (*Zea mays*) **Equation Chapter 5 Section 1**

A fase inicial do estudo em amostras de milho se deu no laboratório de Tecnologia de Sementes do Núcleo de Pesquisa Agrícola (NUPAGRI), no Departamento de Agronomia (UEM).

Foram utilizados 400 gramas de sementes de milho-pipoca, híbrido da marca comercial “Zélia”, com umidade em torno de 14%. Essas sementes foram colhidas na Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Maringá no município de Iguatemi.

Para cada porção de sementes de milho pipoca, foram preparadas amostras com quatro teores de umidade. As amostras com umidade de 12% foram obtidas pelo método de estufa com circulação forçada de ar à uma temperatura de 40°C.

As amostras que se desejava com umidade superior à das amostras colhidas (14%), ou seja com 18 e 20% de umidade, foram umedecidas em um germinador com atmosfera com ar à temperatura de 30°C e umidade relativa acima de 90%. Durante o processo de adsorção as massas das amostras eram medidas em balança com precisão de 0,01 grama, em intervalos periódicos até que a umidade desejada fosse atingida. Com base na umidade e massa inicial, determinava-se então a umidade da amostra. As determinações das umidades propostas foram realizadas portanto, pelo método de estufa.

Após a obtenção dos teores de umidade desejados para cada amostra, elas foram homogeneizadas, sendo colocadas em sacos de polietileno hermeticamente fechados, permanecendo por sete dias em geladeira à temperatura controlada de 10°C, para total uniformização.

Para as medidas com o Método Karl Fischer, considerado como referência, as amostras passaram por outro processo. As sementes de milho-pipoca foram moídas e passadas por uma peneira de malha de 0,84 mm (20 mesh). Para cada valor de umidade, aproximadamente 30 gramas de sementes moídas foram colocadas em cinco (cinco repetições) recipientes hermeticamente fechados. Os recipientes foram completamente cheios e imediatamente transportados, em caixa de isopor, até o equipamento Karl Fischer.

Um grama de cada recipiente foi colocado em balão de vidro, adicionando-se 50ml de metanol e mantendo-se nas condições ambientes por 24 horas. Após este período, as misturas foram tituladas no equipamento de Karl Fischer, seguindo os procedimentos da Associação Brasileira de Normas Técnicas^[32] e as instruções do manual do equipamento.

Os equipamentos utilizados para a realização dos procedimentos foram: Câmara de germinação para umidificação, geladeira a 10°C, moinho multiuso modelo Te-631 da marca Tecnal, estufa com circulação e renovação de ar modelo Te-394/3 e um determinador para método “Karl Fischer” Multi-Dosimat E 415 e Multi Burette E 485 da marca Metrohm.

As amostras estudadas com a Fotoacústica foram separadas da mesma porção que foi analisada pelo método Karl Fischer, ou seja, foram fornecidas na forma de pó. Para evitar absorção da umidade do ar, as mesmas foram acondicionadas em frascos hermeticamente fechados. E para efeito de repetição, foram preparadas cinco amostras de cada umidade escolhida.

5.2 Montagem Experimental para Medidas de Espectroscopia Fotoacústica com Célula Fechada [Equation Chapter 5 Section 2](#)

O arranjo experimental para as medidas de Espectroscopia Fotoacústica em amostras “*in vitro*” está esquematizado na Fig. 5.1.

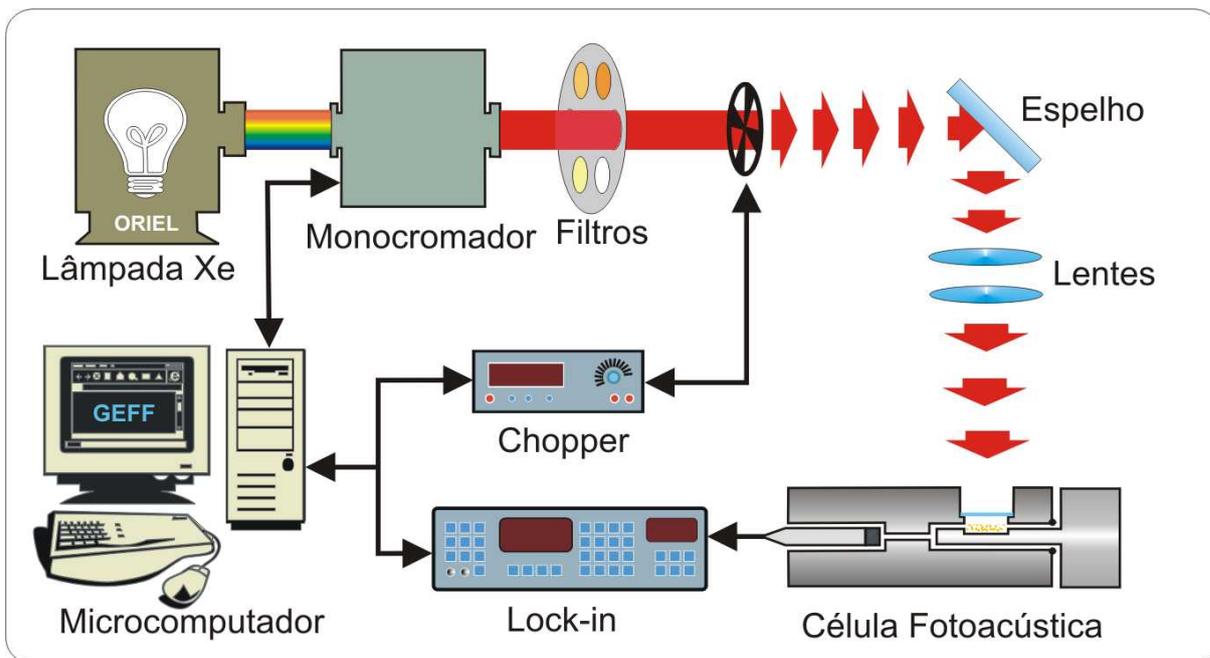


Fig. 5.1: Arranjo experimental da Espectroscopia Fotoacústica para medidas "in vitro".

Nesta montagem utilizamos como fonte de luz, uma lâmpada de arco de Xenônio a alta pressão, de 1000 Watts [W] de potência, da marca Oriel Corporation modelo 68820. Durante as medidas a potência da lâmpada era regulada em 800W. No monocromador, modelo 77250 (1/8m) da Oriel Instruments, as fendas foram ajustadas em entrada 3,16 mm, e saída 1,56 mm, para que houvesse uma boa definição das bandas. As grades de difração são da marca Oriel e para as medidas em milho foram utilizados os modelos 77299 para a região do infravermelho próximo (800 a 1600nm) e 77300 para o infravermelho médio (1600 a 4000nm). A frequência de modulação da luz foi fixada em 21 Hz. Esta é controlada por um modulador (chopper) , modelo SR 540 da Stanford Research Systems que, através de um fotodiodo, fornece um sinal de referência para o Lock-in. Antes de passar pelo modulador de frequência, o feixe de luz passa ainda por um filtro de bandas para que sejam eliminadas ordens superiores de difração.

As lentes da montagem devem fazer com que a amostra seja atingida na região do foco do feixe de luz, para que esta receba o máximo de intensidade possível.

A célula fotoacústica para as medidas em milho é a que chamamos de célula fechada ou célula para medidas "in vitro". Na Fig. 5.1, podemos observar que a luz atinge a amostra após entrar na célula por uma janela óptica. Esta janela é de quartzo para que não haja diminuição da intensidade da luz, já que este material é transparente para todo o espectro da luz branca. Detalhes desta célula podem ser visualizados na Fig. 5.2

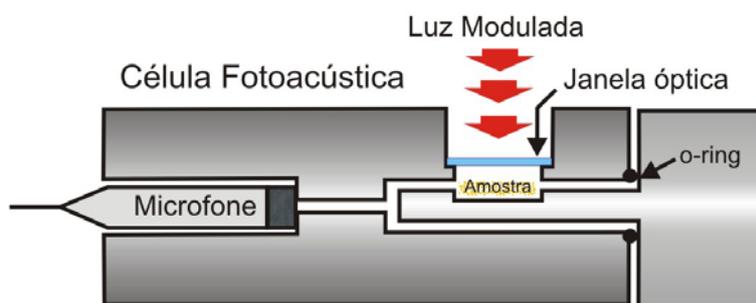


Fig. 5.2: Detalhe da célula fotoacústica para medidas "in vitro".

O microfone acoplado à célula fotoacústica é da marca Brüel & Kjaer, modelo BK 2669 e está conectado a uma fonte de alimentação e pré-amplificação. O sinal do microfone é levado ao Lock-in (amplificador sintonizado) modelo 5110 da marca EG & G Instruments. O Lock-in é responsável pela detecção da intensidade e fase do sinal fotoacústico e pela transmissão destes dados ao sistema computacional.

5.3 Montagem Experimental e Procedimento para as Medidas de Calor Específico

As medidas de calor específico foram realizadas utilizando um calorímetro de relaxação térmica. Este é de fabricação própria de nosso grupo (GEFF-Grupo de Estudos de Fenômenos Fototérmicos), assim como o programa utilizado para a aquisição de dados.

A montagem experimental é demonstrada graficamente na Fig. 5.3.

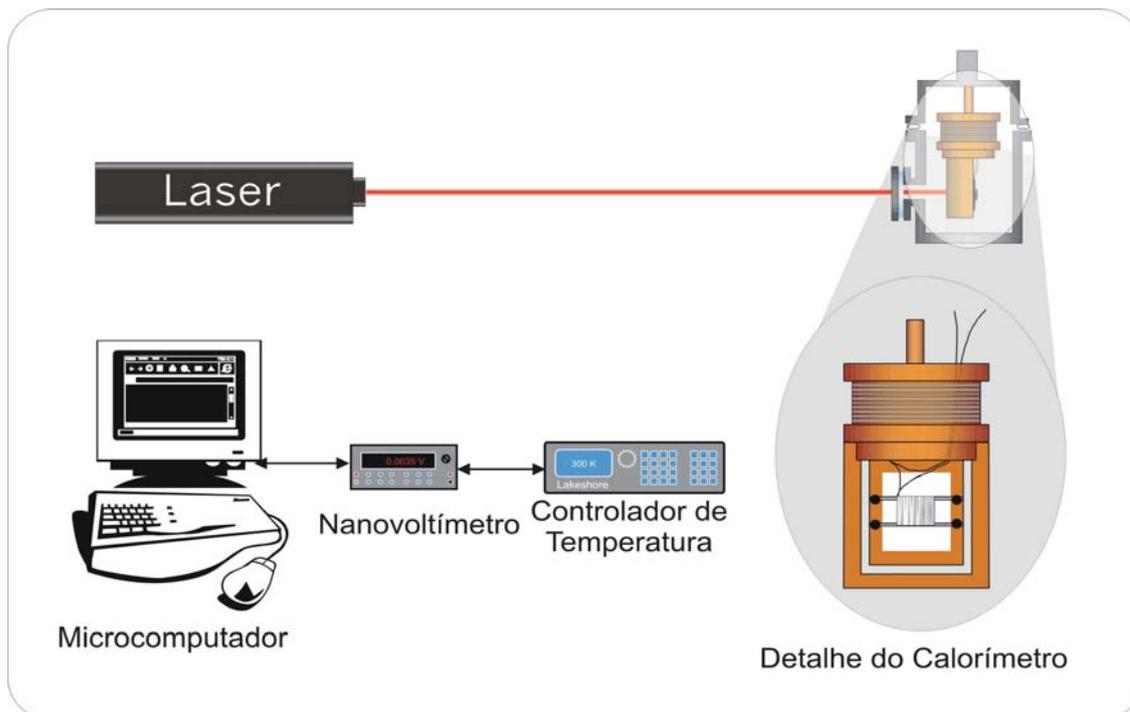


Fig. 5.3: Montagem experimental para medidas de C_p , com detalhe do substrato.

Como fonte de calor para o sistema, utilizamos um laser de diodo com potência variável até 10mW, marca Coherent, modelo 31-1050. Com a incidência do feixe de luz no sistema substrato-amostra fazemos portanto, com que ocorra uma diferença de temperatura (ΔT) entre o sistema e o reservatório. Essa diferença de temperatura é medida em configuração diferencial por um termopar que está conectado a um nanovoltímetro da marca Keithley, modelo 2182. Todo o processo é controlado pelo microcomputador.

Com o ajuste das curvas de relaxação térmica podemos obter o valor da capacidade térmica e assim, sabendo qual é a massa da amostra, temos o valor do calor específico.

Como podemos observar na Fig. 5.3 o feixe de laser passa por uma janela óptica e atinge o substrato para provocar aquecimento na amostra. Isto faz com que haja uma perda considerável (~20%) de intensidade da luz devido a reflexões que ocorrem, tanto na janela de quartzo, quanto no substrato. Fazemos portanto, uma medida de calibração para sabermos qual a potência de luz que está chegando na amostra. Esta medida é feita com uma amostra com capacidade térmica conhecida, uma vez que se quer determinar a potência que incide sobre ela.

5.4 Preparação e Montagem para as Medidas “*in vivo*”. Equation Chapter 5 Section 4

Os três produtos (protetores solares) analisados nos foram fornecidos pela empresa de cosméticos “Natura Inovação e Tecnologia de Produtos Ltda”. Estes produtos possuem em suas respectivas formulações um mesmo princípio ativo adicionado a três bases diferentes. A fórmula dos produtos não nos foi fornecida, sendo os produtos nomeados apenas pelos códigos MR2003A, MR2003B e MR2003C.

O produto MR2003A possui uma coloração esbranquiçada e uma consistência cremosa, diferindo dos outros dois produtos que apresentam coloração alaranjada e consistência mais líquida ou gel.

As medidas foram realizadas em 15 voluntários, sendo eles 9 homens e 6 mulheres, de cor branca (tipos I, II e III, ver Tabela 3) e com idades entre 22 e 50 anos.

Após alguns testes, estabeleceu-se que a região superior do antebraço receberia a aplicação do produto. O procedimento adotado foi o de depilar a região, com lâmina de barbear comum, para evitar vazamentos na célula. Logo em seguida, a região era higienizada e então recebia o produto. O protetor era espalhado sobre a pele homogeneamente, aguardando-se em média 10 minutos para iniciar o processo de medida, tomando-se sempre o cuidado de usar o mesmo procedimento com todos os voluntários.

A frequência de modulação da luz em nossos experimentos foi ajustada em 40 Hz. Esta frequência foi escolhida por permitir uma melhor definição da banda de absorção dos produtos e por estar bem diferenciada da frequência cardíaca humana. Assim, sabendo-se que a difusividade térmica da pele (velocidade de propagação do calor na amostra) é aproximadamente $3.0 \times 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{s}$ ^[33] podemos, a partir da equação (3.5.1) ver que nossas medidas foram realizadas monitorando uma profundidade de aproximadamente $50 \mu\text{m}$ da superfície externa da pele.

Por se tratarem de medidas “*in vivo*” tentamos minimizar ao máximo, sem prejudicar o significado da pesquisa, o intervalo do espectro no qual as medidas seriam feitas, ficando estabelecido o intervalo de 270 a 420 nm, já que as bandas de interesse estão nesta região.

A montagem experimental para as medidas “*in vivo*” é basicamente a mesma mostrada na Fig. 5.1. Mudam apenas a célula fotoacústica e o microfone utilizados.

O arranjo experimental para as medidas “*in vivo*” é mostrado na Fig. 5.4.

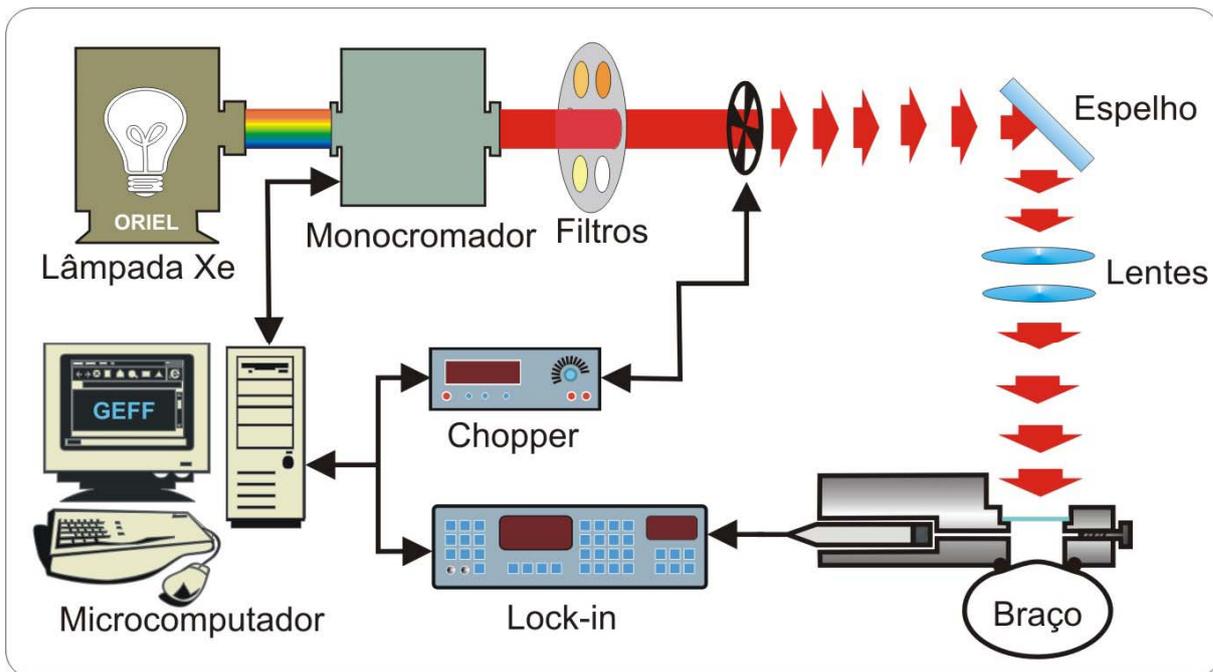


Fig. 5.4: Arranjo experimental da Espectroscopia Fotoacústica para medidas "in vivo".

Nela, podemos observar que a acoplagem entre a célula aberta e o ante-braço do voluntário é feita apenas com um o-ring. Detalhes da acoplagem e da célula fotoacústica podem ser vistos na Fig. 5.5.

Após ser devidamente ajustada à pele, a célula e o ante-braço são fixados à base que suporta o sistema (célula+microfone). O microfone utilizado para estas medidas é da marca Sunreizer.

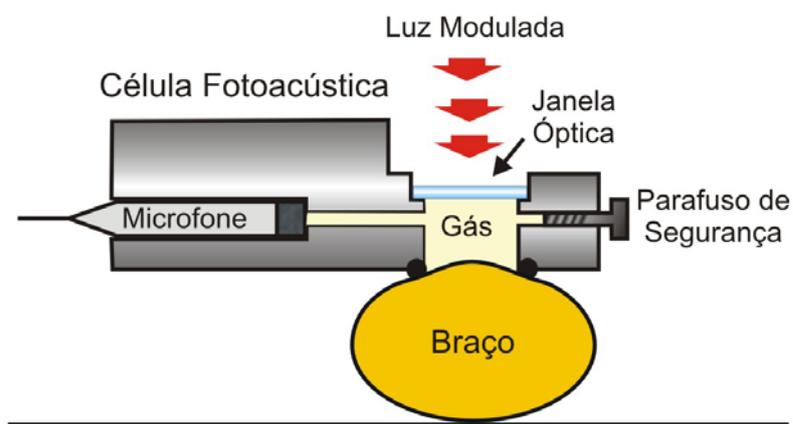


Fig. 5.5: Detalhe da célula fotoacústica para medidas "in vivo".

Capítulo 6

RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.1 Medidas e ajustes para as amostras de milho **Equation Chapter 6 Section 1**

Para o estudo da umidade em grãos de milho, realizamos inúmeras medidas usando a Espectroscopia Fotoacústica “*in vitro*” e também medidas com a calorimetria de relaxação térmica.

Durante o período no qual realizamos as medidas preliminares, para o estabelecimento dos melhores parâmetros para o experimento, pudemos observar qual seria a nossa primeira grande dificuldade. As amostras deveriam ser manuseadas de forma a evitar a absorção de umidade do ambiente. Para verificarmos a progressão desta absorção, fizemos uma medida da massa em função do tempo de exposição da amostra ao ar, em uma balança de precisão. Para esta medida a amostra passou previamente por um processo de secagem em estufa a uma temperatura de 105°C por um período de 24 horas, para em seguida ser exposta à Sílica Gel, pré aquecida, em uma campânula (dissecador) com baixo vácuo. Desta forma asseguramos que a amostra estaria com baixa umidade. Em seguida, a medida da massa em função do tempo foi realizada com a porção de amostra espalhada sobre papel alumínio e com a câmara da balança fechada. Os resultados obtidos neste procedimento são mostrados na Fig. 6.1. Nota-se que a massa da amostra teve um aumento de, aproximadamente, 2,56% após 40 minutos de exposição ao ar, como consequência da absorção da umidade.

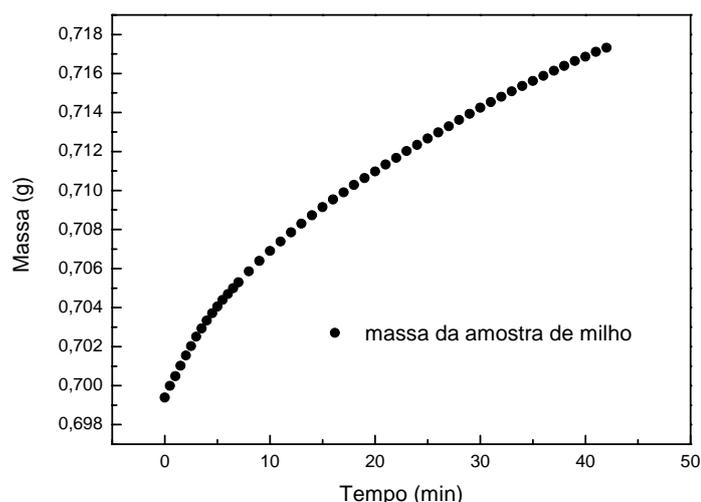


Fig. 6.1: Evolução do valor da massa do milho dissecado em função do tempo de exposição ao ar.

A seguir, passamos a analisar a umidade das amostras. O primeiro lote analisado possuía 10 amostras, sendo 5 delas de umidade 12% e as outras 5 de umidade 18%. Estes valores previamente estabelecidos são referentes às medidas em estufa. Ao serem feitas as medidas com o Método Karl Fischer, os valores tiveram uma alteração considerável de 12 para 13,7% e de 18 para 17,1% de umidade. Sendo estes últimos dados os considerados como base para nossos estudos.

Primeiramente realizamos medidas das amostras na região do infravermelho próximo. Estes espectros, por sua vez, não apresentaram boa definição de bandas como podemos visualizar na Fig. 6.2:

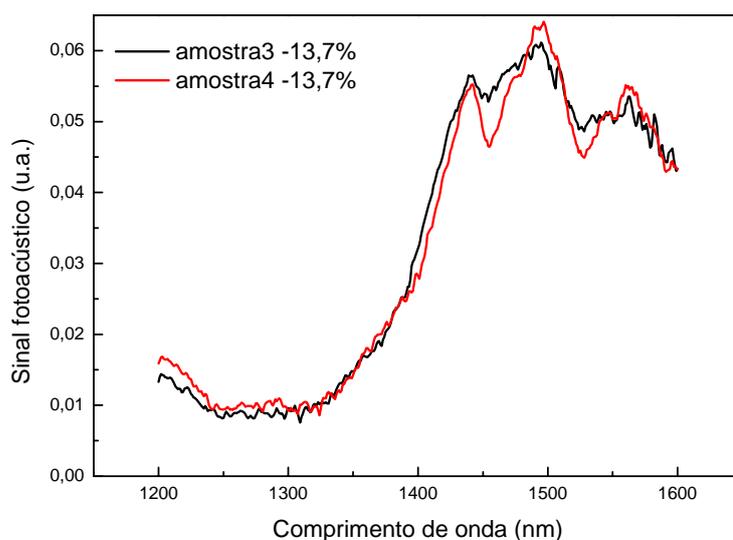


Fig. 6.2: Espectros de absorção na região do infravermelho próximo das amostras 3 e 4 com umidades de 13,7%.

Além da pouca definição, os picos das bandas existentes correspondem aos valores referentes ao terceiro “overtone” da ligação dupla $C = O$, em 1450nm, ao primeiro “overtone” da ligação $N - H$, em 1500nm e ao primeiro “overtone” ($N - H$ stretch) da molécula CONH em 1570nm. Estes picos de absorção estão devidamente identificados e comentados na literatura^[34]. É esperado que a água livre (OH) apresente banda de absorção óptica na região espectral entre 1360 e 1400nm^[34]. Nota-se nos espectros que as bandas de absorção geradas pelas moléculas $C = O$ e $N - H$, por serem muito intensas, dificultam a determinação da contribuição da absorção da água para o espectro total.

Nas amostras com 17,1% de umidade, as mesmas bandas se repetem e novamente os picos não se definem, resultados não mostrados.

Devido à indefinição das bandas para amostras do mesmo lote e com o mesmo valor de umidade, foram feitos outros espectros aumentando-se o valor da frequência de modulação da luz utilizada, para a amostra 2 do grupo de 17,1% de umidade. Isto foi feito com o intuito de observar se haveria mudança nos espectros devido à diminuição da profundidade de geração do sinal fotoacústico. Mesmo assim, não ocorreu a definição de bandas, observou-se apenas uma diminuição considerável da intensidade do sinal fotoacústico em todo o espectro.

Devido a isso não utilizaremos, portanto, os espectros referentes à região do infravermelho próximo em nosso estudo.

Já para a região do infravermelho médio obtivemos espectros com boa resolução de bandas, sendo duas delas referentes à presença de água na amostra.

Nas Fig. 6.3 e Fig. 6.4 temos os espectros de absorção nesta região para todo o primeiro lote de amostras;

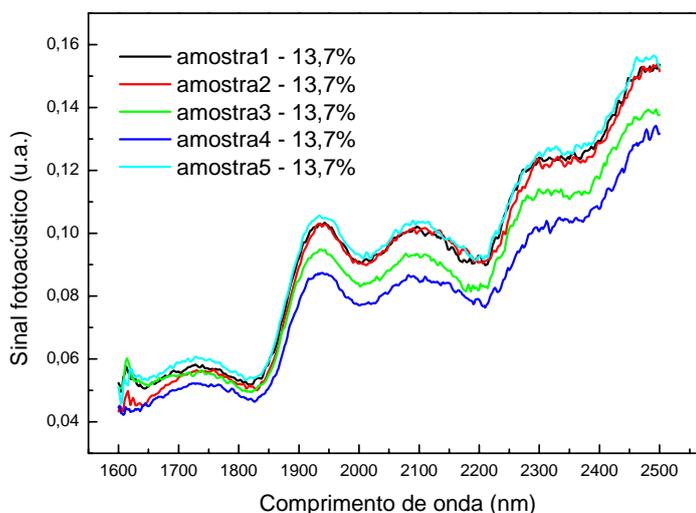


Fig. 6.3: Espectros de absorção para as amostras de 13,7% de umidade na região do infravermelho médio.

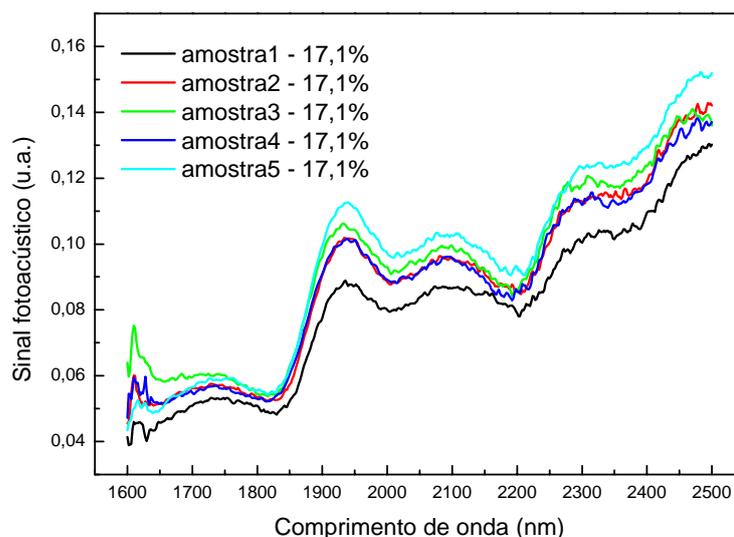


Fig. 6.4: Espectros de absorção para as amostras de 17,1% de umidade na região do infravermelho médio.

Podemos identificar cinco picos de absorção em nossos espectros, que se encontram na Tabela 5, sendo todos previamente conhecidos^[34].

Tabela 5: Bandas de absorção do espectro na região do infravermelho médio.

| Comprimento de onda | | Picos | Ligação e Observação |
|---------------------|-----------------------------|-------|--|
| Unidade em nm | Unidade em cm^{-1} | | |
| 1760 | 5681 | 1 | 1º overtone, característico de grupo- CH_2 - |
| 1940 | 5154 | 2 | 2º overtone da ligação O-H-(água livre) |
| 2000 | 5000 | 3 | O-H ligada e outra combinação |
| 2050 | 4878 | 3 | N-H/Amido II (CONH) ou N-H/Amido III (CONH ₂) ou combinação entre eles |
| 2055 | 4866 | 3 | Ligação N-H/Combinação amido I (Proteína) |

O segundo lote nos foi enviado com 12 amostras. Cinco delas com valor inicial (determinado em estufa) de umidade 14%, mais cinco com 21% de umidade e outras duas para a comparação entre os métodos de estufas utilizados no Brasil, em que a amostra é aquecida por 105°C por 24 horas, e o método oficial norte-americano, que utiliza 103°C por 72 horas. Novamente foram feitas as medidas com o Método Karl Fischer, com o qual se

encontrou que a média de umidade das amostras de 14% foi de 14,6% e das amostras de 21% foi de 20,8% de umidade.

Devemos lembrar que as diferenças entre os espectros de amostras com o mesmo valor de umidade se devem a diversos fatores: no caso da umidade determinada pelo método de estufa, pela imprecisão na medida da temperatura da mesma e no caso da fotoacústica pelo fato que o procedimento de medida é manual podendo haver diferença na quantidade de amostra posta na célula ou na compactação da mesma dentro da cavidade. Os espectros de absorção para as amostra de 14,6 e 20,8% de umidade são mostrados nas Fig. 6.5 e Fig. 6.6:

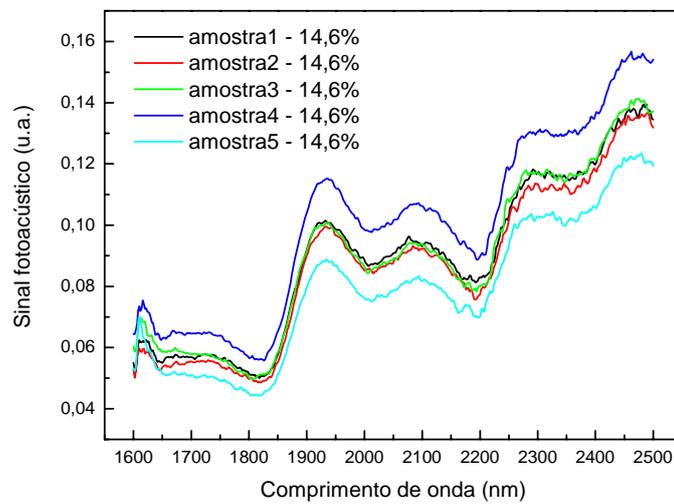


Fig. 6.5: Espectros de absorção para as amostras de 14,6% de umidade na região do infravermelho médio.

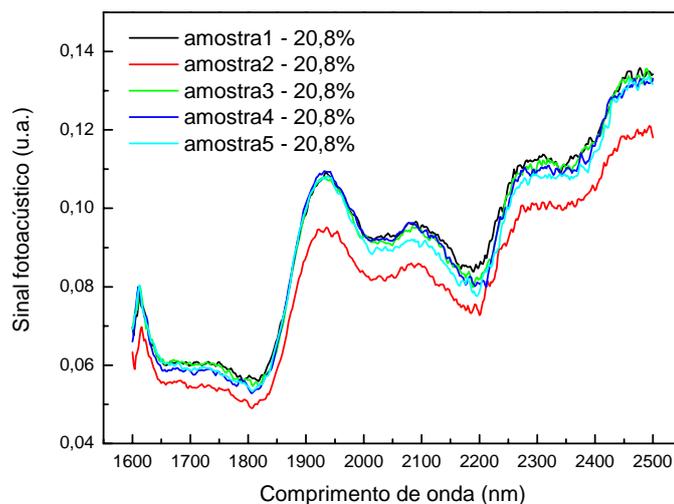


Fig. 6.6: Espectros de absorção para as amostras de 20,8% de umidade na região do infravermelho médio

A comparação entre as amostras com processos de secagem diferentes pode ser feita com a sobreposição de seus espectros de absorção. Na Fig. 6.7 vemos claramente a diferença entre as amplitudes dos picos referentes à água livre (~1900nm). Escolhemos um ponto de mínimo para cada espectro de modo que pudéssemos deixá-los com uma mesma linha de base.

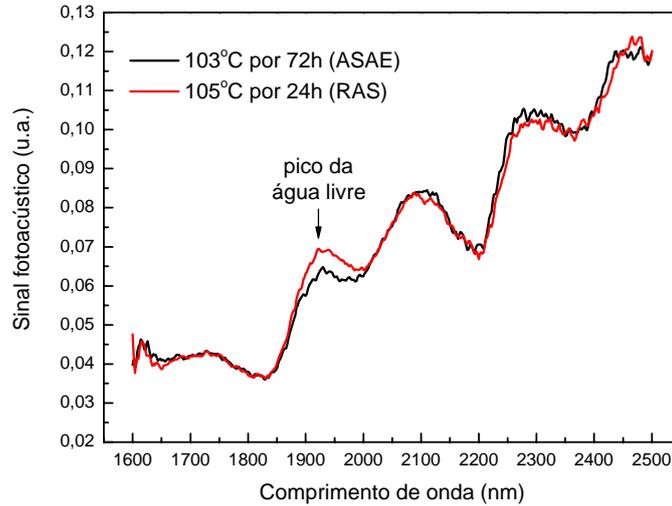


Fig. 6.7: Diferença entre as amplitudes dos picos referentes à água livre em espectros de amostras com processos de secagem diferentes.

A análise detalhada dos espectros de absorção foi feita através de ajuste com funções gaussianas, obtendo-se assim, os valores do centro, da largura, da área e da amplitude para cada pico. Um exemplo deste ajuste está mostrado na Fig. 6.8.

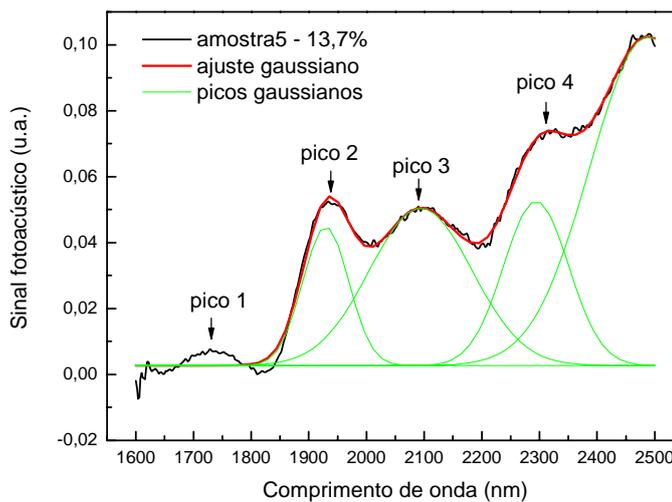


Fig. 6.8: Espectro fotoacústico e ajuste gaussiano para a amostra 5 com 13,7% de umidade.

Para os ajustes, os espectros fotoacústicos foram inicialmente colocados em uma mesma linha de base, ou seja, escolhemos um “ponto de mínimo”, por volta de 1818nm que deveria estar em $y = 0$, ou o mais próximo deste valor possível. Assim, estaríamos desprezando as diferenças entre os espectros causadas por falhas no manuseio das amostras e no procedimento experimental. Para garantir ainda a credibilidade do procedimento de ajuste, os valores obtidos para os picos 2 e 3 foram normalizados pelos valores do pico 4, já que este se manteve praticamente constante. Na Tabela 6 encontram-se os parâmetros que utilizamos para a análise dos dados. Para simplificação, definiremos a área dos pico de A e o valor médio de VM , conforme indicados na Fig. 6.8.

Tabela 6: Parâmetros do ajuste com funções gaussianas para os espectros fotoacústicos das amostras de milho na região do infravermelho médio.

| Umidade/ Amostra | A pico 2 | A pico 3 | $\frac{A \text{ pico 2}}{A \text{ pico 4}}$ | $\frac{A \text{ pico 3}}{A \text{ pico 4}}$ | $VM \frac{A \text{ pico 2}}{A \text{ pico 4}}$ | $VM \frac{A \text{ pico 3}}{A \text{ pico 4}}$ |
|---------------------|----------|----------|---|---|--|--|
| 13,7% - 1 | 4,3792 | 11,026 | 0,790 | 1,493 | 0,748 | 2,050 |
| 13,7% - 2 | 4,5784 | 11,373 | 0,629 | 1,517 | -- | -- |
| 13,7% - 3 | 3,2733 | 10,021 | 0,715 | 1,990 | -- | -- |
| 13,7% - 4 | 4,1815 | 12,908 | 0,804 | 1,564 | -- | -- |
| 13,7% - 5 | 3,9617 | 10,011 | 0,801 | 2,189 | -- | -- |
| 14,6% - 1 | 5,0292 | 9,1178 | 0,934 | 2,482 | 0,931 | 1,838 |
| 14,6% - 2 | 5,5481 | 10,888 | 1,022 | 2,025 | -- | -- |
| 14,6% - 3 | 4,112 | 7,9818 | 0,808 | 1,694 | -- | -- |
| 14,6% - 4 | 4,7156 | 9,5506 | 0,945 | 2,007 | -- | -- |
| 14,6% - 5 | 4,6496 | 9,8646 | 0,945 | 1,569 | -- | -- |
| 17,1% - 1 | 2,9441 | 10,483 | 0,695 | 1,913 | 0,893 | 2,211 |
| 17,1% - 2 | 4,0562 | 10,282 | 0,805 | 2,006 | -- | -- |
| 17,1% - 3 | 4,5422 | 10,083 | 0,982 | 2,473 | -- | -- |
| 17,1% - 4 | 4,5285 | 9,4409 | 1,002 | 2,040 | -- | -- |
| 17,1% - 5 | 5,0393 | 11,681 | 0,981 | 2,180 | -- | -- |
| 20,8% - 1 | 5,7394 | 9,1678 | 1,311 | 2,089 | 1,134 | 1,873 |
| 20,8% - 2 | 5,1675 | 8,7666 | 1,062 | 2,275 | | |
| 20,8% - 3 | 4,5194 | 7,8071 | 1,179 | 2,094 | | -- |
| 20,8% - 4 | 5,2384 | 8,7417 | 1,017 | 1,801 | | -- |
| 20,8% - 5 | 5,3556 | 8,4523 | 1,099 | 2,038 | | -- |

Na Fig. 6.9, estão os resultados referentes aos ajustes dos espectros de absorção, para todas as umidades. Podemos observar o aumento do valor da área do pico 2, referente à água livre, em função dos valores das respectivas umidades. O mesmo não acontece com os valores referentes à área do pico 3 (água ligada), em que ocorre até mesmo um decréscimo muito pequeno.

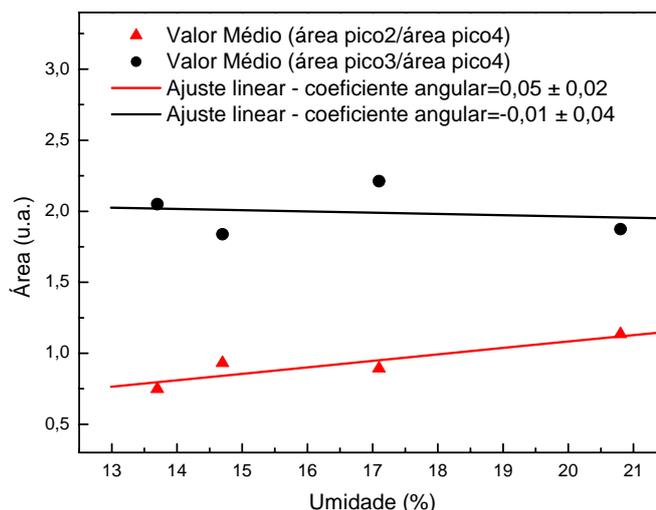


Fig. 6.9: Valor médio das razões entre as áreas dos picos: 2(água livre) e 4(pico constante); 3(água estrutural) e 4(pico constante).

Para podermos comparar efetivamente os dados referentes à Fotoacústica e ao Método Karl Fischer, precisamos de valores efetivos de variação, já que a Fotoacústica não nos fornece quantitativamente a porcentagem de água livre da amostra. Para isso, normalizamos os valores obtidos a partir do método Karl Fisher pelo seu menor valor, 13,7% e o mesmo foi feito com os valores das áreas do pico 2, referente à água livre, normalizando-os, portanto, com o menor valor de área. O resultado é mostrado na Fig. 6.10.

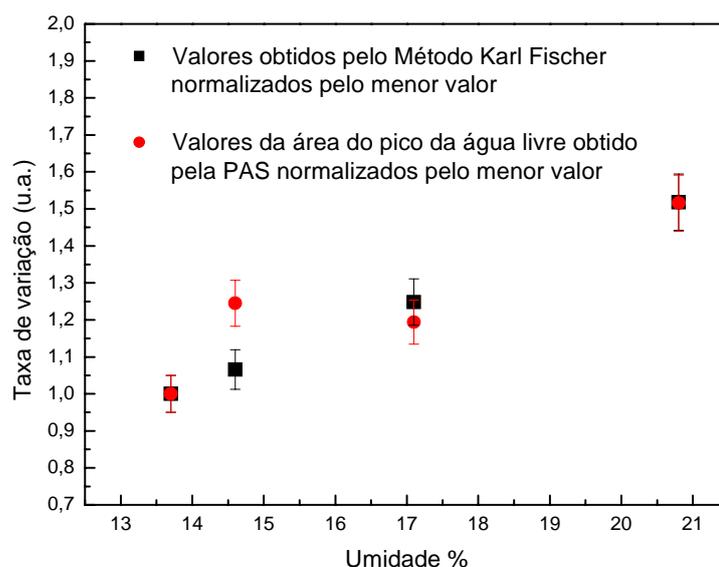


Fig. 6.10: Taxas de variação dos valores obtidos pelo método Karl Fischer e pela PAS.

Portanto, os dados obtidos com a Espectroscopia Fotoacústica estão em concordância com os valores umidade das amostras medidas pelo método de Karl Fisher.

Medidas complementares foram realizadas para que pudéssemos avaliar a sensibilidade e a reprodutibilidade da técnica.

Assim realizamos um conjunto de medidas em função do tempo com uma das amostras secas em processo de estufa. Devido à quantidade de amostra, escolhemos aquela que passou pelo processo de secagem utilizada no Brasil, ou seja, a 105°C por 24 horas. Um novo espectro da amostra foi feito inicialmente e chamamos de tempo “zero” o instante em que a amostra foi posicionada na célula fotoacústica. Após a medida, a amostra foi deixada exposta ao ar da sala (com o aparelho de ar condicionado desligado) durante 1 hora. Feito novo espectro, a amostra foi deixada novamente em exposição por mais 2 horas. Pelo gráfico (Fig. 6.11) podemos ver claramente a evolução do pico referente à água livre (1900nm).

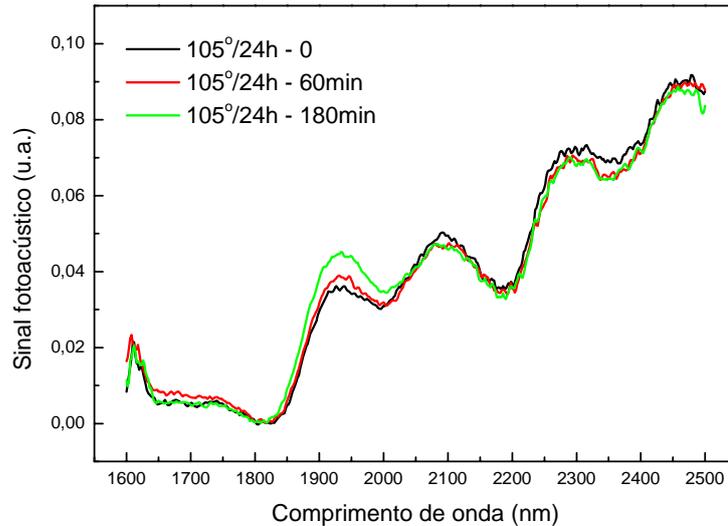


Fig. 6.11: Evolução temporal do pico da água livre na região do infravermelho médio.

Através dos ajustes podemos observar claramente a evolução do pico 2. O procedimento para os ajustes foi o mesmo descrito anteriormente com exceção da normalização com o pico 4, que desta vez não foi feito, por se tratarem de dados para comparação.

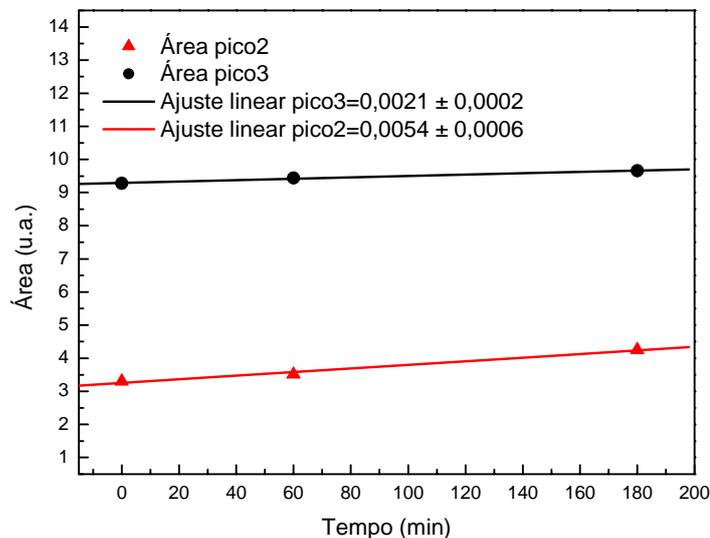


Fig. 6.12: Ajuste dos espectros de evolução da umidade em função do tempo.

Observando os coeficientes angulares dos ajustes lineares confirmamos o que se pode ver na Fig. 6.11, ou seja, a evolução mais acentuada da banda da água livre em comparação ao que ocorre com o pico 3, que se manteve praticamente constante.

Repetimos o conjunto de medidas expondo ao ar a amostra desidratada. Uma porção da amostra seca em estufa, em 105°C por 24 horas, foi deixada em um dissecador a vácuo com sílica gel pré-aquecida, por três dias, para que o excesso de umidade devido ao

manuseio fosse retirado. Iniciamos a medição dos espectros de absorção no tempo zero indo até 90 minutos de exposição ao ar da sala. Durante este período a sala permaneceu com o aparelho de ar condicionado desligado e a umidade relativa do ar permaneceu por volta de 73%.

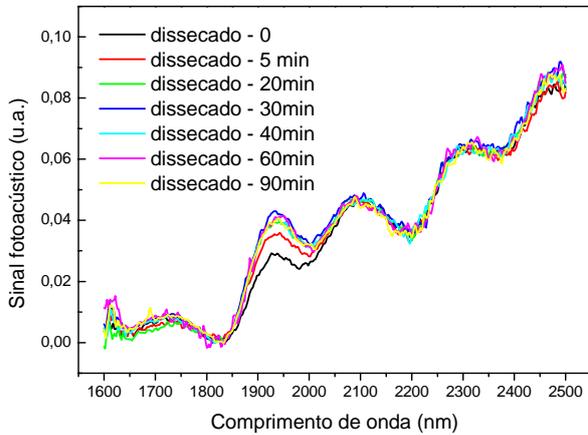


Fig. 6.13: Evolução temporal da umidade para a amostra dissecada na região do infravermelho médio.

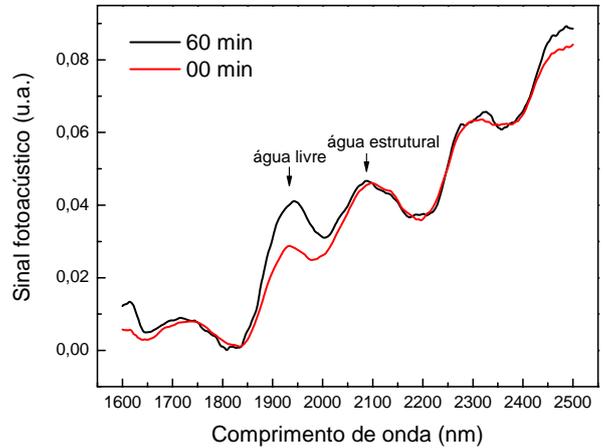


Fig. 6.14: Espectros de absorção da amostra dissecada em 0 e 60 minutos de exposição ao ar da sala.

Como podemos observar na Fig. 6.13, o pico da água livre atinge sua máxima amplitude aos 30 minutos, ocorrendo então, uma saturação do espectro. A diferença entre o mínimo e o máximo da amplitude da banda se mostra bastante pronunciada, como podemos observar na Fig. 6.14.

Com o ajuste gaussiano podemos avaliar este aumento da banda da água livre através do coeficiente angular do ajuste, mostrado na Fig. 6.15. Trata-se de um resultado que demonstra o potencial da fotoacústica para a determinação da umidade das amostras.

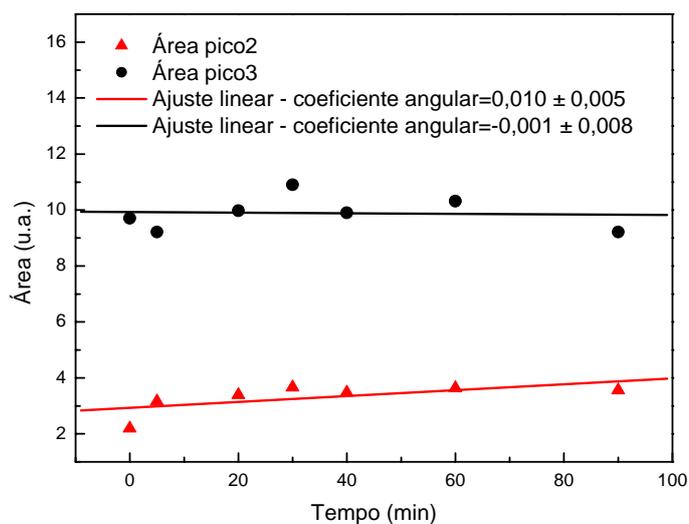


Fig. 6.15: Ajuste dos espectros de absorção em uma amostra de milho dissecado em função do tempo de exposição ao ar da sala.

Nosso próximo passo foi realizar medidas complementares de calor específico para sabermos se haveria concordância entre as duas técnicas. Os resultados estão mostrados na Fig. 6.16.

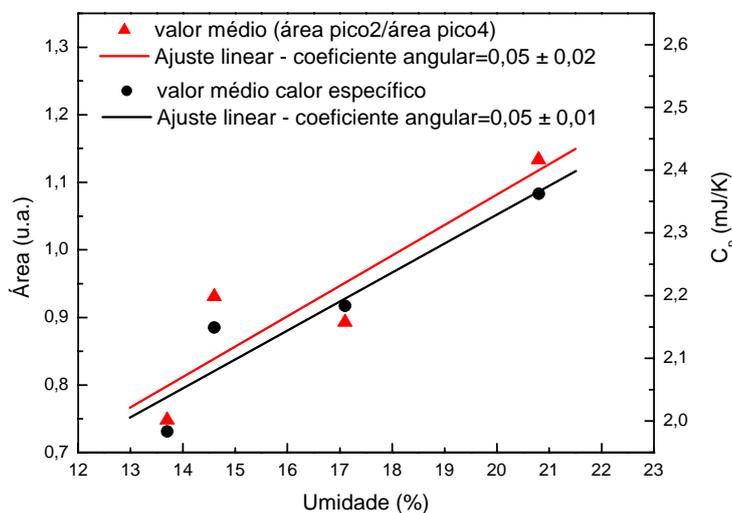


Fig. 6.16: Medidas de calor específico em função da umidade das amostras de milho; os valores médios da área para a banda da água livre obtidos com a fotoacústica são mostrados novamente para comparação.

Podemos observar uma boa concordância entre os coeficientes angulares da evolução da área da banda de absorção óptica da água livre (mostrados na Fig. 6.9 e

repetidos na Fig. 6.16 para efeito de comparação) e dos valores médios do calor específico, em função da umidade das amostras.

Para avaliar a concordância entre os valores do calor específico aqui obtidos e os valores obtidos com o método Karl Fischer, calculamos os valores percentuais do calor específico da água e do milho, sendo estas porcentagens referentes ao método Karl Fischer. Através da soma destes valores deveríamos obter o valor medido do calor específico para cada amostra. Comparando-os obtivemos uma variação destes valores de aproximadamente 14%. Os coeficientes angulares de seus respectivos ajustes lineares mostraram também uma pequena variação, como podemos ver na Fig. 6.17.

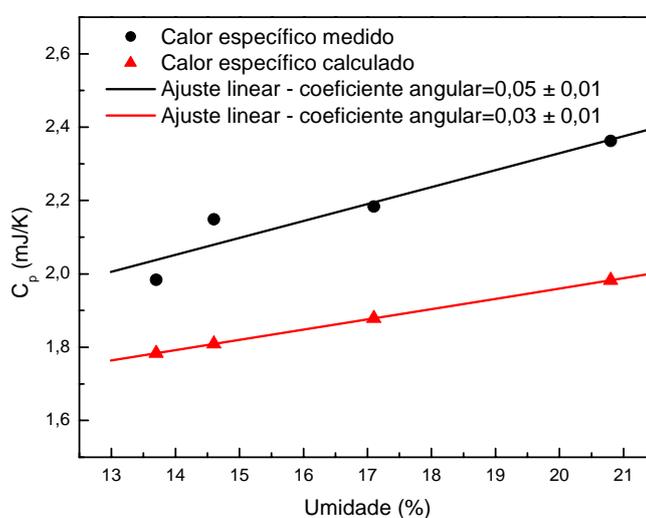


Fig. 6.17: Variação dos valores de calor específico medidos e calculados.

Portanto, observamos que os resultados do estudo realizado em grãos indicam que a PAS pode ser empregada como um método de calibração para as outras técnicas, por não ser destrutiva e ainda por utilizar as bandas de absorção óptica da água, que é um procedimento seguro de identificação da mesma. Finalmente, deve ser ressaltado que a PAS permite a distinção entre a água livre e a estrutural, o que não pode ser feito com os métodos convencionais empregados na determinação da umidade como o da estufa e o Karl Fischer.

6.2 Medidas com protetor solar

6.2.1 Determinação da resposta espectral dos produtos

Para iniciarmos o estudo dos três produtos que nos foram enviados, realizamos medidas com a Espectroscopia Fotoacústica para verificar a região espectral de absorção de cada um entre 250 e 500nm. Para as medidas, os produtos foram aplicados cada qual em uma lâmina de vidro, como as utilizadas em microscópio. Na Fig. 6.18, temos os espectros fotoacústicos de absorção dos três protetores fornecidos.

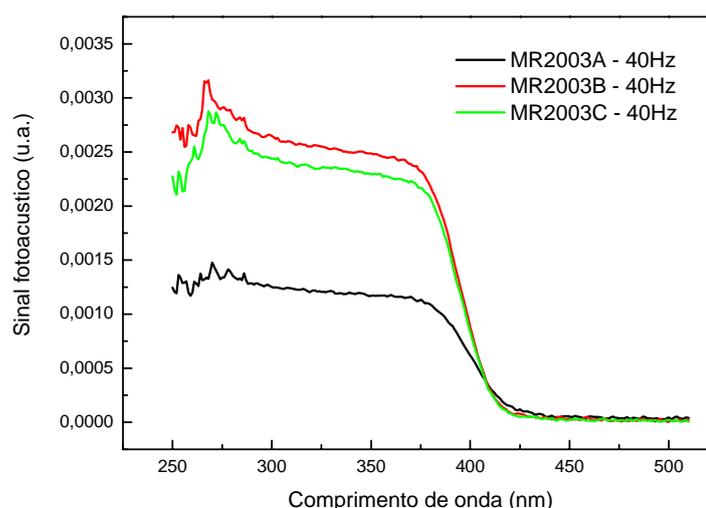


Fig. 6.18: Espectros de absorção dos produtos MR2003A, MR2003B e MR2003C, com a frequência de modulação em 40Hz, aplicados sobre a lâmina de vidro.

Podemos observar que embora a distribuição espectral da absorção óptica seja semelhante, abrangendo até o final da região do UVA, por volta de 400nm, o produto MR2003A (creme) apresenta menor intensidade de absorção se comparado com os outros dois (géis). A possível explicação para estas diferenças seria provavelmente uma maior reflexão da luz pelo creme, devido à sua cor esbranquiçada e não translúcida, diferente das demais amostras, ou ainda por uma menor concentração do princípio ativo na amostra. Na Fig. 6.19, temos os espectros de transmissão dos três produtos. Nas medidas de

transmissão, uma fina camada de cada protetor foi depositada sobre uma lâmina de vidro posicionada próxima do foco da luz modulada, mas fora da célula fotoacústica. Dentro da célula o carvão foi utilizado para absorver toda a luz transmitida pelo protetor. Com estas medidas confirmamos nossa hipótese sobre a baixa absorção da luz pelo produto MR2003A quando comparada aos outros dois protetores, como sendo devido ao espalhamento da luz. Este efeito, se deve provavelmente à presença de protetor físico (partículas com dimensões da ordem do comprimento de onda da luz incidente), que devem ter sido introduzidas na composição deste protetor. A coloração esbranquiçada do creme é uma indicação de tais partículas.

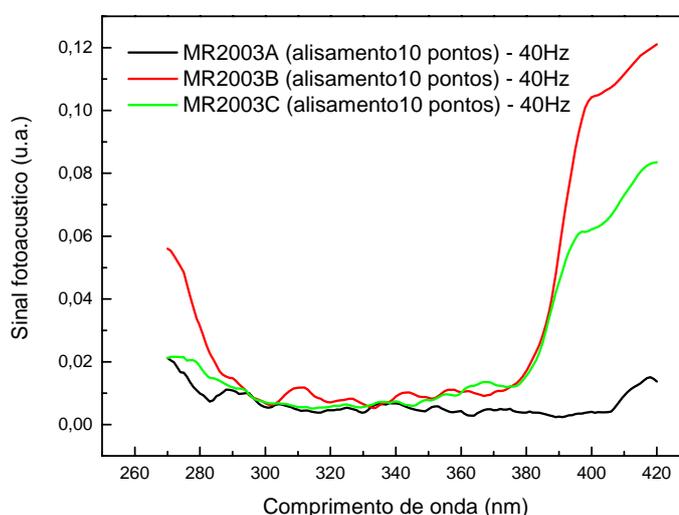


Fig. 6.19: Espectros de transmissão dos produtos MR2003A, MR2003B e MR2003C, alisados com 10 pontos.

A natureza larga do espectro, tanto na absorção, quanto na transmissão da luz, sugere ainda que possa haver uma combinação de mais de uma substância como princípio ativo com centros absorvedores distribuídos entre 270 e 400nm.

6.2.2 Medidas “in vivo”

Sabendo então, após a etapa anterior, em qual região do espectro deveríamos nos ater, mais precisamente, iniciamos as medidas “in vivo”. Para tal, os produtos foram aplicados, como já visto na seção 5.4, na região dorsal do antebraço dos voluntários e a

determinação dos espectros de absorção fotoacústica foram obtidos em intervalos de aproximadamente 15 minutos para os primeiros 100 minutos, de 30 minutos nos 80 minutos seguintes e uma última medida com o produto, realizada cerca de 60 minutos depois. Lembrando que o tempo de 0 (zero) minutos é tomado a partir de aproximadamente 10 minutos após o produto ser aplicado na pele. Com este procedimento permite-se que substâncias voláteis possam evaporar.

A Fig. 6.20 mostra os espectros de absorção “*in vivo*” para o produto MR2003B aplicado sobre o voluntário “Ren”. Neste gráfico, temos as curvas referentes ao tempo 0(zero), 30 minutos e 90 minutos que mostram o decaimento da ação do produto na pele, ou seja, a diminuição da amplitude do espectro entre 300 e 400nm, indicando a penetração da substância na pele.

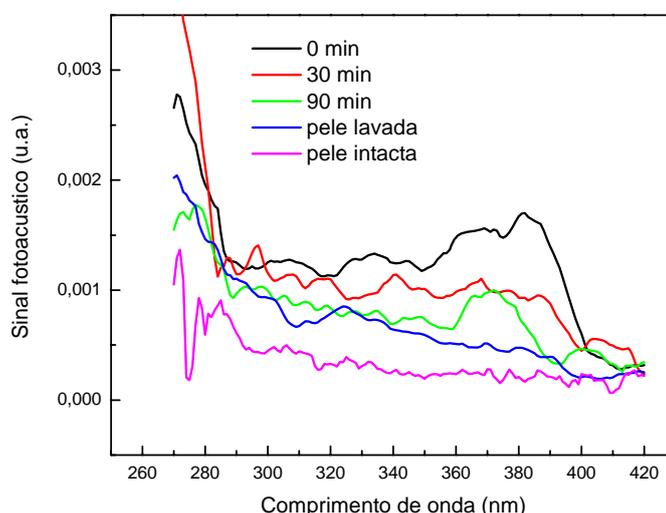


Fig. 6.20: Espectro fotoacústico “*in vivo*”, obtido no voluntário “Ren”.

Uma maneira de comprovar que o produto penetrou na pele, é através de uma medida adicional realizada após o ultimo espectro. Para isto, a região da pele que recebeu o protetor é lavada com água e sabão neutro para a remoção dos resíduos restantes sobre sua superfície. Logo em seguida é feito um novo espectro nesta região e ainda um outro em uma posição próxima, mas que não tenha recebido o produto. Deste modo temos o espectro da pele que recebeu a aplicação do produto há aproximadamente quatro horas, e de uma região na qual o produto não foi aplicado. Estes estão representados, respectivamente, pelas curvas azul e rosa mostradas na Fig. 6.20. Notamos portanto, que embora a pele tenha sido lavada, a curva azul deixa claro a presença do produto sob a sua superfície, e na curva rosa, como esperado, não há nenhuma projeção de banda. Podemos tomar este resultado como extremamente relevante, pois comprova a penetração dos protetores

estudados, já que se repete para todos eles. Trata-se, portanto, de um resultado que reforça a vantagem da utilização da PAS neste tipo de estudo. Pois mostra o produto no interior da pele, o que até onde sabemos não poderia ser feito de forma não invasiva por métodos não fototérmicos.

Para 11 dos 15 voluntários, os gráficos apresentam as mesmas características de evolução.

Para os quatro demais voluntários os resultados são bastante peculiares, aparentando haver uma penetração muito rápida do protetor. Como pode ser observado na Fig. 6.21, o procedimento padrão para as medidas não foi utilizado, já que para o segundo espectro não havia mais a presença da banda de absorção do produto. Neste caso imediatamente após a aplicação do protetor solar foi realizado o espectro 1, e após seu término o espectro 2, aproximadamente 10 minutos depois da aplicação do produto. Ou seja, diferentemente do adotado para os outros 11 voluntários, neste caso não houve o intervalo de 15 minutos entre o primeiro e o segundo espectro.

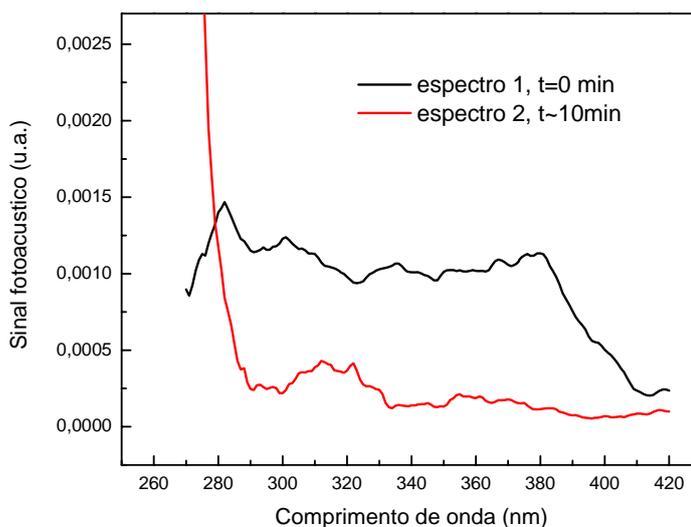


Fig. 6.21: Espectro fotoacústico do produto MR2003A "in vivo" para o voluntário "FeS" que apresentou uma rápida penetração do produto.

O voluntário "FeS" foi um dos quatro voluntários que apresentaram uma penetração muito rápida dos três produtos. Devido a alta taxa de penetração nestes quatro caso não se justificava, portanto, a continuidade das medidas. A evidência do quase completo desaparecimento do produto da superfície da pele pode ser observada por dois fatos:

➤ O primeiro é evidenciado pela Fig. 6.22, na qual monitoramos em tempo real a propagação do produto. Para o experimento, o comprimento de onda foi ajustado em 330nm, que é aproximadamente o centro da região de absorção do princípio ativo, e

mantido nesta condição para que o sinal fotoacústico fosse medido de forma contínua durante 10 min. Podemos observar no gráfico a diminuição do sinal em função do tempo.

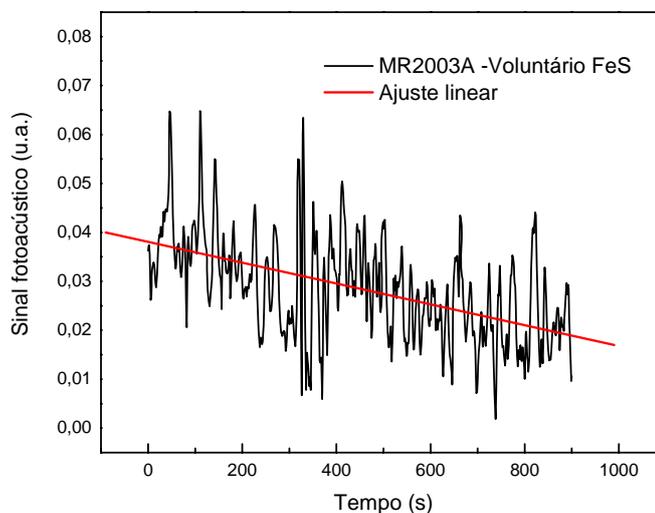


Fig. 6.22: Intensidade do sinal fotoacústico em 330nm em função do tempo, de forma continuada.

➤ O segundo fato é que a rápida penetração do produto fez com que a pele ficasse exposta à luz sem proteção, o que causou mudança de coloração da região iluminada, ou seja, ocorreu bronzeamento, conforme mostra a foto mostrada na Fig. 6.23. Para evitarmos este efeito sobre a pele, a seqüência de medidas nos quatro voluntários que apresentaram absorção muito rápida dos protetores solares foi interrompida. Por este motivo, os dados destes voluntários não foram incluídos na análise estatística.

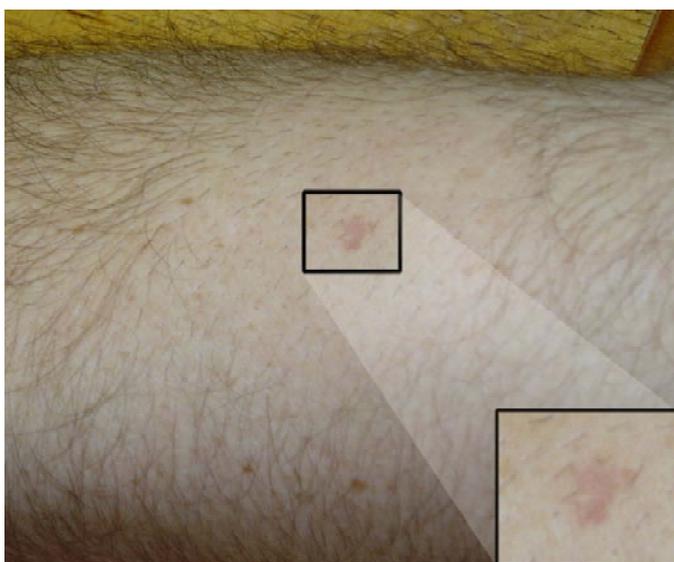


Fig. 6.23: Foto da mudança de cor da pele induzida pela luz. Mancha de aproximadamente 5mm de diâmetro, localizada próximo ao centro do foco.

Como o mesmo procedimento experimental foi inicialmente repetido para todos os voluntários, ainda não temos uma explicação comprovada da razão pela qual quatro dos 15 voluntários apresentaram alta taxa de penetração dos produtos. Em alguns destes casos era possível observar visualmente que após cerca de 10 a 15 minutos pouco restava na superfície da pele.

6.2.3 Ajustes e Tratamento Estatístico

Para podermos quantificar a penetração de cada produto em cada um dos voluntários em função do tempo após a aplicação do mesmo sobre a pele, adotamos a estratégia de ajustar os espectros de absorção fotoacústico com a finalidade de obter a área sob cada curva. Estas áreas, como podemos observar na Fig. 6.20 são proporcionais à quantidade de produto que ainda permanece sobre a superfície da pele, pois à medida que o tempo evolui, a intensidade da banda de absorção do produto diminui, assim como a área da banda de absorção.

De posse dos valores das áreas em função do tempo, pudemos então estabelecer um método de ajuste para o decréscimo observado das áreas. Observa-se na Fig. 6.24, o que ocorreu somente para alguns voluntários que se mantiveram imóveis durante as medidas, que o decréscimo na intensidade do sinal em função do tempo tem a forma de uma exponencial decrescente.

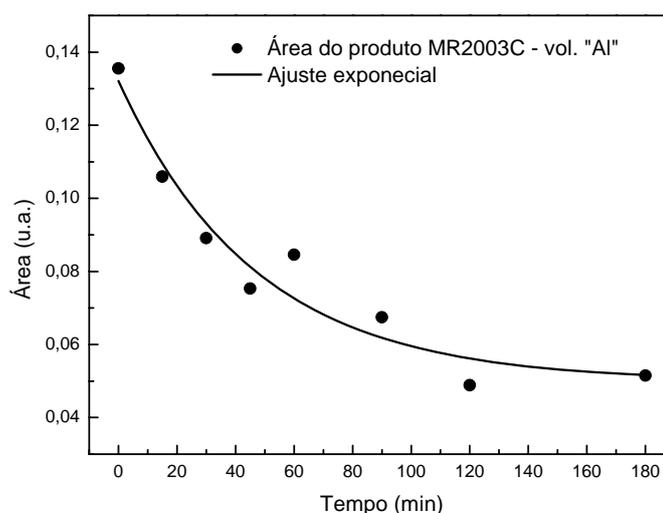


Fig. 6.24: Ajuste exponencial do valores de área dos espectros do produto MR2003C aplicado no voluntário "AI".

No entanto, no geral o decréscimo da área sob as curvas fica mais próximo do linear, conforme mostra a Fig. 6.25. Neste caso, o coeficiente angular da reta, ou seja, sua inclinação, é relacionado com o tempo de propagação do produto através da pele. Este coeficiente será chamado de B. Verificamos, então que a variação da área em função do tempo seria mais adequadamente avaliada com a adoção de um ajuste linear.

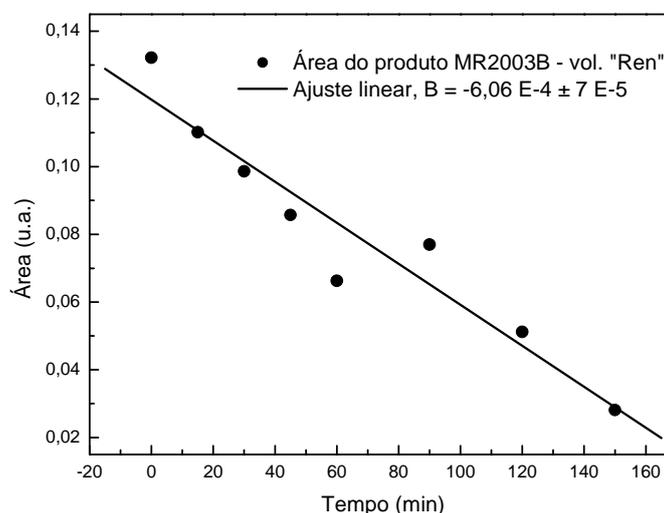


Fig. 6.25: Comportamento linear da área sob a curva de absorção em função do tempo de aplicação do produto MR2003B, voluntário "Ren".

A Fig. 6.25 mostra um exemplo de como os valores da área em função do tempo foram ajustados. Neste gráfico temos a variação das área das bandas de absorção para o

produto MR2003B aplicado no voluntário “Ren”. Este procedimento de análise dos dados foi repetido para todos os 11 voluntários.

A taxa de penetração dos três produtos para cada voluntário, portanto, é dada pelo fator B (coeficiente angular da reta de ajuste linear), e pode ser visualizada na Fig. 6.26.

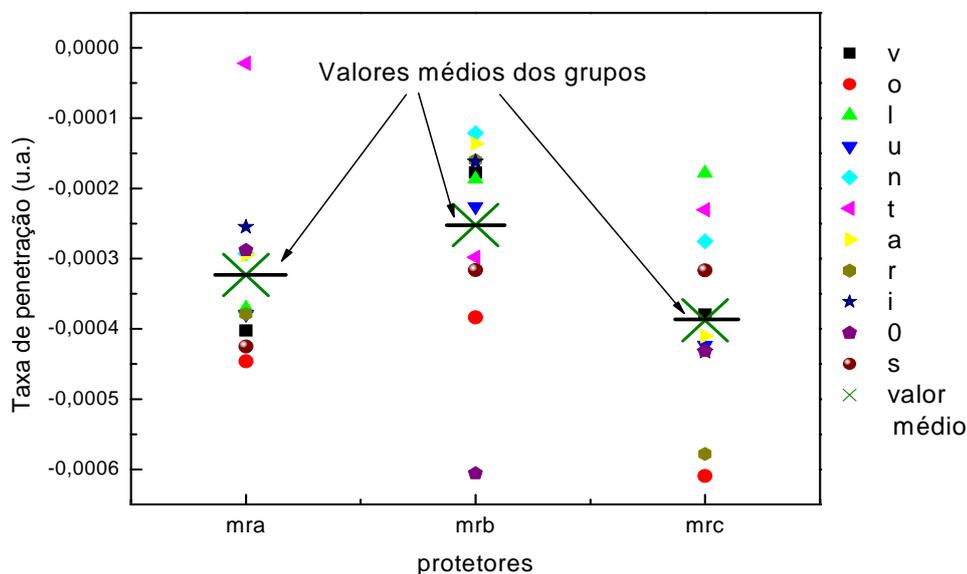


Fig. 6.26: Taxa de penetração dos produtos para cada um dos voluntários e seus valores médios.

Na Fig. 6.27, apresentamos a média aritmética dos valores dos coeficientes angulares dos três produtos (MR2003A, MR2003B e MR2003C) para cada voluntário. Nota-se que o comportamento da taxa de penetração para os 11 voluntários é muito semelhante, indicando que o procedimento adotado é reproduzível, como esperado.

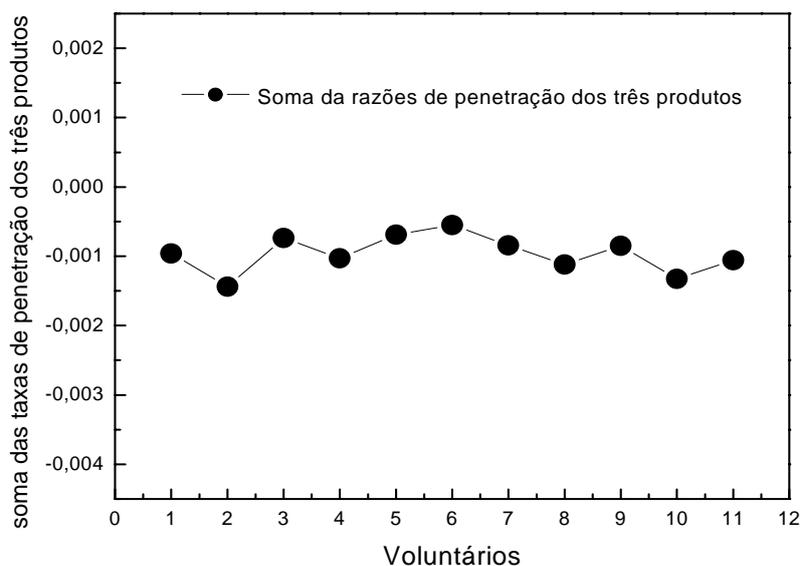


Fig. 6.27: Média da taxa de penetração dos três produtos para cada voluntário.

Na Fig. 6.28 são apresentadas as médias dos coeficientes angulares e as respectivas barras de erro obtidas para cada produto. Podemos observar que o produto MR2003C possui o maior (em módulo) valor médio para os coeficientes angulares, o que indica, portanto, que este produto foi o que apresentou maior taxa de propagação.

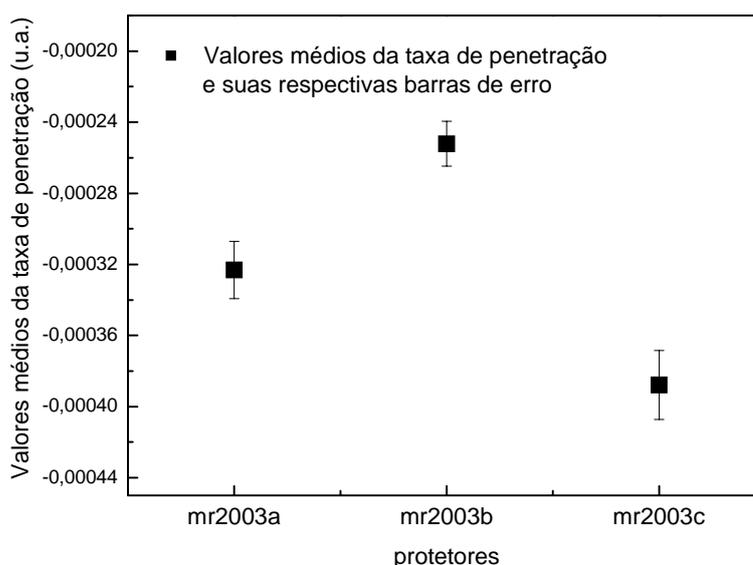


Fig. 6.28: Valores médios da taxa de penetração para cada um dos protetores.

Para uma melhor avaliação de nossos resultados, utilizamos um teste estatístico, com a finalidade de tentar diferenciar as taxas de propagação dos três produtos^[32]. O teste estatístico aplicado foi o *One way Anova* que acompanha o programa *Microcal Origin* como um pacote complementar.

A comparação entre os valores das taxas de propagação é feita aos pares, da qual obtemos as seguintes informações:

- **MR2003A – MR2003B:** $P = 0,22 \gg 0,05$

Deste valor de P, podemos considerar que para o número de voluntários estudados, a taxa de penetração dos produtos MR2003A e MR2003B não são estatisticamente distinguíveis;

- **MR2003A – MR2003C:** $P = 0,24 \gg 0,05$

Portanto, com este número de voluntários estudados, a taxa de penetração dos produtos MR2003A e MR2003C não são estatisticamente distinguíveis;

- **MR2003B – MR2003C:** $P = 0,033 < 0,05$

Nesta comparação, o valor de P é menor do que 0,05, o que nos permite dizer que para o grupo de voluntários estudados a taxa de penetração dos produtos MR2003B e MR2003C são estatisticamente diferentes.

Portanto, os resultados do tratamento estatístico mostram que o produto MR2003C possui uma velocidade de propagação maior do que o produto MR2003B.

Capítulo 7

CONCLUSÕES

Em conclusão, nosso estudo com amostras de milho, demonstrou a potencialidade da Espectroscopia Fotoacústica na determinação da umidade de grãos.

A PAS, por se tratar de uma medida direta da absorção da amostra, não fornece um dado quantitativo absoluto do valor da umidade do cereal, mas se mostrou extremamente eficiente na determinação da taxa de variação da mesma. Portanto, a solução está no estabelecimento de valores de referência, podendo-se então determinar quantitativamente o valor percentual de umidade.

Embora a PAS tenha se mostrado um ótimo determinador de umidade para o conjunto de amostras medidas, para que a técnica seja considerada oficialmente como tal, é necessário que se façam ainda medidas com outros tipos de cereais.

A potencialidade da Espectroscopia Fotoacústica se mostra na precisão dos resultados, na reprodutibilidade dos mesmos e principalmente, na rapidez do processo de análise.

Para o estudo em pele, este trabalho vem confirmar a eficácia da Espectroscopia Fotoacústica, já demonstrada previamente para este tipo de estudo^[33].

Observamos estatisticamente que os produtos MR2003A e MR2003B podem ser diferenciados do produto MR2003C em termos de propagação e distribuição de suas substâncias através da pele humana *"in vivo"*. Nossos dados, indicam que a base utilizada para a composição do protetor MR2003C seria a menos indicada para a proteção solar, já que apresenta o menor tempo de proteção, com relação aos outros produtos.

Finalmente, acreditamos que o objetivo proposto inicialmente para o estudo foi alcançado com resultados adicionais significativos, em termos de confiabilidade da técnica empregada, como, por exemplo, a observação do produto no interior da pele mesmo depois da mesma ter sido lavada.

Nossas observações de que um subgrupo de quatro, dos quinze voluntários, apresentou uma alta taxa de penetração para os três produtos estudados, apontam para a possibilidade de novos estudos, avaliando a influência de fatores individuais na absorção dos produtos, como idade, quantidade de gordura no tecido subcutâneo, hidratação e elasticidade da pele, dentre outras.

Apêndice A Equation Chapter 1 Section 1

A-1 Condução de Calor-Dedução da equação da difusão de calor

Equation Chapter 1 Section 1

Considera-se um elemento de volume $dV = Sdx$, que é atravessado por uma quantidade de fluxo de calor Φ , como ilustrado na Figura 1.

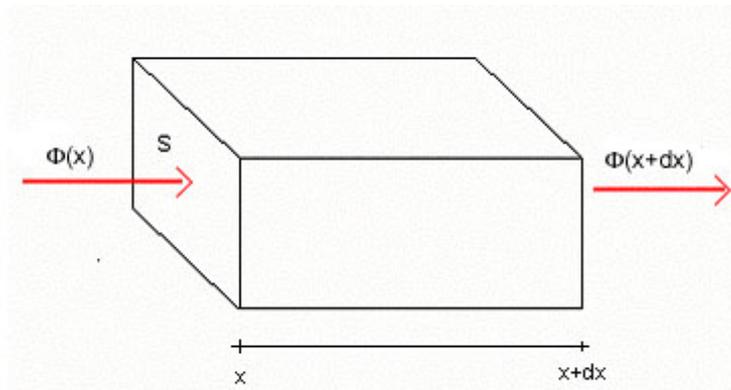


Figura 1: Fluxo de calor sobre um elemento de volume dV .

Sendo esta quantidade de fluxo de calor (Φ), definida como a quantidade de calor que atravessa uma superfície perpendicular ao fluxo por unidade de tempo.

Segundo a lei linear de Fourier, Φ está relacionado com a temperatura da seguinte forma:

$$\Phi = -k\left(\frac{\partial\theta}{\partial x}\right) \quad (\text{A.1.1})$$

na qual k é a condutividade térmica e θ é a temperatura. O sinal negativo aparece porque o fluxo de calor acontece em sentido contrário ao gradiente de temperatura, fluindo da temperatura mais alta para a temperatura mais baixa.

O elemento de volume dV sofre uma variação temporal na quantidade de calor nele depositada, devido ao gradiente de temperatura. A variação $\frac{\partial Q}{\partial t}$ da quantidade de calor é dada pelo fluxo que entra e sai do volume, tomada à taxa de geração de calor.

$$\frac{\partial Q(r,t)}{\partial t} = \oint_{\text{fluxo}} k \frac{\partial}{\partial x} \theta(r,t) ds + \int_{\text{fonte}} F(r,t) dV \quad (\text{A.1.2})$$

A variação da quantidade de calor $\frac{\partial Q}{\partial t}$ elevará a temperatura neste volume e a forma desta variação temporal será dada pela calorimetria:

$$\frac{\partial Q(r,t)}{\partial t} = \int \rho c \frac{\partial \theta(r,t)}{\partial t} dV \quad (\text{A.1.3})$$

na qual, ρ é a densidade de massa e c é o calor específico. Para que todo o volume esteja sob a mesma temperatura θ , admite-se que dV seja suficientemente pequeno, igualando (A.1.2) e (A.1.3):

$$\int_s k \frac{\partial \theta(r,t)}{\partial x} ds + \int_v F(r,t) dV = \int_v \rho c \frac{\partial \theta(r,t)}{\partial t} dV \quad (\text{A.1.4})$$

Pode-se aplicar o teorema da divergência no primeiro membro do lado esquerdo desta equação. Este estabelece que o fluxo total que atravessa a superfície fechada é igual à integral da divergência da densidade de fluxo no volume por ela limitado, obtendo:

$$\int_v k \frac{\partial^2 \theta(r,t)}{\partial x^2} dV + \int_v F(r,t) dV = \frac{\partial}{\partial t} \int_v \rho c \theta(r,t) dV \quad (\text{A.1.5})$$

Então:

$$\nabla^2 \theta(r,t) - \frac{\rho c}{k} \frac{\partial \theta(r,t)}{\partial t} + \frac{F(r,t)}{k} = 0 \quad (\text{A.1.6})$$

Esta é a equação da difusão térmica, sendo $\frac{\rho c}{k} = \frac{1}{\alpha}$, na qual α é a difusividade térmica, e

$$\frac{F(r,t)}{k} = f(r,t) \quad (\text{A.1.7})$$

a densidade de calor gerado no elemento dV .

Para o caso unidimensional podemos reescrevê-la (eq. (A.1.6)) como:

$$\frac{\partial^2 \theta(x,t)}{\partial x^2} - \frac{1}{\alpha} \frac{\partial \theta}{\partial t} + f(x,t) = 0 \quad (\text{A.1.8})$$

Apêndice B

B-1 Bandas “overtones” **Equation Chapter 2 Section 1**

A região espectral 700-2600 nm corresponde ao infravermelho próximo e médio e as bandas de absorção predominantes nesta região são devidas aos “overtones” e combinação de bandas dos modos fundamentais de vibrações e rotações (modos “stretching”). As várias combinações possíveis, “stretching” (estiramento); “bending” (balanço), dificultam as atribuições de bandas, tornando-se tão complexas que muitas vezes não são resolvidas.

Como as transições com energia mais alta são improváveis, o pico do primeiro overtone, segundo overtone e assim por diante, deve ser mais fraco (respectivamente) que o pico dos modos fundamentais^[14].

Um “overtone” ocorre entre $1/2\lambda_0$ e $1/3\lambda_0$, sendo λ_0 o comprimento de onda do pico dos modos fundamentais. Exemplo: Centro de banda referente ao estiramento C-H com banda vibracional em 3200 nm, seu primeiro overtone ocorrerá entre $1/2\lambda=1600$ nm e $1/3\lambda=1100$ nm. Portanto os “overtones” de uma molécula não ocorrem necessariamente em uma mesma região espectral, como é o caso do grupo C-O que tem seu 1º overtone no IV médio e o 2º e 3º overtones no IV próximo.

B-2 Transmitância e absorbância

Quando a luz passa através da amostra a quantidade de luz absorvida é a diferença entre a radiação incidente (I_0) e a radiação transmitida (I). A quantidade de luz absorvida também é expressa como transmitância e absorbância. A transmitância é dada usualmente em termos de uma fração de 1 ou como uma porcentagem, definida como:

$$T = \frac{I}{I_0} \quad \text{ou} \quad \%T = \left(\frac{I}{I_0}\right) \times 100 \quad (\text{B.1.1})$$

A absorvância é definida como,

$$A = -\log T \quad (\text{B.1.2})$$

e nela está contido o fator principal na geração do calor no meio, o coeficiente de absorção óptica.

Referências bibliográficas

- [1] MAGALHAES, P.C., MACHADO DURÃES, F.O., PAIVA, E. *Fisiologia da planta do milho*. Texto fornecido pela EMBRAPA - Sete Lagoas-MG.
- [2] TAMBARA, S.L.V.B. *Avaliação de metodologia direta e indireta na determinação de umidade de soja e milho*. Dissertação de Mestrado, apresentada ao Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Maringá-PR, 2002.
- [3] SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIRURGIA DERMATOLÓGICA. Disponível em: <http://www.sbcd.org.br/publico/espectro.php>. Março/2004.
- [4] U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Disponível em: <http://www.fda.gov/>. Março/2004.
- [5] BELL, A. G. *American. Journal of Science.*, 120 (305) 1880.
- [6] RAYLEIGH, L., *Nature, London*, 23 (274) 1881.
- [7] PREECE, W. H.; *Proc.R. Soc. London*, 31 (506) 1881.
- [8] MERCADIER, M. E. e Hebd, C. R. *Serv. Acad. Sci.*, 92 (409) 1881.
- [9] PARKER, J. G. *Appl. Optics.*, 12 (2974) 1973.
- [10] ROSENCWAIG, A. e GERSHO A. *Science*, 190 (556) 1975.
- [11] ROSENCWAIG, A. e GERSHO A. *J. Appl. Physics.*, 47 (64) 1976.
- [12] BIALKOWSKI, S. E. "Illustrative history of photothermal spectroscopy" in *Photothermal spectroscopy methods for chemical analysis*. Wiley-Interscience, 1996, v. 134.
- [13] DIAS, D.T. *Estudo da Reticulação do polietileno/silano enxertado e copolimerizado usando técnicas fototermicas*, dissertação de Mestrado, apresentada ao Departamento de Física da Universidade Estadual de Maringá-PR, 2001.
- [14] WEYER, L. G. *Near-Infrared Spectroscopy of Organic Substances*, *Applied Spectroscopy Reviews*, 21:1-2 (1) 1985.
- [15] WHETSEL, K. B *Near-Infrared Spectrophotometry*, *Applied Spectroscopy Reviews*, 2:1 (1) 1968.
- [16] ALLARD, Georges. "Gênese e desenvolvimento da Termodinâmica". ELTD, São Paulo, 1977.
- [17] PIPARD, A. B. "Elements of classical thermodynamics". University Press, Cambridge, 1964
- [18] MARQUESINI, M.V. *Aplicação da Espectroscopia Fotoacústica ao estudo "in vivo" da toxicidade metálica em plantas*, dissertação de mestrado apresentada ao Instituto de "Física Gleb Wataghin" da Universidade Estadual de Campinas-SP, 1990.
- [19] GORDON, J. P. "et al". *American. Physics. Society.*, 9, (501) 1964.

- [20] ZIEGLER, G.; HASSELMAN, D. P. H. *Effect of phase composition and microstructure on the thermal of silicon nitride*, Journal of Materials Science , 16 (495-503) 1981.
- [21] KORPIUN, P. "et al" *Photoacoustic method for measurement of the thermal diffusivity of drawn foils*, Colloid & Polymer Sci., 261:4 (312-318) 1983.
- [22] LACHAINE, A.; POULET, P. *Photoacoustic measurement of thermal properties of a thin polyester film*, Appl. Phys. Lett., 45:9 (953-954) 1984.
- [23] OLENKA, L. *Caracterização do Polietileno Tereftalato Tingido usando a Espectroscopia Fotoacústica: Monitoramento do Processo e Propriedades Térmicas*, dissertação de Mestrado apresentada ao Departamento de Física da Universidade Estadual de Maringá-PR, 1999.
- [24] YAO, H., EMA, K. and GARLAND, C. W., Rev. Sci. Instrum.,69 (1), 172 (1998).
- [25] BACHMANN, R. "et al", Rev. Sci. Instrum., 43 (3), 205 (1972).
- [26] CANÇADO, R. A., SOSSELA DE FREITAS, R. J. *Uma relação no milho (Zea mays Linné) entre o teor de umidade e o teor de atividade de água*. Disponível em: www.bioteecnologia.com.br/bio29/milho.html. Janeiro/2004.
- [27] MOREIRA DE CARVALHO, N. *A Secagem de Sementes*. Departamento de Fitotecnia, UNESP-Jaboticabal.
- [28] Informações retiradas de:Columbia University College of P & S Complete Home Medical Guide.
- [29] RETUCI, V. S., *Estudo 'in vivo' da penetração e interação de substâncias na pele através da Espectroscopia Fotoacústica*. Monografia apresentada ao Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá-PR, 1998.
- [30] SAMPAIO, S.A. P. "Dermatologia Básica", *Anatomia e fisiologia da pele*. 2. ed São Paulo, 1978.
- [31] REVISTA BEM ESTAR BEM. Disponível em: <http://www.natura.net/>. Março/2004
- [32] ABNT- Associação Brasileira de Normas Técnicas. Água – "Determinação usando o Reagente de Karl Fischer- guia geral". NBR 5758, São Paulo, 1986.
- [33] SEHN, E., "et al", *Photoacoustic spectroscopy to evaluate the penetration of sunscreens into human skin in vivo: A statistic treatment*, Rev. of Sci. Instruments, 74 (758) 2003.
- [34] GANZAROLLI, M. "et al", *Low-Density Polyethylene Depth Profile Analysis by Photoacoustic Spectroscopy*, Journal of Applied Polymer Science, 35 (1791) 1988.