



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE – UFCEG

CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - CCT

COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA NA
IDENTIFICAÇÃO DAS CORES DO ALGODÃO NATURALMENTE
COLORIDO**

Kennedy Leite Agra

Campina Grande –PB

- 2011 -

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE – UFCG

CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - CCT

COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA FOTOACUSTICA NA
IDENTIFICAÇÃO DAS CORES DO ALGODÃO NATURALMENTE
COLORIDO**

Kennedy Leite Agra

Dissertação realizada sob a orientação do
Porf. Dr. José Suassuna Filho apresentada à
Unidade Acadêmica de Física da
Universidade Federal de Campina Grande,
em complementação aos requisitos para
obtenção do Título de Mestre em Física.

Campina Grande –PB

- 2011 -

Folha de Aprovação

José Suassuna Filho

Orientador

Aécio Ferreira de Lima

Examinador Interno

Paulo Cesar de Oliveira

Examinador Externo

Dedicatória

A Deus e aos meus pais

PALAVRA – CHAVE

APLICAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA NA IDENTIFICAÇÃO DAS CORES
DO ALGODÃO NATURALMENTE COLORIDO

Resumo

São dois os objetivos principais de deste trabalho. O primeiro foi testar a viabilidade de uso da técnica de Espectroscopia Fotoacústica na investigação de algumas propriedades físicas de fibras de algodão, tarefa das mais difíceis, senão impossível no caso de fibras, por Espectroscopia UV-Visível convencional. Em segundo lugar, buscar a identificação dos possíveis tipos de pigmentos presentes em algodão naturalmente colorido. A técnica fotoacústica se mostrou muito útil e versátil na identificação de biomoléculas flavonóides, cujos espectros fotoacústicos, principalmente na faixa visível do espectro eletromagnético, mostraram que não só uma, mas um conjunto de moléculas da família flavonóide é responsável pelas cores do algodão em fibras de algodões coloridos.

O grupo de moléculas flavonóides observado neste trabalho é formado basicamente pelas espécies seguintes: *Gossypetina*, *Morina*, *Proantocianidina* (Tanino condensado), *Catequina* e *VinylpyranoMv-3-gluc-floroglucinol*, presentes em maior ou menor intensidade relativa em todas as espécies observadas, branco, marrom e verde. A novidade aqui verificada foi que, além da diversidade molecular observada nas espécies coloridas, biomoléculas flavonóides estão também presentes no algodão branco, porém em intensidade substancialmente menor do que nas espécies naturalmente coloridas, de modo a fugir do campo de observação humano, por isto, neste caso, a cor branca.

Agradecimentos

A Deus, que todos os dias de minha vida me deu forças para nunca desistir.

Aos meus pais, *Marinalva Nascimento Agra* e *Bertolino da Costa Agra Filho* exemplos de perseverança na busca do conhecimento e que apesar das dificuldades souberam transmitir toda a sabedoria necessária e apoio constante.

A minha namorada Eufrásia Ribeiro pelo carinho, tolerância, estímulo inestimável

Ao Prof. Dr. José Suassuna Filho, pela orientação, sugestões, estímulo e, competência com que conduziu este trabalho.

Ao professor Francisco de Assis Brito que conduz com grande responsabilidade e entusiasmo este departamento, sempre tranquilo e sereno diante das dificuldades.

Ao professor Jurgen Wolfgang Precker por compartilhar seu tempo de cafezinho com diálogos frutíferos para este trabalho.

Ao professor Aécio Ferreira de Lima pelos diálogos formais e informais, e pelo apoio no caminho trilhado até aqui.

Ao professor Eduardo que conduz de forma responsável a pós-graduação em física.

Aos familiares e amigos (novos e antigos) que sempre me apoiaram e incentivaram nessa jornada. Em especial aos colegas Miguel, Rodrigo, Anna Cecília, Fabio Alves, Christian, ..., pela convivência, estímulo, sugestões e gratificante amizade.

A todos os professores da pós-graduação que de alguma forma contribuíram para minha formação.

Ao Departamento de Física da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, pelo apoio a minha participação no mestrado.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) pelo fornecimento das amostras de algodão, material base de nossa pesquisa

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Lista de Ilustrações e Figuras

Figura 2.1 – Carbono sendo usado na pigmentação reduzindo a quantidade de celulose nas fibras de algodão colorido	15
Figura 2.2 – Estrutura da fibra de algodão	17
Figura 3.1 – Espectro eletromagnético, com destaque para a região visível do espectro. Fonte: Anghinoni (2010)	21
Figura 3.2 – a) Fonte de luz incidindo diretamente no olho, b) e c) Cor do objeto correspondente ao comprimento de onda que não é absorvido pelo objeto, e d) e e) casos limites de absorção.....	22
Figura 3.3 – disco de cores.....	24
Figura 3.4 – Compostos com suas bandas de absorção, justificando a sua cor que corresponde à banda do espectro eletromagnético visível que não foi absorvida. (a) Clorofila, b) Índigo na formas leuco (amarelo) e ceto (azul)	25
Figura 4.1 – Sistema CIELAB	27
Figura 5.1 - O fotone de Bell. A luz solar (branca) entra pelo tubo da esquerda, uma espécie de telescópico com um sistema de lente conduz a luz branca fazendo-a incidir sobre um prisma. Neste prisma, a luz é separada nos diversos comprimentos de ondas que a compõem (luz monocromática). Esta luz monocromática incide no tubo da direita onde se tem uma amostra sólida em sua entrada. É aí que o efeito fotoacústico é produzido e as ondas sonoras geradas se propagam através do tubo de escuta de maneira similar ao estetoscópio.....	28
Figura 5.2 – Decaimento radiativo de fluorescência e fosforescência e decaimento não-radiativo.	32
Figura 5.3 – Os possíveis efeitos da radiação modulada sobre a amostra.	32
Figura 5.4 – Difusão térmica, pistão vibratório.....	33
Figura 5.5 – Expansão térmica, pistão composto.....	34
Figura 5.6 – Flexão termoelástica da amostra.....	34
Figura 5.7 – Efeito fotobárico na amostra.	35
Figura 5.8 – Diagrama da geração de ondas de pressão (sinal sonoro) com frequência de modulação <i>FM</i> no interior de uma célula fotoacústica fechada.	36
Figura 5.9 – A absorção óptica para três amostras diferentes é especificada pelo comprimento $l\beta$	37
Figura 5.10 – Geometria da Célula Fotoacústica Utilizada no Modelo R-G.	39
Figura 6.1 – Diagrama em bloco do Espectrômetro Fotoacústico.	41
Figura 6.2 – Detalhes da Célula Fotoacústica e do Sinal Fotoacústico detectado.....	43
Figura 6.3 – Relação sinal/ruído no pré-amplificado.	44
Figura 6.4 – Aquisição de dados, Amplificador Lock-In e Computador para armazenamento e processamento do sinal fotoacústico.	44
Figura 6.5 – Porta amostra e amostra.....	46
Figura 6.6 – Espectros PAS acumulados do negro fumo.	47
Figura 6.7 – Espectros PAS acumulados do algodão marrom.....	47
Figura 6.8 – Espectros PAS acumulados do algodão verde.....	48

Figura 7.1 – Espectro Fotoacústico do grupo 1 na região UV – Visível com os principais $\lambda_{m\acute{a}x}$.	52
Figura 7.2 – Espectros Fotoacústicos grupo 2 na região UV com os principais $\lambda_{m\acute{a}x}$.	53
Figura 7.3 – Espectros Fotoacústicos grupo 2 na região UV – Visível com os principais $\lambda_{m\acute{a}x}$.	54
Figura 7.4 – Espectros Fotoacústicos grupo 3 na região UV com os principais $\lambda_{m\acute{a}x}$.	55
Figura 7.5 – Espectros Fotoacústicos grupo 3 na região UV – Visível com os principais $\lambda_{m\acute{a}x}$.	56
Figura 7.6 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão branco.	60
Figura 7.7– Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão marrom - B02PL01P01.	60
Figura 7.8 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão marrom - B02PL02P01.	61
Figura 7.9 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão marrom - B02PL02P02.	61
Figura 7.10 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão marrom - B07PL01P2.	62
Figura 7.11 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão marrom - B14PL01P01.	62
Figura 7.12 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão verde - B20PL01P01.	63
Figura 7.13 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão verde - B20PL02P01.	63
Figura 7.14 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão verde - B26PL01P02.	64
Figura 7.15 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão verde - B32PL02P2.	64
Figura 7.16 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão verde - B38PL01P01.	65
Figura 7.17 – Simulação provável de como seria o espectro fotoacústico de uma algodão azul, com as mesmas moléculas presentes nas amostras de algodão analisadas.	68
Figura 7.18 – Sistema CEILAB.	70
Figura 7.19 – Imagem dos valores Lab para o algodão branco.	70
Figura 7.20 – Imagem dos valores Lab para o algodão marrom B07PL01P1.	71
Figura 7.21 – Imagem dos valores Lab para o algodão verde B26PL01P02.	71

Lista de Tabelas

Tabela 2.1 – Composição típica da fibra de algodão, usando o método padrão de estimativa em porcentagem de proteína a partir do conteúdo de nitrogênio	17
Tabela 2.2 – Minerais encontrados no algodão naturalmente colorido.....	18
Tabela 2.3 – $\lambda_{m\acute{a}x}$ dos picos de absorção UV – Vis das possíveis moléculas responsáveis pela cor em algodões naturalmente colorido e suas estruturas	19
Tabela 3.1 – Relação entre a cor de luz absorvida por substancia e a cor observada da substância	23
Tabela 5.1 – Energia eletrônica (Ee) e vibracional (Ev). Obs. a energia rotacional Er não foi expressa na tabela, porque é desprezível para o sistema estudado devido sua ordem de grandeza.....	30
Tabela 5.2– Parâmetros fototérmicos.....	38
Tabela 6.1– Algodões investigados	45
Tabela 7.1 – Identificação dos comprimentos de onda $\lambda_{m\acute{a}x}$ e respectivas moléculas para as diversas amostras de algodão.....	58
Tabela 7.2 – Valores relativos de intensidades para o grupo 2 (algodão marrom)	65
Tabela 7.3 – Valores relativos de intensidades para o grupo 3 (algodão verde)	66
Tabela 7.4 – Valor absoluto da variação das intensidades relativas	67
Tabela 7.5 – Valores CIELAB para Algodão Branco	69
Tabela 7.6 – Valores CIELAB para Algodão Marrom – B07PL01P1	70
Tabela 7.7 – Valores CIELAB para Algodão Verde B26PL01P02	71

Resumo

São dois os objetivos principais de deste trabalho. O primeiro foi testar a viabilidade de uso da técnica de Espectroscopia Fotoacústica na investigação de algumas propriedades físicas de fibras de algodão, tarefa das mais difíceis, senão impossível no caso de fibras, por Espectroscopia UV-Visível convencional. Em segundo lugar, buscar a identificação dos possíveis tipos de pigmentos presentes em algodão naturalmente colorido. A técnica fotoacústica se mostrou muito útil e versátil na identificação de biomoléculas flavonóides, cujos espectros fotoacústicos, principalmente na faixa visível do espectro eletromagnético, mostraram que não só uma, mas um conjunto de moléculas da família flavonóide é responsável pelas cores do algodão em fibras de algodões coloridos.

O grupo de moléculas flavonóides observado neste trabalho é formado basicamente pelas espécies seguintes: *Gossypetina*, *Morina*, *Proantocianidina* (Tanino condensado), *Catequina* e *VinylpyranoMv-3-gluc-floroglucinol*, presentes em maior ou menor intensidade relativa em todas as espécies observadas, branco, marrom e verde. A novidade aqui verificada foi que, além da diversidade molecular observada nas espécies coloridas, biomoléculas flavonóides estão também presentes no algodão branco, porém em intensidade substancialmente menor do que nas espécies naturalmente coloridas, de modo a fugir do campo de observação humano, por isto, neste caso, a cor branca.

Abstract

There are two main objectives of this work. The first was to test the feasibility of using the technique of photoacoustic spectroscopy in the investigation of some physical properties of cotton fibers, a very difficult task, if not impossible in the case of fibers, by conventional UV-visible spectroscopy. Second, seek to identify the possible types of pigments present in naturally colored cotton. The photoacoustic technique was very useful and versatile in the identification of biomolecules in flavonoids, whose spectra Photoacoustic, especially in the visible range of the electromagnetic spectrum, showed that not only one but a set of molecules of the flavonoid family is responsible for the colors of cotton fibers of colored cottons.

The group of flavonoids molecules observed in this work is basically formed by the following species: Gossypetin, Morin, Proanthocyanidins (condensed tannins), and VinylpyranoMv Catechin-3-gluc-phloroglucinol, present in greater or lesser relative intensity observed in all species, white, brown and green. The novelty here was to verify that, besides the molecular diversity observed in the colorful species, biomolecules flavonoids are also present in white cotton, but substantially lower in intensity than in naturally colored species, in order that it escapes the field of human observation, therefore, in this case, the color white.

Sumário

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	12
CAPÍTULO 2 – ALGODÃO	14
2.1 ASPECTOS DA COR.....	14
2.2 MORFOLOGIA	16
2.3 ESTRUTURAS MOLECULARES PREVISTAS NO ALGODÃO COLORIDO	19
CAPÍTULO 3 – CORES	21
CAPÍTULO 4 – COLORIMÉTRICA	26
CAPÍTULO 5 – ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA (PAS)	28
5.1 ASPECTOS HISTÓRICOS DA PAS.....	28
5.2 INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO COM A MATÉRIA	29
5.3 MECANISMOS DE GERAÇÃO DE CALOR NA AMOSTRA	32
5.4 O EFEITO FOTOACÚSTICO.....	36
5.5 SINAL FOTOACÚSTICO	37
CAPÍTULO 6 – DETALHES EXPERIMENTAIS	40
6.1 ELEMENTOS DE ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA.....	40
6.2 PRINCÍPIOS DE FUNCIONAMENTO DO ESPECTRÔMETRO FOTOACÚSTICO.....	41
6.3 AS AMOSTRAS.....	45
6.4 ACUMULAÇÃO ESPECTRAL	46
6.5 NORMALIZAÇÃO DOS ESPECTROS	48
CAPÍTULO 7 – RESULTADOS EXPERIMENTAIS E DISCUSSÕES	50
7.1 ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA	50
7.2 COLORIMETRIA.....	69
CAPÍTULO 8 – CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75

Capítulo 1 – Introdução

O algodão é considerado uma das mais importantes fibras têxteis, naturais ou artificiais existentes na atualidade, pertencente à ordem natural das Malváceas. A espécie da qual a fibra do algodão é obtida é a *Gossypieae* ou *Gossypium*, popularmente conhecida no Brasil como algodoeiro, cresce em climas subtropicais e tropicais. Apesar de ter sua produção ampliada só em meados do século XVIII com a revolução industrial, sua utilização pelo homem é bem antiga, as primeiras referências históricas do algodão remontam há mais de 5000 anos. (Vreeland Junior, 1993)

Com a revolução industrial, o algodão se tornou a principal fibra têxtil e um dos mais importantes produtos das Américas. No Brasil, o Maranhão despontou como o primeiro grande produtor em 1760. No entanto só a partir da década de 1980, visando atender a um novo nicho do mercado internacional é que houve a adaptação para o cultivo em sistemas de produção orgânica e a fibra do algodão colorido passou então a ser valorizada. Assim, características desejáveis da fibra como comprimento, uniformidade, finura, resistência e manutenção da cor, entre outras, passaram a ser objeto de melhoramento genético. No Brasil o processo é realizado pelo Centro Nacional de Pesquisa de Algodão da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-EMBRAPA. (Chaudry, 1994; Santana et al., 1997).

A primeira variedade de algodão de fibra colorida geneticamente melhorada se chama BRS 200 cuja fibra é marrom claro, em seguida os pesquisadores da EMBRAPA apresentaram a BRS Verde. O plantio comercial do algodão colorido iniciou-se em 2000 no Estado da Paraíba.

A principal vantagem do emprego da fibra colorida é a eliminação do uso de corantes na fase de acabamento do tecido, reduzindo o impacto ambiental. Além de oferecer uma maior e melhor proteção contra os raios UVA e UVB comparado ao algodão de fibra branca. No entanto, o algodão colorido também apresenta algumas desvantagens. Sua produtividade é cerca de 10% menor do que as variedades brancas comerciais e a fibra colorida nem sempre alcança as exigências da fiação industrial, mesmo com o controle genético a cor da fibra pode ser influenciada por fatores

ambientais como o tipo de solo e a luz solar. Além disso, só existem dois tipos de algodão colorido, o marrom com suas variantes e o verde, proporcionando limitações ao mercado.

O presente estudo tem como foco analisar como se produz a pigmentação natural no algodão colorido, pois na literatura são poucas as referências técnicas que tratam deste assunto. Para tanto utilizou-se da técnica de Espectroscopia Fotoacústica (PAS), através da varredura em comprimento de onda, obtendo-se o espectro de absorção das moléculas do algodão colorido para estudo da origem das cores.

Utilizou-se também da técnica de Colorimetria com a finalidade de confrontar as cores previstas por esta técnica, com as encontradas a partir dos resultados da Espectroscopia Fotoacústica.

A presente dissertação é constituída, além, do presente capítulo de introdução (capítulo 1) de mais quatro capítulos organizados da seguinte forma:

No Capítulo 2 faz-se uma revisão sucinta sobre algodão, material estudado.

No capítulo 3 faz-se síntese sobre as cores, propriedade estudada no algodão naturalmente colorido.

No capítulo 4 e 5, faz-se um apanhado das teorias das técnicas usadas no estudo das cores no algodão naturalmente colorido, colorimétrica e Espectroscopia Fotoacústica respectivamente.

No Capítulo 6 faz-se um detalhamento experimental de como a Espectroscopia Fotoacústica foi utilizada na obtenção dos resultados.

No Capítulo 7 faz-se uma explanação dos resultados e discussões obtidos pela Espectroscopia Fotoacústica.

No Capítulo 8 e finalmente tem-se a conclusão e perspectivas de como poderia encontrar uma solução para obtenção científica da cor natural do algodão colorido.

Capítulo 2 – Algodão

Neste capítulo, faz-se uma revisão sucinta da teoria do algodão naturalmente colorido, material objeto de estudo nessa dissertação.

2.1 Aspectos da cor

O principal foco neste trabalho é estudar como se origina a cor no algodão naturalmente colorido, usando Espectroscopia Fotoacústica. Poucas são as referências técnicas que tratam deste assunto na literatura, e as que têm são restritas, pois pertencem a empresas governamentais de pesquisas. Os artigos e livros no geral não deixam claro qual o principal fator responsável pela pigmentação do algodão naturalmente colorido. Conforme Xiao, Luo, Zhang, Yin e Dong (2008) e Xiao, Zhang, Yin, Luo, Li, Lei e Pei (2007) supõe-se que sejam flavonóides, pois através de seqüenciamento de genes foi detectado flavonóides no algodão colorido marrom. Também se conjectura que uma concentração de cera contendo ácidos e antocianinas contribua para cor, ou uma combinação de todos esses derivados com variações nas concentrações para cada tipo de algodão.

Para Wakelyn, Bertoniere, French, Thibodeaux (2006) e Gordon e Hsieh (2007) a cor verde está relacionada com os teores de cera nas fibras, onde são encontrados suberinas que são biopolímeros contendo ácido ν -hidroxidodecanóico com o qual o glicerol e os compostos fenólicos, ácido caféico, estão associados. Os teores de cera no algodão de cor verde são de (14% -17% do peso seco), enquanto que as fibras brancas e marrons contêm cerca de 0,4 -1,0% cera, processo inverso acontece com a celulose. As fibras marrons e brancas não contêm suberina. No entanto, para a cor marrom foram encontradas no lúmen taninos.

De acordo com Topalovic (2007) é possível que as fibras de algodão contenham alguns dos pigmentos flavonóides encontrados nas flores e sementes de algodão. O pigmento do algodão marrom tem sido bem mais estudado do que o verde, por exemplo. Em seu trabalho foi estabelecido que o pigmento marrom é dado por flavonas, como morina e gossypetina. E, segundo ele essas fibras de algodão contêm

uma quantidade considerável de polifenóis, como gossipol, flavona, e que o conteúdo destas substâncias depende da maturidade da fibra. A análise cromatográfica do material corante contido em fibras de algodão naturalmente colorido tem mostrado a presença de substâncias que contêm grupos de floroglucinol, resorcinol e pirocatecol na molécula. Ainda de acordo com Topalovic, para outros cientistas a cor natural do algodão, pelo menos geneticamente, tem relação com o ácido clorogênico, um produto de condensação de ácido caféico e ácido quínico.

Por outro lado, Xiao, Luo, Zhang, Yin e Dong (2008) afirmam que flavonóides foram encontrados em concentração mais elevada no algodão de fibra marrom e verde do que no branco. São cinco tipos de flavonóides encontrados: o isômero de chalcona, flavonano hidroxilase, diidroflavonol redutase, síntese antocianida e antocianida redutase e proantocianidina. Mesmo assim suas estruturas exatas são desconhecidas. Já a clorofila não foi detectada no algodão, independente da cor da fibra ou estágio. Para eles é possível que os flavonóides estejam envolvidos na formação das paredes celulares, na forma de lignina², proporcionando uma relação muito grande entre PH e pigmentação da fibra. Os flavonóides e derivados consomem uma grande quantidade de carbono que deveria ser sintetizada pela celulose (**figura 2.1**).

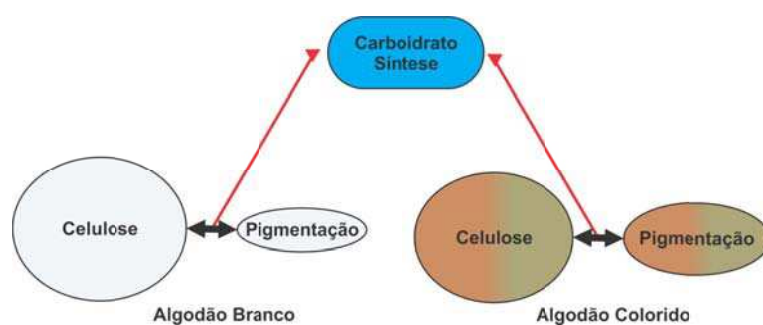


Figura 2.1 – Carbono sendo usado na pigmentação reduzindo a quantidade de celulose nas fibras de algodão colorido

São várias as formas que dão origem à cor, que são citadas, entre elas podem-se destacar a seleção natural da espécie e a modificação genética. No entanto, mesmo com o controle genético, a cor da fibra pode ser influenciada por fatores ambientais como o tipo de solo, umidade ou seca prolongada, e a luz solar. São fatores que podem

² A **lignina** ou **lenhina** é uma macromolécula tridimensional amorfa encontrada nas plantas terrestres, associada à celulose na parede celular cuja função é de conferir rigidez, impermeabilidade e resistência a ataques microbiológicos e mecânicos aos tecidos vegetais

fazer com que a cor da fibra seja mais ou menos acentuada. Algumas tonalidades de cores são fortemente influenciadas pelo ambiente, como a cor verde. Já a cor da fibra marrom é considerada mais estável.

2.2 Morfologia

A estrutura de fibras de algodão tem sido convenientemente resumida na literatura e apenas um breve resumo é feito aqui. As propriedades químicas, físicas e biológicas foram bem detalhadas em Wakelyn, Bertoniere, French, Thibodeaux (2006), Gordon e Hsieh (2007) e Topalovic (2007).

A morfologia da fibra do algodão é complexa, existem várias propriedades das fibras de algodão tanto física, química, como biológica. As propriedades físicas tratam das partes mecânicas, térmicas e óticas. As propriedades químicas detalham a composição que constitui a celulose, algum protoplasma residual no lúmen, e gorduras, ceras e pectinas confinadas principalmente nas camadas exteriores da fibra. A biologia trata da sintetização.

Pode-se dizer que cor é uma propriedade que envolve as três áreas de estudo: física, química e biológica. Por exemplo, elementos climáticos e de solo estão ligados às propriedades física e química (efeito térmico, efeitos nutricionais), assim como, a síntese da fibra de algodão até sua maturidade é uma propriedade biológica.

Na composição típica da fibra de algodão estão os pigmentos (**tabela 2.1**), compostos que são responsáveis pela cor, e fazem parte da estrutura da fibra de algodão que é considerada como uma única célula (biopolímero³), a qual é constituída de quatro regiões características: cutícula, parede primária, parede secundária e lúmen (**figuras 2.2**).

³ Os **polímeros** (macromoléculas) são compostos químicos de elevada massa molecular, resultantes de reações químicas de polimerização, formadas a partir de unidades estruturais menores (os monómeros)

Tabela 2.1 – Composição típica da fibra de algodão, usando o método padrão de estimativa em porcentagem de proteína a partir do conteúdo de nitrogênio

Constituintes	Composição (% peso seco)	
	Típico (%)	Variação (%)
Celulose	95	88,00 - 96,00
Proteínas	1,3	1,10 - 1,90
Substâncias pécticas	0,9	0,70 - 1,20
Cinzas	1,2	0,70 - 1,60
Cera	0,6	0,40 - 1,00
Açúcares totais	0,3	0,10 - 1,00
Ácidos orgânicos	0,8	0,50 - 1,00
Pigmentos	Traço	-
Outro	1,4	-

Fonte: Wakelyn, Bertoniere, French, Thibodeaux (2006, pag 28)

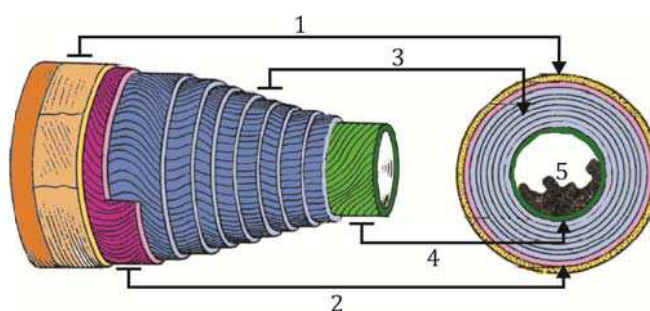


Figura 2.2 – Estrutura da fibra de algodão

1 – *Cutícula*: é constituída por uma camada muito fina de material bem moldado contendo um depósito de cera e materiais pécticos. A cera de algodão é uma complexa mistura de gorduras e resinas. Uma das funções da cutícula é proteger a fibra da oxidação atmosférica que possivelmente decorre da ação do componente ultravioleta do sol. Possivelmente são encontradas moléculas que são responsáveis pela cor nesta região.

2 – *Parede primária*: é constituída principalmente de celulose, com espessura de aproximadamente 0,1 – 0,2 nm (largura total da fibra de 20 nm). A celulose na parede primária tem sido estabelecida na forma de linhas finas ou fibrilas, e dentro desta rede de fibrilas as impurezas são encontradas. Estas são substâncias pécticas e principalmente alguns graxos.

3 – *Parede secundária*: forma mais ou menos 90% do peso total da fibra. É composta de camadas sucessivas de celulose depositadas na face interna da parede primária. As fibrilas na parede secundária são alinhadas em camadas ou lamelas e seguem um caminho em espiral em torno do eixo da fibra.

4 – *Lúmen*: é um canal que se estende da base da fibra até a ponta, onde ele é fechado.

5 – *Protoplasma*: é localizado no lúmen e é essencial para o crescimento de células de modo que quando a fibra seca um resíduo é deixado no lúmen após a evaporação. Os resíduos deixados no lúmen pelos protoplasmas são responsáveis pela cor.

Tem-se que de um modo geral, as moléculas das cores estão impregnadas no algodão de forma que envolvem todas as partes que compõem a fibra de algodão naturalmente colorido.

Os minerais (**tabela 2.2**) encontrados no algodão colorido são sintetizados pelo algodoeiro ao longo do seu crescimento. Na literatura não foi encontrada nenhuma participação direta destes minerais para a cor da fibra do algodão naturalmente colorido.

Tabela 2.2 – Minerais encontrados no algodão naturalmente colorido

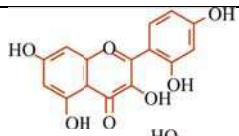
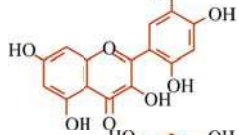
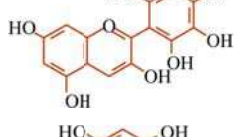
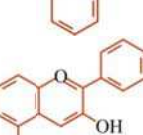
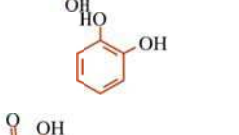
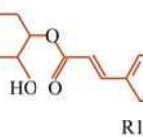
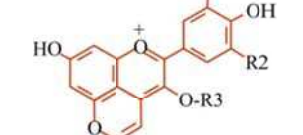
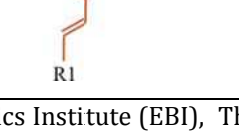
Metal	PPM
Potássio	2000–6500
Magnésio	400–1200
Cálcio	400–1200
Sódio	100–300
Ferro	30–90
Manganês	1–10
Cobre	1–10
Zinco	1–10
Chumbo	n.d. ^a
Cádmio	n.d.
Arsênico	traço (<1) ^b

Fonte: Wakelyn, Bertoniere, French, Thibodeaux, (2006, pag 30)

2.3 Estruturas moleculares previstas no algodão colorido

De acordo com a bibliografia as moléculas que compõem a cor do algodão naturalmente colorido pertencem a família dos polifenóis: ácidos, flavonóides e taninos que são compostos cromóforos, conjunto de moléculas responsáveis pela cor. Diante desta possibilidade, montou-se uma tabela padrão com estruturas moleculares e respectivos comprimentos de onda máximos $\lambda_{máx}$ das bandas de absorção obtidos por espectroscopia UV - Visível convencional (**tabela 2.3**).

Tabela 2.3 - $\lambda_{máx}$ dos picos de absorção UV - Vis das possíveis moléculas responsáveis pela cor em algodões naturalmente colorido e suas estruturas

Moléculas	$\lambda_{máx}$ (nm)UV-VIS	Estrutura
Morina	(273; ~302/310 ; ~400)	
Gossypetina	(262; 278; 341; 380/386)	
Proantocianidina	(280; 464; 546)	
Resorcinol	(220; 270/280)	
Catequina	(441; 625)	
Pirocatecol	(220; 280)	
Ácido Clorogênico	(240; 298; 326)	
vinylpyranoMv-3- gluc-floroglucinol (dotted)	(280; 565)	

Fontes: American Chemical Society, PubChem,, European Bioinformatics Institute (EBI), The Changing Face of ChemSpider, KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes.

Capítulo 3 – Cores

A Cor não é um fenômeno físico. Associa-se cor a comprimentos de onda do espectro visível, mas para isso, é necessário que elementos transformem comprimentos de onda em sensação de cores. Em seres humanos essa função é exercida pelo olho. Um mesmo comprimento de onda pode ser percebido diferentemente por diferentes pessoas (ou outros seres vivos animais), ou seja, cor é um fenômeno subjetivo e individual.

A região do espectro eletromagnético situada entre mais ou menos 200nm - 750nm se chama região do UV- Visível. Ondas de luz com comprimentos de onda entre (380 – 750 nm) parecem coloridas para o olho. Uma ponta do espectro visível é violeta (380nm) e a outra é vermelha (750nm) (**figura 2.3**).⁴

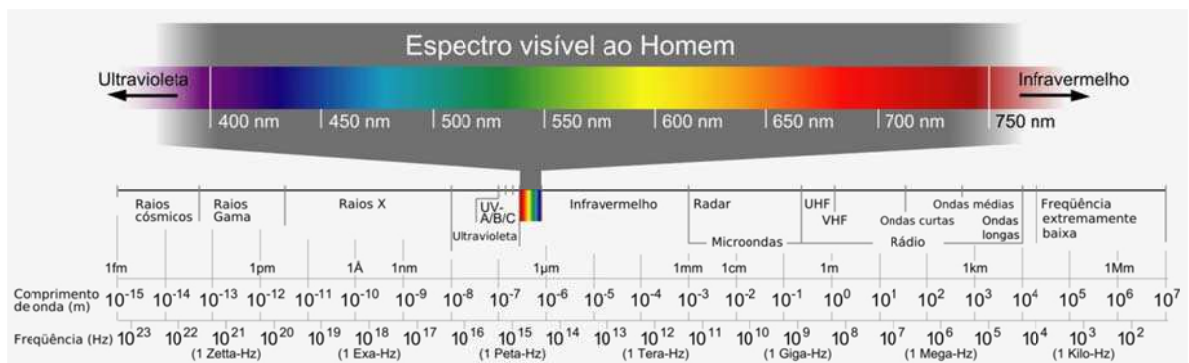


Figura 3.1 – Espectro eletromagnético, com destaque para a região visível do espectro. Fonte: Anghinoni (2010)

Para estudar a cor precisam-se definir quais tipos de fontes podem provocar sensação da cor. A luz que chega ao olho pode ter origem em si própria (fonte de luz) ou através de interações com objeto (substâncias, moléculas, etc).

Quando se observa luz diretamente emitida de uma fonte, como uma lâmpada ou um espectro de emissão, observa-se a cor correspondente ao comprimento de onda da luz sendo emitida (**figura 3.2 a**).

Porém, quando se observa a cor de um objeto, a luz emitida não tem origem no objeto. Certamente, ela não brilha no escuro. Em vez disso, observa-se a luz que está

⁴ Não se tem uma definição clara da região visível, se entre (380 – 780) ou (400 -750), assim devemos considerar uma tolerância. Conforme **figura 3.2**, há cor visível a menos de 400nm e vermelha acima de 750nm

sendo refletida (ou transmitida). A cor que o olho percebe não é a cor correspondente ao comprimento de onda da luz absorvida, mas sim, seu complemento. Quando luz branca incide sobre um objeto não transparente, pode ser absorvida luz de certo comprimento de onda. O restante da luz pode ser parte refletida, parte transmitida. O olho e o cérebro detectam e registram toda a luz refletida (ou transmitida) como complemento da cor absorvida (**figura 3.2 b** e **figura 3.2 c**).

Existem dois casos limites quando a luz branca incide sobre um objeto, quando a luz incidente é refletida totalmente (**figura 3.2 d**), ou quando é absorvida totalmente (**figura 3.2 e**). Nestes casos tem-se, objeto branco (totalmente refletivo) ou preto (totalmente absorvente) respectivamente.

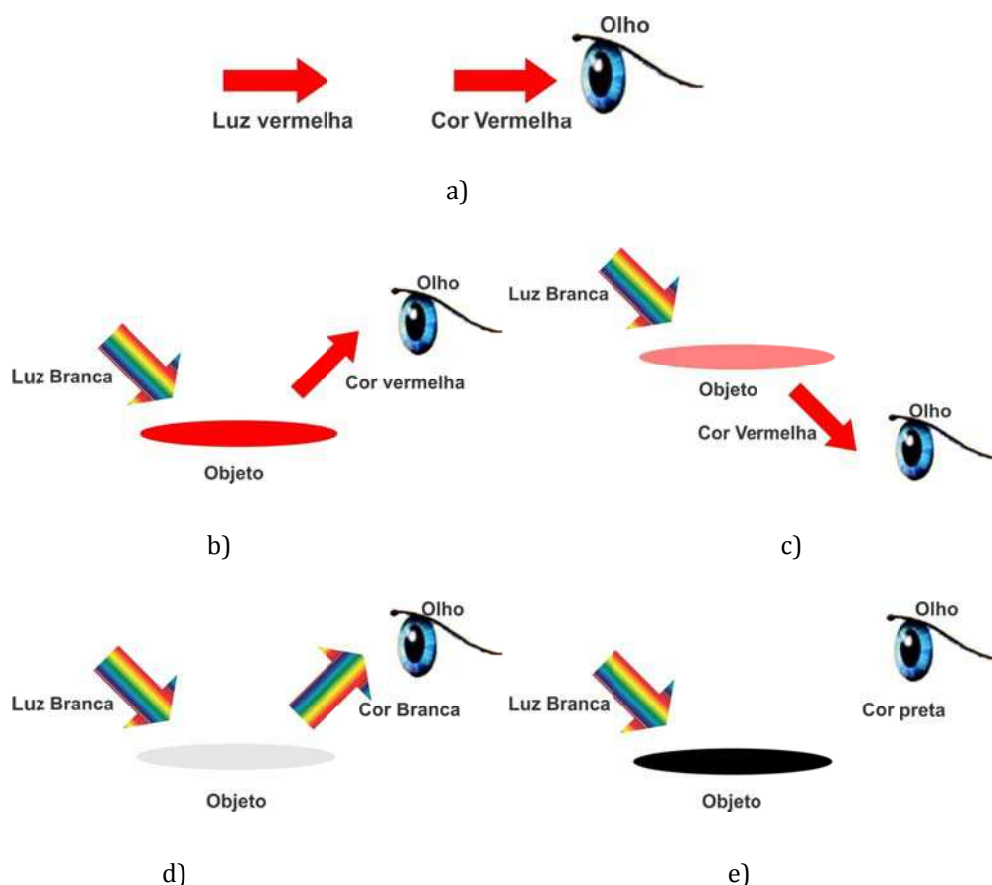


Figura 3.2 – a) Fonte de luz incidindo diretamente no olho, b) e c) Cor do objeto correspondente ao comprimento de onda que não é absorvido pelo objeto, e d) e e) casos limites de absorção.

Dependendo do comprimento de onda, a luz produz as diferentes sensações de cor que se percebe. Por exemplo, as radiações da banda entre 450nm até 495nm, ao incidir no sistema visual, transmitem as várias sensações de azul e ciano (azul

esverdeado), as da banda entre 495nm e 590nm, as várias sensações de verde e amarelo e as contidas na banda de 590 nm a 750 nm, as várias sensações de laranja e vermelho. Uma propriedade importante das cores é que estas podem ser misturadas para gerarem novas cores.

A relação entre o comprimento de onda da luz absorvida por uma substância e a correspondente cor percebida por um observador (**tabela 3.1**) não é bem definida, podendo sofrer variações entre os limites das cores, limites esses que na verdade não existem, pois é um contínuo.

Tabela 3.1 – Relação entre a cor de luz absorvida por substância e a cor observada da substância

Cor da Luz Absorvida	Comprimento de Onda da Luz Absorvida (nm)	Cor Observada
Violeta	380-450	Amarelo
Azul	450-475	Vermelho – Laranja
Ciano	475-495	Vermelho
Verde	495-570	Violeta – Vermelho
Amarelo	570-590	Violeta
Vermelho – Laranja	590-620	Verde – Azul
Vermelho	620-750	Verde

De acordo com a teoria da cor complementar (**figura 3.3**), há pares de cores complementares que são o azul – amarelo e o vermelho – verde. Portanto, um material que absorve somente no violeta – azul, se apresenta amarelo aos olhos, enquanto que uma solução que absorve somente na região espectral do “vermelho” será um material verde. Uma substância também poderá ser verde se absorver todas as cores exceto a luz verde, é o caso da clorofila (**figura 3.4 a**).

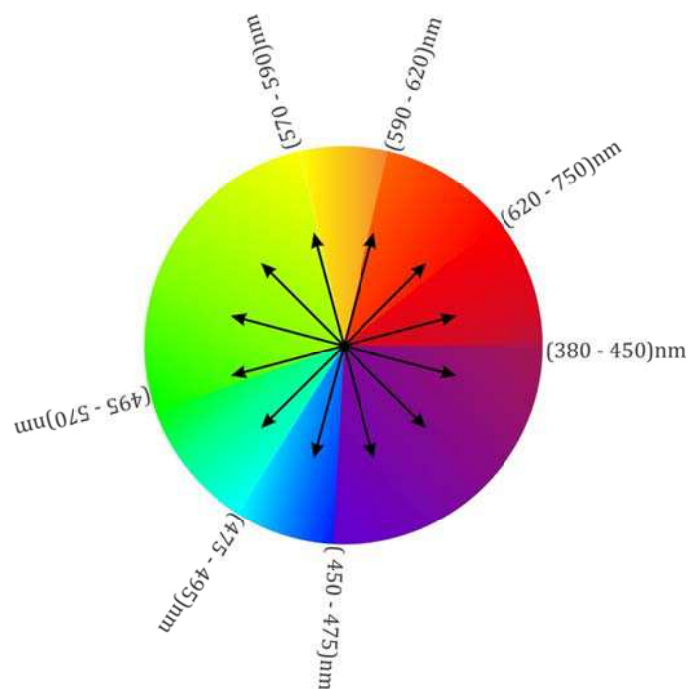


Figura 3.3 – disco de cores

Do ponto de vista molecular, a cor resulta das transições eletrônicas entre orbitais moleculares, elétrons que estão em níveis de energia fundamental, mínima energia, podem sofrer excitações ao serem perturbados com ondas eletromagnéticas. Quando a energia de excitação for igual à diferença de energia entre os orbitais moleculares, o sistema absorve esta energia e executa transições eletrônicas para níveis de energia superior. Geralmente em moléculas orgânicas estas transições têm origem entre orbitais moleculares $\pi \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \sigma^*$ e se encontram no intervalo de comprimento de onda UV-Visível (200 – 750)nm.

Alguns compostos conhecidos podem servir para confirmar a relação entre espectro de absorção e cor observada. São mostradas as fórmulas estruturais desses exemplos. Note que cada uma dessas substâncias tem um sistema conjugado de elétrons altamente estendido. Tal conjugação extensa desloca seus espectros eletrônicos para comprimentos de onda tão longos que eles acabam absorvendo luz visível e parecem coloridos (**figura 3.4**). A clorofila (**figura 3.4 a**) absorve comprimentos de onda nas regiões do violeta ao ciano ($\lambda_{m\acute{a}x} \cong 450nm$) e do vermelho ($\lambda_{m\acute{a}x} \cong 680nm$), assim, a cor observada é verde. Já o índigo (**figura 3.4 b**) tem-se dois tipos: um, *ceto*, que absorve da região verde ao vermelho ($\lambda_{m\acute{a}x} \cong 605nm$) dando a cor

azul e o outro, *Leuco*, que absorve na região do violeta para o ciano ($\lambda_{m\acute{a}x} \cong 440nm$), com a cor observada amarelo.

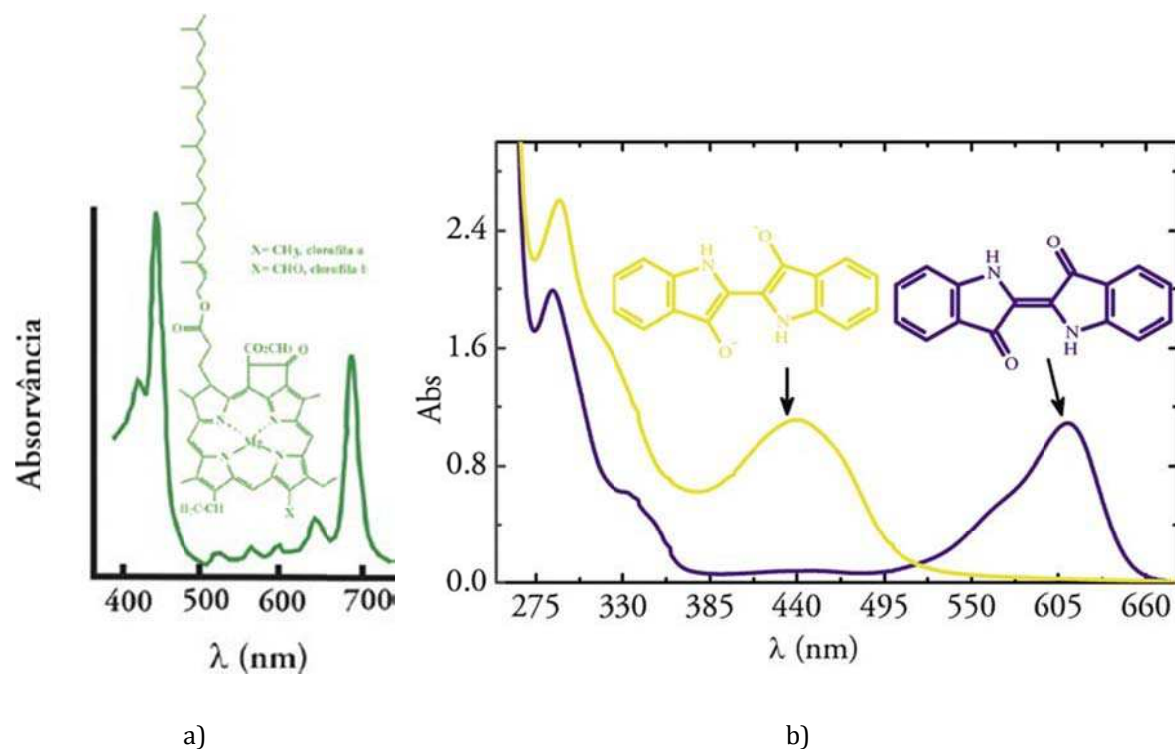


Figura3.4 – Compostos com suas bandas de absorção, justificando a sua cor que corresponde à banda do espectro eletromagnético visível que não foi absorvida. (a) Clorofila, b) Índigo na formas leuco (amarelo) e ceto (azul)

Capítulo 4 – Colorimétrica

Segundo Guimarães (2004), a cor é definida por três características: a matiz ou tonalidade, o brilho ou luminosidade e a saturação ou croma. A matiz é a cor definida pelo comprimento de onda. O brilho é a luminosidade da cor, referente à proximidade do branco ou preto. A croma é definida como sendo o grau de pureza da cor.

Estudos mostram que se pode representar matematicamente a relação entre cor e comprimento de onda. O cálculo usualmente realizado para a determinação da cor usa o sistema CIE (Commission Internationale de l'Eclairage, ou International Commission on Illumination, ou ainda Comissão Internacional de Iluminação), um sistema quantitativo para medir, especificar e denotar as cores, classificando-as de acordo com suas propriedades perceptivas, Tornquist (2008). Tornquist argumenta que o sistema CIE proporciona uma base objetiva para a medição de cor e especifica a cor por meio de misturas aditivas dos três estímulos das três cores de referência (vermelho, verde e azul). Por suas características de capacidade analítica e objetividade é muito usado para o método de análise espectral da luz refletida, reemitida ou absorvida de um objeto, que é feita com a utilização de um espectrofotômetro, escolhido em conformidade com a respectiva técnica utilizada. Existem vários sistemas que descrevem matematicamente a percepção da cor, esses sistemas são definidos em espaço de representação, dentre eles podemos citar RGB, XYZ, Lab, cada um como suas devidas características.

A colorimetria trata do problema de representação e especificação da cor sem se preocupar com sua natureza física da cor ou as propriedades de propagação no espaço. O princípio da colorimetria é baseado em medir a refletância de um objeto quando submetido a uma luz branca que corresponde à região visível do espectro eletromagnético (380 – 750 nm). Os resultados desta refletância é que determinam a cor do objeto, no espaço de cores. Existem vários espaços de cores, como já dito anteriormente, determinado pela CIE, o mais usado geralmente pela colorimetria é o CEILAB (**figura 4.1**).

O CIELAB usa três parâmetros para se determinar a cor, que são: Com determinação dos valores L^* (luminosidade), a^* (intensidade de vermelho) e b^* (intensidade de amarelo).

Conforme Leão (2005), o modelo de cor CIELAB foi criado pela CIE para aumentar a uniformidade das cores percebidas pelo sistema visual humano. O L^* representa o valor de luminosidade da cor, enquanto que a^* pode variar do verde para o vermelho e b^* do azul para o amarelo.

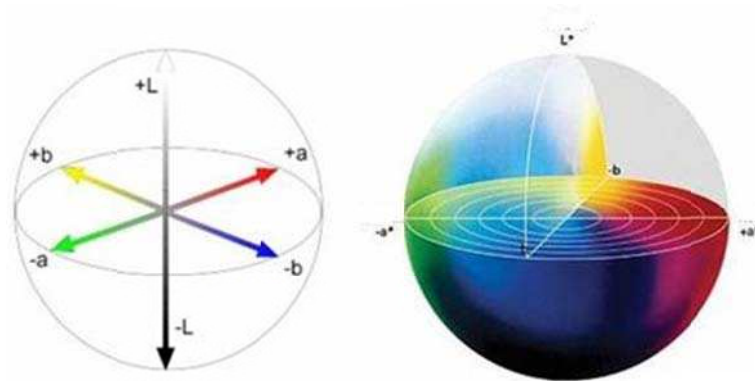


Figura 4.1 – Sistema CIELAB

Utiliza-se a colorimetria para se medir parâmetro que relaciona luz refletida pela amostra (substância) e cor. No caso dessa dissertação, utilizou-se a colorimetria como uma técnica complementar da espectroscopia fotoacústica, obtendo-se qual região do espectro visível predomina a refletância de cada algodão naturalmente colorido e o branco.

Capítulo 5 – Espectroscopia Fotoacústica (PAS)

5.1 Aspectos históricos da PAS

O efeito Fotoacústico foi descoberto no século XIX de forma acidental por Alexandre Graham Bell (1880). Bell no decorrer de seus experimentos com o fonofone (**figura 5.1**) observou que ao incidir luz solar numa extremidade sólida (em forma de diafragma) de um tubo de audição, na outra extremidade conseguia escutar um sinal sonoro. Ou seja, a produção de um sinal acústico a partir da incidência de luz num meio. Observou ainda que, quando modulava a luz em altas frequências, eram produzidos sons naturalmente audíveis. Era a descoberta do efeito fotoacústico, sendo publicado em 1880 o primeiro artigo que veio a relatar brevemente a descoberta.

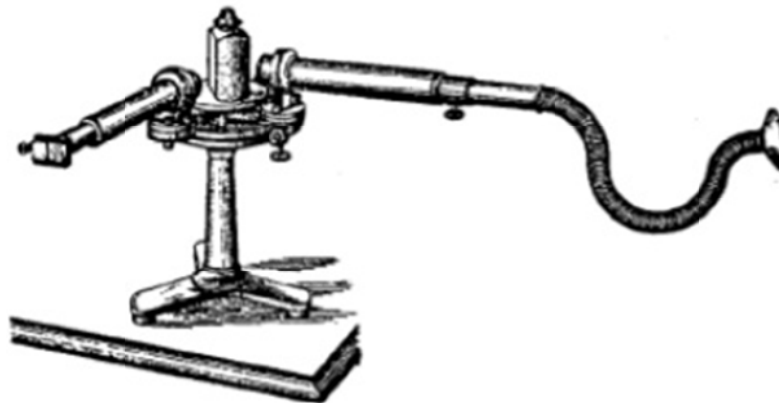


Figura 5.1 - O fonofone de Bell. A luz solar (branca) entra pelo tubo da esquerda, uma espécie de telescópico com um sistema de lente conduz a luz branca fazendo-a incidir sobre um prisma. Neste prisma, a luz é separada nos diversos comprimentos de ondas que a compõem (luz monocromática). Esta luz monocromática incide no tubo da direita onde se tem uma amostra sólida em sua entrada. É aí que o efeito fotoacústico é produzido e as ondas sonoras geradas se propagam através do tubo de escuta de maneira similar ao estetoscópio.

Além dos estudos realizados em sólidos, Bell e seu colaborador, Summer Tainter, dedicaram-se às investigações do efeito em líquidos e gases Bell (1880). Foi através deste trabalho que Bell e colaboradores descobriram a relação entre a incidência e absorção de luz por um material e o sinal emitido, sonoro, por isto denominado de sinal fotoacústico. Bell, que não possuía formação em Física, apoiou-se nos estudos de Lord Rayleigh para explicar o efeito observado em amostras sólidas. Rayleigh (1881) sustentou que a origem do efeito de expansão-contração da amostra ocorria devido ao aquecimento intermitente resultante da excitação “modulada” de

luz, ou seja, o fenômeno se devia a um movimento mecânico no sólido. As hipóteses sugeridas na época, que mais se aproximam da concepção contemporânea acerca da fotoacústica, foram as sugeridas por Mercadier (1881) e Preece (1881) que similarmente defenderam que o sinal acústico tinha origem na variação (periódica) de volume do gás aderente à superfície da amostra, devido ao aquecimento-resfriamento alternado, causado pela incidência da luz modulada.

No entanto, devido à falta de detectores apropriados para medir o sinal fotoacústico as investigações do fenômeno ficaram adormecidas por cerca de cinquenta anos quando, em 1938, a invenção do microfone propiciou condições mais adequadas ao estudo deste fenômeno. Mesmo assim, as pesquisas na área se restringiram a aplicações em gases até 1973. A partir daí, modelos teóricos para o efeito em sólidos foram desenvolvidos por Parker (1973), McDonald e Wetsel (1978) e por Rosencwaig e Gersho (1980). Esses modelos apresentaram uma grande concordância com resultados experimentais (para sólidos e líquidos) e os mecanismos básicos responsáveis pelo efeito fotoacústico passaram a ser melhor entendidos.

Atualmente, o desenvolvimento da técnica de espectroscópica fotoacústica, é extremamente útil na investigação de materiais não gasosos, com aplicações nos diversos campos da ciência tais como: Biologia, Física, Química e Medicina.

5.2 Interação da radiação com a matéria

O princípio da Espectroscopia Fotoacústica (PAS) é baseado na interação da radiação eletromagnética (UV – Visível) com a matéria. Tal interação é usualmente tratada hoje em dia pela mecânica quântica. Quando a radiação interage com a matéria, moléculas modificam seu estado de repouso (mínima energia) passando para um estado excitado de mais alta energia. Dependendo da radiação (energia) que interage com a matéria poderemos ter vários tipos de transições entres níveis de energia de certo material, que são, obviamente, discretos, de acordo com o princípio da quantização da energia (**tabela 5.1**)

Tabela 5.1 – Energia eletrônica (E_e) e vibracional (E_v). Obs. a energia rotacional E_r não foi expressa na tabela, porque é desprezível para o sistema estudado devido sua ordem de grandeza.

Tipo de Transições	Quantização da Energia	Observações
Eletrônica	$E_e = h\nu = h\frac{c}{\lambda}$ (5.1)	Excita a matéria entre níveis eletrônicos de energia, sendo da ordem do UV –Visível.
Vibracional	$E_v = h\frac{c}{\lambda}\left(n + \frac{1}{2}\right)$ (5.2)	Energia responsável pela geração de calor

Geralmente, a energia potencial total de uma molécula é dada como uma soma das energias; eletrônica, vibracional e rotacional:

$$E_{\text{Total}} = E_e + E_v + E_r \quad (5.3)$$

As diferentes energias (eletrônica, vibracional e rotacional) têm a seguinte ordem de magnitude:

$$E_e \gg E_v \gg E_r \quad (5.4)$$

Em algumas moléculas e átomos, fótons de UV e luz visível têm energia suficiente para induzir transições entre diferentes níveis de energia eletrônica, promovendo um elétron de um nível de baixa energia para um de mais alta energia. Estas transições resultam em bandas de absorção centradas em comprimentos de onda característicos. As bandas de absorção podem ser alargadas devido ao fato de que várias transições com diferentes níveis de energia podem ocorrer, ou seja, os níveis de energia vibracional e rotacional são superpostos aos níveis de energia eletrônica.

Após os elétrons do material absorverem energia de excitação, e conseqüentemente serem excitados para um nível de maior energia, eles decaem para o estado fundamental de duas maneiras: decaimento radiativo e não radiativo. No efeito fotoacústico o decaimento não-radiativo é o que prevalece.

- i) Decaimento Radiativo – A espécie excitada busca dissipar sua energia excedente, ganhada no processo de excitação, voltando ao estado inicial de

equilíbrio, de maneiras distintas. O processo de decaimento radiativo ocorre acompanhado da criação e emissão espontânea de fótons durante o processo de relaxação da espécie excitada para o estado fundamental. Exemplos típicos desta modalidade de decaimento radioativo são os processos de fluorescência e fosforescência, onde o decaimento da espécie de um estado excitado para o estado fundamental é acompanhado da criação de fótons de energia $h\nu$, onde h é a constante de Planck e ν é a frequência. No processo fluorescente a radiação cessa assim que a excitação é removida (curto tempo de relaxação), enquanto que no processo fosforescente a radiação persiste por algum período de tempo depois de cessada a excitação (longo tempo de relaxação) (**figura 5.2**).

ii) Decaimento Não-Radiativo – Este tipo de decaimento chamado também de decaimento térmico, é o mais comum, ocorrendo em quase todas as situações envolvendo excitações atômicas e moleculares. Neste processo, ao invés da energia excedente da espécie excitada ser utilizada na criação de fótons, ela é transferida para átomos ou moléculas vizinhas mais próximas. Inicialmente a transferência de energia se dá dentro dos níveis ou modos vibracionais das espécies vizinhas. O modelo mais simples para se entender o mecanismo de relação não-radioativo é da seguinte maneira: considere inicialmente o estado excitado da espécie como sendo $|i\rangle$, de energia E_i , acompanhada de um conjunto de estados vibracionais $|v\rangle$, espaçados em energia E_v e que agem como reservatório térmico (**figura 5.2**).

Tal conjunto de níveis através do qual ocorre o decaimento não-radioativo é assumido ser da vizinhança mais próxima. A espécie excitada vê esses níveis de tão pequena separação como uma perturbação e a utiliza para descarregar a energia excedente de tal modo que esses estados vibracionais agora são quem passam a ser excitados, gerando modos de vibrações, ou seja, fônons, com conseqüente geração de calor. Em outras palavras, a energia de excitação é transferida para o reservatório (níveis vibracionais), gerando calor ao invés de criar fótons.

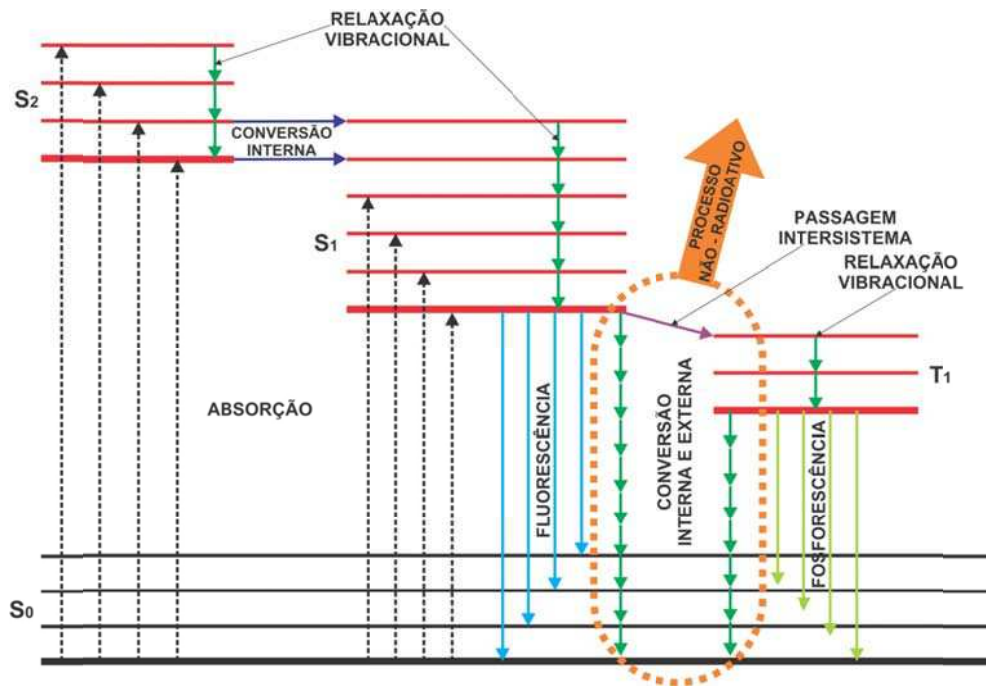


Figura 5.2 – Decaimento radiativo de fluorescência e fosforescência e decaimento não-radiativo.

5.3 Mecanismos de geração de calor na amostra

O aquecimento térmico quando modulado pode resultar em muitos efeitos distintos na amostra, sendo que a forma de detecção está vinculada aos mecanismos de decaimento (figura 5.3).

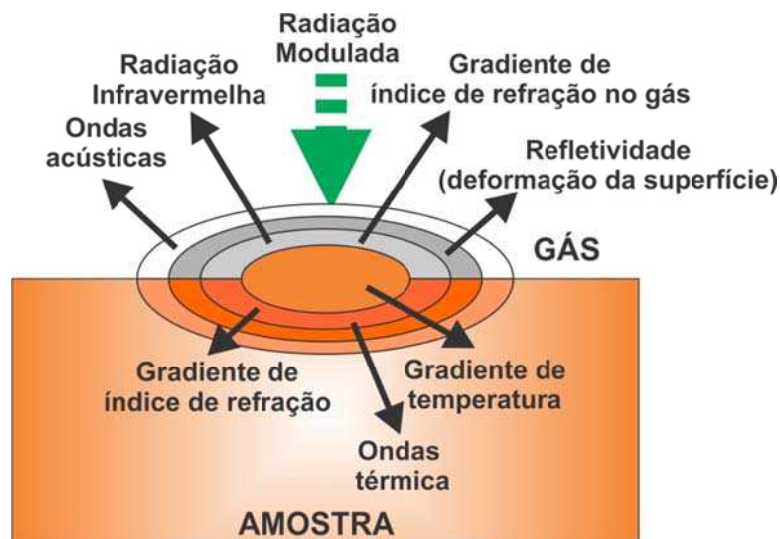


Figura 5.3 – Os possíveis efeitos da radiação modulada sobre a amostra.

Cada um desses efeitos requer uma ou mais técnicas de detecção. No caso da fotoacústica o sistema de detecção é um microfone piezelétrico que está em contato o gás da célula fotoacústica fechada.

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*. Tais mecanismos estão descritos abaixo:

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 frequência 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. Esta teoria é predita por Rosencwaig e Gersho (1980) (**figura 5.4**).

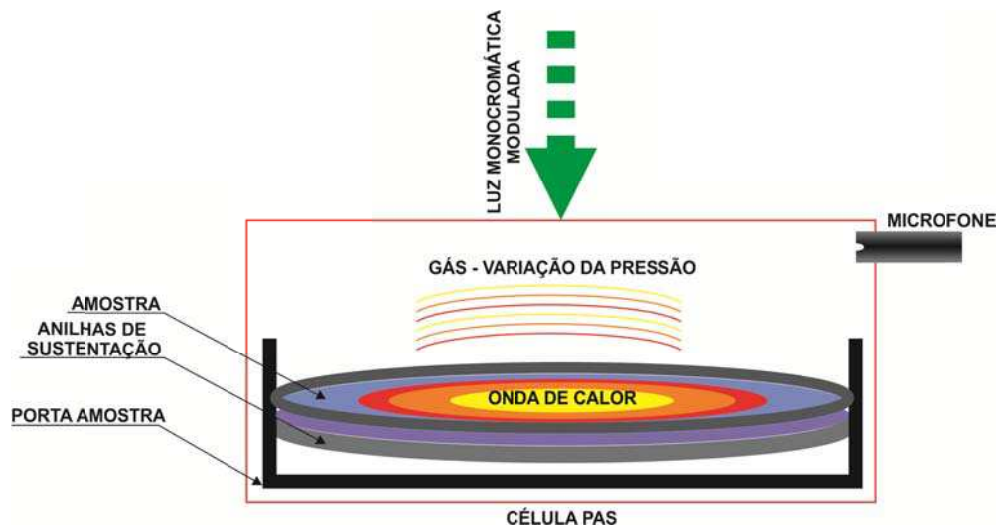


Figura 5.4 – Difusão térmica, pistão vibratório.

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*. Modelo proposto por McDonald e Wetsel (1978) (**figura 5.5**).

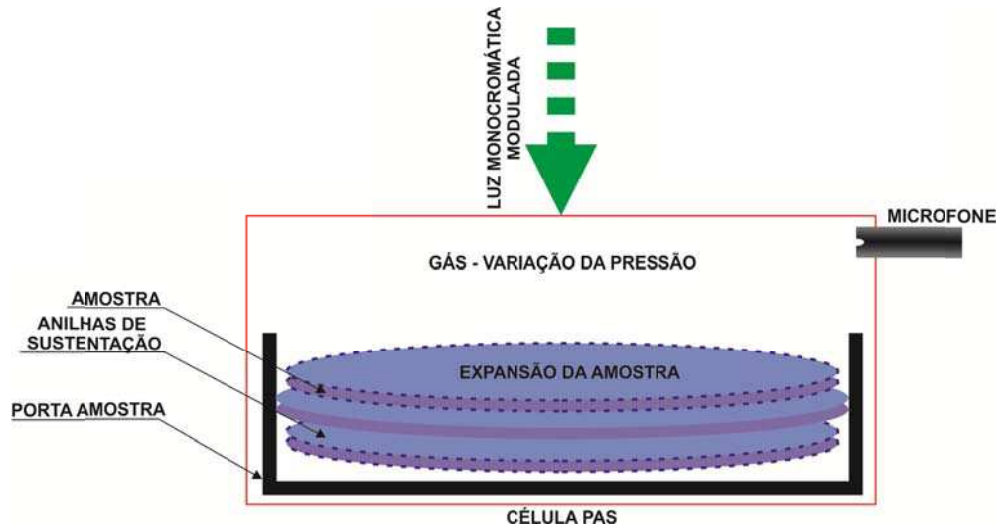


Figura 5.5 – Expansão térmica, pistão composto.

Flexão Termoelástica: processo que 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. Fenômeno proposto por Rousset *et al* (1983) (**figura 5.6**).



Figura 5.6 – Flexão termoelástica da amostra

Contribuição Fotobárica: consiste na liberação de gás ou bolhas da amostra como, por exemplo, em folhas de plantas que liberam oxigênio quando realizam

fotossíntese, ou em amostras porosas contendo vapores ou líquidos em seu interior, que dissolvem quando aquecida. Possível mecanismo de geração do sinal fotoacústico, modelo predito por Bults *et al* (1982) e Poulet, Cahen, Malkin (1983) (**figura 5.7**).

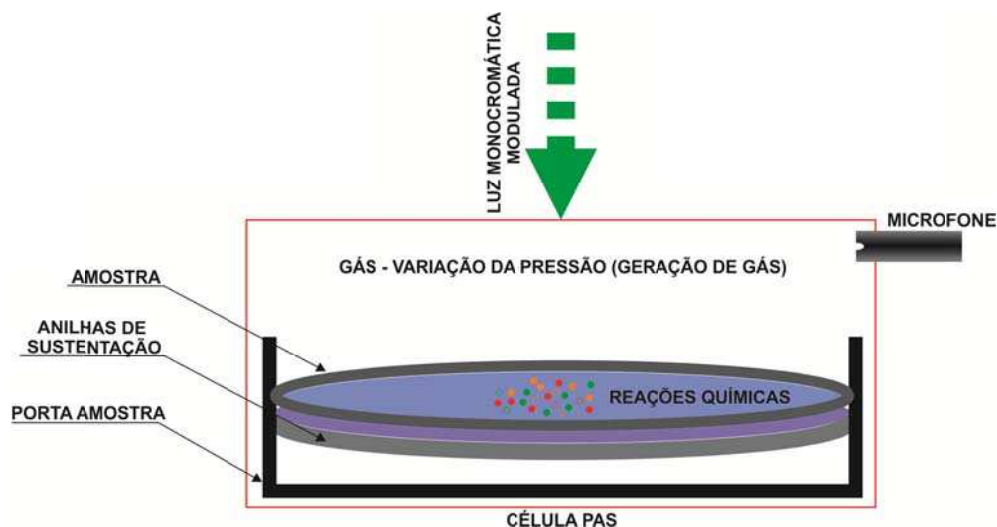


Figura 5.7 – Efeito fotobárico na amostra.

Existem três tipos principais de medidas que podem ser realizadas a partir do efeito fotoacústico:

- 1) Varredura em comprimento de onda – permite obter o espectro da absorção de um dado material;
- 2) Varredura em frequência – permite estudar e quantificar propriedades térmicas do material;
- 3) Varredura temporal (monitoração do sinal em função do tempo) permite avaliar a cinética de reações e processos que ocorram no material sob análise, permitindo, por exemplo, o estudo de processos fotoquímicos.

No presente estudo, usa-se a varredura em comprimento de onda, permitindo obter o espectro de absorção das moléculas do algodão naturalmente colorido para estudo da origem das cores. Neste caso a contribuição mais expressiva ao sinal fotoacústico é dada pela *difusão térmica* descrito pelo modelo de Rosencwaig- Gersho (R-G)(1980), sendo assim, as outras contribuições para obtenção dos espectros PAS, é pequena e podem ter seus efeitos desprezados. Esta contribuição está relacionada com o tempo de decaimento do sinal fotoacústico do nível excitado para o fundamental.

5.4 O efeito fotoacústico

O sinal fotoacústico é obtido numa célula constituída por uma câmara fechada na qual existe uma janela de vidro de quartzo, transparente à luz visível, que permite a entrada de luz, porém, o interior câmara é preenchida por um gás (em geral o ar). Um feixe de luz modulada de frequência FM , escolhida convenientemente, atravessa a janela e incide sobre a amostra, sendo absorvido, e produzindo um gradiente de temperatura intermitente devido à variação das ondas térmicas de frequência exatamente igual a FM . Em seguida, através do processo de desexcitação não-radiativo, visto no item 5.2 (ii), a luz absorvida induz, na superfície da amostra em contato com o gás, uma onda de pressão que é captada pelo microfone o qual se encontra acoplado à célula fotoacústica (figura 5.8).

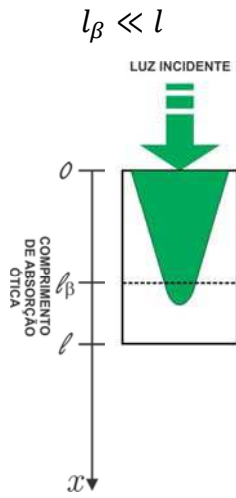


Figura 5.8 – Diagrama da geração de ondas de pressão (sinal sonoro) com frequência de modulação FM no interior de uma célula fotoacústica fechada.

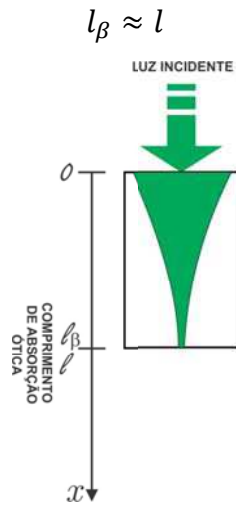
A variação de pressão na célula é proporcional à energia ótica convertida em energia térmica pelo material, ou seja, é proporcional a quantidade de calor gerada na amostra. Logo, podemos dizer que a amplitude do sinal acústico detectado pelo microfone está diretamente relacionada com a quantidade de luz absorvida pela amostra.

No entanto, num material absorvedor, a radiação incidente sofre uma atenuação de forma exponencial, ao mesmo tempo em que é absorvida pelas moléculas e penetra, afastando-se mais da superfície de incidência. Quando a intensidade do feixe de radiação atinge um valor de l_β , define-se o comprimento de absorção óptica $1/e$, o qual descreve o comportamento óptico do material (figura 5.9).

a) Amostra Opaca



b) Amostra Absorvedora



c) Amostra Transparente

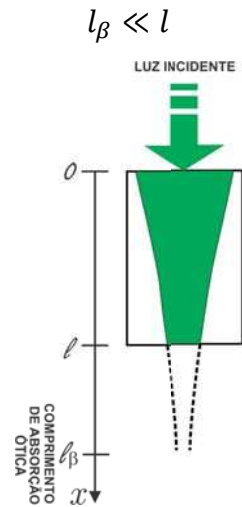


Figura 5.9 – A absorção óptica para três amostras diferentes é especificada pelo comprimento l_β

5.5 Sinal fotoacústico

Sabe-se que o sinal fotoacústico, já descrito anteriormente, tem origem nas flutuações da pressão exercida no gás devido à transferência periódica de calor da amostra com interface com o gás. Sendo assim, a equação que descreve essa variação periódica da pressão está relacionada com a variação periódica da temperatura na amostra. De acordo com Rosencwaig e Gersho (1980), a solução da equação da difusão térmica para uma distribuição de temperatura na célula em termos de parâmetros ópticos, térmicos e geométrico do sistema é dado por:

$$T(0) = \frac{\beta I_0}{2\kappa_s(\beta^2 - \sigma_s^2)} \left[\frac{(r-1)(b-1)e^{\sigma_s l} - (r+1)(b-1)e^{-\sigma_s l} + 2(b-1)e^{-\beta l}}{(g+1)(b+1)e^{\sigma_s l} - (g-1)(b-1)e^{-\sigma_s l}} \right] \quad (5.5)$$

onde: $b = \frac{\kappa_b a_b}{\kappa_s a_s}$, $g = \frac{\kappa_g a_g}{\kappa_s a_s}$, $r = (1-j) \frac{\beta_s}{2a_s}$, $\sigma_s = \frac{(1+j)}{\mu_s}$

Os parâmetros fototérmicos dado pelo modelo de R-G. (tabela 5.2).

Tabela 5.2– Parâmetros fototérmicos

Parâmetros	Significado	Unidade de Medida
β	Coeficiente de absorção ótica	m^{-1}
R	Coeficiente de reflexão da luz incidente na superfície	Adimensional
l	Espessura	M
I_0	Intensidade da luz incidente	
κ_i	Condutividade térmica	$W.m^{-1}.K^{-1}$
ρ_i	Densidade de massa	$Kg.m^{-3}$
c_i	Calor específico	$J.Kg^{-1}.K^{-1}$
$\alpha_i = \frac{\kappa_i}{\rho_i c_i}$	Difusividade térmica	$m^2.s^{-1}$
$a_i = \left(\frac{\omega}{2\alpha_i} \right)^{1/2}$	Coeficiente de difusão Térmica	m^{-1}
$\mu_i = \frac{1}{a_i}$	Comprimento de difusão térmica	M
$\sigma_i = (1 + j)a_i$	Coeficiente complexo de difusão térmica	m^{-1}
$l_\beta = \frac{1}{\beta}$	Comprimento de absorção ótica	M
$i = g$ (gás), s (amostra), b (suporte)		

Considerando a camada de gás entre $x = 0$ e $x = -2\pi\mu_g$, (figura 5.10), obtém-se a variação de pressão.

$$\delta P(t) = \frac{c_p P_0 T(0) \mu_g}{c_v \sqrt{2} l_g T_0} e^{i(\omega t - \frac{\pi}{4})} \quad (5.6)$$

onde:

$P_o \rightarrow$ Pressão ambiente

$T_o \rightarrow$ Temperatura média da amostra

$c_p \rightarrow$ Calor específico a pressão constante

$c_v \rightarrow$ Calor específico a volume constante

O sinal fotoacústico é considerado como sendo a componente não-temporal de variação da pressão, com uma intensidade S_F e fase ϕ_F cuja representação no plano complexo é:

$$\delta P(t) = S_F e^{j\omega t} \quad (5.7)$$

onde:

$$S_F = \frac{c_p P_o T(0)}{c_v l_g \sigma_g T_o} e^{j\phi_F} \quad (5.8)$$

S_F é o sinal fotoacústico detectado por um microfone de alta sensibilidade que é parte essencial de um espectrômetro fotoacústico.

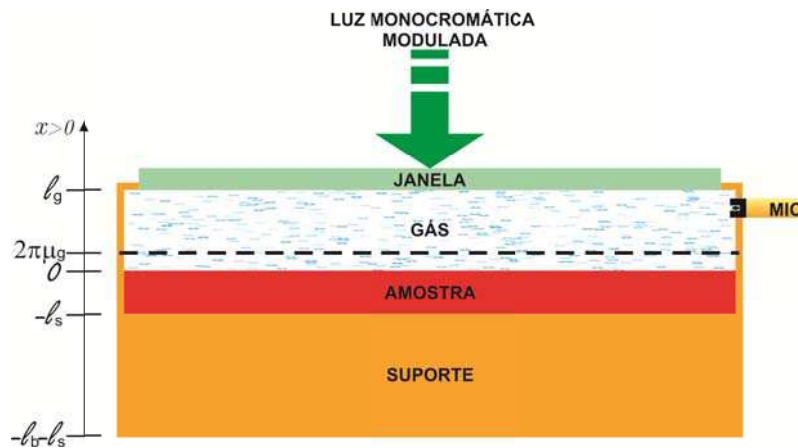


Figura 5.10 – Geometria da Célula Fotoacústica Utilizada no Modelo R-G.

Capítulo 6 – Detalhes Experimentais

Neste capítulo, são apresentados detalhes experimentais do espectrômetro fotoacústico, para obtenção dos espectros das amostras de algodão naturalmente colorido.

6.1 Elementos de Espectroscopia Fotoacústica

O espectrômetro fotoacústico do Laboratório de Espectroscopia Fotoacústica da Unidade de Física da Universidade Federal de Campina Grande é constituído de três partes principais: *Fonte de Radiação e Excitação*, *Câmara Experimental* (detector fotoacústico) e *Sistema de Aquisição de Dados*, os quais terão suas partes detalhadas a seguir.

Fonte de Radiação e Excitação – é composta por todas as partes que permitem obter a radiação usada na técnica de fotoacústica, ou seja, luz monocromática e modulada, na região UV-Visível do espectro eletromagnético.

- Fonte de Potência LPS255SHR e Lâmpada de Arco de Xenônio de 1000W;
- Conjunto de Lentes Colimadoras;
- Conjunto de Filtros: Filtro IR (sistema de circulação d'água) e Disco de Filtro com Controle McPherson 747-2 (filtro passa faixa);
- Modulador Ótico (disco com ranhuras na superfície espaçadas igualmente) com Controle DC-4000 PTI de frequência de rotação do modulador;
- Monocromador de Varredura (grade de difração, resolução = 0,7nm) com Controle de Varredura McPherson 789A-3 (motor de passo).

Câmara Experimental – é composta por todas as partes que possibilitam detectar o sinal fotoacústico, permitindo a conversão de luz modulada (ótica) em gradiente de temperatura e de pressão na câmara (térmico-acústica).

- Célula Fotoacústica Fechada MTEC 200;

- Pré-Amplificador;
- Porta Amostra.

Aquisição de Dados – é composto por todas as partes que transformam, armazenam e exibem o sinal fotoacústico de forma que possam ser usados os dados obtidos.

- Amplificador Lock-In de dupla fase Stanford da Research Systems modelo SR850 DSP;
- Microcomputador.

Abaixo se encontra esquematizado o diagrama em bloco do espectrômetro fotoacústico (**figura 6.1**).

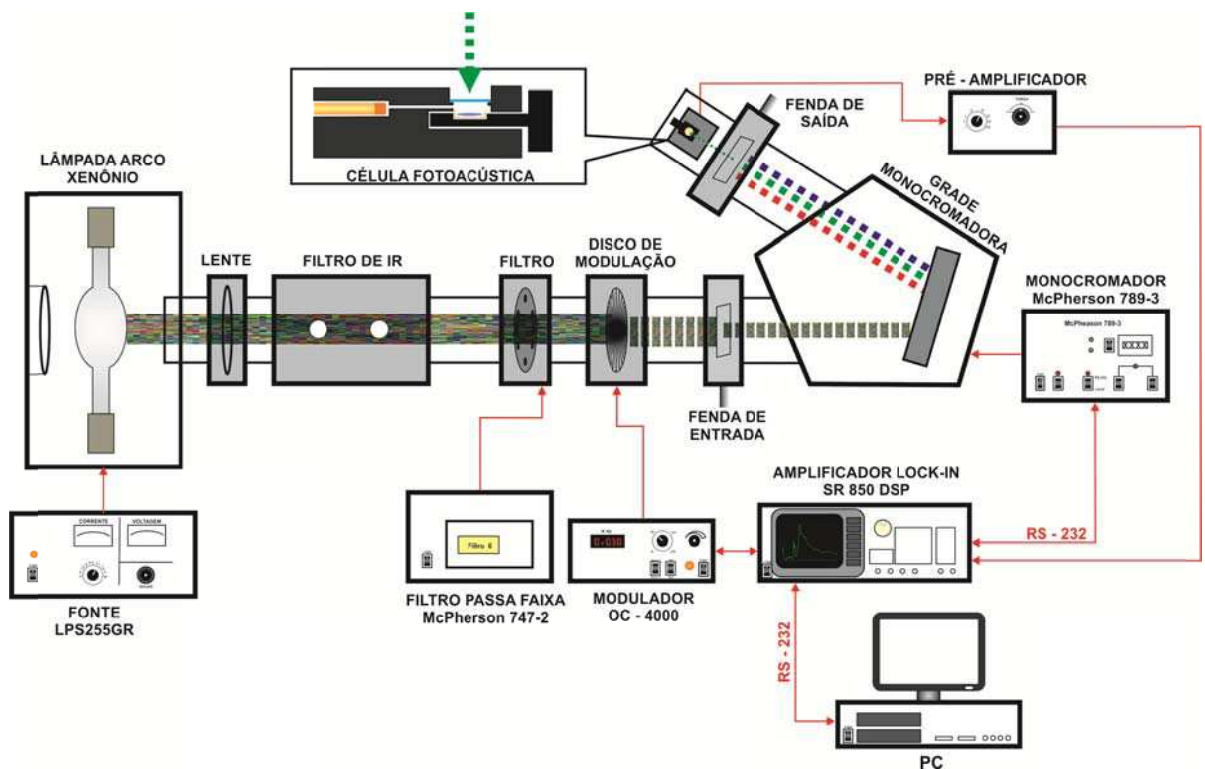


Figura 6.1 – Diagrama em bloco do Espectrômetro Fotoacústico.

6.2 Princípios de Funcionamento do Espectrômetro Fotoacústico

Descreve-se neste parágrafo o funcionamento das três partes que compõem o espectrômetro, acima citadas, conforme se usou nessa experiência.

a) - Fonte de radiação e excitação espectroscópica

Usou-se uma lâmpada de Arco Xenônio de 1000 W, alimentada por uma fonte de potência modelo LPS255HR e que emite radiação de forma praticamente contínua no UV – Visível entre $200nm$ à $750nm$. A radiação emitida pode ser considerada contínua em todos os comprimentos de onda UV – Visível, e é conhecida como luz branca. A luz branca passa inicialmente por um conjunto de lentes para colimar o feixe. Após colimado, o feixe de luz percorre um conjunto de filtros. O Filtro IR que é composto por um tubo vedado nas extremidades por dois vidros por onde passa a radiação, contendo água fria que circula no mesmo através de um sistema de circulação e refrigeração, retira parte da radiação IR da lâmpada, ou seja, calor. Na seqüência a radiação passa por um filtro passa faixa para eliminar harmônicos de segunda ordem.

Após perfazer as etapas precedentes, a luz é modulada, conforme exige a técnica fotoacústica (PAS). Esta função de modular é performada por um Modulador Ótico eletromecânico, modelo DC – 4000 PTI, com intervalo de variação de 1Hz ate 1kHz. A freqüência de modulação é escolhida de acordo com a teoria da Rosencwaig e Gersho (1980) dependendo do material analisado. Neste trabalho a modulação mais adequada foi de aproximadamente 30Hz. Como é sabido, a penetração do sinal na amostra está relacionada com a freqüência de modulação, de forma que, a penetração no sinal é inversamente proporcional à freqüência de Rosencwaig e Gersho (1980) . Assim menor freqüência de modulação implica em maior intensidade do sinal fotoacústico.

Na seqüência, antes de chegar à câmara fotoacústica, a radiação modulada passa por um conjunto de duas fendas (horizontal e vertical), na entrada da cavidade do monocromador, para dar forma e, conseqüentemente, controlar a intensidade do feixe de luz branca antes de ser separada em luz monocromática. A radiação modulada, ao atingir à grade de difração com resolução de $0,7nm$, que está fixada em um eixo móvel girante, conectado a um motor de passo da McPherson, modelo 789A-3. A luz é então difratada e suas componentes monocromáticas no UV-Visível são utilizadas na varredura em comprimento de onda e conseqüente obtenção do sinal fotoacústico.

Por fim, a luz monocromática e modulada passa por um conjunto de fendas (horizontal e vertical) na saída da cavidade do monocromador, para receber ajuste no formato e intensidade da luz. Assim, a luz modulada está preparada para incidir na amostra, dentro da câmara experimental, onde o sinal fotoacústico é produzido.

b) - Câmara Experimental (Detector fotoacústico)

A luz monocromática modulada incide em uma janela de vidro de quartzo da célula fotoacústica, atingindo a amostra que está localizada no porta-amostra inserido dentro da célula fotoacústica a pressão normal. Ao ser absorvida, a radiação gera, como já vimos, um gradiente de temperatura na amostra. Como a amostra está em contato com o gás (ar) da célula fotoacústica, um gradiente de pressão é gerado no ar através deste, sendo detectado por um microfone de alta sensibilidade (0,50mV/Pa), pré-polarizado, que faz parte do detector fotoacústico. Assim, sempre que houver uma transição na região UV – Visível, um sinal fotoacústico é observado (**figura 6.2**).

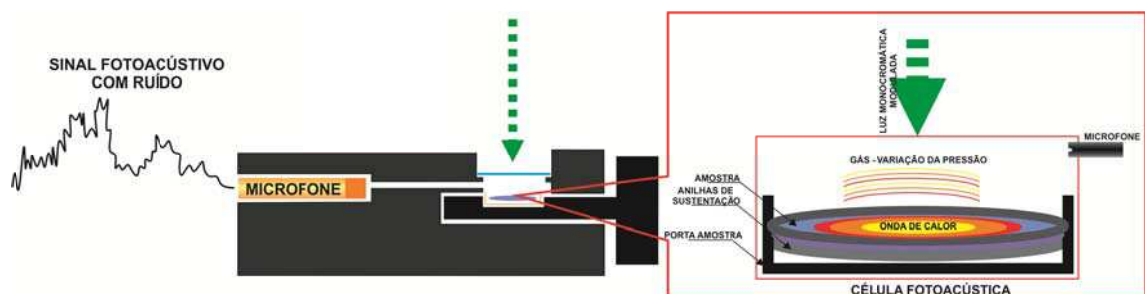


Figura 6.2 – Detalhes da Célula Fotoacústica e do Sinal Fotoacústico detectado.

O sinal acústico captado pelo microfone é de muito baixa intensidade, portanto, deve ser pré-amplificado antes de ser enviado ao amplificador principal (Lock-In). O sinal fotoacústico é convertido em elétrico na célula fotoacústica e pré-amplificado, resultando numa relação sinal/ruído otimizada (**figura 6.3**) para que possa ser processado pelo Lock-In. Usou-se um ganho de 16 dB para as amostras de algodão investigadas.



Figura 6.3 – Relação sinal/ruído no pré-amplificado.

c) - Aquisição de Dados

O sinal pré-amplificado é enviado ao um Lock-In da Standford, SR850 DSP, que faz uma nova amplificação, depois registra e armazena os dados experimentais. O sinal do Lock-In é, então, armazenado em um computador que faz a aquisição de dados, em forma de tabela XY que são usados na confecção dos respectivos espectros PAS, além de controlar automaticamente a operação do equipamento, via porta de comunicação RS232 (**figura 6.4**).

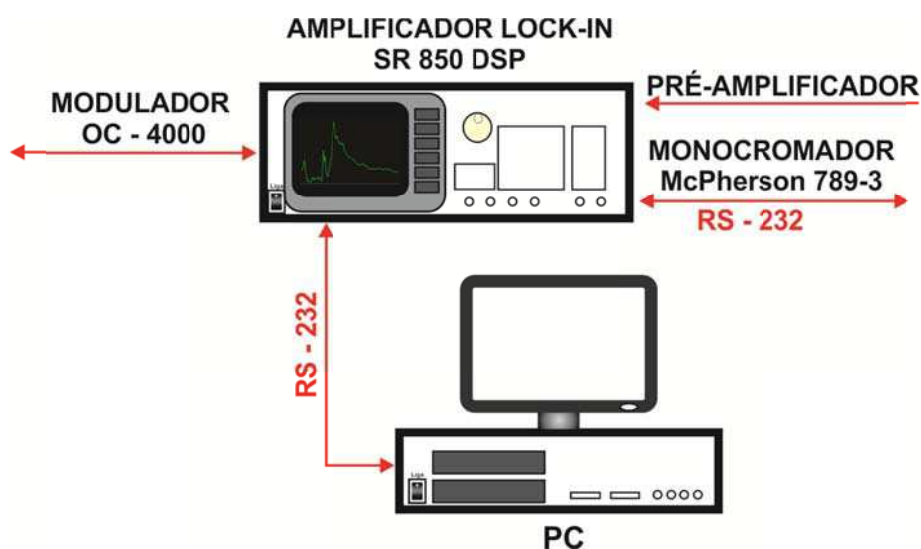













Figura 6.4 – Aquisição de dados, Amplificador Lock-In e Computador para armazenamento e processamento do sinal fotoacústico.

6.3 As Amostras

As várias amostras de algodão (**tabela 6.1**) foram divididas em grupos de acordo com a cor classificada pela EMBRAPA.

Tabela 6.1– Algodões investigados

Grupo	Cor	Código	Espécie	Foto
1	Branco	-	Gossypium	
	Marrom	B02PL01P01	Gossypium	
	Marrom	B02PL02P01	Gossypium	
2	Marrom	B02PL02P02	Gossypium	
	Marrom	B07PL01P2	Gossypium	
	Marrom	B14PL01P01	Gossypium	
	Verde	B20PL01P01	Gossypium	
	Verde	B20PL01P01	Gossypium	
3	Verde	B26PL01P02	Gossypium	
	Verde	B32PL02P2	Gossypium	
	Verde	B38PL01P02	Gossypium	

O preparo das amostras (**figura 6.5**) é feito de forma bastante simples, não alterando o seu estado natural, *in vivo*. O processo de preparação consistiu em

dimensionar a amostra para caber dentro do porta-amostra que tem as dimensões de 3mm de espessura por 9mm de diâmetro.



Figura 6.5 – Porta amostra e amostra.

6.4 Acumulação Espectral

Para cada amostra, inclusive o negro fumo, de onde obtêm – se o espectro de emissão da lâmpada (base para normalização), foram acumuladas 5 (cinco) medidas, cada uma com duração de 10 (dez) min (**figuras 6.6, 6.7, 6.8**). Assim, minimizou-se o ruído durante obtenção dos espectros.

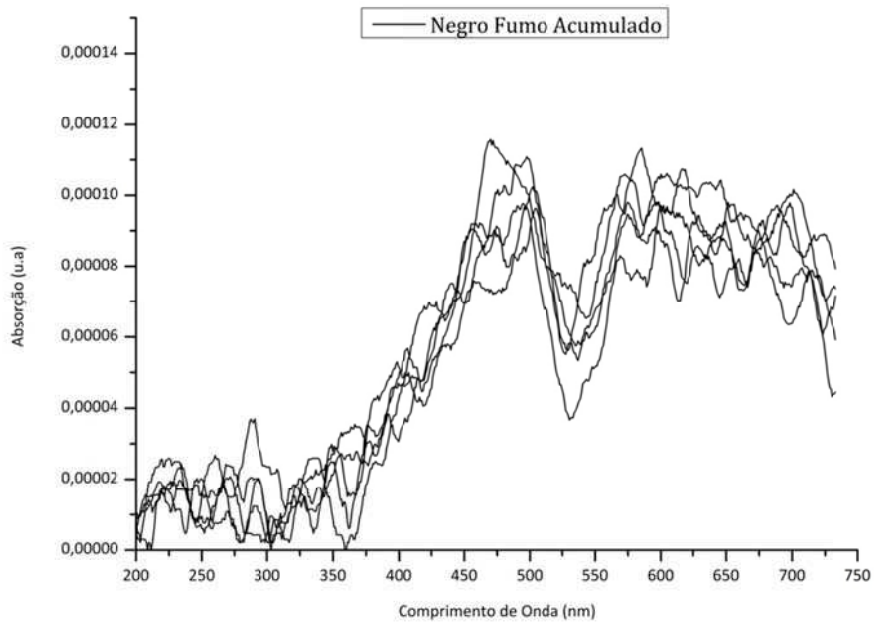


Figura 6.6 – Espectros PAS acumulados do negro fumo.

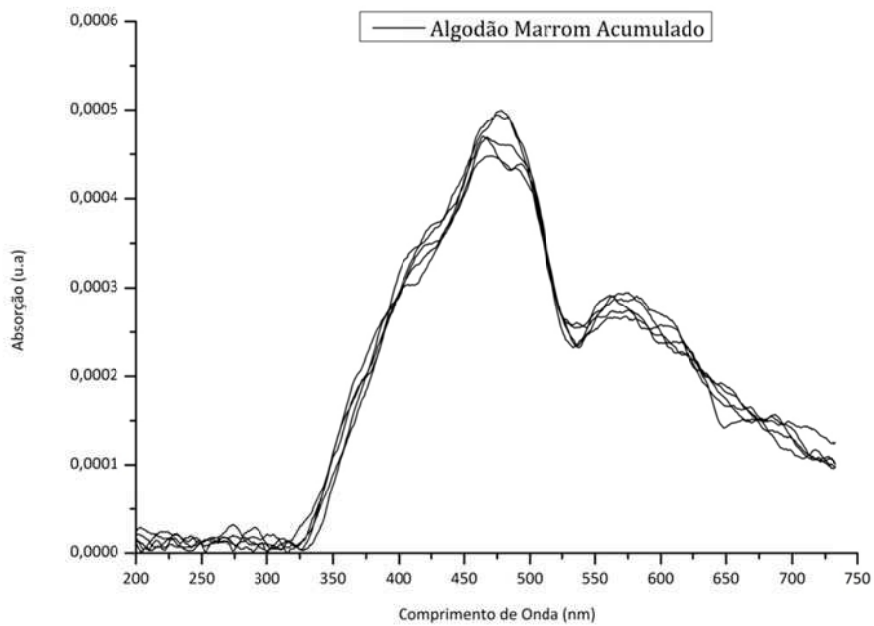


Figura 6.7 – Espectros PAS acumulados do algodão marrom.

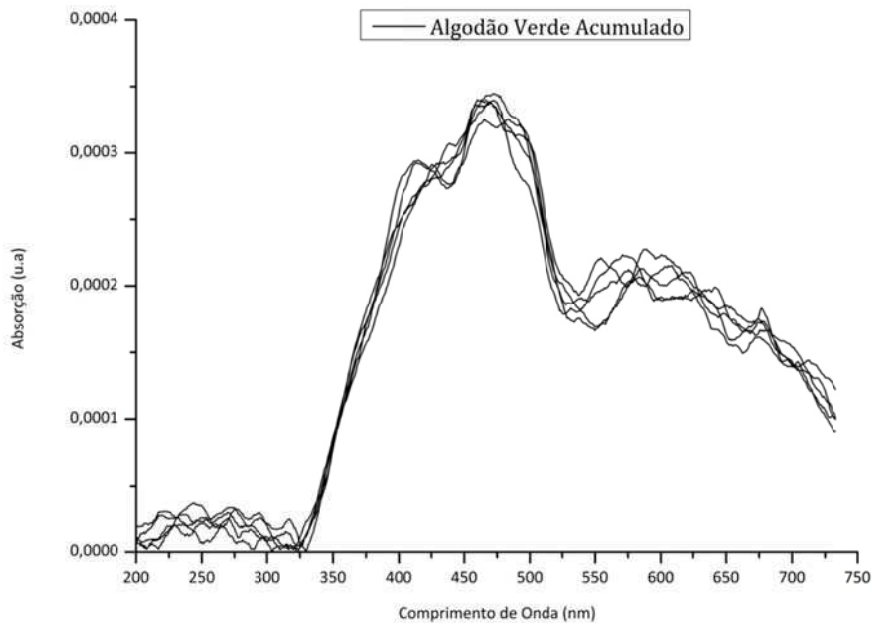


Figura 6.8 – Espectros PAS acumulados do algodão verde.

6.5 Normalização dos espectros

Como já dito anteriormente, a lâmpada de xenônio emite luz branca com intensidade variável em função do comprimento de onda. Assim faz-se necessário a normalização dos espectros fotoacústicos das amostras de algodão para eliminar os efeitos da lâmpada. Para obter o espectro de emissão da lâmpada foi utilizado um disco de corpo negro (negro fumo), pois o espectro de absorção de um corpo negro quase perfeito reproduz o espectro de emissão da lâmpada.

O sinal efetivo detectado é dado por:

$$S_{ef} = S_A \cdot S_L \quad (6.1)$$

onde S_A e S_L são os sinais da amostra e da lâmpada, respectivamente. Deste modo, ao normalizarmos, obtemos o espectro puro da amostra:

$$S_A = \frac{S_{ef}}{S_L} \quad (6.2)$$

Capítulo 7 – Resultados Experimentais e Discussões

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos mediante utilização da técnica de espectroscopia fotoacústica, nas diversas amostras de algodão. Com base nestes resultados um conjunto de moléculas do grupo flavonóide será proposto, cujas intensidades relativas serão responsáveis pela cor em cada espécie do algodão naturalmente colorido.

São feitos ajustes, através de curvas que perfazem os decaimentos das intensidades das bandas de absorção dos espectros fotoacústicos. Por fim apresentam-se os dados obtidos por colorimetria que mede a cor refletida por uma substância (amostras de algodão), indicando qualitativamente que as bandas de absorção obtidas nos espectros PAS dos algodões estão coerentes com as cores dos algodões naturalmente coloridos.

7.1 Espectroscopia fotoacústica

Os espectros fotoacústicos das **figuras 7.1 a 7.5** foram obtidos seguindo método já descrito no capítulo 6.

No espectro do grupo 1 (algodão branco) analisou-se uma única amostra de algodão, no intervalo UV – Visível do espectro eletromagnético. Na região UV, os picos, com comprimentos de onda máximos $\lambda_{máx}$ exibem intensidades bem maiores de que na região visível (**figura 7.1**). O espectro do algodão branco foi tratado de duas maneiras por um programa específico.

No primeiro método de análise, é realizada a identificação dos comprimentos de onda máximos das bandas de absorção moleculares do espectro PAS (**figura 7.1**). Por exemplo: na molécula, *morina*, são previstos três picos por UV – Visível convencional (**tabela 2.3**). Nos espectros PAS foram identificados apenas dois, um com $\lambda_{máx} \cong 273,45nm$, na região UV e outro com $\lambda_{máx} \cong 398,33nm$, na região Visível. O pico previsto para $\lambda_{máxUV} \cong 302nm$, não foi observado no espectro PAS, pois foi mascarado pela banda centrada em $\lambda_{máx} \cong 296,41nm$, associado a outra molécula.

No segundo método de análise, é realizado um ajuste por uma exponencial para o espectro fotoacústico (**figura 7.6**), na região visível. Desse modo, não são utilizados os valores de comprimentos de onda máximos das bandas de absorção moleculares. Ao invés disso, utiliza-se os valores de comprimentos de onda médios para as faixas de cores da região visível de acordo com a **tabela 2.3**.

Para os grupos 2 (algodão marrom) e 3 (algodão verde), (**figuras 7.2 - 7.5**), procedeu-se de maneira idêntica, mas com algumas modificações. Foram analisadas cinco amostras para cada grupo, devido aos algodões naturalmente coloridos exibirem tonalidades ligeiramente diferentes dentro de seu grupo. Por exemplo, no grupo 3, para os algodões verdes, tem-se de verde-claro ao verde-escuro (**tabela 6.1**).

Os espectros PAS dos grupos 2 e 3 (marrom e verde) possuem picos mais intensos na região visível que na região UV. Isso indica que, embora o conjunto de moléculas flavonóides presente em todas as espécies seja praticamente o mesmo, as contribuições para cada cor são diferenciadas, pois se espera a dependência de cor com as intensidades relativas das bandas de absorção de cada conjunto de moléculas. Então as contribuições para a cor são diferenciadas em intensidade, do algodão branco para as demais cores.

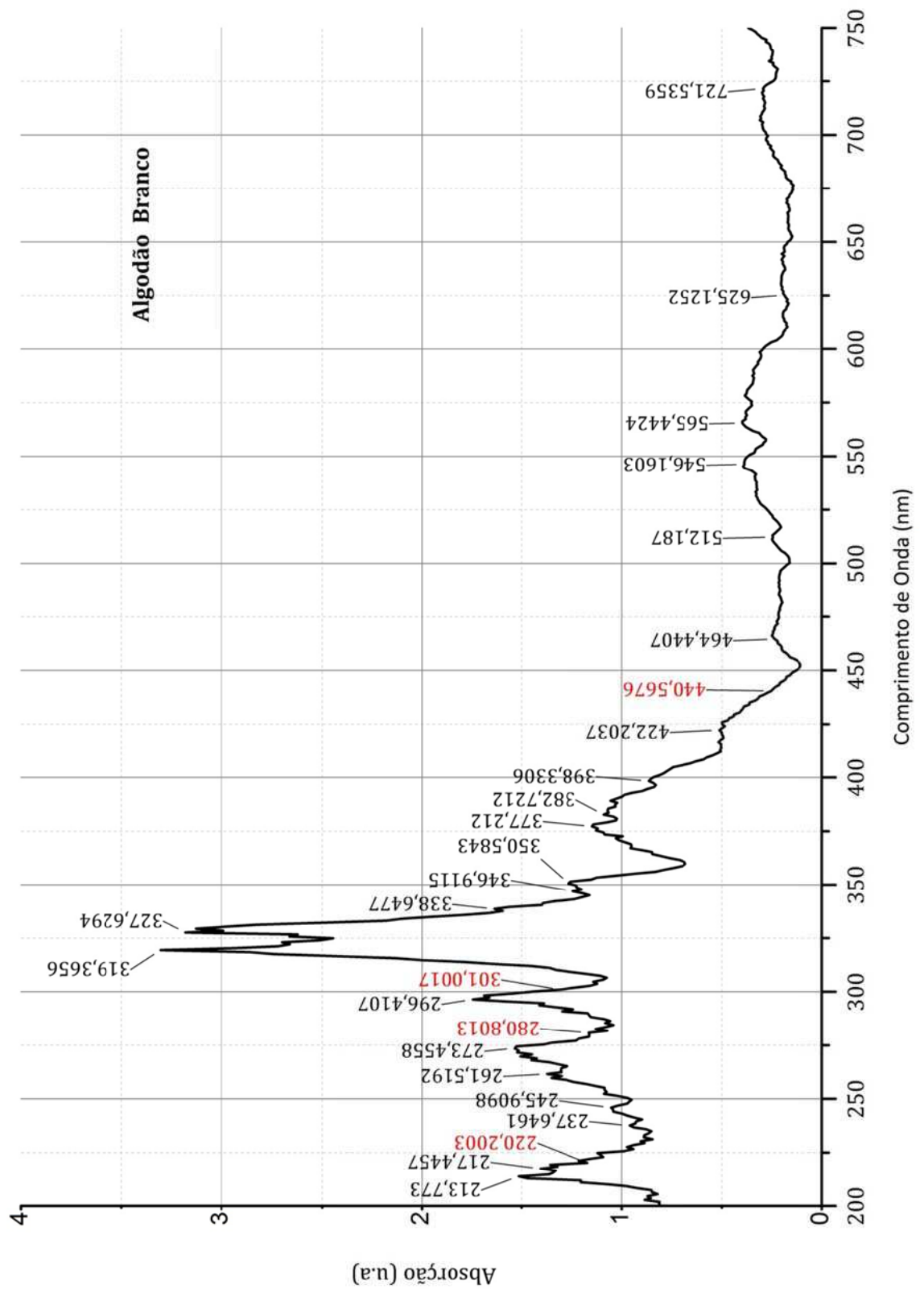


Figura 7.1 – Espectro Fotoacústico do grupo 1 na região UV – Visível com os principais $\lambda_{máx}$.

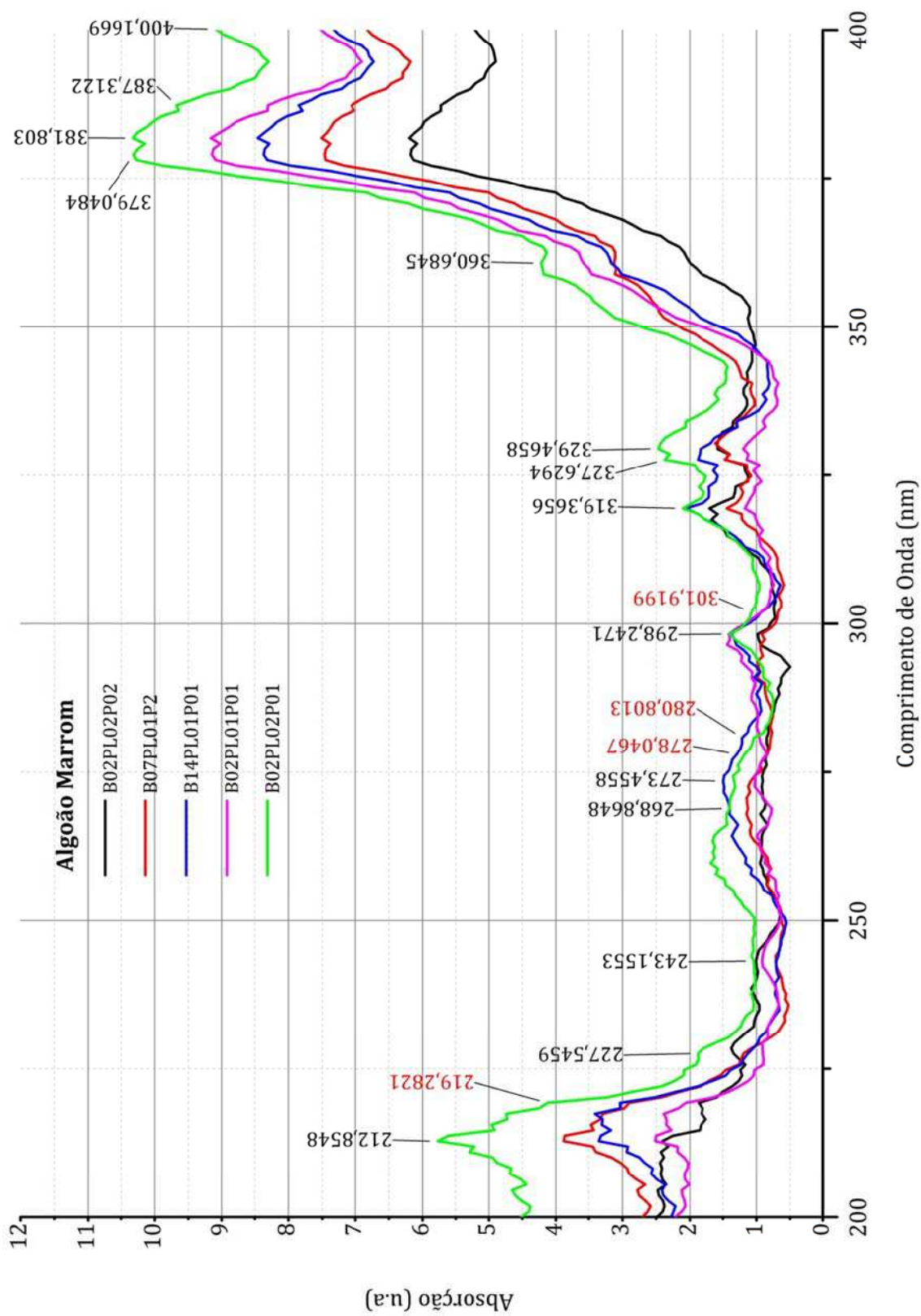


Figura 7.2 – Espectros Fotoacústicos grupo 2 na região UV com os principais $\lambda_{m\acute{a}x}$.

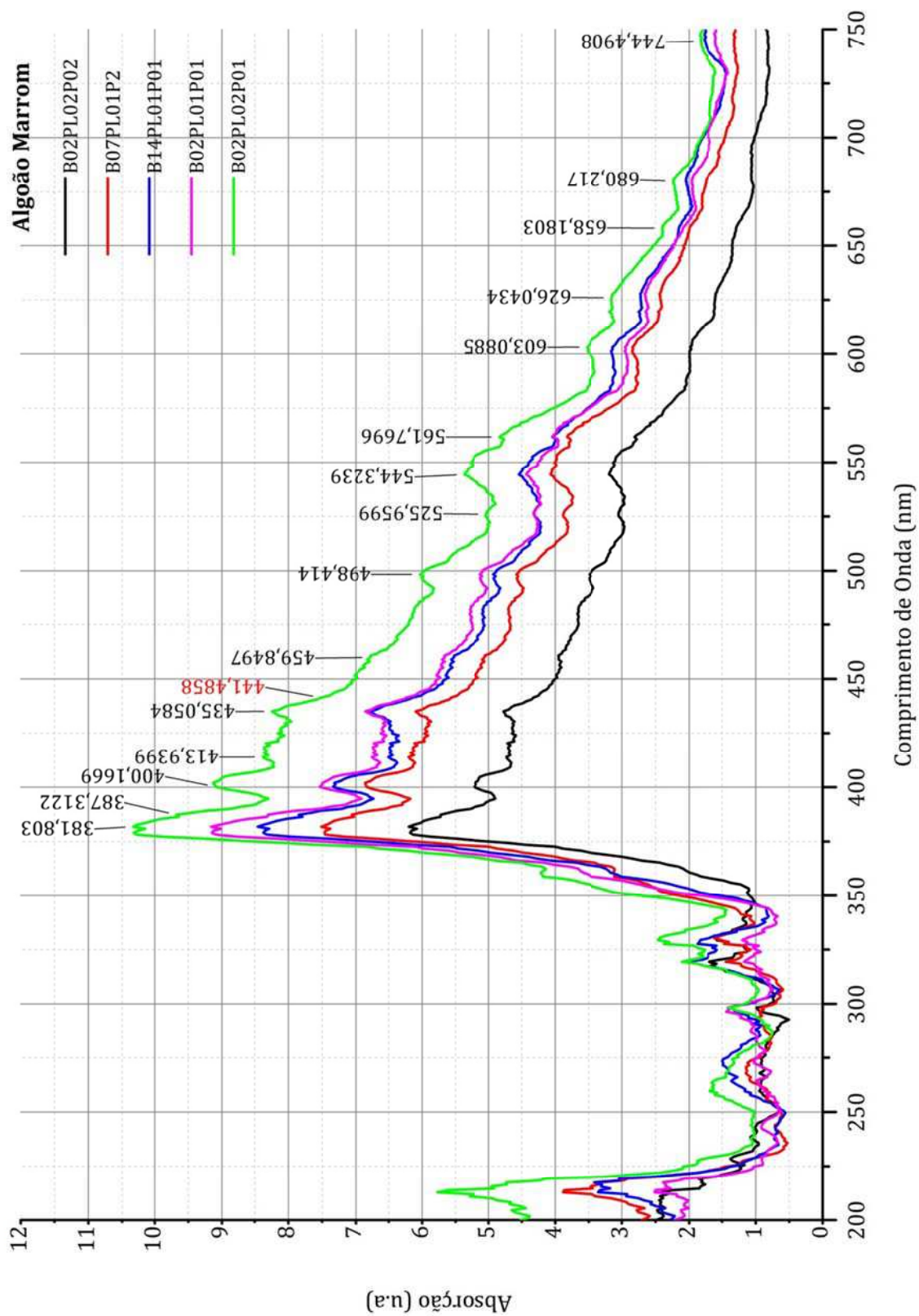


Figura 7.3 – Espectros Fotoacústicos grupo 2 na região UV - Visível com os principais $\lambda_{m\acute{a}x}$.

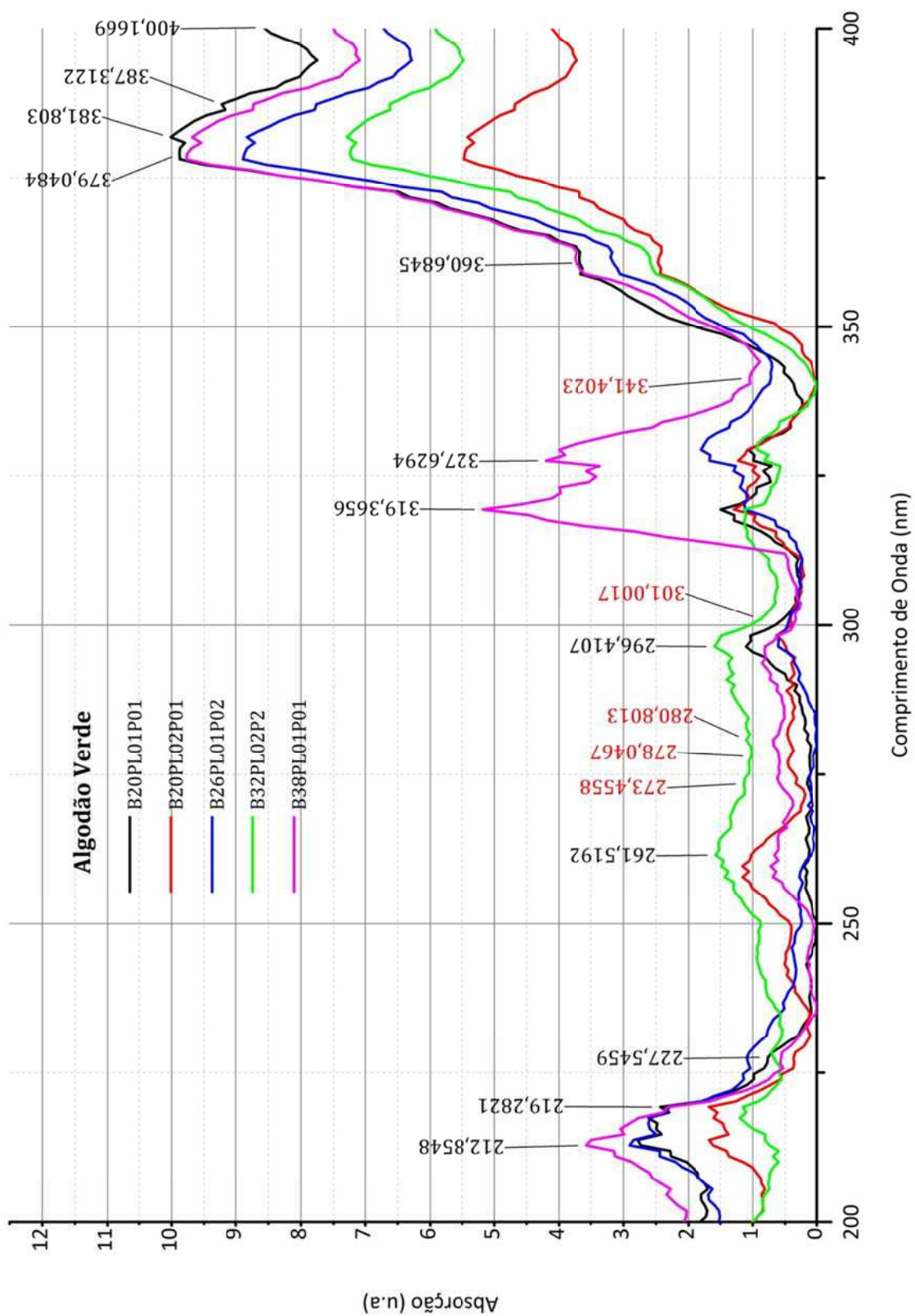


Figura 7.4 – Espectros Fotoacústicos grupo 3 na região UV com os principais $\lambda_{m\acute{a}x}$.

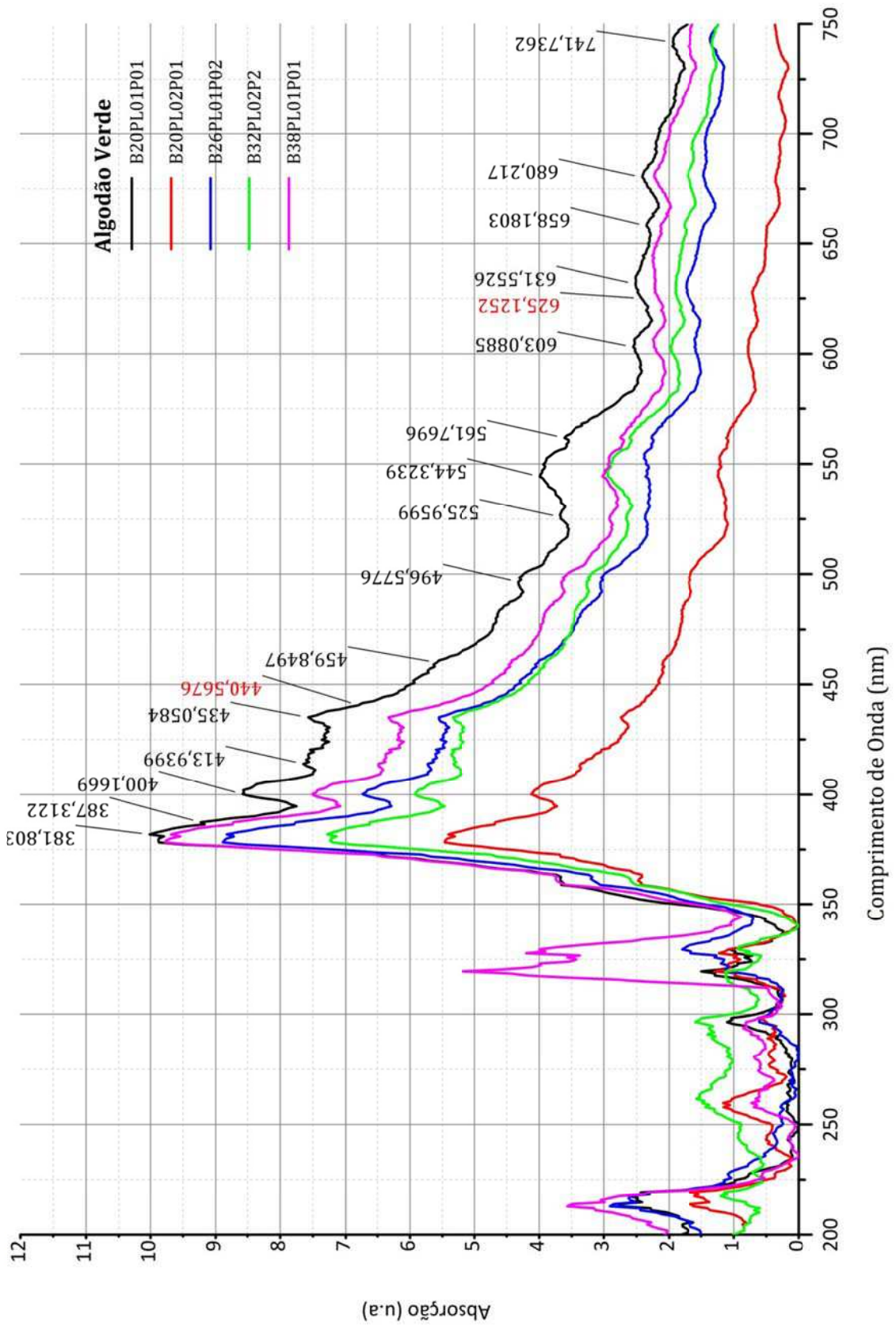


Figura 7.5 – Espectros Fotoacústicos grupo 3 na região UV - Visível com os principais $\lambda_{máx}$.

As diversas moléculas de flavonóides (e não flavonóides) que compõem o conjunto presente em cada espécie de algodão foram identificadas comparando seus respectivos valores de $\lambda_{máx}$ com os correspondentes valores encontrados na literatura para cada molécula, obtidos pela técnica convencional de espectroscopia UV-visível (**tabela 2.3**), ou seja, a Espectroscopia UV – Visível por transmissão. Os resultados se encontram resumidos na **Tabela 7.1**.

É importante notar diversos aspectos experimentais encontrados neste trabalho que sugerem uma explicação, ainda não apresentada na literatura, para a origem das cores em algodão naturalmente colorido. Dentre esses aspectos destacam-se os seguintes:

- Basicamente o mesmo conjunto de moléculas se encontra presente, tanto no algodão branco como nos dois tipos de algodão naturalmente colorido, o marrom e o verde. Já foi dito que as intensidades relativas dos picos de absorção no algodão branco são de muito baixa intensidade. Assim sendo, o algodão branco é muito pouco absorptivo, conseqüentemente, mais refletivo, resultando na “cor branca”. Nossa proposta, então, é que: embora as biomoléculas de flavonóides estejam presentes também no algodão branco, as intensidades dos picos de absorção são tão baixas que fogem à capacidade sensorial do olho humano, conseqüentemente, a cor aparente é branca.
- Já nas espécies de algodão marrom os picos de absorção na região visível (**figura 7.3 e 7.5**) são de muito mais alta intensidade relativa, quando comparado aos picos do algodão branco, mesmo as moléculas (pigmentos flavonóides) sendo basicamente as mesmas em ambas as cores.

Tabela 7.1 – Identificação dos comprimentos de onda $\lambda_{m\acute{a}x}$ e respectivas moléculas para as diversas amostras de algodão.

Moléculas Previstas	Padrão UV – Visível $\lambda_{m\acute{a}x}$ (nm)	Algodão Branco PAS $\lambda_{m\acute{a}x}$ (nm)	Algodões Marrons PAS $\lambda_{m\acute{a}x}$ (nm)	Algodões Verdes PAS $\lambda_{m\acute{a}x}$ (nm)
Morina	273(*)	273,45	273,46	273,46
	302/310			
	400	398,33	400,17	400,17
Gossipetina	262	261,52	261,52	261,52
	278(*)			
	341	338,65		
	380/386	382,72	381,80	381,80
Proantocianidina (Tanino Condensado)	280(*)(**)		280,80*	280,80
	464	464,44	459,85	459,85
	546	546,16	544,32	544,32
Resorcinol	220(**)	220,20	219,28	219,28
	270/280(*)(**)	273,48	273,46	273,46
Catequina	441			
	625(**)	625,13	626,04	626,04
Pirocatecol	220(**)	220,20	219,28	219,28
	280(*)(**)	280,80		
Ácido Clorogênico	240			
	298	296,41	298,25	296,62
	326	327,41	327,63	327,63
vinylpyranoMv -3-glic - floroglucinol	300			
	565	565,44	561,77	561,77

(*) Devido à grande quantidade de moléculas e algumas com estruturas semelhantes (**tabela 2.3**) as bandas de absorção de algumas delas aparecem superpostas, não obstante a alta resolução do Espectrômetro Fotoacústico. É o caso, por exemplo, da *Catequina* e da *Morina* com comprimentos de onda máximo $\lambda_{m\acute{a}x} = 280nm$, e $\lambda_{m\acute{a}x} = 273nm$ respectivamente.

(**) Devido às estruturas moleculares alguns picos são coincidentes, isto nos leva concluir que essas moléculas estão contribuindo para a intensidade destes picos. É o caso da *Proantocianidina* e a *Catequina* com picos em $\lambda_{m\acute{a}x} = 280nm$.

As análises das intensidades relativas das bandas de absorções dos espectros fotoacústicos das amostras de algodão (branco e colorido), como já dito anteriormente, são feitas através de funções exponenciais (**Equação 7.1**), que descrevem os decaimentos dos espectros fotoacústicos, de forma a quantificar a contribuição de cada banda para a cor no algodão.

$$y = y_0 + Ae^{bx} \quad (7.1)$$

onde: y_0 é uma constante de translação vertical, A uma constante amplitude e b é o coeficiente de inclinação da exponencial.

Os espectros fotoacústicos das amostras de algodão (**figuras 7.6 - 7.16**) foram separados em faixas de comprimentos de onda correspondentes a **tabela 3.1**. Cada faixa do espectro visível nota-se a contribuição de varias moléculas, identificadas pelos $\lambda_{máx}$ das respectivas bandas. Para cada faixa foi determinado o comprimento de onda médio $\lambda_{méd}$: 415nm; 462,5nm; 485nm; 532,5nm; 580nm; 605nm; 685nm (**tabelas 7.2 e 7.3 e figuras 7.6 - 7.16**) e identificado as intensidades respectivas, nas curvas (exponenciais) de ajuste dos espectros (**tabelas 7.2 e 7.3**).

Por exemplo: as moléculas *Morina* e *Gossypetina*, no algodão marrom - B 02PL01P01, ambas contribuem com picos intensos de absorção na faixa entre (380 - 450)nm, violeta, com comprimento médio 415nm e intensidade 6,3393u. a. Da mesma maneira, as outras bandas do espectro fotoacústico contribuem para as faixas em que estão presentes. As altas intensidades das moléculas *Morina* e *Gossypetina*, faixa violeta, sugerem que são as principais responsáveis pela cor marrom, embora as demais biomoléculas, presentes nas outras faixas, exerçam papéis decisivos na definição final da cor (**figura 7.7**).

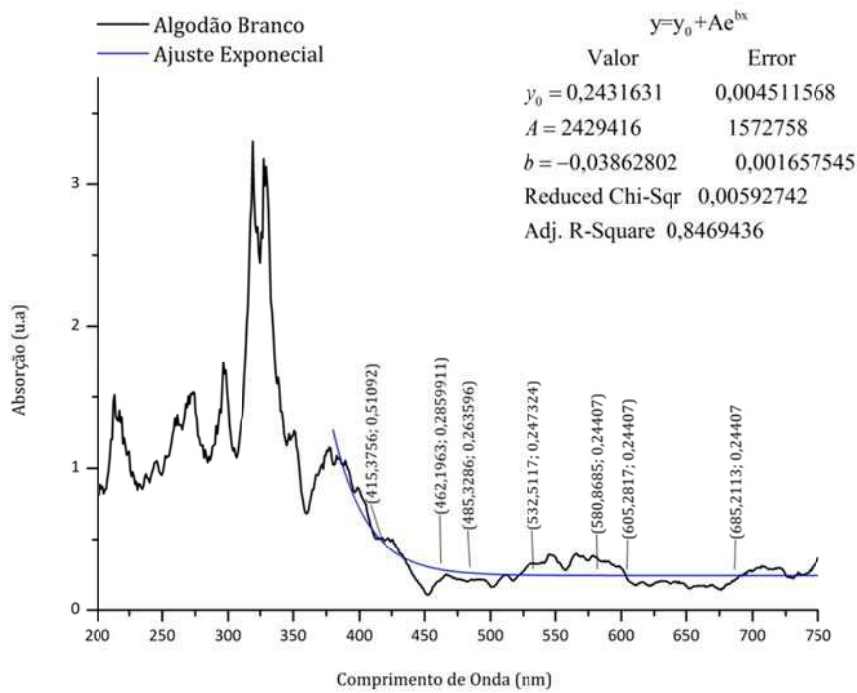


Figura 7.6 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão branco.

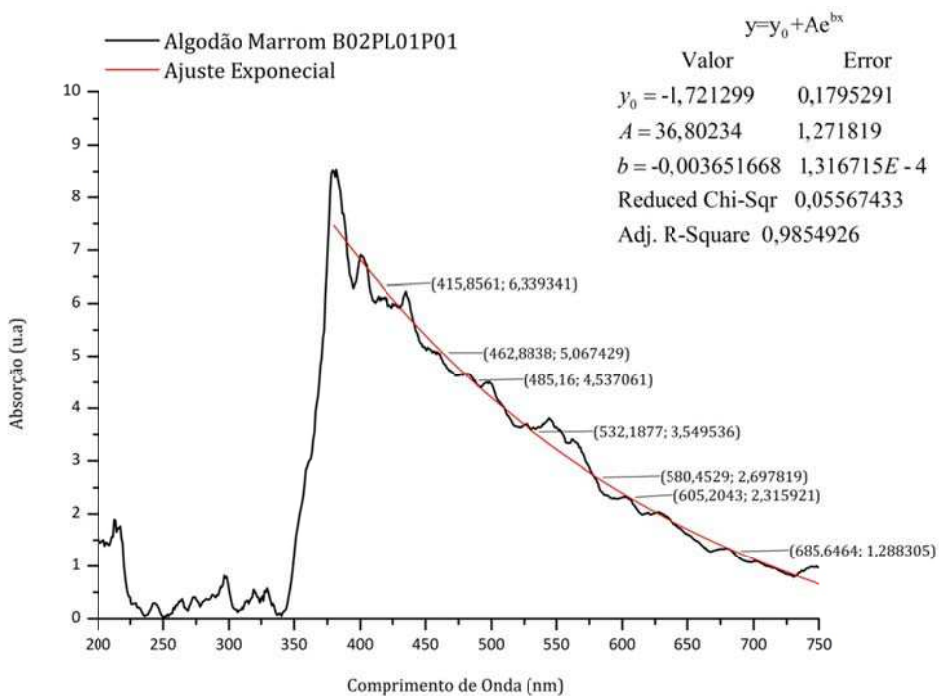


Figura 7.7– Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão marrom - B02PL01P01.

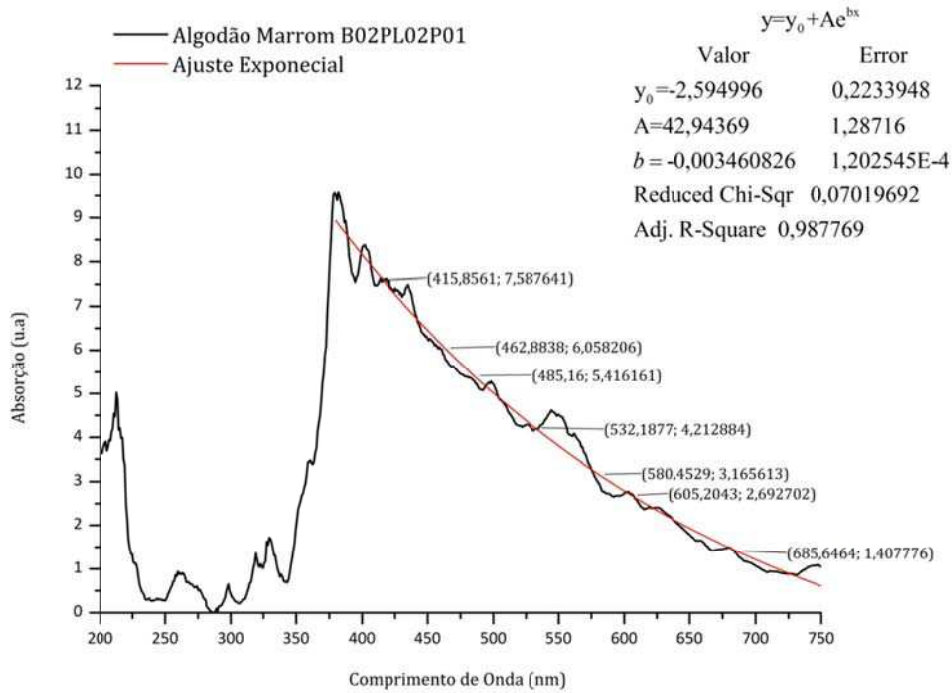


Figura 7.8 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão marrom - B02PL02P01.

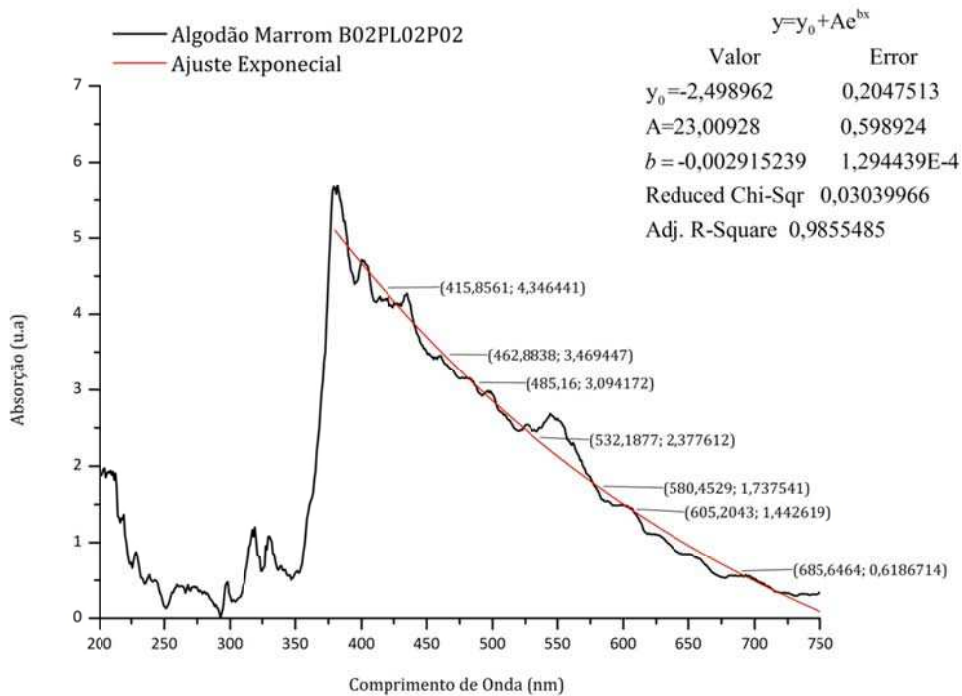


Figura 7.9 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão marrom - B02PL02P02.

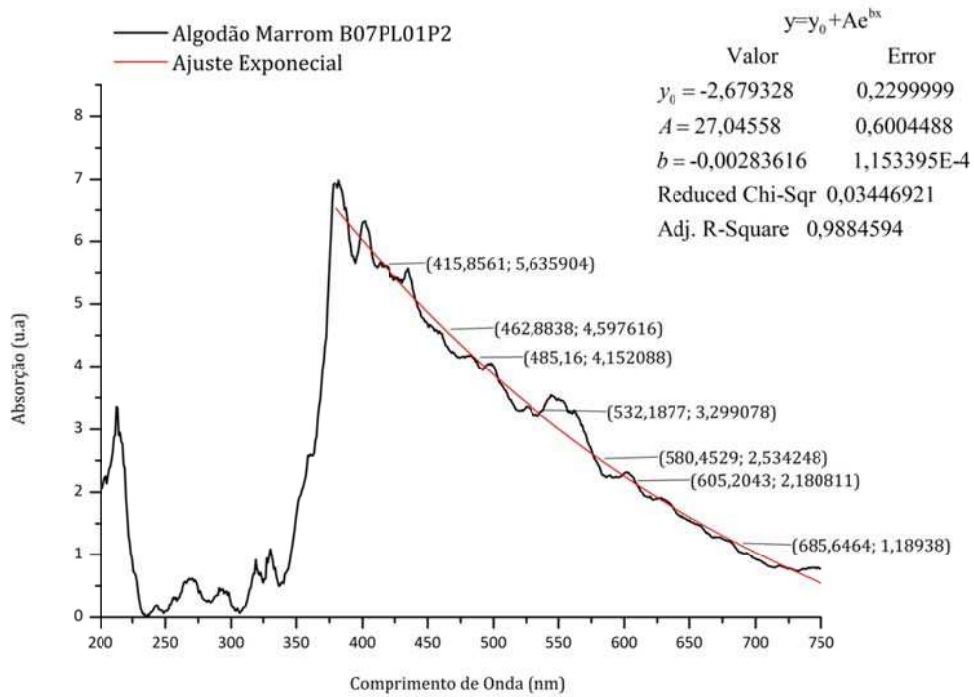


Figura 7.10 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão marrom - B07PL01P2.

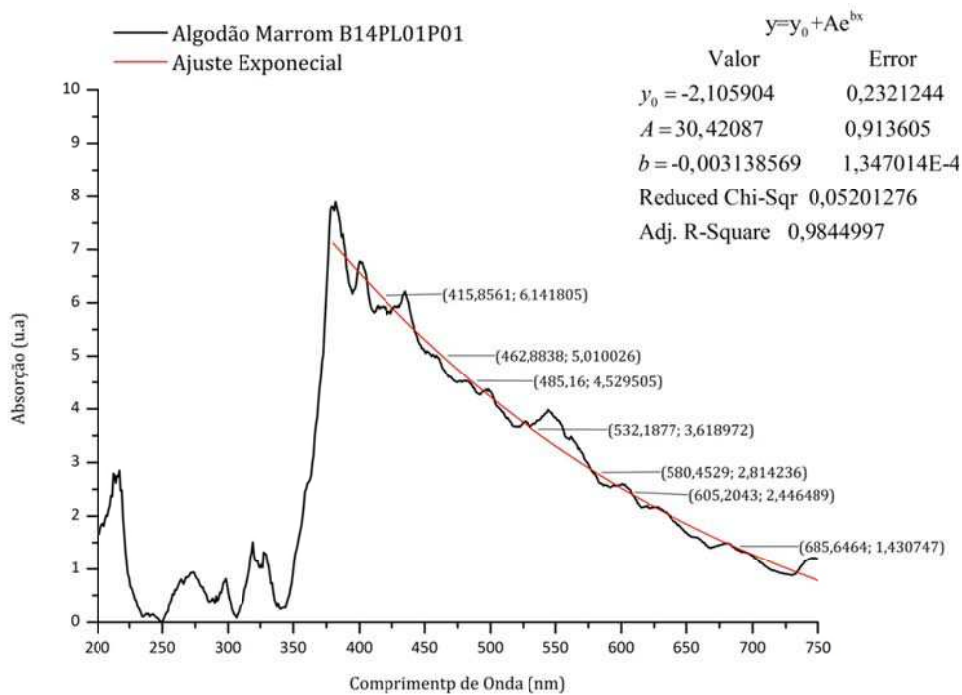


Figura 7.11 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão marrom - B14PL01P01.

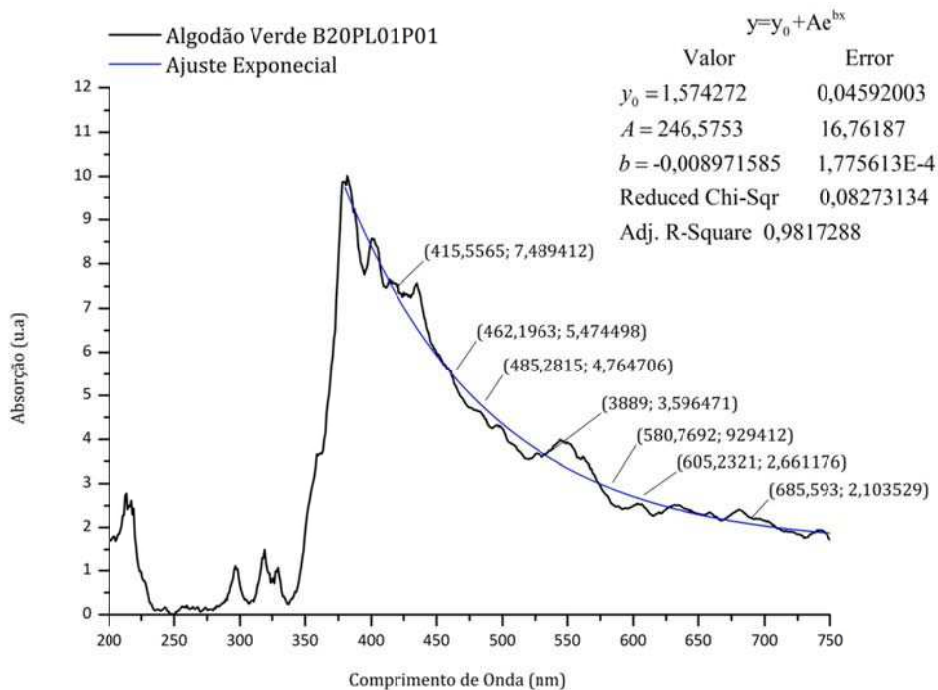


Figura 7.12 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão verde - B20PL01P01.

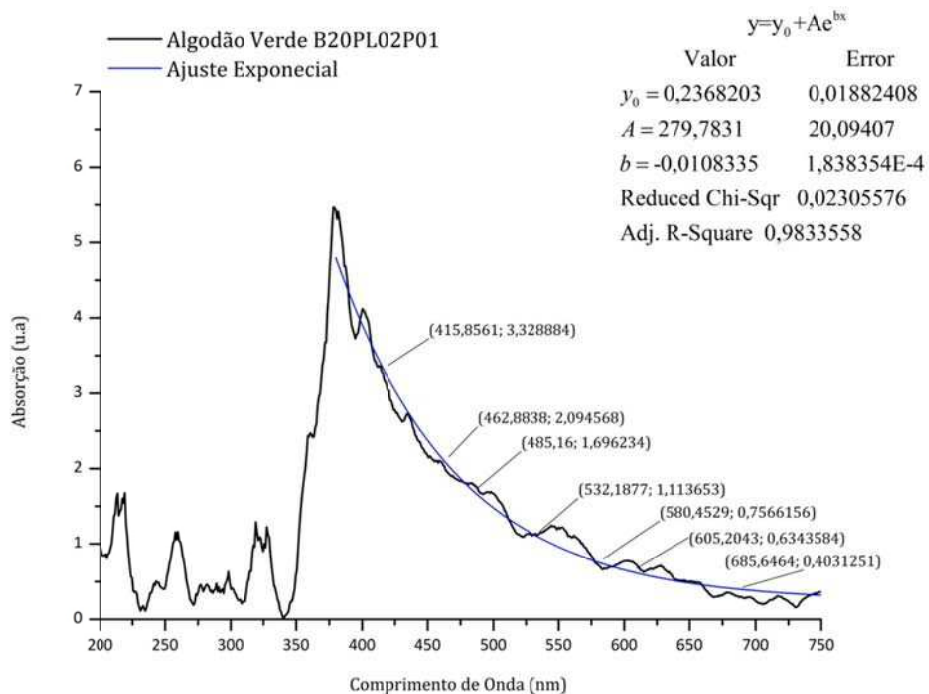


Figura 7.13 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão verde - B20PL02P01.

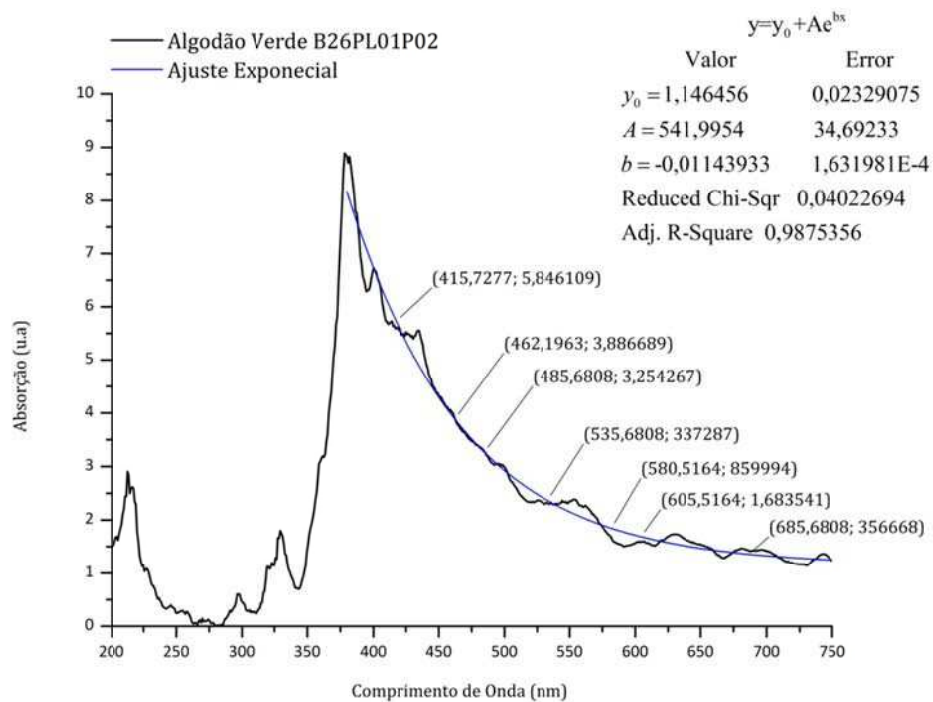


Figura 7.14 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão verde - B26PL01P02.

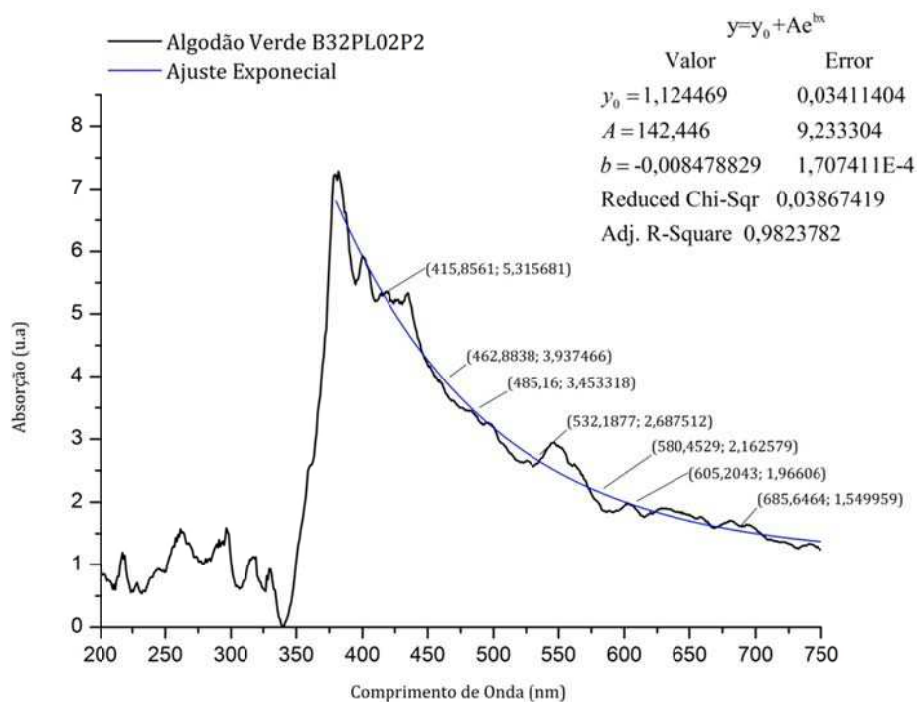


Figura 7.15 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão verde - B32PL02P2.

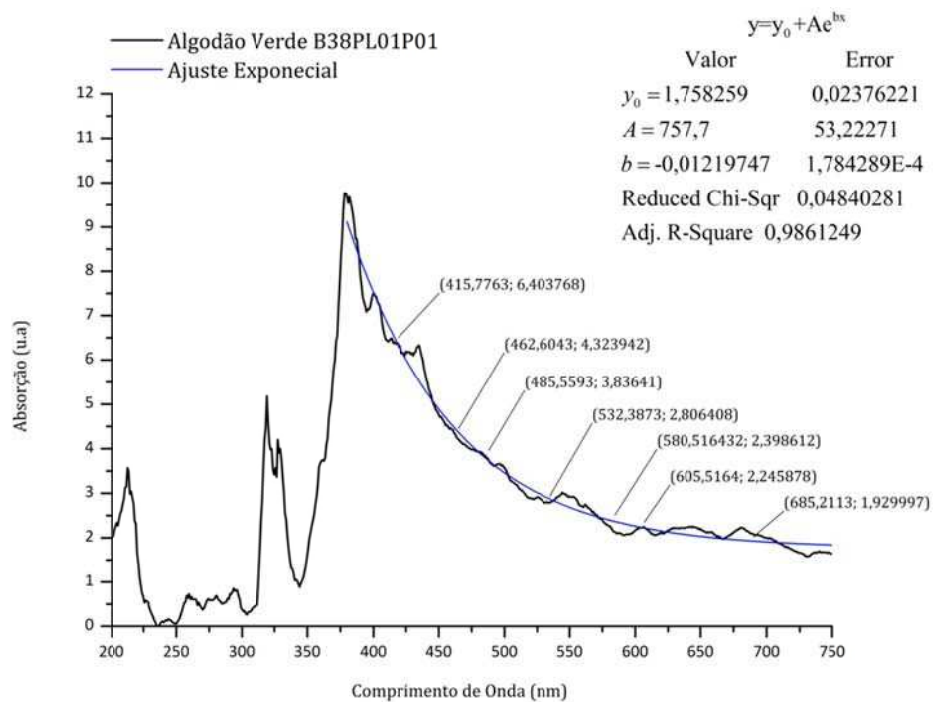


Figura 7.16 – Ajuste do Espectro Fotoacústico com a função exponencial (equação 7.1) do algodão verde - B38PL01P01.

Tabela 7.2 – Valores relativos de intensidades para o grupo 2 (algodão marrom)

Comprimento de Onda Médio das Bandas (nm)	B02PL01P00		B02PL02P00		B02PL02P01		B07PL01P1		B14PL01P00	
	Intensidade	Intensidade relativa	Intensidade	Intensidade relativa	Intensidade	Intensidade relativa	Intensidade	Intensidade relativa	Intensidade	Intensidade relativa
415	6,3393	1,0000	7,5876	1,0000	4,3464	1,0000	5,6359	1,0000	6,1418	1,0000
462,5	5,0674	0,7994	6,0582	0,7984	3,4694	0,7982	4,5976	0,8158	5,0100	0,8157
485	4,5371	0,7157	5,4162	0,7138	3,0942	0,7119	4,1521	0,7367	4,5295	0,7375
532,5	3,5495	0,5599	4,2129	0,5552	2,3776	0,5470	3,2991	0,5854	3,6190	0,5892
580	2,6978	0,4256	3,1656	0,4172	1,7375	0,3998	2,5342	0,4497	2,8142	0,4582
605	2,3159	0,3653	2,6927	0,3549	1,4426	0,3319	2,1808	0,3869	2,4465	0,3983
685	1,2883	0,2032	1,4078	0,1855	0,6187	0,1423	1,1894	0,2110	1,4307	0,2330

Tabela 7.3 – Valores relativos de intensidades para o grupo 3 (algodão verde)

Comprimento de Onda Médio das Bandas (nm)	B20PL01P01		B20PL02P01		B26PL01P02		B32PL02P2		B38PL01P01	
	Intensidade	Intensidade relativa	Intensidade	Intensidade relativa	Intensidade	Intensidade relativa	Intensidade	Intensidade relativa	Intensidade	Intensidade relativa
415	7,4894	1,0000	3,3288	1,0000	5,8461	1,0000	5,3157	1,0000	6,4038	1,0000
462,5	5,4745	0,7310	2,0946	0,6292	3,8867	0,6648	3,9375	0,7407	4,3239	0,6752
485	4,7647	0,6362	1,6962	0,5096	3,2543	0,5567	3,4533	0,6496	3,8364	0,5991
532,5	3,5965	0,4802	1,1137	0,3345	2,3373	0,3998	2,6875	0,5056	2,8064	0,4382
580	2,9294	0,3911	0,7566	0,2273	1,8600	0,3182	2,1626	0,4068	2,3986	0,3746
605	2,6612	0,3553	0,6344	0,1906	1,6835	0,2880	1,9661	0,3699	2,2459	0,3507
685	2,1035	0,2809	0,4031	0,1211	1,3567	0,2321	1,5500	0,2916	1,9300	0,3014

O parâmetro b , obtido dos ajustes exponenciais, fornece informações que ajudam na caracterização das diversas cores do algodão. No grupo 2 (algodão marrom), os coeficientes de inclinação, b , das exponenciais estão entre $(-0,0037 < b < -0,0027)$ para as espécies investigadas, enquanto para grupo 3 (algodão verde) estes coeficientes se encontram no intervalo $(-0,013 < b < -0,008)$. Como pode ser visto, são coeficientes de inclinação distintos num intervalo bem definido, para cada grupo de algodão. Isto mostra quanto as bandas de absorção decaem em cada algodão, assim sendo, um parâmetro que possibilita determinar quanto as moléculas dentro das faixas, dos espectros PAS, contribuem para cor.

Para o algodão do grupo 1 (um), branco, o coeficiente de inclinação foi de aproximadamente de $b = -0,038$ o que mostra um decaimento mais acentuado. Foi observado que a exponencial fica constante a partir de 450nm , o que mostra uma contribuição em média uniforme das moléculas com comprimentos de onda entre 450nm e 750nm .

Usando a intensidade normalizada em 100% para faixa violeta (415nm), no grupo 2 (**tabela 7.2**) tem-se que as intensidades relativas das demais faixa são: ($\sim 79 - 81$)% $462,5\text{nm}$ – azul; ($\sim 71 - 74$)% 485nm – ciano; ($\sim 54 - 59$)% $532,5\text{nm}$ – verde; ($\sim 40 - 45$)% 580nm – amarelo; ($\sim 33 - 40$)% 605nm – laranja; ($\sim 18 - 23$)% 685nm – vermelho. Os intervalos das intensidades relativas estão bem definidos,

caracterizando a contribuição de cada faixa visível do espectro eletromagnético para cor, as quais estão diretamente relacionadas com as intensidades de absorção das moléculas nas transições eletrônicas. E que de acordo com a teoria das cores vista no capítulo 2, sobre cores absorvidas e observadas, representada na **tabela 3.1** e ilustrado no disco de cores da **figura 3.3** mostram que as absorções com comprimentos de onda mais baixo, reproduzem cor com comprimento de onda mais alto que é o caso da cor marrom.

As diferentes tonalidades que caracterizam as espécies do grupo 2, podem então ser entendidas em termos das pequenas variações nas intensidade relativas das bandas de absorção.

Analisando de modo similar o grupo 3 (**tabela 7.3**), as intensidades relativas das faixas são: ($\sim 63 - 74$)% $462,5nm$ - azul; ($\sim 50 - 64$)% $485nm$ - ciano; ($\sim 33 - 50$)% $532,5nm$ - verde; ($\sim 22 - 40$)% $580nm$ - amarelo; ($\sim 19 - 37$)% $605nm$ - laranja e ($\sim 12 - 30$)% $685nm$ - vermelho. As variações das intensidades relativas das faixas não foram tão bem definidas como nos ajustes para as amostras de algodão marrom (**tabela 7.4**), isto se deve à tonalidade das amostras do algodão verde que é bem mais acentuada que aquela das amostras de algodão marrom (**tabela 7.2**). Alguns fatores como solo e clima tem grande influência nesta cor.

Tabela 7.4 – Valor absoluto da variação das intensidades relativas

Grupo	$\lambda_{méd} (nm)$						
	415	462,5	485	532,5	580	605	685
1	1	3	4	5	5	7	5
2	1	11	14	17	18	16	18

Exemplificando as análises, para um algodão ter marrom o coeficiente de inclinação deverá está compreendido entre ($-0,0037 < b < -0,0027$), para ter cor verde ($-0,013 < b < -0,008$) e branco $b \cong -0,038$

Pode-se classificar a cor dos algodões, como visto, por coeficientes de inclinação das exponenciais. Para obtermos outras cores, as bandas de absorções das moléculas do algodão naturalmente colorido devem mudar de tal modo que gerem

contribuições diferentes nas regiões das faixas de comprimentos de onda, para espectroscopia fotoacústica.

Simulando um algodão com a cor azul, de acordo com as teorias das cores, o hipotético algodão deveria absorver num comprimento de onda máximo na faixa da região visível do espectro eletromagnético vermelho – laranja (590-620). Assim a exponencial que descreveria o espectro fotoacústico teria coeficiente de inclinação positivo, mostrando o decaimento das contribuições das bandas de absorções moleculares do espectro fotoacústico (**figura 7.17**).

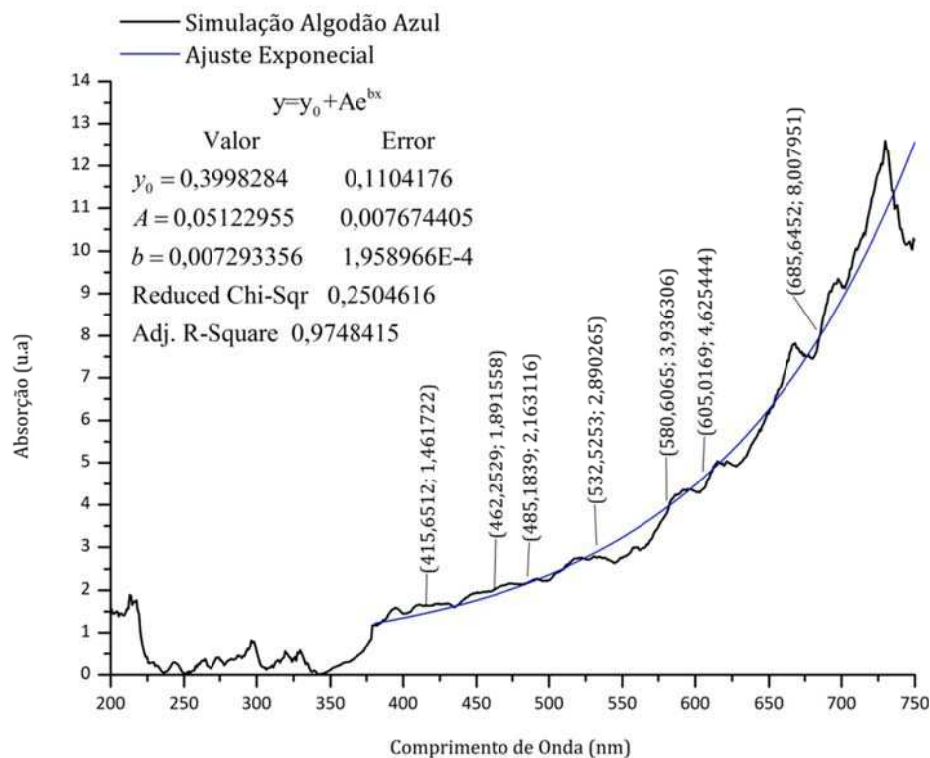


Figura 7.17 – Simulação provável de como seria o espectro fotoacústico de uma algodão azul, com as mesmas moléculas presentes nas amostras de algodão analisadas.

O modelo hipotético acima é apenas uma das configurações possíveis para obtenção do algodão de cor naturalmente azul, a partir das mesmas moléculas (flavonóides) presentes nas amostras de algodão analisadas (marrom, verde e branco). Como é uma simulação, com base em propriedades físicas do espectro fotoacústico obtido para um algodão com cor azul, isso não implica que essa

configuração seja na prática possível, pois existem fatores químicos e biológicos que talvez não permitam o desenvolvimento do mesmo conjunto de moléculas num algodão de cor pretensamente azul, da forma hipotética aqui posta.

7.2 Colorimetria

Fez-se avaliações instrumentais das cores dos algodões naturalmente coloridos utilizando-se também um colorímetro da marca Minolta, modelo CR-300. Para esta técnica os valores para os parâmetros, mostraram-se, compatíveis como as medidas feitas nas amostras de algodão por Espectroscopia fotoacústica.

Os valores médios para o algodão branco por refletância (**tabela 7.4**) são: $L^* = 88,36$, $a^* = 0,30$ e $b^* = 5,89$, que pela teoria CEILAB corresponde a uma tendência para o branco, vermelho e amarelo respectivamente. Essas tendências mostram que o vermelho e amarelo transmitidos pela amostra de algodão branco, leva a observam-se uma cor laranja muito fraca, correspondendo à absorção na região violeta - azul com baixa intensidade do espectro fotoacústico para as amostras de algodão branco. Porém, a maior contribuição para cor é a luminosidade (L^*) (**figura 7.18**), que justifica a cor branca do algodão do grupo 1, implicando numa pouca absorção de luz, confirmando os dados obtidos por espectroscopia fotoacústica (**figura 7.6**).

Tabela 7.5 – Valores CIELAB para Algodão Branco

Parâmetros	Número de medidas				Valor médio
	1	2	3	4	
L*	90,32	88,87	86,96	87,30	88,36
a*	0,23	0,33	0,37	0,26	0,30
b*	6,16	5,85	5,68	5,87	5,89

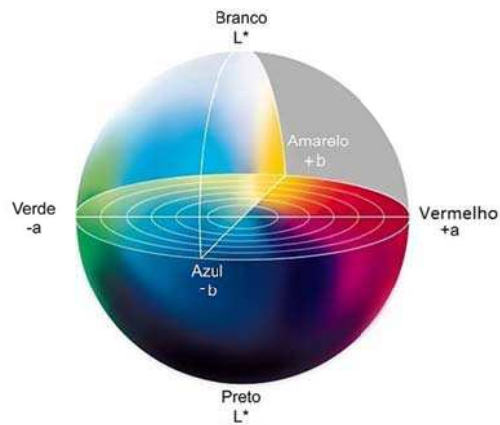


Figura 7.18 – Sistema CEILAB.

Usando estes valores num programa gráfico obtemos a imagem (figura 7.18) que corresponde a uma cor branca, como era de se esperar.

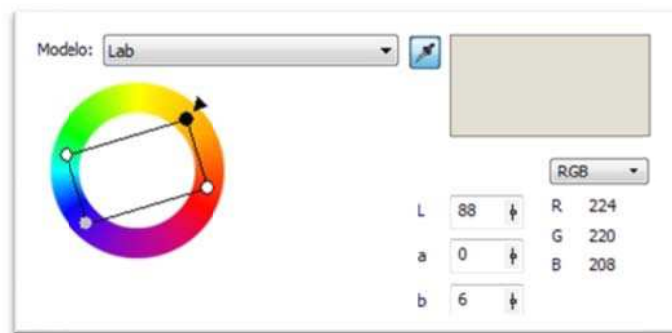


Figura 7.19 – Imagem dos valores Lab para o algodão branco.

Os valores médios para a amostra de algodão marrom obtido por refletância (tabela 7.6) são: $L^* = 50,26$, $a^* = 13,10$ e $b^* = 33,12$. Exibindo que a luminosidade L^* está aproximadamente no centro do eixo, onde temos as cores mais “vivas”. Os valores de refletâncias a^* e b^* , como se pode ver na figura 7.20, refletem a cor marrom da amostra do algodão de grupo 2, cuja a contribuição do parâmetro b^* é cerca de 60% (vermelho) a mais que parâmetro a^* .

Tabela 7.6 – Valores CIELAB para Algodão Marrom – B07PL01P1

Parâmetros	Número de medidas				Valor médio
	1	2	3	4	
L^*	50,68	48,87	49,97	51,51	50,26
a^*	13,46	12,38	14,02	12,54	13,10
b^*	33,35	31,60	33,21	34,33	33,12



Figura 7.20 – Imagem dos valores Lab para o algodão marrom B07PL01P1.

Os valores médios para a amostra de algodão marrom obtido por refletância (**tabela 7.7**) são: $L^* = 50,26$, $a^* = 13,10$ e $b^* = 33,12$. Exibindo que a luminosidade L^* está aproximadamente no centro do eixo, onde temos as cores mais “vivas”. Os valores de refletâncias a^* e b^* , como se pode ver na **figura 7.21**, refletem a cor verde da amostra do algodão de grupo 3, cuja contribuição do parâmetro b^* é cerca de 94% (cor vermelha) a mais que parâmetro a^* (cor amarela).

Tabela 7.7 – Valores CIELAB para Algodão Verde B26PL01P02

Parâmetros	Número de medidas				Valor médio
	1	2	3	4	
L^*	57,85	52,65	52,83	51,22	53,64
a^*	0,86	1,70	1,56	1,75	1,47
b^*	25,76	24,77	24,96	24,06	24,89

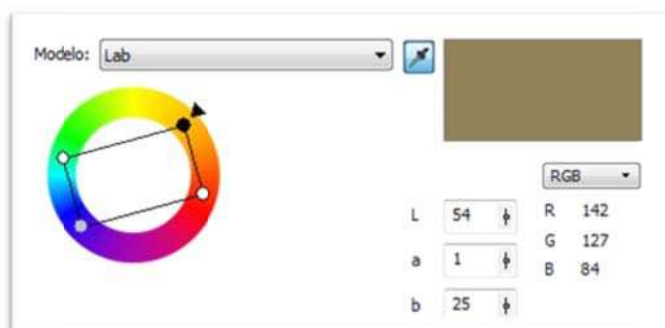


Figura 7.21 – Imagem dos valores Lab para o algodão verde B26PL01P02.

Os valores para L^* , a^* e b^* para as amostras de algodão marrom e verde mostram de acordo com o sistema CEILAB (**figura 7.18**), que os valores de refletância

estão de acordo os espectros de absorção PAS. Porém, não é possível relacionar estes valores com as moléculas presentes no algodão, já que a colorimetria não é uma espectroscopia de varredura em comprimento de onda, ou em qualquer outro parâmetro que possibilite obter dados de transições de orbitais moleculares.

Capítulo 8 – Conclusões e Perspectivas

Neste trabalho, a técnica de Espectroscopia Fotoacústica foi utilizada para investigação da possível origem das cores em espécies de algodão naturalmente colorido. A técnica se mostrou muito útil e versátil na identificação de biomoléculas flavonóides, cujos espectros fotoacústicos, principalmente na faixa visível do espectro eletromagnético, mostraram que não só uma, mas um conjunto de moléculas da família flavonóide é responsável pelas cores do algodão.

O trabalho em tela fortemente sugere que o grupo de moléculas flavonóides observado é formado basicamente pelas espécies seguintes: *Gossypetina*, *Morina*, *Proantocianidina* (Tanino condensado), *Catequina* e *VinylpyranoMv-3-gluc-floroglucinol*, presentes em maior ou menor intensidade relativa em todas as espécies observadas, branco, marrom e verde. A novidade verificada neste trabalho foi que, ao contrário do esperado, biomoléculas flavonóides estão também presentes no algodão branco, porém em intensidade substancialmente menor do que nas espécies naturalmente coloridas.

Análise detalhada do conjunto de moléculas, bem como de suas intensidades, relativas levaram à conclusão de que, nenhum tipo de molécula, isolada, pode, por si só, responder por nenhuma cor natural do algodão. As concentrações relativas das biomoléculas no conjunto são as verdadeiras responsáveis por cada cor verificada, inclusive a cor branca.

Análise auxiliar usando a técnica de colorimetria confirmou as cores marrom e verde, são atribuídas ao conjunto de moléculas flavonóides observado por Espectroscopia Fotoacústica.

Performando o ajuste com utilização de curva exponencial adequada, foi possível quantificar a contribuição molecular para as cores do algodão naturalmente colorido, em cada caso, utilizando-se do parâmetro de inclinação b das exponenciais que ajustam os espectros fotoacústicos com um fator que determina as possíveis cores.

Partindo-se do conjunto de moléculas flavonóides observado neste trabalho, foi feita uma simulação de como seria o perfil de um hipotético Espectro Fotoacústico para uma espécie de algodão naturalmente azul. Os resultados estão exibidos na **figura 7.7** e evidenciam a possibilidade de se obter cores naturais variadas de algodão dependendo, em primeiro lugar, do conjunto de biomoléculas em cada espécie e, em segundo lugar, das intensidades relativas das bandas de absorção correspondentes ao conjunto de biomoléculas observadas na faixa visível do espectro eletromagnético (pigmentos).

Por fim, até onde nos é dado conhecer, pela primeira vez a técnica de Espectroscopia Fotoacústica foi utilizada na investigação de variedades de algodão, fornecendo dados importantes que evidenciam fortemente a presença de um conjunto específico de biomoléculas da família flavonóide, com espectros em toda a faixa visível, portanto, pigmentos responsáveis pela variedade (ainda limitada) de cores em algodão naturalmente colorido.

Referências Bibliográficas

- [1] VREELAND JUNIOR, James. Naturally colored and organically grown cottons: anthropological and historical perspectives. In: Beltwide Cotton Conferences, 1993. p.1533-1536.
- [2] CHAUDRY, M. R. Status of organic cotton production. In: International Workshop on Cotton Production Prospects for the next Decade. Ismailia, Egypt, Nov. 1994. p6.
- [3] XIAO, Yue-hua; LUO, Ming; ZHANG, Zheng-sheng; YIN, Meng-hui; DONG, Jing.: Transcriptional Analysis of the Relationship of Proanthocyanidins Biosynthesis to the Brown Pigmentation in Cotton Fiber. 2008
- [4] XIAO, Yue-hua; ZHANG, Zheng-sheng; YIN, Meng-hui; LUO, Ming; LI, Xian-Bi; LEI, Hou; PEI, Yan.: Cotton flavonoid structural genes related to the pigmentation in brown fibers. 2007
- [5] WAKELYN, Phillip J.; BERTONIERE, Noelie R.; FRENCH, Alfred D.; THIBODEAUX, Devron P.; TRIPLETT, Barbara A.; ROUSSELLE, Marie-Alice; GOYNES, Wilton R.; EDWARDS J. V.; HUNTER, Lawrance, MCALISTER David D.; GAMBLE, Gary R.; Cotton Fiber Chemistry and Technology. Taylor & Francis Inc, 2006.
- [6] GORDON, S. e HSIEH, Y. L. Cotton: Science and technology: S. Gordon and Y-L. Hsieh. Hardcover, CRC Press, 2007
- [7] TOPALOVIC, T., Catalytic bleaching of cotton: Molecular and macroscopic aspects, ISBN 90-365-2454-7, Thesis University of Twente, the Netherlands, 2007
- [8] American Chemical Society, <http://www.cas.org/>
- [9] PubChem, lançado em 2004, <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
- [10] European Bioinformatics Institute (EBI), <https://www.ebi.ac.uk/>
- [11] The Changing Face of ChemSpider, <http://www.chemspider.com>
- [12] KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, <http://www.kegg.jp/>
- [13] ANGHINONI, Marcos. Harmonia das Cores. Blog Sellerink.com.br. <http://sellerink.com.br/blog/tag/harmonia-das-cores/>, Set. 2010.
- [14] GUIMARÃES, Luciano. A cor como informação: a construção biofísica, lingüística e cultural da simbologia das cores. 3. ed. São Paulo: Annablume, p. 54 (2004)
- [15] TORNQUIST, Jorrit. Color y luz: teoria y práctica. Barcelona: Gustavo Gili, (p. 17 e 66) 2008.
- [16] LEÃO, Alexandre C. Gerenciamento de cores para imagens digitais. 2005. 135 f. (p.44-45) Dissertação (Mestrado em Artes Visuais) - Curso de Mestrado em Artes Visuais, Escola de Belas Artes, Belo Horizonte.

- [17] BELL, A. G. American. Journal of Science., 120 (305) 1880
- [18] RAYLEIGH, L., Nature, London, 23 (274) 1881.
- [19] MERCADIER, M. E. e Hebd, C. R. Serv. Acad. Sci., 92 (409) 1881
- [20] PREECE, W. H.; Proc.R. Soc. London, 31 (506) 1881.
- [21] PARKER, J. G. Appl. Optics., 12 (2974) 1973
- [22] ROSENCWAIG, A. Photoacoustics Spectroscopy, A new tool for investigation of solids, Analytical Chemistry. 47 (6), 592-595, (1975).
- [23] ROSENCWAIG, A. e GERSHO, A. Theory of Photoacoustic Effect with Solids, J. App. Phys., 47 (1), 64-69 (1976). ROSENCWAIG, A. Photoacoustics and Photoacoustic Spectroscopy, John Wiley & Sons, New York, NY, USA, 1980
- [24] MCDONALD, F. A.; WETSEL Jr., G. C. Generalized Theory of The Photoacoustic Effect., J. Appl. Phys., v.49(4), p. 2313, 1978.
- [25] ROUSSET, G.; LEPOUTRE, F.; BERTRAND, L.. Influence of thermoelastic bending on photoacoustic experiments related to measurements of thermal diffusivity of etals. J. Appl. Phys, v.54, p. 2383-2391, 1983
- [26] BULTS, G.; HORWITZ, B. A.; MALKIN S.; CAHEN, D.. Photo-Acoustic Measurements of Photosynthetic Activities in Whole Leaves-Photochemistry and Gas-Exchange. Biochem. Biophys. Acta 679 452 (1982).
- [27] POULET P., CAHEN D. and MALKIN S. (1983) Photoacoustic detection of photosynthetic oxygen evolution from leaves. Quantitative - Analysis by Phase and Amplitude Measurements" Biochem. Biophys. Acta 724 433 (1983).