

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Campus Sorocaba

Mateus Silva Laranjeira

**USO DA LÍNGUA ELETRÔNICA NA AVALIAÇÃO DE
SOLUÇÕES ULTRADILUÍDAS**

Sorocaba
2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Campus Sorocaba

Mateus Silva Laranjeira

**USO DA LÍNGUA ELETRÔNICA NA AVALIAÇÃO DE
SOLUÇÕES ULTRADILUÍDAS**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de São Carlos – campus Sorocaba, Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais, para obtenção do título de mestre em Ciência dos Materiais.

Orientação: Prof. Dr. Antonio Riul Júnior

Sorocaba
2011

Laranjeira, Mateus Silva
Uso da língua eletrônica na avaliação de soluções ultradiluídas / Mateus
L318u Silva Laranjeira. -- Sorocaba, 2011.
78 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, *Campus*
Sorocaba, 2011.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Riul Jr.

Banca examinadora: Prof. Dr. Paulo Barbeitas Miranda, Prof. Dr.

Leonardo Paterno

Bibliografia

1. Filmes ultrafinos. 2. Materiais nanoestruturados. 3. Polímeros
condutores. I. Título. II. Sorocaba-Universidade Federal de São Carlos.

CDD 620.11



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CAMPUS DE SOROCABA**

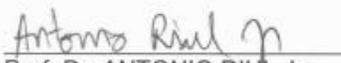
Rodovia João Leme dos Santos, km 110
Bairro Itinga
Telefone: (15) 3229-6000
CEP 18052-780 - Sorocaba - São Paulo - Brasil
<http://www.ppgcm.ufscar.br/> : ppgcm@ufscar.br



Pós-Graduação UFSCar
multiplicando conhecimentos

**ATA GERAL DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE MATEUS
SILVA LARANJEIRA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIA DOS MATERIAIS, CURSO DE MESTRADO, DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE SÃO CARLOS – CAMPUS SOROCABA.**

Aos vinte três dias do mês de abril de 2011, às 14:30h na Sala de Reuniões do Prédio da Gestão Administrativa (GAD) da Universidade Federal de São Carlos, *campus* Sorocaba, reuni-se a comissão Examinadora composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. Antonio Riul Jr, da Universidade Federal de São Carlos/*campus* Sorocaba, Prof. Dr. Paulo Barbeitas Miranda, da Universidade de São Paulo - USP/*campus* São Carlos, Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno, da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo - PUC/*campus* São Paulo, sob a presidência do primeiro, para a Defesa de Dissertação do discente **MATEUS SILVA LARANJEIRA**, intitulada: "**Uso da língua eletrônica no estudo de soluções ultra-diluídas**", de acordo com o regulamento do Programa, tendo o(a) candidato(a) recebido o conceito final: APROVADO. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.


Prof. Dr. ANTONIO RIUL Jr


Prof. Dr. PAULO BARBEITAS MIRANDA


Prof. Dr. LEONARDO GIORDANO PATERNO

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, pelo apoio e exemplo de vida.

À Julia, por toda a ajuda e compreensão nos momentos difíceis.

Ao meu orientador, Totó por todo o aprendizado, confiança, ajuda e amizade.

Aos meus amigos da UFSCar, Cléber, Ane, Laís, Celina, Paulo, Aline, Rafael, Vitor, Juliana e Marco.

Aos meus irmãos, pela compreensão e toda confiança depositada em mim.

À Professora e amiga Marystela, da UFSCar de Sorocaba, pela valiosa ajuda na qualificação e por ceder o espectrofotômetro UV/vis.

À CAPES pela bolsa de mestrado, UFSCar pela estrutura e a todos os professores do programa de pós graduação da UFSCar.

Resumo

Neste trabalho utilizamos uma “*língua eletrônica*”, constituída por filmes ultrafinos de diferentes materiais depositados sobre eletrodos interdigitados de ouro. De acordo com as medidas de impedância realizadas foi verificado se este tipo de dispositivo apresenta sensibilidade para diferenciar sistemas líquidos altamente diluídos. As soluções ultradiluídas e dinamizadas utilizadas neste trabalho foram preparadas nos laboratórios da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (USP) pela Profa. Dra. Marilisa Guimarães Lara. A aquisição dos dados experimentais foi realizada por meio de medidas elétricas em testes cegos envolvendo amostras com o mesmo insumo ativo (beladona) em diferentes níveis de concentração molar. Realizamos uma comparação entre medidas convencionais obtidas em 1 kHz e valores associados à $\tan \delta$, sendo que, em alguns casos, os resultados de $\tan \delta$ favoreceram a correlação de amostras através da técnica de Análise de Componentes Principais, através da qual foi possível diferenciarmos as soluções ultradiluídas, com boa correlação estatística dos sistemas analisados. Adicionalmente, foi realizada uma investigação de impedância *in-situ* durante o crescimento dos filmes automontados utilizados como unidades sensoriais, com o objetivo de melhor compreender o processo de fabricação desses filmes sobre os eletrodos interdigitados.

Abstract

In this work it was used an electronic tongue constituted by ultrathin films of distinct materials deposited on gold interdigitated electrodes. According to the impedance measurements taken, it was tested if the device is able to differentiate highly diluted liquid systems. Solutions highly diluted and dynamically prepared were made at the laboratories of Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (USP) by Profa. Dra Marilisa Guimarães Lara. Experimental data acquisition was conducted by blind tests measurements involving samples with the same active principle (belladonna) at distinct molar concentrations. We have made a comparison between conventional measurements taken at 1 kHz and $\tan \delta$ values in addition to, in some cases, the $\tan \delta$ results favour the samples correlation throughout the Principal Component Analysis technique, by which it was possible the distinction of highly diluted solutions, with a good statistical correlation of the systems analysed. Moreover, it was made an *in-situ* impedance investigation during the growth of the layer-by-layer films used as sensing units, aiming a better comprehension of the fabrication process of these films onto interdigitated electrodes.

Lista de Figuras

Figura 1 – Representação da impedância no plano complexo	17
Figura 2 – Representação esquemática da fabricação de uma bicamada.	20
Figura 3 – Fórmula estrutural do PEDOT e PSS.	26
Figura 4 – Fórmula estrutural do PEDOT:PSS ⁵⁰	27
Figura 5 – Comparação das fórmulas estruturais da quitina e quitosana	27
Figura 6 – Fórmula estrutural do PAH	29
Figura 7 – Fórmula estrutural do PSS.....	29
Figura 8 – Representação do sistema UV-vis, com grandezas da Lei de Lambert-Beer	33
Figura 9 – Representação do equipamento utilizado para a aquisição das medidas de Impedância. (1) aquisição dos dados, (2) Interface dielétrica, (3) Medidor de Impedância, (4) Sistema analisado.	34
Figura 10 – Imagem do eletrodo interdigitado sobre o qual foram depositados os filmes automontados.	35
Figura 11 – Comportamento elétrico dos eletrodos na faixa de frequência de 1 Hz – 1kHz.	35
Figura 12 – Comportamento elétrico dos eletrodos selecionados para a fabricação da “língua eletrônica”.	36
Figura 13 – Composição do dispositivo “língua eletrônica”.....	37
Figura 14 – Medidas elétricas de água ultrapura, após a fabricação das unidades sensoriais.	38
Figura 15 – (a) Absorbância vs comprimento de onda do filme de quitosana/PSS; (b) lavagem do substrato.	40
Figura 16 – Capacitância versus frequência do crescimento do filme de quitosana.	41
Figura 17 – Gráfico do crescimento e lavagem do filme de quitosana/PSS na frequência de 1kHz.....	42
Figura 18 – Curvas de capacitância obtidas em água ultrapura antes e após o processo de lavagem do filme de quitosana/PSS.	43
Figura 19 – Medidas elétricas realizadas antes a após a lavagem do filme de quitosana em água ultrapura, e em soluções de NaCl em diferentes concentrações (1 μ M, 50 mM).....	44
Figura 20 – Gráfico do crescimento do filme automontado de quitosana/PSS em solução salina, em 1kHz.	45
Figura 21 – Gráfico do crescimento em solução salina e lavagem do filme de quitosana/PSS na frequência de 1kHz.....	45

Figura 22 – Medidas elétricas realizadas antes a após a lavagem do filme de quitosana (com solução salina) em água ultrapura, e em soluções de NaCl em diferentes concentrações (1 μ M, 50 mM).....	46
Figura 23 – (a) Espectro de UV-vis do filme automontado de PAH/PEDOT; (b) Processo de lavagem do filme automontado.....	47
Figura 24 – Medidas de capacitância durante o processo de fabricação do filme de PEDOT.....	48
Figura 25 – Gráfico do crescimento e lavagem do filme de PEDOT/PAH em 1kHz.....	49
Figura 26 – Medidas realizadas durante o procedimento de lavagem do filme automontado PEDOT/PAH.	50
Figura 27 – (a) Espectro de UV-vis de um filme automontado PAH/PSS contendo 5 bicamadas depositadas; (b) Processo de lavagem do filme automontado PAH/PSS.	51
Figura 28 – Medidas elétricas realizadas a cada etapa de deposição do filme PAH/PSS.....	52
Figura 29 – Medidas realizadas antes da deposição do filme e durante o processo de lavagem.	53
Figura 30 – Gráfico do crescimento e lavagem do filme de PAH/PSS em 1kHz.....	54
Figura 31 – Gráfico PCA para as capacitâncias em 1 kHz, das soluções ultradiluídas e dinamizadas medidas durante o mês de julho.....	56
Figura 32 – Gráfico PCA de soluções ultradiluídas medidas durante o mês de Agosto, obtido de medidas de capacitâncias em 1 kHz.	57
Figura 33 – Gráfico PCA das soluções ultradiluídas e dinamizadas medidas durante os meses de Julho e Agosto, obtido de medidas de capacitâncias em 1 kHz.....	58
Figura 34 – Gráfico PCA de soluções de etanol medidas em dias distintos, e de uma amostra de água ultrapura, obtido de medidas de capacitâncias em 1 kHz.....	59
Figura 35 – Gráfico PCA para as capacitâncias em 1 kHz, realizadas em dias diferentes: (a) etanol; (b) água ultrapura.	60
Figura 36 – Medidas realizadas em 1 kHz ao longo de dois dias distintos de medidas: (a) soluções ultradiluídas medidas em 18 de agosto (b) soluções ultradiluídas medidas em 21 de agosto.....	61
Figura 37 – Gráfico PCA para as soluções distintas medidas em um mesmo dia, em termos de $\tan \delta$	62
Figura 38 – Gráfico PCA para as soluções ultradiluídas e dinamizadas a base de etanol e a base de água, medidas em um mesmo dia.	63
Figura 39 – PCA das soluções de etanol com diferentes concentrações de Beladona, em função de $\tan \delta$. ..	64

Figura 40 – PCA das soluções de etanol com diferentes concentrações de beladona.....	65
Figura 41 – PCA das soluções de etanol com diferentes concentrações de beladona dia 10 de Dezembro...	66
Figura 42 – PCA das soluções de etanol com diferentes concentrações de beladona dia 13 de Dezembro...	66

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Procedimentos adotados para a limpeza das vidrarias utilizadas durante os experimentos	32
Tabela 2 – Classificação das soluções dos gráficos PCA que utilizam esta nomenclatura.	55
Tabela 3 – Discriminação das soluções alcólicas utilizadas nos gráficos 39 e 40.	63

SUMÁRIO

1 – Introdução	13
2 – Conceitos básicos	16
2.1 - ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA.....	16
2.2 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)	18
2.3 – FILMES AUTOMONTADOS	20
2.4 – MODELO PARA A ÁGUA	21
2.5 – SOLUÇÕES ULTRADILUÍDAS E DINAMIZADAS.....	23
3 – Materiais e métodos	24
3.1 – POLÍMEROS CONDUTORES	24
3.2 – PEDOT	26
3.3 – QUITOSANA.....	27
3.4 – HIDROCLORETO DE POLI(ALILAMINA) (PAH).....	28
3.5 – POLI(ESTIRENOSULFONATO DE SÓDIO) (PSS).....	29
3.6 – BELADONA.....	29
3.7 – FABRICAÇÃO DOS FILMES AUTOMONTADOS	30
3.7.1 – Fabricação dos Filmes LbL de PAH/PEDOT.....	30
3.7.2 – Fabricação dos Filmes LbL de Quitosana/PSS.....	31
3.7.3 – Fabricação dos Filmes LbL de PAH/PSS.....	31
3.8 – LIMPEZA DO MATERIAL UTILIZADO	32
3.9 – ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO UV-VIS	33
3.10 – CARACTERIZAÇÕES ELÉTRICAS	34
3.11 – SELEÇÃO DOS ELETRODOS INTERDIGITADOS	34
3.12 – FABRICAÇÃO DA LÍNGUA ELETRÔNICA.....	36
3.13 – PREPARO DAS SOLUÇÕES ULTRADILUÍDAS E DINAMIZADAS	38
3.14 – ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS E AQUISIÇÃO DE DADOS.....	38
4 – Resultados e discussões.....	39

4.1 – FILMES LBL DE QUITOSANA/PSS	39
4.2 – FILMES LBL DE QUITOSANA/PSS EM SOLUÇÃO DE NaCl	44
4.3 – FILMES LBL DE PAH/PEDOT	47
4.4 – FILMES LBL DE PAH/PSS	50
4.7 – MEDIDAS COM SOLUÇÕES ULTRADILUÍDAS E DINAMIZADAS.....	55
4.7.1 – PCA das soluções com diferentes concentrações em diferentes dias	55
4.7.2 – PCA da mesma solução em diferentes dias	59
4.7.3 – PCA de soluções diferentes em um mesmo dia	61
5 – Algumas considerações	67
6 – Conclusão	68
7 – Sugestões para trabalhos futuros	69
8 – Resultados decorrentes desta dissertação.....	70
Anexo A: Determinação da tangente de perda através de um circuito RC paralelo	71
REFERÊNCIAS	74

1 – Introdução

Neste trabalho, avaliamos a sensibilidade de uma “*língua eletrônica*” baseada em filmes ultrafinos de diferentes materiais e medidas de impedância elétrica, na diferenciação de soluções ultradiluídas. Ressaltamos que o objetivo principal é a distinção dessas ultradiluições através de uma investigação criteriosa, de forma a contribuir para uma melhor compreensão da natureza das ultradiluições, sem nos atermos à controvérsia envolvida com este assunto¹.

Em contato com bebidas ou alimentos a língua humana possibilita a identificação de diferentes sabores através de estímulos nervosos enviados ao cérebro. O mecanismo exato de transdução continua desconhecido, mas sabe-se que os impulsos elétricos captados nas papilas gustativas, gerados sem que ocorra uma interação específica entre as papilas e o analito (seletividade global), são transformados no cérebro em padrões específicos que identificam os diferentes paladares². Portanto, a “*língua eletrônica*”, assim como a língua humana, não identifica individualmente a composição química de uma amostra, pois a importância da análise fica restrita na capacidade de processar grandes quantidades de informações em padrões específicos de reconhecimento. No nosso caso, o papel realizado pelas papilas é feito por um conjunto de sensores não específicos, que fornecerá um padrão global de resposta que será usado na avaliação de uma amostra³.

A partir da combinação de respostas individuais de cada unidade sensorial (não seletivas às substâncias químicas envolvidas no sistema medido) compondo a “*língua eletrônica*”, é possível obter uma “*impressão digital*” das amostras analisadas³. Diferentes setores como indústrias farmacêuticas, análise de combustíveis, alimentos e bebidas podem se beneficiar desta tecnologia, tendo como destaque a indústria alimentícia na diferenciação e controle de qualidade para cafés, chás, água e outras bebidas⁴.

Toko et al foram um dos primeiros neste tipo de aplicação sensorial, com a utilização de membranas lipídicas dispersas em uma matriz de PVC como unidades sensoriais, através de medidas potenciométricas³. Nas medidas potenciométricas são utilizados um eletrodo de referência e outro de trabalho. Um potencial constante e conhecido é aplicado ao eletrodo de referência, enquanto o eletrodo de trabalho é um eletrodo sensível à espécie iônica de interesse⁵.

Recentemente, medidas potenciométricas foram utilizadas para detecção de ânions cloreto, sulfato e bicarbonato em diferentes águas minerais⁶, além da identificação de diferentes tipos de cervejas (Lager, Pilsen) de acordo com características de paladar como amargo, doce, caramelado, frutado, etc⁷. Podemos destacar também trabalhos realizados por Beullens et al em uma “*língua eletrônica*” usando um sistema potenciométrico para a detecção de diferentes concentrações de açúcares, ácidos e minerais encontrados em diferentes espécies de tomates⁸.

Outro grupo de pesquisa de destaque tem sido o de Winquist et al, que utilizam diferentes metais nobres como unidades sensoriais em medidas de voltametria cíclica pulsada⁹. Assim como nas medidas potenciométricas, a voltametria cíclica utiliza três terminais, sendo que um determinado potencial de referência é mantido durante toda a medida sob o eletrodo de referência, aplicando uma tensão pulsada entre o eletrodo auxiliar e o eletrodo de trabalho⁵. A aplicação de pulsos de tensão é repetida de forma que a amplitude dos pulsos decresça até atingir uma tensão negativa no eletrodo de trabalho, com uma amplitude igual ao valor máximo. Adicionalmente, o que diferencia a técnica de voltametria cíclica da potenciométrica é a corrente elétrica não nula. Este tipo de “*língua eletrônica*” tem sido aplicada em estudos realizados sobre aminoácidos triptofano, cisteína e tirosina, a partir de medições diretas destes em amostras de alimentos para animais¹⁰. Também tem sido utilizada para discriminar diferentes vinhos tintos envelhecidos em tanques de aço em contato com pedaços de carvalho¹¹, além do controle das

espécies químicas utilizadas na preparação do papel¹², bem como no acompanhamento do processo de fermentação durante a fabricação de iogurte¹³.

No Brasil, tem predominado um sistema de “*língua eletrônica*” baseado em filmes ultrafinos e espectroscopia de impedância elétrica^{14,15,16}. Consiste basicamente em unidades sensoriais formadas através da deposição de filmes ultrafinos de diversos materiais sobre eletrodos interdigitados de ouro⁴. As unidades sensoriais são imersas em um líquido e mede-se a impedância elétrica, verificando a diferença de resposta elétrica de cada uma aos diversos tipos de líquidos analisados. A diferença de resposta elétrica entre as unidades sensoriais forma uma “impressão digital” que permite identificar o tipo da substância analisada^{17,18}.

A “*língua eletrônica*” brasileira apresenta vantagens em relação às demais citadas anteriormente, como na detecção de materiais que não formam eletrólitos em baixas concentrações molares (açúcar, por exemplo), problemático em medidas potenciométricas que trabalham em função da presença de carga líquida em membranas depositadas sobre os eletrodos¹⁸. Dispensa também o uso do eletrodo de referência, que é outro problema encontrado para a miniaturização de sistemas eletroquímicos em geral. De acordo com Riul Jr. et al⁴ este dispositivo possui a capacidade de reconhecer padrões de paladares em concentrações abaixo do limite de percepção humano, e substâncias com paladares semelhantes, tais como KCl e NaCl, em uma mesma concentração molar, assim como diferenciar tipos de vinhos, café, água e outras bebidas comerciais^{14,18,19}.

Neste trabalho, verificamos se a “*língua eletrônica*” baseada em filmes ultrafinos e medidas de impedância elétrica tem sensibilidade para diferenciação de soluções em baixas concentrações molares. Utilizamos como ferramenta estatística o método de Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*), e com base nas

características das informações extraídas dos sistemas medidos obtivemos um método de avaliação relativamente rápido na correlação das amostras.

2 – Conceitos básicos

2.1 - Espectroscopia de Impedância

A espectroscopia de impedância tem sido amplamente utilizada na investigação das propriedades elétricas dos materiais principalmente pelo fato de ser uma técnica de caracterização não destrutiva²⁰. É possível investigar fenômenos como relaxação dielétrica e a difusão de portadores de carga ocorrendo em sistemas líquido e sólidos, mas para isso precisamos perturbar o sistema aplicando uma diferença de potencial alternada de amplitude conhecida (ordem de milivolts no nosso caso), em uma ampla faixa de frequências (geralmente de μHz a MHz).

Em alguma região da amostra podemos aplicar uma diferença de potencial $V = V_m \cos(\omega t)$, que por sua vez estará associada à uma corrente originada da forma $I = I_m \cos(\omega t + \theta)$, na qual, $\omega = 2\pi\nu$ é a frequência angular e, “ ν ” a frequência do sinal aplicado e θ a diferença de fase entre a tensão e a corrente elétrica medidas. A impedância do sistema é definida como a capacidade de um sistema apresentar uma determinada oposição à passagem de corrente elétrica, sendo expressa por:

$$Z = \frac{V}{I} \tag{1}$$

Desta forma, podemos determinar seu valor através da equação

$$Z = \frac{V_m \cos(\omega t)}{I_m \cos(\omega t + \theta)} = Z_m \frac{\cos(\omega t)}{\cos(\omega t + \theta)} \quad (2)$$

sendo Z_m a amplitude da impedância.

Muitas vezes, torna-se mais adequado expressá-la como uma função complexa, definida como:

$$Z^*(\omega) = Z' - jZ'' \quad (3)$$

sendo $j \equiv \sqrt{-1}$ o operador imaginário. A representação da impedância no plano complexo (Figura 3) permite a observação de uma defasagem ($\theta \neq 0$) entre o sinal de estímulo e a resposta obtida do sistema. Adotaremos a notação Z' (efeitos resistivos) e Z'' (efeitos reativos) para as partes real e imaginária de Z , respectivamente.

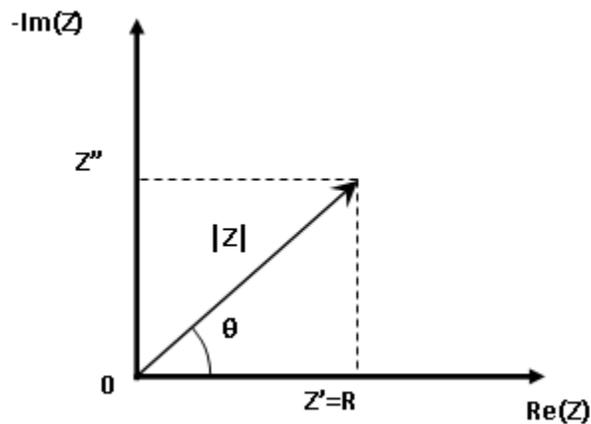


Figura 1 – Representação da impedância no plano complexo

O inverso da impedância (admitância, Y) favorece a análise de resultados em circuitos elétricos equivalentes, sendo definida como:

$$Y^*(\omega) = \frac{1}{Z^*(\omega)} \quad (4)$$

Substituindo a Eq (1) na Eq (4), e multiplicando pelo seu conjugado obtemos:

$$Y^*(\omega) = \frac{1}{Z' + jZ''} = \frac{Z' - jZ''}{(Z')^2 + (Z'')^2} = \frac{Z'}{(Z')^2 + (Z'')^2} - j \frac{Z''}{(Z')^2 + (Z'')^2} \quad (5)$$

As partes real e imaginária da expressão acima permitem a extração de informações relacionadas às unidades sensoriais imersas nos sistemas líquidos, e a utilização de um formalismo a partir da capacitância pode ser vantajoso, uma vez que esses resultados podem ser expressos em função da tangente de perda ($\tan \delta$), que fornece informações sobre a dissipação de energia do sistema estudado devido ao processo de condução elétrica (transporte de cargas) na amostra. Uma abordagem quantitativa da dissipação de energia de um material pode ser realizada através da *perda dielétrica*, que por sua vez pode ser quantificada através da *tangente de perda*, $\tan(\delta) = Z''/Z'$. Faremos uma abordagem comparativa do uso da *tangente de perda* na análise de Componentes Principais, em relação ao que comumente temos encontrado na literatura (resultados de capacitância em uma frequência fixa, da ordem de kHz).

2.2 – Análise de Componentes Principais (PCA)

Podemos ter redundância de informação quando um grupo de variáveis, originadas de outras variáveis iniciais, realiza deslocamentos coerentes devido ao fato de mais de uma variável medir o mesmo princípio que rege o comportamento do sistema analisado. Para evitar este problema, usamos um método estatístico denominado de Análise de Componente Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) que gera um grupo de variáveis ortogonais e com dimensionalidade menor, a partir de um grupo de variáveis iniciais, sem que ocorra perda de informação²¹.

O método estatístico de Análise das Componentes Principais é uma poderosa ferramenta que a partir de argumentos estatísticos, aliados a Álgebra linear, pode ser amplamente utilizada para extrair informações relevantes na correlação de amostras²². A utilização deste método torna-se viável quando é necessário reduzir as informações ao ponto em que as observações experimentais possam ser facilmente interpretáveis, ou seja, por meio deste método é possível projetar um grupo de dados originado em n-dimensões para um espaço dimensional reduzido, normalmente em duas ou três dimensões.

Desta forma, podemos obter uma resposta simplificada do sistema estudado a partir de um conjunto de variáveis reduzidas, mas que contenham uma grande quantidade de informação das variáveis que os originaram²². A redução do número de variáveis é obtida através da combinação linear das variáveis iniciais e ortogonalização de eixos, gerando um novo conjunto de variáveis reduzidas, que fornece informações para tornar as amostras diferentes uma das outras.

Cada variável originada destas combinações lineares terá informações distintas que servem para interpretar o peso das variáveis originais, de tal forma que, as componentes principais geradas possuem “pesos” estatísticos decrescentes. Portanto, os dados resultantes destas transformações são dimensionados em eixos ortogonais denominados de Componentes Principais, caracterizados por PC1 (Primeira Componente Principal), a componente que contém a maior quantidade de informação correlacionando as amostras, PC2 (Segunda Componente Principal), a componente que detêm a segunda maior parte da informação estatística, e assim sucessivamente²³.

Historicamente, em 1901 Karl Pearson formulou um método estatístico que tinha como objetivo encontrar retas e planos que se ajustassem de forma satisfatória a um conjunto de pontos em um espaço n-dimensional. Posteriormente, em 1933 Hotelling²⁴ chegou à derivação do PCA

na tentativa de gerar um conjunto menor de variáveis que fornecessem os valores das n variáveis originais. A ampla utilização do PCA no campo das ciências exatas e, mais especificamente, no uso para a correlação de dados gerados a partir de “*línguas eletrônicas*”²⁵, favoreceu a escolha deste método para a análise dos resultados neste trabalho.

2.3 – Filmes automontados

A técnica de automontagem, também denominada de “*self-assembly*”, foi proposta na década de 1980 por Sagiv e colaboradores²⁶ através da formação de multicamadas a partir de interações químicas, geralmente formadas por ligações covalentes entre as monocamadas depositadas.

Após uma década, Decher e colaboradores²⁷ propuseram um método de formação de multicamadas (LbL, do inglês “*Layer-by-Layer*”) (ver Figura 2) a partir de interações eletrostáticas entre moléculas contendo grupos ionizáveis, como polieletrólitos de naturezas diversas, baseados em Iler²⁸ que em 1966 propôs a fabricação de multicamadas através da adsorção seqüencial de íons.

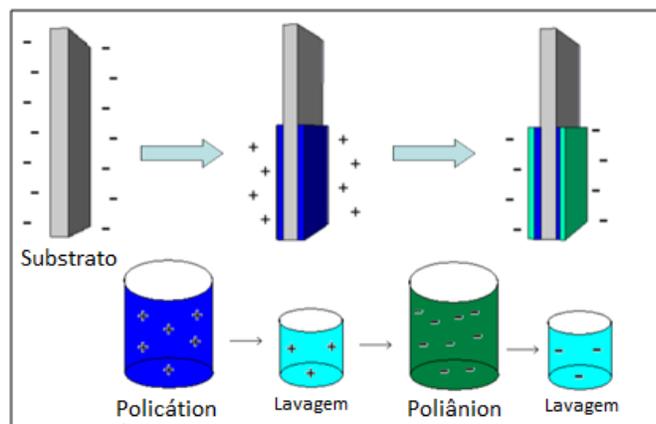


Figura 2 – Representação esquemática da fabricação de uma bicamada²⁹.

A Figura 2 acima ilustra o método de automontagem através de interação eletrostática, indicando: (1) deposição do polycation; (2) lavagem do substrato contendo uma camada de polycation para retirada do excesso de material adsorvido; (3) deposição do poliânion; (4) lavagem do substrato para retirada novamente do excesso de material adsorvido, seguido de secagem do filme contendo camadas alternadas de polycation e poliânion. O crescimento do filme é realizado por meio da formação de multicamadas produzidas através da repetição das etapas descritas acima. Adicionalmente, é possível obter o controle de espessura do filme em nível molecular, de acordo com o número de camadas depositadas^{27,27}, com os filmes automontados apresentando boa estabilidade térmica, molecular e mecânica devido às interações físicas e químicas decorrentes das forças de van der Waals e ligações de Hidrogênio nas estruturas supramoleculares formadas³⁰.

Basicamente, a fabricação de um filme LBL pode ser realizada a partir de dois processos distintos, manual e mecânico. A formação de filmes mais uniformes e livres de defeitos pode ser obtida a partir do uso de um braço mecânico³¹, e nesse sentido Braga³² realizou um estudo interessante na deposição mecânica de filmes LbL, verificando que manualmente diferentes pessoas produziam filmes com espessuras variadas, embora tenham utilizado as mesmas soluções e o mesmo procedimento experimental²⁷. As vantagens da automatização são maior grau de repetibilidade e reprodutibilidade, quando comparada ao processo manual. Entretanto, neste trabalho utilizamos o processo manual, devido à impossibilidade de se realizar as caracterizações elétricas dos filmes automontados em um braço mecânico, como apresentado mais a frente.

2.4 – Modelo para a água

Apesar da aparente simplicidade de sua molécula, a água possui uma estrutura atômica que lhe confere propriedades físico-químicas únicas, sendo um sistema altamente dinâmico quando no estado líquido, no qual as ligações Hidrogênio são cruciais³³. Para ilustrar a complexidade envolvida, o fato de ter um alto calor específico faz com que a água absorva uma grande quantidade de energia, que poderá afetar a dinâmica molecular do sistema, pois uma ligação Hidrogênio poderá ser quebrada ou distorcida pela energia absorvida se o comprimento de ligação exceder $\sim 3.1 \text{ \AA}$ ³³.

Em um líquido há moléculas interagindo umas com as outras mesmo na ausência de formações químicas, e, de uma maneira simplificada, temos forças de repulsão entre moléculas que não estão ligadas, forças de interação devido à dipolos (responsável pelas ligações Hidrogênio) e ainda interações dispersivas provenientes do movimento coordenado de elétrons em átomos diferentes, que são cruciais para forças de atração em diversos sistemas na natureza³³.

Uma hipótese bastante aceita na literatura para a dinâmica molecular da água tem sido a formação de “fios” condutores de prótons em uma rede de agregados de moléculas conectadas por ligações Hidrogênio mais fracas³⁴, comumente chamados de “*clathrates*”,^{35,36}. A idéia desses agregados de moléculas tem respaldo no fato das ligações Hidrogênio em cadeia serem cooperativas, e essa cooperatividade é uma propriedade fundamental da água líquida. As quebras que podem ocorrer nas ligações Hidrogênio ao longo de uma cadeia podem levar a uma rotação em torno de uma das ligações remanescentes, ao invés de uma translação, e como os grupos hidroxilas livres são bastantes reativos, os clusters podem persistir por tempos relativamente longos no volume de uma amostra líquida. Cálculos teóricos sugerem que a re-orientação das moléculas de água não envolve um número muito grande de moléculas vizinhas, indicando que cada molécula de água interage com duas vizinhas através da ruptura simultânea das ligações Hidrogênio formadas³³.

Para ilustrar, quando uma substância iônica é dissolvida em água, os íons livres apresentam fortes campos eletrostáticos, que acabam causando grande impacto nas moléculas de água vizinhas³⁷, alterando a dinâmica molecular local. A primeira camada de moléculas de água solvatando o íon sofre uma polarização forte devido ao campo elétrico do íon, e a remoção de uma molécula de água dessa camada de solvatação causaria fortes distúrbios nas barreiras de energia envolvidas, que não podem ser facilmente recompensadas³⁸. A presença de cátions e ânions, portanto, altera a arquitetura local das ligações Hidrogênio, levando à orientações específicas das moléculas, sendo responsável por uma diversidade de fenômenos anômalos³⁹. Apesar de estarmos longe da escala temporal na qual essa dinâmica molecular ocorre com as medidas elétricas que realizamos, o sistema utilizado percebe alterações sutis na água devido à presença (ou ausência) de um insumo ativo, e, de alguma maneira, as interações que ocorrem em nível molecular entre os filmes nanoestruturados compondo as unidades sensoriais e os sistemas líquidos estudados criam uma sinergia de propriedades que, apesar de ainda não estar compreendida, traz uma série de considerações levantadas por este trabalho de mestrado.

2.5 – Soluções ultradiluídas e dinamizadas

As soluções ultradiluídas e dinamizadas foram preparadas pelo Método Hahnemanniano, escala centesimal de acordo com a Farmacopéia Homeopática Brasileira 2ª. edição⁴⁰. É um método bastante utilizado na maioria dos trabalhos científicos envolvendo estudos de soluções ultradiluídas e dinamizadas, obtidas através do processo de dinamização. Brevemente, o processo de dinamização consiste em diluições seguidas de sucussões sucessivas do insumo ativo em um insumo inerte adequado⁴⁰.

A diluição do insumo ativo é feita com soluções hidroalcoólicas (etanol e água), seguida de um processo de agitação dos frascos denominado de sucussão. A sucussão consiste de agitação vigorosa e ritmada dos insumos ativos dissolvidos em um insumo inerte adequado contra um anteparo semi-rígido, podendo ser realizada manualmente ou de maneira automática⁴⁰.

A nomenclatura CH utilizada neste trabalho refere-se à potência do medicamento homeopático preparado pelo Método Hahnemanniano, na escala centesimal. De acordo com este método, a primeira potência (1CH) resulta da diluição do insumo ativo na proporção de 1/100, ou seja, 1 parte de insumo ativo é diluída em 99 partes do insumo inerte, seguido de 100 sucussões, e assim sucessivamente, o que diminui a concentração por um fator de 10^{-2} a cada etapa de diluição. Para ilustrar, uma solução 5CH corresponde à realização de cinco vezes o processo de dinamização descrito acima.

3 – Materiais e métodos

Neste capítulo descreveremos os materiais utilizados, como fabricamos os filmes LbL e sua utilização na confecção da “*língua eletrônica*”, bem como as respectivas caracterizações envolvidas.

3.1 – Polímeros condutores

Polímeros são macromoléculas formadas pela adição repetitiva de unidades monoméricas, sendo que alguns são formados naturalmente, enquanto outros através de síntese química. No início do século 20, os polímeros sintéticos tiveram um desenvolvimento significativo, sendo normalmente materiais isolantes elétricos, como, por exemplo, o polietileno, amplamente utilizado em cabos de transmissão de eletricidade.

Em meados de 70, Hideki Shirakawa, Alan MacDiarmid e A.J. Heeger verificaram que após a exposição de um filme de poliacetileno ao vapor de iodo, o filme flexível tornou-se com a aparência de uma folha metálica, mudando de coloração. Adicionalmente, a condutividade elétrica do filme foi sensivelmente aumentada em 13 ordens de grandeza, quando comparada ao filme antes da exposição ao iodo⁴¹. Surge a partir desse momento uma nova classe de materiais, denominados de polímeros condutores ou metais sintéticos, tendo como característica principal a união das propriedades elétricas, magnéticas e ópticas dos metais às propriedades mecânicas dos polímeros. Essa mudança de propriedade tem base na conjugação da cadeia polimérica (seqüências alternadas de ligações duplas e simples), sendo que os elétrons destas ligações insaturadas (elétrons π) podem ser facilmente retirados da estrutura da cadeia.

A introdução química de doadores ou receptores em um sistema polimérico faz com que este passe de um sistema isolante a outro condutor por meio um processo redox denominado de dopagem, em analogia aos materiais inorgânicos semicondutores^{42,43}. Durante a dopagem química ocorre a aproximação de contra-íons compensadores de carga, que se difundem através do filme polimérico, favorecendo o balanceamento de cargas no sistema⁴⁴, que podem ser induzidas pela alteração em várias funcionalidades do monômero antes da polimerização⁴⁵.

Os polímeros condutores são materiais extremamente versáteis e estão sendo amplamente utilizados em diversas aplicações, como dispositivos eletrônicos bidimensionais (filmes) e unidimensionais (cadeias individuais), sendo que grandes avanços científicos e tecnológicos têm ocorrido de forma relativamente rápida na área de sensores, dispositivos eletrônicos e optoeletrônicos (OLEDs, fotodiodos, lasers e células solares, entre outros)⁴⁶.

3.2 – PEDOT

Na década de 1980 cientistas da Bayern AG (Alemanha) desenvolveram um derivado de politiofeno com novas características⁴⁷. Embora o PEDOT não fosse solúvel em meio aquoso, o material apresentava propriedades interessantes, como alta condutividade (300 S/cm)⁴⁷, estabilidade química e transparência⁴⁸. Contudo, a questão da solubilidade foi resolvida ao adicionar em sua cadeia polimérica um polieletrólito, o ácido poli(4-estireno sulfônico), PSS, atuando como um contra-íon balanceador de cargas durante a polimerização, cuja estrutura está representada na Figura 3

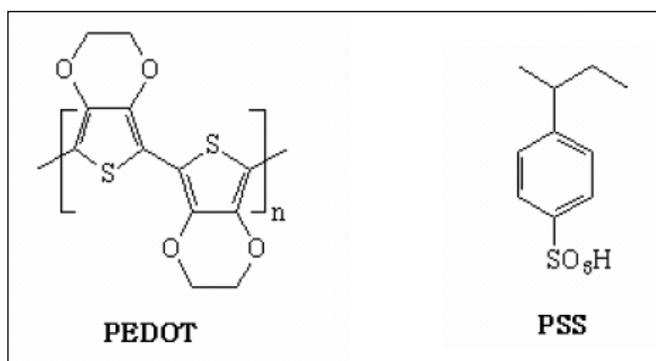


Figura 3 – Fórmula estrutural do PEDOT e PSS.

Este sistema polimérico composto PEDOT:PSS em forma de filme polimérico possui propriedades de um condutor, com condutividade elétrica entre $0,05 - 10 \text{ S/cm}$ ³⁹, e encontra-se na literatura em aplicações como dispositivos eletroluminescentes⁴⁹, displays coloridos de alta eficiência (OLEDs)⁵⁰ e na análise de alimentos⁵¹. Sua estrutura molecular esta representada na Figura 4.

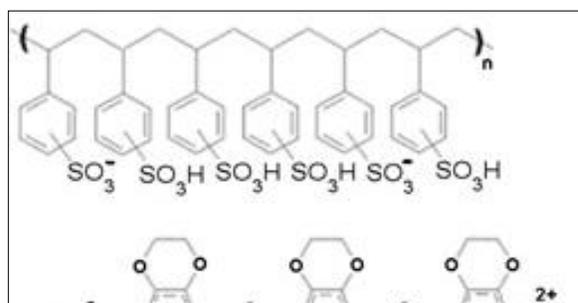


Figura 4 – Fórmula estrutural do PEDOT:PSS⁵⁰.

3.3 – Quitosana

A quitosana foi descoberta em 1859 pelo professor C. Rouget, sendo um produto natural, biodegradável, renovável e de baixo custo que nos últimos anos tem se tornado de grande importância ambiental e econômica. A quitosana é obtida através da desacetilação da quitina com solução concentrada de NaOH, sendo a quitina um biopolímero que contém grupos acetil (NHCOCH_3), sendo proveniente, principalmente, da carapaça de insetos e crustáceos^{52,53}. As estruturas químicas de ambas estão representadas na Figura 5.

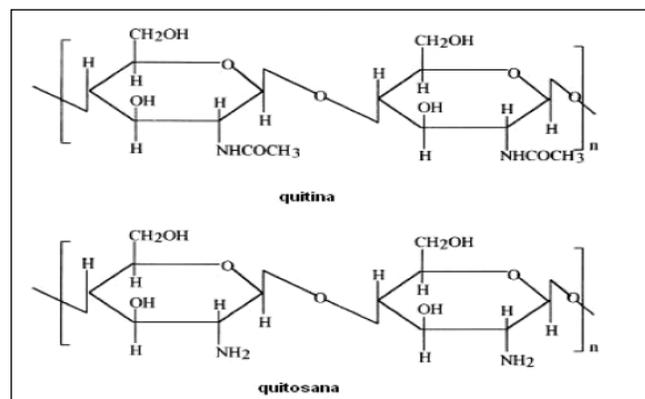


Figura 5 – Comparação das fórmulas estruturais da quitina e quitosana⁵⁴

A quitosana é caracterizada devido ao seu alto grau de desacetilação, enquanto a quitina possui esta nomenclatura pelo fato de conter mais de 50 ou 60% de unidades

desacetiladas, podendo ser solúvel em soluções aquosas de ácidos orgânicos e inorgânicos em virtude de sua natureza policatiônica⁵². As propriedades da quitosana não dependem apenas do seu grau de desacetilação, mas também da distribuição média dos grupos acetil ao longo da cadeia principal, além de sua massa molar⁵⁵.

Nas três últimas décadas as aplicações envolvendo quitosana têm enredado diferentes áreas como agricultura (mecanismos defensivos e adubo para plantas), tratamento de água (remoção de íons metálicos, polímero ecológico e redução de odores) e biomédica (suturas cirúrgicas, implantes dentários, reconstituição óssea, lentes de contato e liberação controlada de drogas em animais e humanos)⁵⁵. Biomateriais de quitosana também têm sido utilizados na reparação tecidual, acelerando a infiltração de linfócitos polimorfo nucleares nos primeiros estágios de cicatrização tecidual, aumentando sensivelmente a osteopontina, uma fosfoproteína capaz de aumentar a ligação celular na ulceração em processos de cicatrização⁵⁶.

Recentemente, a quitosana tem estado em evidência na área de alimentos funcionais devido ao seu auxílio na redução de colesterol, assim como na perda de peso⁵². Em 2007, Tharanathan e Prashanth⁵⁷ realizaram um estudo no qual foi comprovado que, não há limites para as áreas de aplicação da quitosana, devido a sua obtenção sob a forma de fibras, nanopartículas e microesferas, implicando em inúmeras aplicações na área de ciência dos materiais, microbiologia, imunologia, ciências médicas e farmacêuticas etc.

3.4 – Hidrocloreto de poli(alilamina) (PAH)

O hidrocloreto de poli(alilamina), PAH, é um polieletrólito fraco costumeiramente utilizado como polication na fabricação de filmes automontados^{58,59}. A estrutura química do PAH está representada na Figura 6.

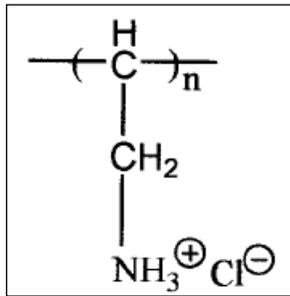


Figura 6 – Fórmula estrutural do PAH

3.5 – Poli(estirenosulfonato de sódio) (PSS)

O ácido poli(estirenosulfonato de sódio), PSS, é um polieletrólito frequentemente utilizado como poliânion na fabricação de filmes automontados^{58,59}, com sua estrutura química representada na Figura 7.

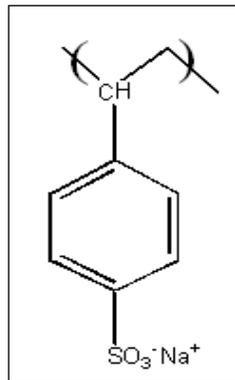


Figura 7 – Fórmula estrutural do PSS

3.6 – Beladona

A beladona (*Atropa belladonna*) é uma planta venenosa⁶⁰ cuja raiz geralmente é a parte mais tóxica⁶¹, sendo encontrada por toda a Europa e em algumas partes da Ásia. Com o objetivo de se tornarem mais atraentes, as italianas costumavam utilizá-la em gotas nos olhos para dilatação das pupilas, que deu origem à derivação do nome “*Beladonna*”. Na medicina

convencional tem sido utilizada para tratar espasmos e náuseas, e em 1799 Hahnemann utilizou esta planta para tratar a febre escarlate⁶².

A atropina é um alcalóide muito presente na *Atropa belladonna*, e seus efeitos foram estudados principalmente durante a segunda metade do século XIX⁶³. Indianos inalavam fumaça das folhas e das raízes da erva para tratar asma, e ao observar este ritual os colonizadores britânicos introduziram alcalóides de beladona na medicina europeia durante o início do século XIX⁶³. A escolha da beladona como um insumo ativo neste trabalho ocorreu pelo seu baixo custo e ao fato de ser de origem orgânica, com o objetivo de minimizar possíveis contaminações provenientes dos frascos utilizados na preparação das soluções ultradiluídas.

3.7 – Fabricação dos filmes automontados

3.7.1 – Fabricação dos Filmes LbL de PAH/PEDOT

Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura, obtida de um sistema Millipore (DirectQ⁵), com resistividade de 18,2 MΩ.cm. A solução catiônica foi preparada adicionando 791,3 µL do complexo PEDOT:PSS (Sigma-Aldrich)⁶⁴ em uma solução de NaCl 50 mM, até completarmos um volume final de 10 mL de solução. A solução policatiônica de PAH foi preparada de maneira semelhante, diluindo 0,075 g de PAH (Sigma-Aldrich) em 10 mL da solução 50 mM de NaCl. As soluções aniônica e catiônica, incluindo as soluções da lavagem, tiveram o pH ajustado para 4, através da adição de HCl. A deposição dos filmes automontados foi realizada manualmente, imergindo uma lâmina de quartzo na solução de PAH durante 15 minutos. Em seguida, o substrato foi imerso em soluções de lavagem durante 4 minutos, e seco com nitrogênio. Posteriormente, o substrato foi imerso 15 min na solução de PEDOT, sofrendo

um processo de lavagem idêntico ao descrito acima na solução de PAH, sendo seco após a lavagem com fluxo moderado de nitrogênio. O procedimento descrito acima foi realizado mais quatro vezes para a obtenção de um filme automontado contendo cinco bicamadas depositadas.

3.7.2 – Fabricação dos Filmes LbL de Quitosana/PSS

Na preparação da solução de quitosana foram misturados 16 mg de quitosana e 100 μ L de ácido acético em um balão de 10 mL, sob agitação durante 24h, sendo o pH da solução ajustado para 3 com HCl 0,5 M. Utilizamos pH = 3 pelo fato da quitosana possuir estrutura menos enovelada em pH < 4, o que facilita sua solubilização⁶⁵. Para a solução aniônica diluímos 16 mg de PSS (Sima-Aldrich) em 10 mL de água ultrapura. A deposição foi realizada por meio do processo manual, imergindo a lâmina de quartzo em uma solução de quitosana durante 3 minutos, imergindo o substrato em água ultrapura durante 1 minuto, secando-o posteriormente com fluxo moderado de nitrogênio. Em seguida, o substrato foi imerso em uma solução de PSS por 3 minutos, imerso em água ultrapura durante 1 minuto, e posteriormente seco com nitrogênio. O procedimento descrito anteriormente foi realizado por mais quatro vezes para a obtenção de um filme fino com cinco bicamadas depositadas.

3.7.3 – Fabricação dos Filmes LbL de PAH/PSS

A solução aniônica foi preparada diluindo 10 mg de PSS em 10 mL de uma solução de NaCl 50 mM. Para a preparação da solução catiônica, 10 mg de PAH foram misturados em 10 mL da solução de NaCl 50 mM. A deposição foi realizada por meio do processo manual, imergindo a lâmina de quartzo durante 3 minutos na solução de PAH, seguido de lavagem em

água ultrapura durante 1 minuto, e seco com nitrogênio. Posteriormente, o substrato foi imerso 3 minutos na solução de PSS, imerso em água ultrapura durante 1 minuto para lavagem e seco com nitrogênio. O procedimento descrito anteriormente foi realizado mais quatro vezes para a obtenção de um filme fino de cinco bicamadas.

3.8 – Limpeza do material utilizado

O processo de limpeza dos substratos ocorreu por meio de imersão das lâminas de quartzo em uma solução contendo uma parte de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), uma parte de hidróxido de amônio (NH_4OH) e cinco partes de água ultrapura durante 10 minutos sob uma temperatura de $80C^\circ$. Após o processo anterior, as lâminas foram enxaguadas e armazenadas em um recipiente contendo água ultrapura.

Antes do processo de adsorção dos filmes, as lâminas de quartzo foram previamente secas com nitrogênio e utilizadas como linhas de base no equipamento de UV-Vis, já que o quartzo é transparente na região do ultravioleta e do visível. Antes de depositarmos os filmes automontados sobre os eletrodos interdigitados, imergíamos todos em solução de ácido nítrico 10% durante 8h, sendo posteriormente enxaguados abundantemente em água ultrapura e deixados para secar

Cada solução analisada foi colocada em um béquer distinto durante a obtenção das medidas de impedância, e toda vidraria usada para a aquisição dos dados foi submetida ao procedimento de limpeza resumido na Tabela 1 a seguir:

Tabela 1 – Procedimentos adotados para a limpeza das vidrarias utilizadas durante os experimentos

Antes de cada medição	Após cada medição
1. Lavagem em água corrente,	1. Lavagem em água corrente,

2. Lavagem em água ultrapura,	2. Lavagem em água ultrapura,
3. Secagem em nitrogênio durante 3 minutos.	3. Lavagem em álcool isopropílico
	4. Lavagem em ácido nítrico 10%
	5. Secagem ao ambiente

3.9 – Espectroscopia de absorção na região do UV-vis

O crescimento dos filmes LbL foi caracterizado por meio da espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e do visível (UV-vis), com a utilização do equipamento da Thermo modelo Genesys 6. Antes das medidas de acompanhamento do crescimento dos filmes automontados, utilizamos uma lâmina de quartzo previamente limpa para obtenção da linha de base. Utilizamos as bandas de absorção do PSS para acompanhamento do crescimento dos filmes LbL, lembrando que a absorvância do material depende da concentração de substância absorvente no meio, da distância l percorrida pela luz ao atravessar o material, do coeficiente de absorção α , da intensidade da luz transmitida através do meio (I) e da intensidade da luz incidente (I_0), como ilustrado na Figura 8 abaixo:

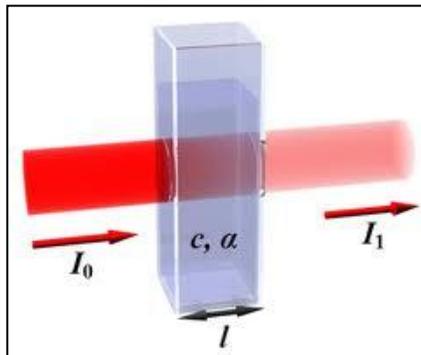


Figura 8 – Representação do sistema UV-vis, com grandezas da Lei de Lambert-Beer

3.10 – Caracterizações elétricas

As medidas de elétricas foram realizadas com um analisador de impedância Solartron, modelo 1260 (ver Figura 9). As unidades sensoriais foram imersas nas soluções de interesse, com aquisição das medidas de impedância no intervalo de frequência entre 1Hz e 1MHz.

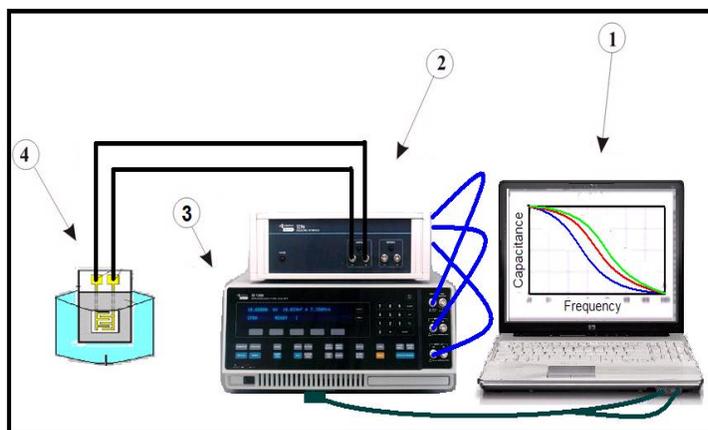


Figura 9 – Representação do equipamento utilizado para a aquisição das medidas de Impedância. (1) aquisição dos dados, (2) Interface dielétrica, (3) Medidor de Impedância, (4) Sistema analisado.

3.11 – Seleção dos eletrodos interdigitados

Os filmes LbL descritos acima foram depositados sobre eletrodos interdigitados de ouro contendo 50 pares de dígitos de 10 μm de largura, e espaçados 10 μm um do outro, fabricados pelo professor Dr. Antonio Riul Jr no laboratório de microfabricação do Laboratório Nacional de Luz Síncroton (LNLS). Na Figura 10 é possível observar a região dos eletrodos interdigitados sob a qual os filmes LbL foram depositados (círculos vermelhos).

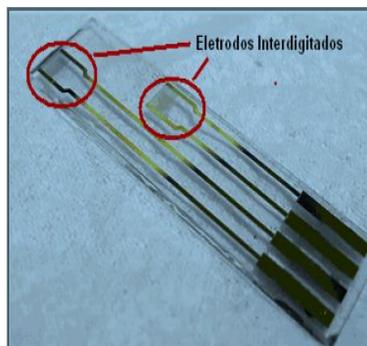


Figura 10 – Imagem do eletrodo interdigitado sobre o qual foram depositados os filmes automontados.

Inicialmente, foram realizadas medidas elétricas em água ultrapura com 22 eletrodos disponíveis, ilustradas na Figura 11. Observamos que alguns eletrodos apresentam variações abruptas do comportamento elétrico esperado na faixa de frequência utilizada durante as medidas experimentais (1 Hz a MHz), sendo que tais variações são provenientes de erros resultantes do processo de fabricação dos microeletrodos.

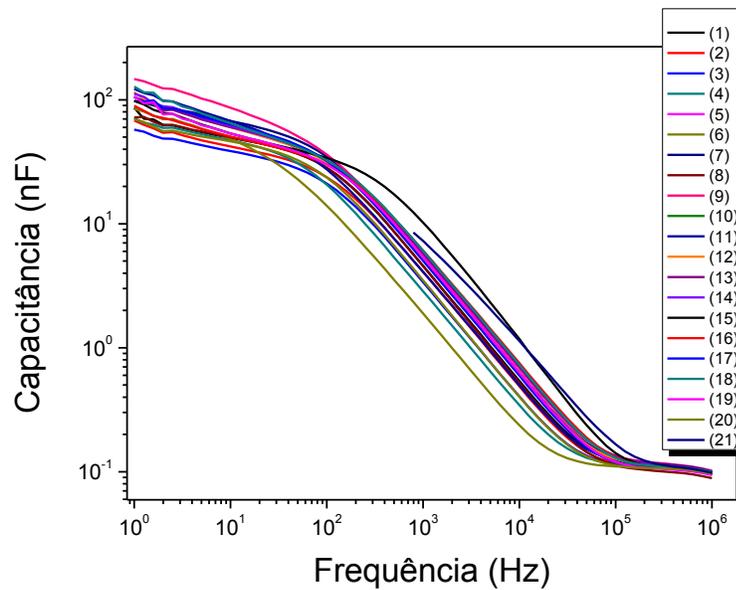


Figura 11 – Comportamento elétrico dos eletrodos na faixa de frequência de 1 Hz – 1kHz.

Desta forma, essa medida comparativa serviu para selecionarmos os eletrodos com a resposta elétrica mais próxima possível (ver Figura 12), de maneira a minimizarmos interferências e criarmos, a partir de então, uma certidão de nascimento para cada unidade sensorial utilizada na fabricação da “*língua eletrônica*”

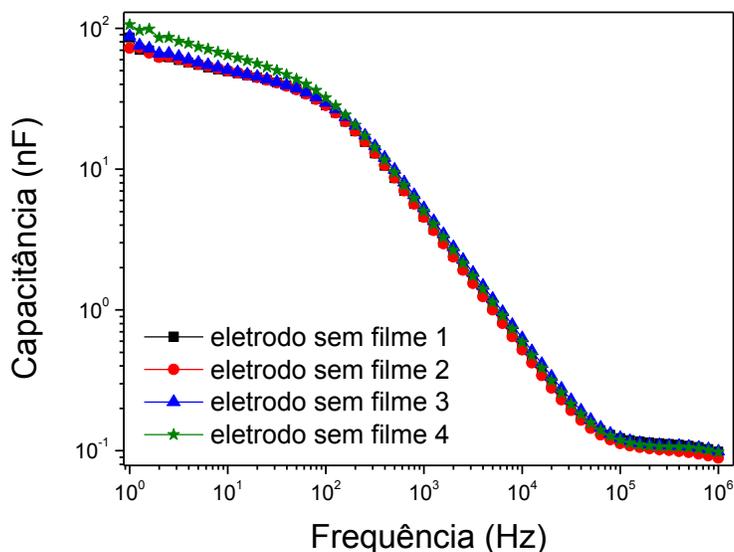


Figura 12 – Comportamento elétrico dos eletrodos selecionados para a fabricação da “*língua eletrônica*”.

3.12 – Fabricação da língua eletrônica

A confecção do dispositivo *língua eletrônica* (ver Figura 13) foi o primeiro passo para uma melhor compreensão do conceito de seletividade global, pois há necessidade de escolhermos materiais com propriedades elétricas distintas. Alguns fatores interferiram nesta escolha, tais como a disponibilidade e facilidade de materiais para fabricação dos filmes automontados. A unidade sensorial 4 foi utilizada com o eletrodo puro, como um eletrodo de referência, e os filmes LbL utilizados em cada unidade sensorial, como ilustrado na Figura 13, foram (1) Quitosana/PSS, (2) PAH/PSS (3) PAH/PEDOT e (4) eletrodo puro.

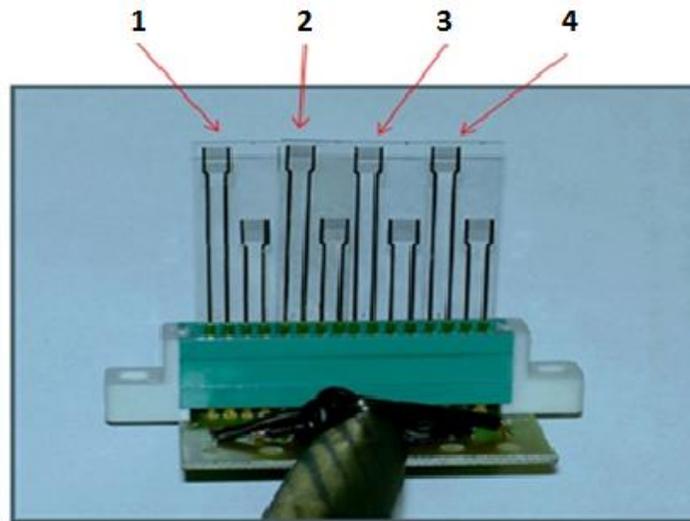


Figura 13 – Composição do dispositivo “língua eletrônica”.

Após a seleção dos eletrodos para a fabricação do sensor, realizamos medidas de impedância com os eletrodos imersos em água ultrapura, antes e após a deposição dos filmes automontados. O efeito dos filmes ultrafinos na resposta elétrica do sensor fica evidente na Figura 14, tomando como referência o eletrodo sem filme, pois a diferença observada entre cada material possibilita a formação da impressão digital mencionada na introdução, que será aplicada para verificarmos a sensibilidade do dispositivo para estudarmos soluções ultradiluídas e dinamizadas de beladonna.

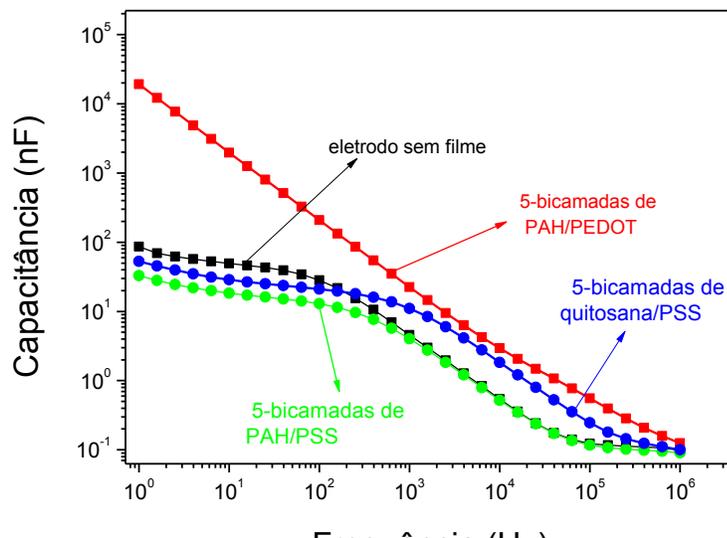


Figura 14 – Medidas elétricas de água ultrapura, após a fabricação das unidades sensoriais.

3.13 – Preparo das soluções ultradiluídas e dinamizadas

As soluções ultradiluídas e dinamizadas foram preparadas pela Prof^a Dra Marilisa Guimarães Lara, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, pelo Método Hahnemanniano, em escala centesimal de acordo com a Farmacopéia Homeopática Brasileira 2^a edição⁴⁰. O insumo ativo utilizado foi tintura-mãe de beladona, com graduação alcoólica de 65%, lote 4941, obtida do Laboratório Schraibmann. Para o preparo das diluições foram utilizadas como insumo inerte soluções hidroalcólicas de várias graduações, como descrito a seguir: solução hidroalcólica a 65% (p/p) para o preparo das potências 1 a 3CH, e solução hidroalcólica a 70% (p/p) para o preparo das demais potências (até 29CH), que foram mantidas em estoque. A partir destas soluções, foram feitas as amostras a serem analisadas neste trabalho nas potências 1CH, 6CH, 12CH e 30CH, preparadas em água destilada ou em solução hidroalcólica a 30% (p/p).

3.14 – Análise de Componentes Principais e aquisição de dados

O método de Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês “*Principal Component Analysis*”) foi utilizado para correlação das soluções ultradiluídas e dinamizadas, e os gráficos PCA a seguir foram obtidos com o programa MatLab (versão 6), com base nas informações

extraídas das medidas de impedância elétrica da “*língua eletrônica*”⁴, obtidas em 1 kHz (região onde a presença dos filmes sobre os eletrodos interdigitados influencia fortemente os valores de capacitância medidos)¹⁴. Para minimizarmos interferências externas e melhorarmos a avaliação estatística, realizamos as medidas de impedância em torno de $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$, aguardando ~ 30 minutos após a imersão dos eletrodos na solução a ser analisada para dispararmos a aquisição de dados, para melhor estabilização do sistema devido à formação de dupla-camada elétrica^{66,14}.

4 – Resultados e discussões

O eletrodo interdigitado de ouro é geralmente fabricado sobre uma superfície de vidro, entretanto, para montagem da “*língua eletrônica*” o crescimento dos filmes LbL é usualmente feito sobre uma superfície de quartzo e acompanhado por medidas UV-vis. Realizamos também um acompanhamento *in situ* comparativo do crescimento dos filmes automontados diretamente sobre os eletrodos interdigitados, através de medidas de espectroscopia de impedância.

4.1 – Filmes LbL de quitosana/PSS

No gráfico do espectro UV-vis da Figura 15 pode-se notar uma absorbância em 225 nm, atribuída às transições $\pi-\pi^*$ no anel aromático do PSS.

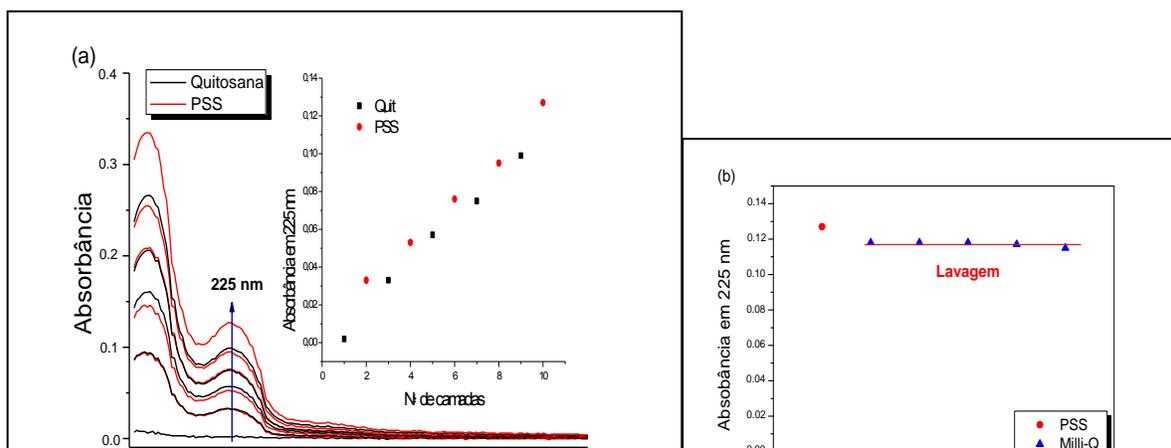


Figura 15 – (a) Absorbância vs comprimento de onda do filme de quitosana/PSS; (b) lavagem do substrato.

Pode-se observar que a banda de absorção cresce linearmente com o número de camadas depositadas, indicando que aproximadamente a mesma quantidade de material foi adsorvida sobre o substrato de quartzo a cada etapa de fabricação. Na Figura 15b o ponto vermelho corresponde à última bicamada depositada do filme de quitosana/PSS, e os pontos pretos subsequentes a sucessivos enxágües em água ultrapura. Pode-se observar que após a primeira lavagem há uma pequena perda de material, possivelmente devido à retirada de excesso de material que estava fracamente adsorvido, mas a partir da segunda lavagem essa perda de material torna-se desprezível.

A Figura 16 representa o gráfico de medidas de capacitância em função da frequência de um eletrodo interdigitado imerso nas soluções de quitosana e de PSS, representando o comportamento elétrico das medidas *in-situ* mencionadas anteriormente.

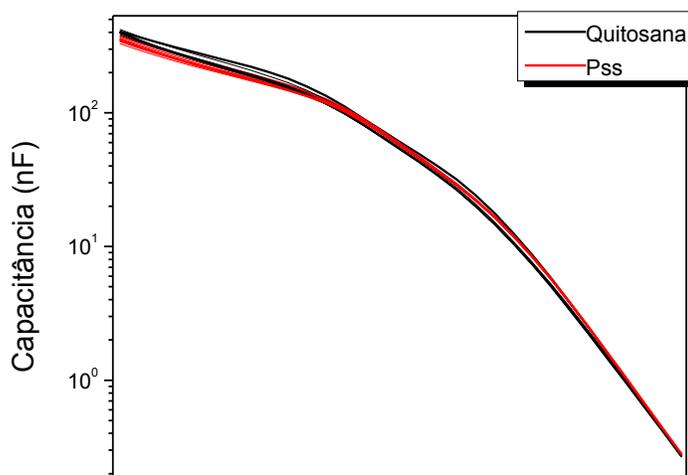


Figura 16 – Capacitância versus frequência do crescimento do filme de quitosana.

Aparentemente, notamos uma pequena variação nas curvas de capacitância do efeito de adsorção do filme adsorvido sobre os eletrodos interdigitados, durante o processo de crescimento automontado. Esse comportamento é mais facilmente observado na Figura 17, em um gráfico da capacitância, em uma frequência fixa (1 kHz).

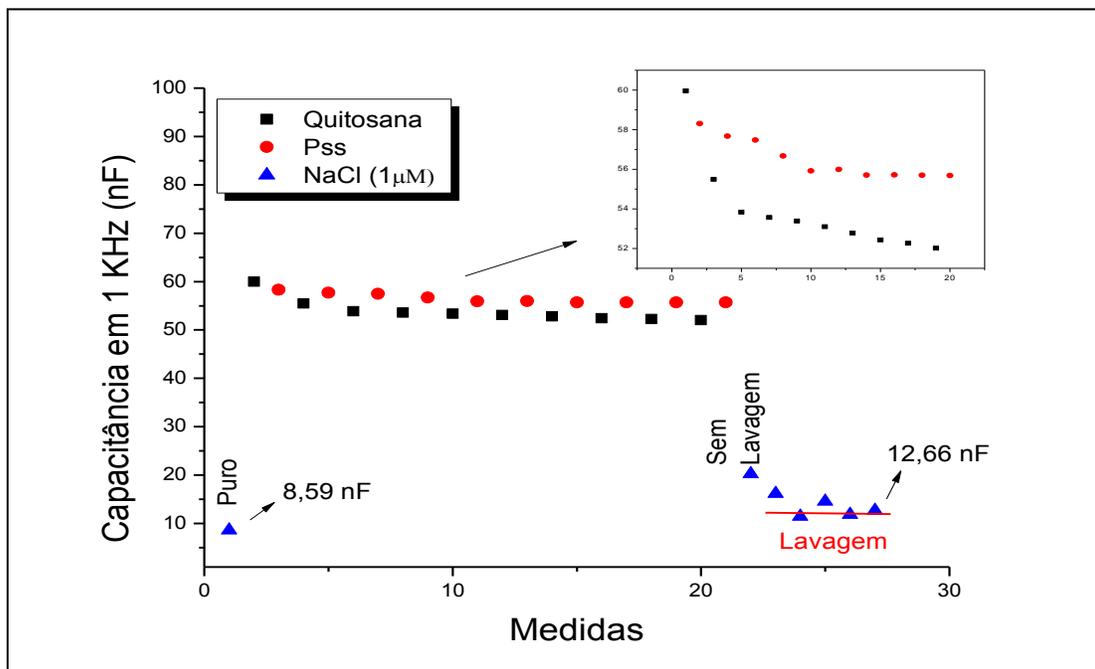


Figura 17 – Gráfico do crescimento e lavagem do filme de quitosana/PSS na frequência de 1kHz.

No canto superior direito verificamos que a capacitância do conjunto eletrodo/filme/solução decresce quase que linearmente com o aumento do número de camadas depositadas. Acreditamos que esse decréscimo na capacitância esteja atribuído à compensação de cargas na interface eletrodo/filme/eletrólito, ou seja, à medida que o filme automontado começa a se formar seus sítios de carga compensariam parte da carga existente na interface metálica dos eletrodos (elétrons livres), diminuindo a carga líquida total acumulada no sistema. Outro ponto que chama a atenção é o fato da capacitância durante a fabricação do filme ser maior do que a analisada durante o procedimento de lavagem, que está atribuído à quantidade de íons presentes nas soluções dos polieletrólitos (muito acima daquela presente na água ultrapura durante a lavagem).

É possível notar remoção de material fracamente adsorvido na estrutura do filme após lavagem, similar ao observado nos espectros UV-vis, e ainda que os valores de capacitância após estabilização nas medidas elétricas ficam muito próximos ao valor observado no eletrodo puro antes da deposição do filme LbL (ver Figura 18). Fica a pergunta se todo material depositado foi removido.

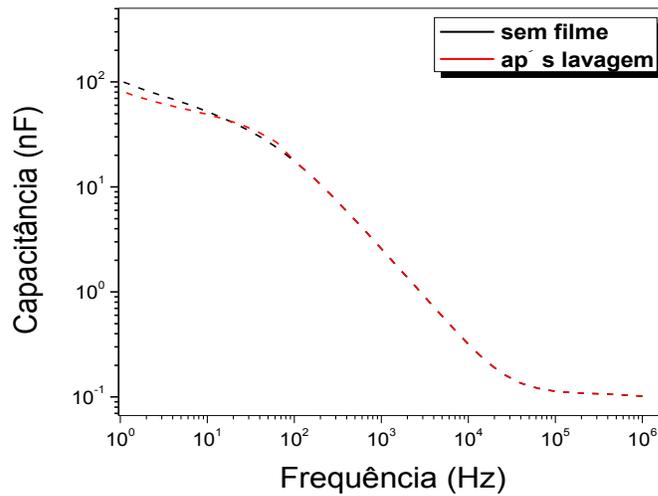


Figura 18 – Curvas de capacitância obtidas em água ultrapura antes e após o processo de lavagem do filme de quitosana/PSS.

Como um teste, para observar se o filme estava realmente sendo removido após as sucessivas lavagens imergimos o eletrodo em água ultrapura soluções 1 μM e 50 mM de NaCl, comparando as respostas elétricas com um eletrodo puro (sem filme depositado), ilustrado na Figura 19. Observam-se pequenos deslocamentos nas curvas de capacitância antes e após o processo de lavagem, sendo mais pronunciado para a solução μM , indicando que este procedimento provavelmente não remove o ultrafino, caso contrário teríamos sobreposição das curvas nos casos analisados.

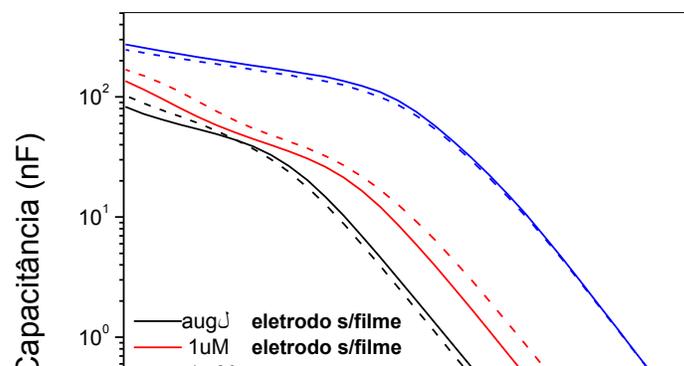


Figura 19 – Medidas elétricas realizadas antes e após a lavagem do filme de quitosana em água ultrapura, e em soluções de NaCl em diferentes concentrações (1 μ M, 50 mM).

4.2 – Filmes LbL de quitosana/PSS em solução de NaCl

Para respondermos a pergunta da possibilidade de remoção de grande parte do filme de quitosana/PSS durante o processo de lavagem, repetimos a fabricação do filme de quitosana em solução de NaCl de 50 mM, pois a literatura indica melhor adsorção em solução salina⁶⁷. Com o intuito de simplificarmos a análise, apresentaremos apenas as medidas de impedância para a caracterização do crescimento do filme de quitosana em solução salina. Na Figura 20 encontramos um gráfico do comportamento elétrico durante o crescimento do filme automontado de quitosana devido ao uso da solução salina. Nota-se que temos o padrão discutido anteriormente (sem uso de NaCl 50 mM), entretanto, os valores de capacitância são maiores devido à maior quantidade de íons em solução.

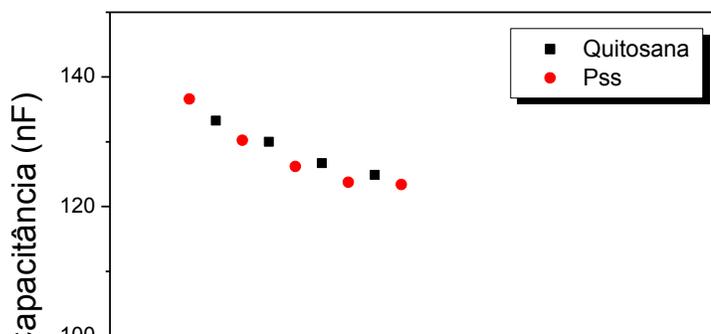


Figura 20 – Gráfico do crescimento do filme automontado de quitosana/PSS em solução salina, em 1kHz.

O processo de lavagem foi novamente realizado após fabricação do filme LbL sobre o eletrodo interdigitado, demonstrando que o filme de quitosana/PSS ficou fortemente adsorvido, como ilustrado na Figura 21.

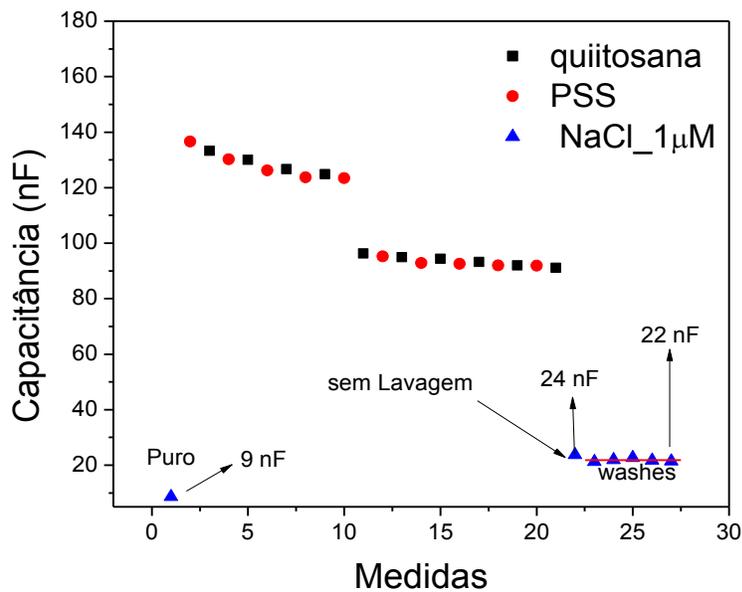


Figura 21 – Gráfico do crescimento em solução salina e lavagem do filme de quitosana/PSS na frequência de 1kHz.

Verifica-se claramente pequena remoção de material após a lavagem, com valores de capacitância remanescentes bem acima daqueles observados sem o auxílio da solução salina durante a deposição do filme LbL de quitosana. Novamente, a diferença observada entre o filme

recém depositado e as lavagens fica atribuída à diferença de concentração entre as águas de lavagens e os polieletrólitos. É notado uma melhor adesão dos filmes com o uso de NaCl quando comparamos os valores de capacitância entre a primeira e última lavagens. Do mesmo modo como foi realizado para o filme de quitosana (ver Figura 19), repetimos as medidas elétricas nas soluções 1 μM e 50 mM de NaCl, como ilustrado na Figura 22.

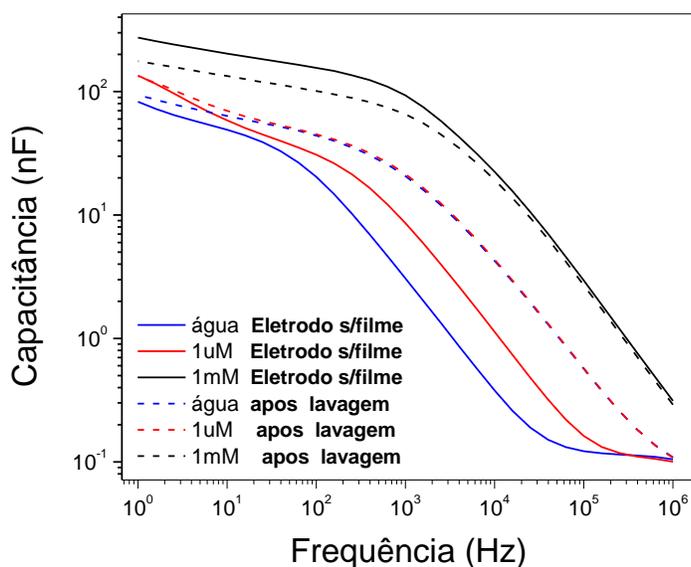


Figura 22 – Medidas elétricas realizadas antes a após a lavagem do filme de quitosana (com solução salina) em água ultrapura, e em soluções de NaCl em diferentes concentrações (1 μM , 50 mM).

As curvas acima indicam uma sobreposição das respostas elétricas em 1 μM e 50 mM, que pode estar relacionado com a existência de íons do NaCl na estrutura do filme LbL⁶⁸, mesmo com a remoção de material fracamente adsorvido durante o processo de lavagem. Outra questão surge naturalmente seria o efeito desses íons nas medidas elétricas, apesar da maior adsorção da quitosana sobre os eletrodos. Desta forma, optamos pelo filme de quitosana fabricado sem solução salina para evitarmos possíveis interferências dos íons aprisionados na estrutura do filme durante a realização das medidas.

4.3 – Filmes LbL de PAH/PEDOT

O espectro de absorvância na região do UV-vis do processo de crescimento do filme automontado de PAH/PEDOT depositado em uma lâmina de quartzo encontra-se representado na Figura 23. Podemos notar o aumento das bandas de absorção com o número de camadas do filme depositado, tomando como referência o pico de absorção em 225 nm devido à presença de PSS na estrutura do polímero PEDOT:PSS, que indica o crescimento regular do filme.

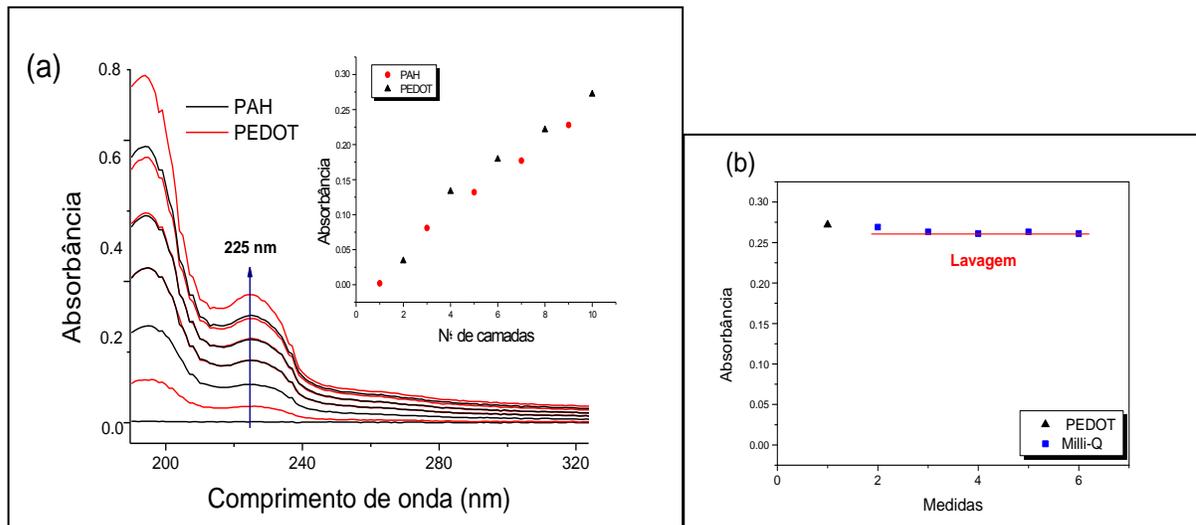


Figura 23 – (a) Espectro de UV-vis do filme automontado de PAH/PEDOT; (b) Processo de lavagem do filme automontado

O filme de PAH/PEDOT passou por um processo de lavagem após sua fabricação semelhante ao descrito para o filme de quitosana (Figura 23b). Neste gráfico podemos observar que após a primeira lavagem ocorreu novamente pequena perda de material devido à remoção do excesso de material que estava fracamente adsorvido. Entretanto, o filme mostrou boa adesão a partir da segunda lavagem.

Assim como para o filme de quitosana, realizamos um acompanhamento por meio da técnica de espectroscopia de impedância durante o crescimento do filme de PAH/PEDOT. As medidas de capacitância são apresentadas na Figura 24. É possível observar que a cada ciclo de crescimento o comportamento da curva de capacitância se modifica bastante, mesmo quando comparada aos resultados de quitosana. Notamos também na Figura 24 um aumento significativo da capacitância do filme com o número de camadas depositadas no intervalo de frequência até 1 kHz, que discutiremos mais abaixo.

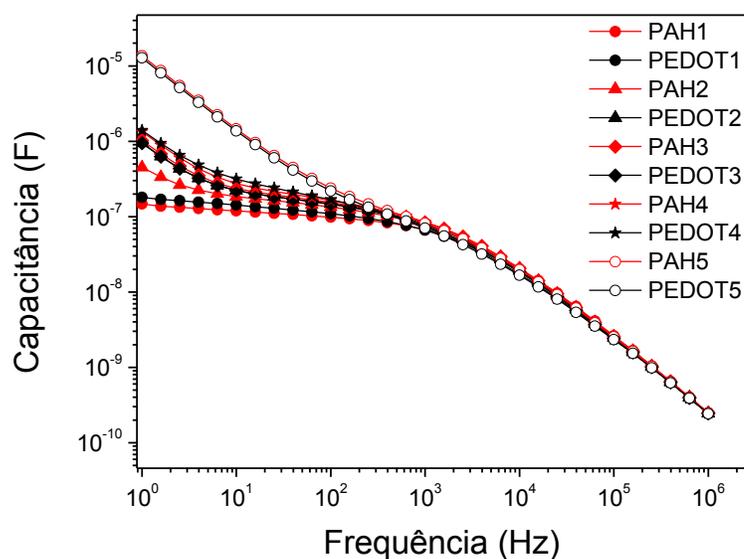


Figura 24 – Medidas de capacitância durante o processo de fabricação do filme de PEDOT.

De acordo com os valores de capacitância em 1 kHz apresentados na Figura 25, pode-se notar a mudança da resposta elétrica do filme adsorvido após a deposição de cada camada sobre o eletrodo interdigitado durante o processo de crescimento.

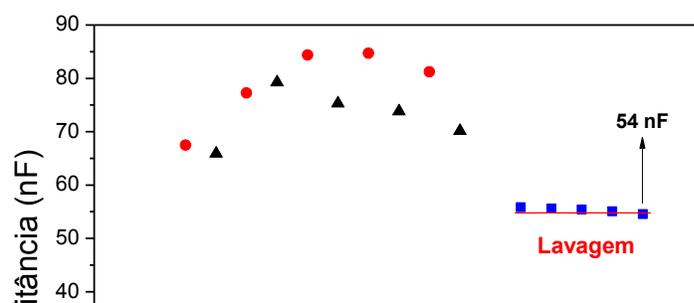


Figura 25 – Gráfico do crescimento e lavagem do filme de PEDOT/PAH em 1kHz.

Neste caso, pode-se observar uma tendência decrescente nos valores de capacitância, após passar por um máximo, com o aumento do número de bicamadas depositadas, possivelmente devido à compensação de cargas na interface eletrodo/filme/solução, como mencionado anteriormente para os filmes de quitosana/PSS. Entretanto, o PEDOT possui uma presença muito maior de contra-íons em sua estrutura, resultando em um aumento do valor da carga líquida presente no sistema, explicando os valores maiores de capacitância quando comparado à quitosana, mesmo havendo a compensação de carga com o eletrodo metálico, e a pequena diferença existente com as medidas de lavagem do eletrodo.

Podemos observar na Figura 26 que após a deposição do filme automontado as curvas de capacitância durante as lavagens se sobrepõem, indicando boa adesão do filme de PEDOT/PAH sobre o eletrodo interdigitado.

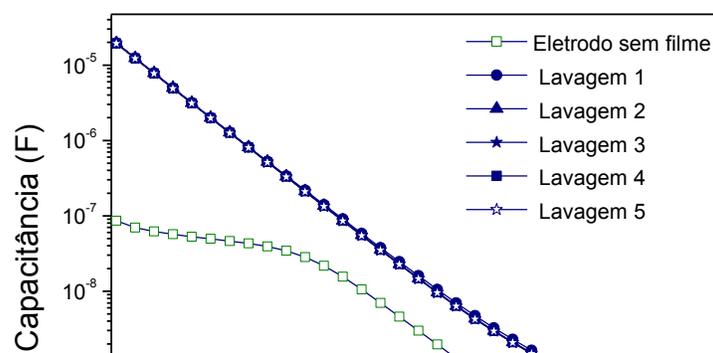


Figura 26 – Medidas realizadas durante o procedimento de lavagem do filme automontado PEDOT/PAH.

Realizando uma comparação entre as medidas elétricas realizadas antes e após a deposição do filme, pode-se afirmar que a quantidade de material adsorvido sobre o eletrodo mudou significativamente a resposta da capacitância quando o sensor é imerso em água ultrapura. Durante o processo de lavagem é notado um pequeno decréscimo da capacitância após o primeiro enxágüe devido à perda de material, corroborando as medidas UV-vis.

4.4 – Filmes LbL de PAH/PSS

Para a absorbância do filme de PAH/PSS, pode-se observar a ocorrência de um máximo em 225nm nos espectros de absorbância como ilustrado no espectro da Figura 27, que está relacionada às transições eletrônicas dos anéis do benzeno do polieletrólito aniônico, PSS. Verifica-se também que o máximo da absorbância aumenta com o número de bicamadas, para ambos os filmes.

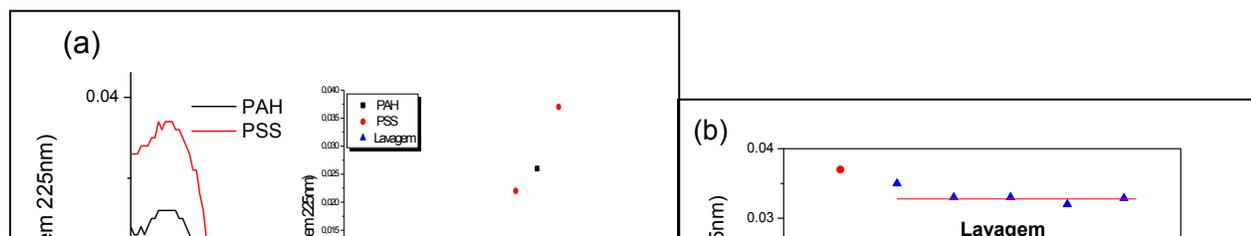


Figura 27 – (a) Espectro de UV-vis de um filme automontado PAH/PSS contendo 5 bicamadas depositadas; (b) Processo de lavagem do filme automontado PAH/PSS.

Tomando como referência o máximo da banda de absorção em 225 nm, podemos observar no canto direito da Figura 27a que o filme de PAH/PSS apresentou um crescimento uniforme, e um aumento gradativo da absorbância relacionado com o número de bicamadas adsorvidas de PAH/PSS. No gráfico da Figura 27b o ponto 1 indica o valor da absorbância em 225 nm da última camada do filme depositado antes do processo de lavagem, enquanto as lavagens consecutivas são representadas pelos pontos subseqüentes. Ocorreu uma pequena diminuição da absorbância devido à existência de material fracamente adsorvido sobre a superfície do eletrodo, sendo possível observar que a partir da segunda medida durante o processo de lavagem ocorre uma estabilização da absorbância, o que indica que não houve perda significativa de material.

Realizamos um acompanhamento do crescimento do filme de PAH/PSS por meio da técnica de espectroscopia de impedância. O comportamento elétrico durante o processo de crescimento do filme automontado pode ser observado na Figura 28. Os valores da capacitância do filme em solução apresentam um decréscimo na região de frequência em torno de 1 kHz e um incremento no intervalo entre (1Hz e 100Hz), com deslocamentos menos significativos que

aqueles apresentados na Figura 24 para o filme PEDOT/PAH, possivelmente pelo fato do filme PAH/PSS ser menos condutivo.

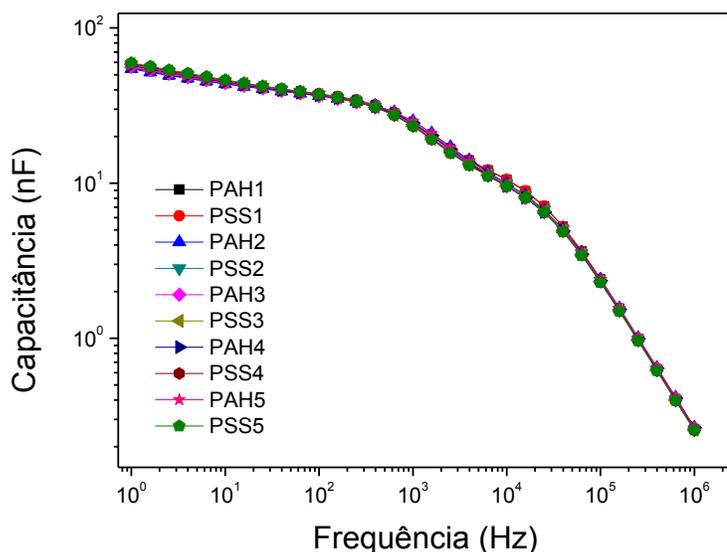


Figura 28 – Medidas elétricas realizadas a cada etapa de deposição do filme PAH/PSS.

A variação dos valores para a capacitância antes e após o processo de lavagem pode ser melhor observada na Figura 29. As variações nos valores da capacitância discutidos na Figura anterior podem ser novamente observados após cada etapa da lavagem do filme de PAH/PSS. Nota-se também que as curvas de capacitância se sobrepõem, e seus respectivos valores de capacitância são diferentes do valor apresentado pelo eletrodo sem filme. Deste modo, a adesão observada para o filme fabricado sobre a superfície de quartzo também é notada na confecção do filme automontado sobre a superfície do eletrodo interdigitado de ouro.

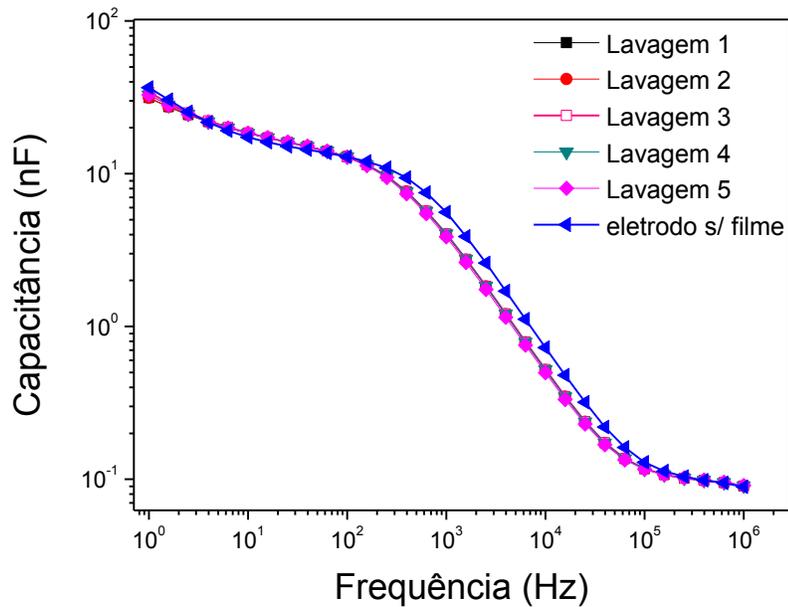


Figura 29 – Medidas realizadas antes da deposição do filme e durante o processo de lavagem.

O efeito do filme adsorvido a cada camada durante o processo de crescimento pode ser observado na Figura 30, a partir do gráfico da capacitância versus o número de medidas em uma frequência fixa de 1 kHz. O comportamento da capacitância do eletrodo em solução é mais facilmente observado no canto superior direito da Figura 30, sendo possível notar que a capacitância do conjunto eletrodo/filme/solução decresce de forma mais acentuada com o aumento do número de camadas depositadas. Após a quarta lavagem ocorre uma ligeira diminuição no valor da capacitância, entretanto, após a quinta lavagem o valor medido é novamente estabilizado. As amostras de água Milli-Q analisadas durante a lavagem do filme fabricado apresentam um valor de capacitância menor do que ao valor conferido antes da deposição do filme. Uma observação mais relevante da contribuição do filme PAH/PSS para a diferença da resposta elétrica observada foi apresentada na Figura 13, na qual é possível notar a

contribuição de todos os sensores para uma mesma amostra analisada. Desta forma, analisando a diferença da resposta elétrica de cada filme depositado separadamente pode não trazer uma informação tão contundente quanto analisar a atuação do conjunto de sensores. Portanto, a ilustração da Figura 13, favorece a observação de que a adsorção de material (PAH/PSS) sobre a superfície do eletrodo modificou significativamente a resposta elétrica da unidade sensorial.

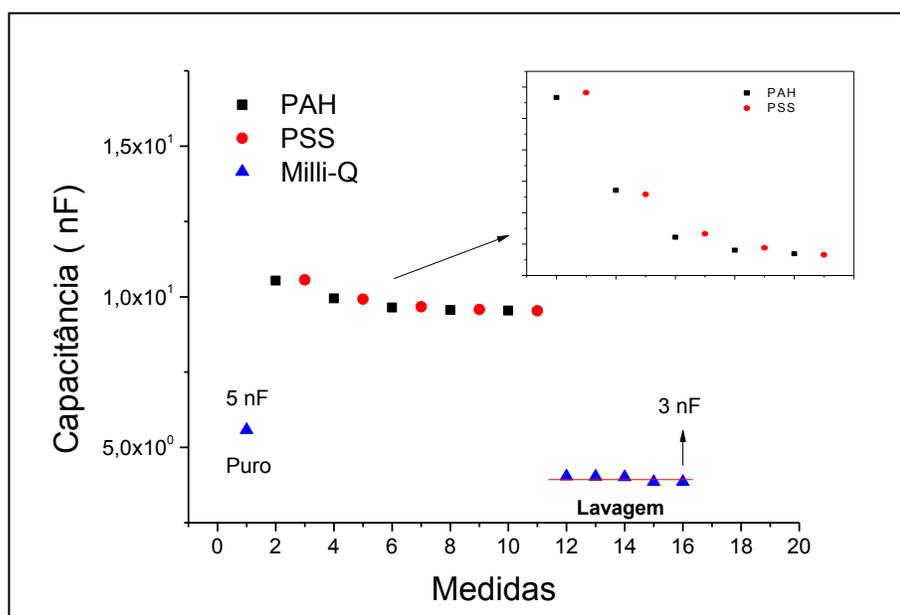


Figura 30 – Gráfico do crescimento e lavagem do filme de PAH/PSS em 1kHz.

4.7 – Medidas com soluções ultradiluídas e dinamizadas.

4.7.1 – PCA das soluções com diferentes concentrações em diferentes dias

A nomenclatura que segue nesta seção junto aos gráficos PCA refere-se à identificação feita pela Prof^a. Marilisa G. Lara, repassada a nós apenas após o término das medidas. Colocaremos essa nomenclatura em forma de tabelas para melhor interpretação dos gráficos PCAs, como informações quanto ao tipo de solução e a concentração da beladona em CH em cada solução, conforme ilustrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Classificação das soluções que aparecem nos gráficos PCA.

Solução	Identificação
30% Etanol e 70% água	Etanol
6CH	ET 6CH
12CH	ET 12CH
30CH	ET 30CH
Água Pura	H2O
6CH	H2O 6CH
30CH	H2O 30CH

Na Figura 31 observamos o desempenho da *língua eletrônica* no primeiro lote de soluções, analisadas ao longo de diferentes dias no mês de julho. Todos os gráficos de Análise de Componentes Principais possuem duas retas azuis que indicam o zero da variância de cada componente principal.

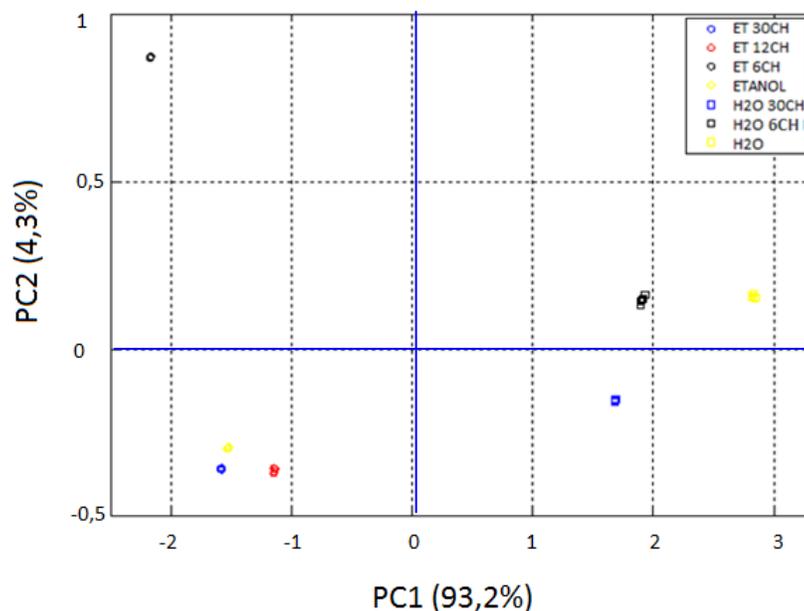


Figura 31 – Gráfico PCA para as capacitâncias em 1 kHz, das soluções ultradiluídas e dinamizadas medidas durante o mês de julho.

As soluções preparadas em água foram facilmente separadas daquelas feitas em etanol (álcool 30% e 70% de água), que é um resultado esperado devido à variação tanto na permissividade dielétrica quanto nas ligações intermoleculares do líquido. Há uma expressiva variância na primeira componente principal (93,2%), correspondente à facilidade de separação das soluções, ou seja, temos 93,2% de chances de identificarmos as amostras olhando apenas a projeção dos pontos sobre o eixo x. Entretanto, não conseguimos correlacionar a concentração das amostras com nenhuma Componente Principal, devido à subjetividade do método, pois podemos ter várias características do sistema expressas em uma única Componente Principal. Importante ressaltarmos que as soluções de etanol mais diluídas ficaram agrupadas mais próximas da solução de álcool sem o princípio ativo, o que era de se esperar. Na Figura 32 ilustramos o gráfico PCA para as medidas realizadas durante o mês de Agosto.

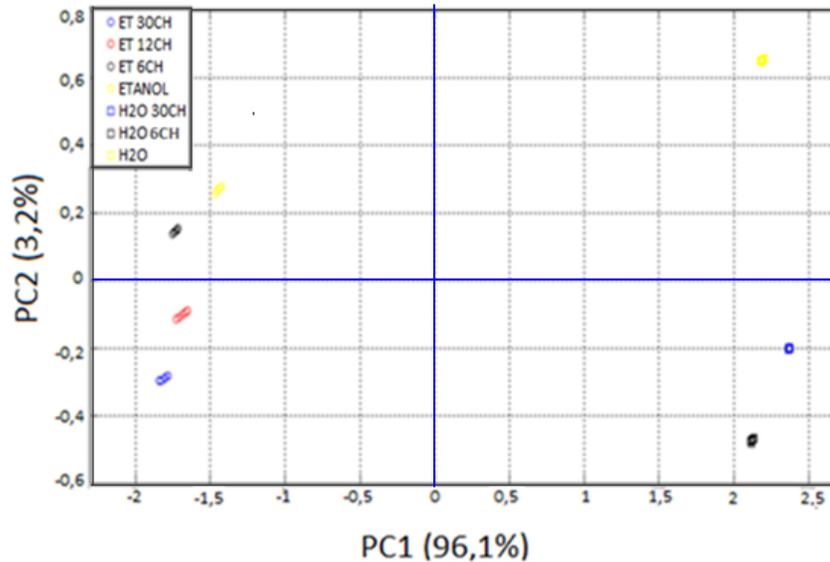


Figura 32 – Gráfico PCA de soluções ultradiluídas medidas durante o mês de Agosto, obtido de medidas de capacitâncias em 1 kHz.

Nota-se novamente boa diferenciação entre as soluções a base de água e etanol na Figura 32 acima, com grande variância atribuída à Primeira Componente Principal (96,1%). Em ambos os casos analisados neste primeiro lote de soluções tivemos uma elevada percentagem de correlação atribuída a PC1, com valores muito próximos para a soma total (PC1 + PC2), 97,5% para medidas realizadas em julho, e 99,3% para medidas realizadas em agosto, respectivamente. Entretanto, observamos uma maior dispersão nos valores de PC2 das soluções alcoólicas nas medidas obtidas no mês de julho, ocorrendo o mesmo com as soluções em água para o mês de agosto, ou seja, baixa reprodutibilidade ao analisarmos soluções cujas medidas foram realizadas em dias distintos. A Figura 33 a seguir ilustra bem isso, agrupando todas as medidas dos PCAs apresentados anteriormente em um único gráfico, no qual utilizamos a notação: ETANOL_J = (Solução_Mês).

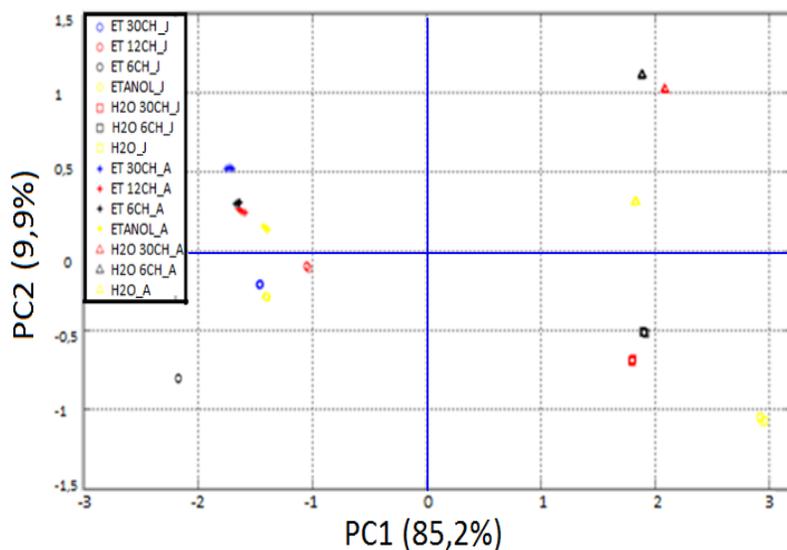


Figura 33 – Gráfico PCA das soluções ultradiluídas e dinamizadas medidas durante os meses de Julho e Agosto, obtido de medidas de capacitâncias em 1 kHz.

Quando analisados em conjunto é possível observar que os dados relacionados ao mês das medidas estão localizados em planos distintos, com 9,9% de variância em PC2. Em PC1 nota-se novamente uma forte diferenciação entre as soluções alcoólicas e aquelas a base de água, com 85,2% de variância, que pode estar atribuído à diferença de permissividade dielétrica entre os meios líquidos analisados. Entretanto, apesar da distinção entre as soluções, não foi possível o agrupamento de soluções em uma mesma concentração medida em dias distintos, além da impossibilidade de correlação das Componentes Principais a alguma grandeza física ou química. Apenas para informação, tivemos variação de $\pm 2^\circ\text{C}$ durante a aquisição desses dados, que não acreditamos ser a principal causa da dispersão observada.

4.7.2 – PCA da mesma solução em diferentes dias

A dispersão relatada acima durante os meses de Julho e Agosto nos levou a investigar a reprodutibilidade das medidas em dias distintos. Foram feitas medidas de impedância de uma mesma solução (Etanol) em três dias distintos, como ilustrado na Figura 34.

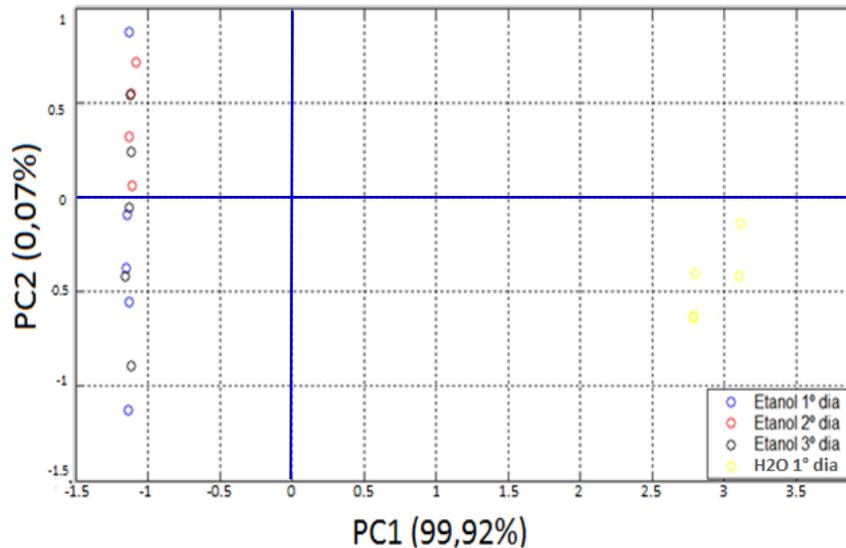


Figura 34 – Gráfico PCA de soluções de etanol medidas em dias distintos, e de uma amostra de água ultrapura, obtido de medidas de capacitâncias em 1 kHz.

Antes de cada medida na solução de etanol, os eletrodos foram avaliados em água ultrapura, utilizada como referência para verificarmos, comparativamente, o grau de dispersão dessas soluções ao longo dos dias de medida. Focando nossa atenção nas soluções de etanol, nota-se uma fraca diferenciação dos dados ao longo de PC2, sem qualquer indício de agrupamento que nos leve a uma distinção entre os dias de medida. Entretanto, a variabilidade observada nas medidas em água ultrapura foi bem menor. Na Figura 35 colocamos separadamente as medidas realizadas em dias distintos para etanol (36a) e água ultrapura (36b), para melhor observarmos as variações que ocorrem ao longo de dias distintos de medidas.

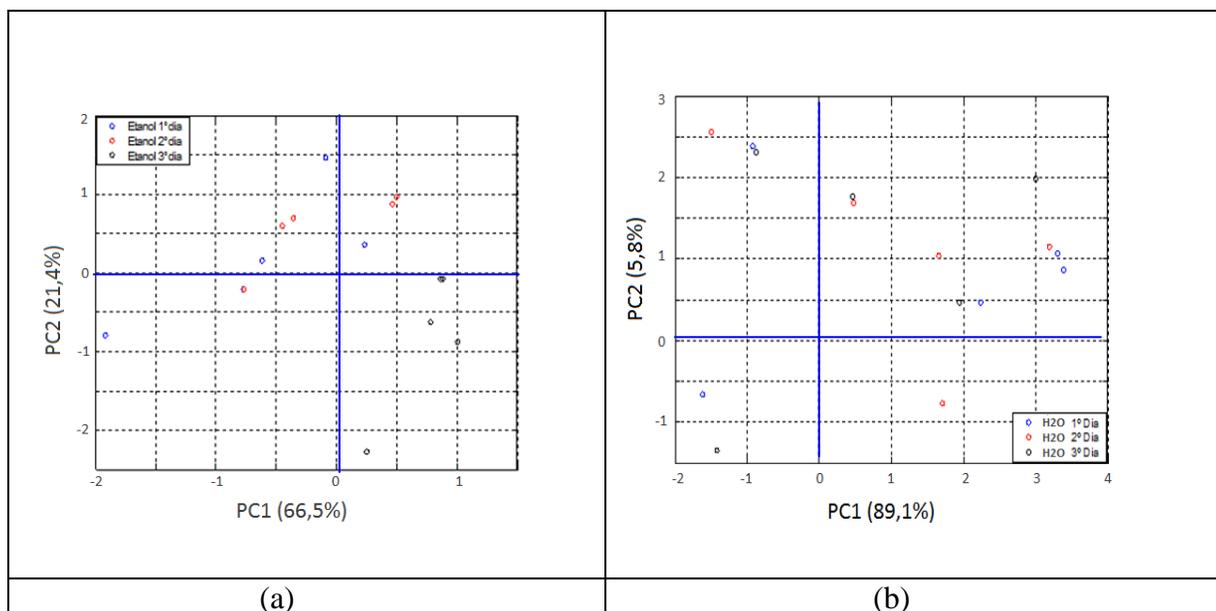


Figura 35 – Gráfico PCA para as capacitâncias em 1 kHz, realizadas em dias diferentes: (a) etanol; (b) água ultrapura.

A variância total (PC1 + PC2) na figura acima foi de 87,9% para o etanol, e 94,8% para a água ultrapura. Pode-se observar uma maior distribuição entre PC1 e PC2 para as medidas em etanol, e um peso maior atribuído a PC1 para a água ultrapura. Em outras palavras, isso corresponde à menor variabilidade nas medidas em água ultrapura (maior agrupamento dos dados), bastando para isso observar a variação que ocorre ao longo do eixo PC2. Uma possível explicação seria interferências decorrentes das forças intermoleculares nas soluções devido à presença de etanol, que influenciaria o sistema como um todo, resultando em consequente variações nas medidas elétricas.

4.7.3 – PCA de soluções diferentes em um mesmo dia

Ilustramos na Fig. 36 abaixo medidas de capacitância em 1 kHz realizadas em amostras ao longo de um mesmo dia. Para ilustrar, todos os dados da Fig. 36(a) foram obtidos em um mesmo dia, e todos aqueles da Fig. 36(b) ao longo de outro dia de medidas.

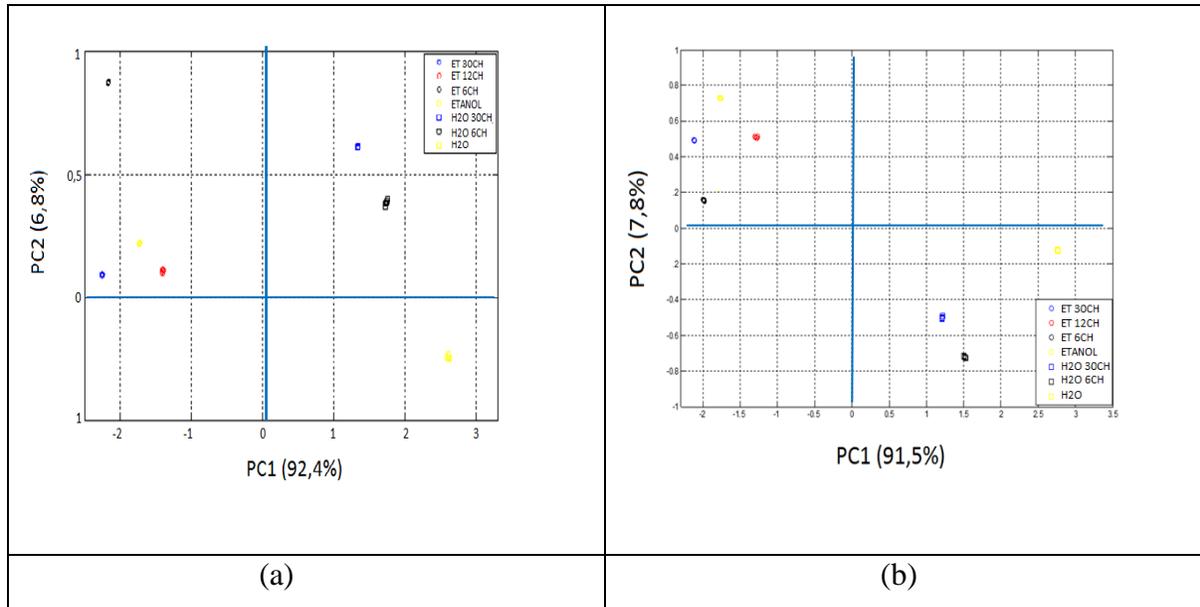


Figura 36 – Medidas realizadas em 1 kHz ao longo de dois dias distintos de medidas: (a) soluções ultradiluídas medidas em 18 de agosto (b) soluções ultradiluídas medidas em 21 de agosto.

Nas medidas realizadas ao longo de um mesmo dia há um melhor agrupamento nas soluções de etanol (Figuras 37 e 38), novamente com maior agrupamento das soluções de etanol mais diluídas próximas ao etanol sem presença de insumo ativo. Embora nos dois gráficos a diferenciação da solução de H₂O seja observada, há problemas evidenciados no sentido da reprodutibilidade dos padrões observados. Por exemplo, na Fig. 36(a) a solução 6CH de etanol se diferencia bastante das demais, enquanto na Fig.36(b) nem tanto.

Comparativamente, fizemos a análise PCA dos mesmos dados acima em função da tangente de perda ($\tan \delta$). Para obter um gráfico com maior fidelidade às medidas em termos da

tangente de perda, aumentados a resolução das medidas elétricas em 40 pontos/década, o que aumentou o tempo necessário para aquisição de dados. A Figura 37 abaixo corresponde à Fig. 36(a), só que em termos de $\tan \delta$.

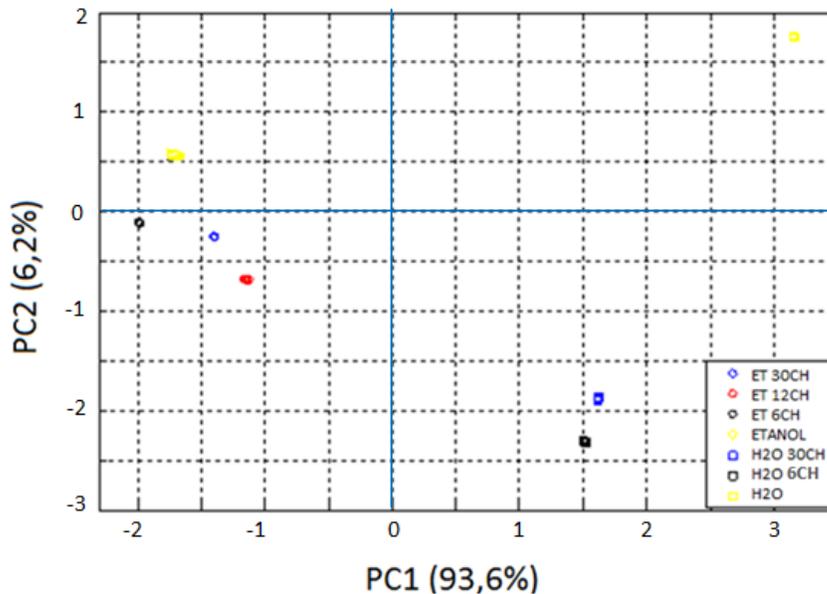


Figura 37 – Gráfico PCA para as soluções distintas medidas em um mesmo dia, em termos de $\tan \delta$

Novamente, há grande separação entre as soluções de etanol e aquelas preparadas em água, como era de se esperar. Ao compararmos a soma (PC1 + PC2) da Fig. 37 com aquela apresentada nas Figuras 32 e 33, temos 99,8% de correlação para a Fig. 37, 97,5% para as medidas realizadas em julho, e 99,5% para as medidas realizadas em agosto. O gráfico apresentado na Figura 37 foi obtido por meio de medidas realizadas em um dia distinto da obtenção dos dados apresentados na Figura 36. Apesar da pouca diferença com as medidas realizadas em agosto, notamos maior reprodutibilidade para medidas realizadas ao longo de um mesmo dia, como ilustrado na Figura 38.

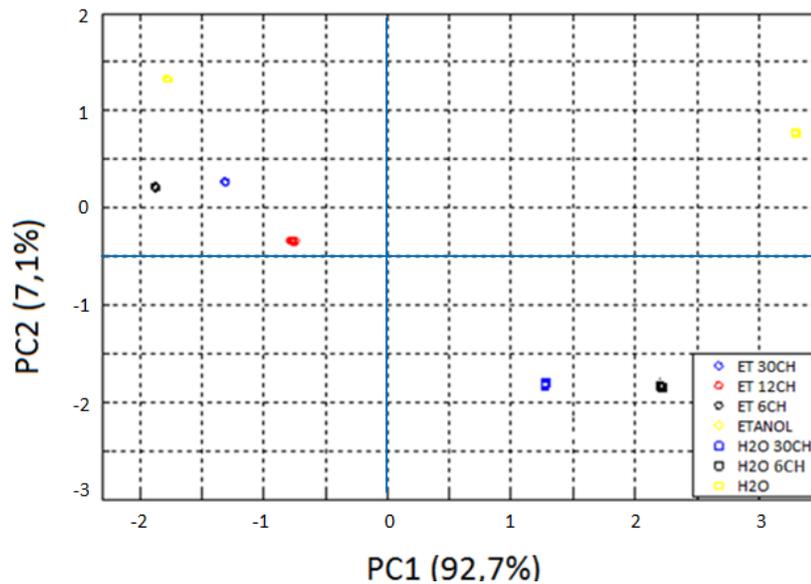


Figura 38 – Gráfico PCA para as soluções ultradiluídas e dinamizadas a base de etanol e a base de água, medidas em um mesmo dia.

Em relação à $\tan \delta$, observamos menor variação nos dados, quando comparado ao método convencionalmente realizado de medidas em uma frequência fixa na região de kHz. Essas medidas nos levaram à repetição do processo em um novo lote de soluções (todas preparadas apenas em etanol), com denominações na Tabela 3, além da inclusão de uma solução mais concentrada (1CH). Todos os gráficos PCA a seguir referem-se à medidas de $\tan \delta$.

Tabela 3 – Discriminação das soluções alcoólicas utilizadas nas Figuras 38 e 39.

Solução	Identificação
1 CH	ET 1CH
6 CH	ET 6CH
30% etanol e 70% água	ETANOL
12 CH	ET 12CH
30 CH	ET 30CH

A Figura 39 ilustra o resultado das medidas das soluções acima ao longo de uma mesmo dia (novamente em função de $\tan \delta$).

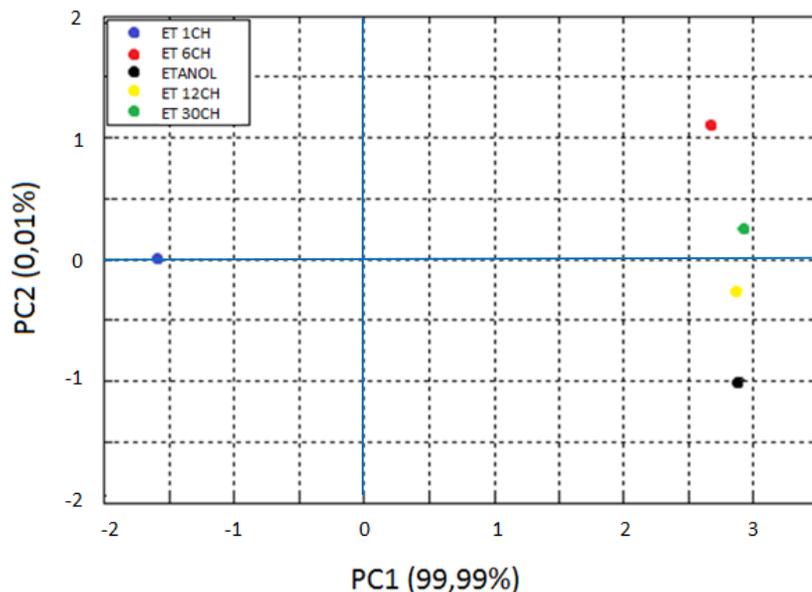


Figura 39 – PCA das soluções de etanol com diferentes concentrações de Beladona, em função de $\tan \delta$.

Verificamos na Figura 39 acima que a solução 6CH aparece ligeiramente distanciada das soluções ETANOL, 12CH e 30CH, entretanto, estas estão fracamente dispersas em PC1. Embora estas soluções sejam diferenciadas devido à coordenada PC1 apresentar alta correlação entre os dados, indicando bom agrupamento dos mesmos, observa-se ao longo de PC2 baixa diferenciação com apenas 0,01% de variância. O que mais nos chamou a atenção foi à diferenciação, novamente, de soluções nas quais matematicamente não deveríamos ter mais a presença do insumo ativo (separação das soluções mais diluídas ao longo de PC2), e como esperado o distanciamento da solução 1CH das demais, por ser a mais concentrada. Essa tendência foi repetida, como ilustrado na Figura 39, desde que todas as soluções sejam analisadas ao longo do mesmo dia.

A Figura 40 ilustra o resultado das medidas das soluções de etanol em diferentes concentrações ao longo de uma mesmo dia (novamente em função de $\tan \delta$)

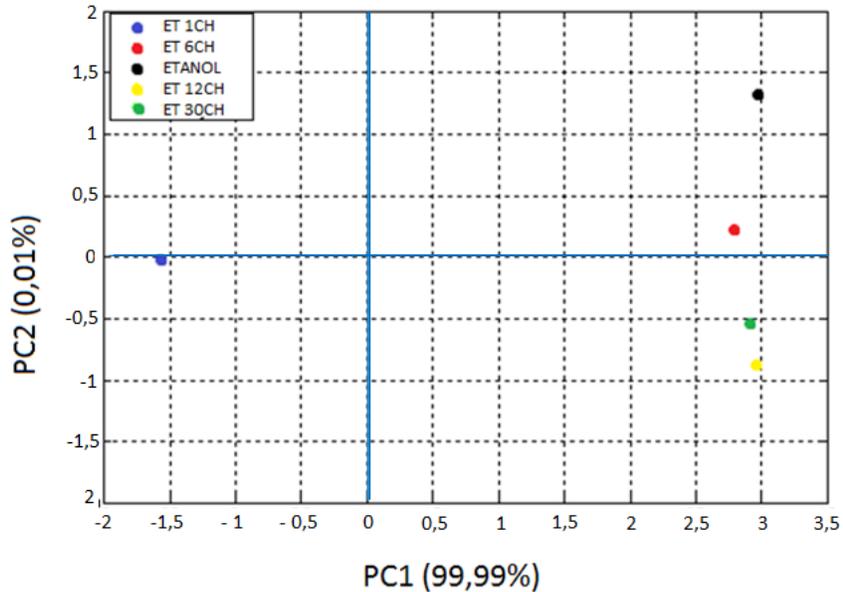


Figura 40 – PCA das soluções de etanol com diferentes concentrações de beladona

Na Figura acima é possível observar um leve afastamento da solução 6CH em relação às soluções, ETANOL, 12CH e 30CH na Primeira Componente Principal, como relatado anteriormente. Adicionalmente, levando em consideração que as medidas elétricas relativas às Figuras 39 e 40 foram obtidas com o incremento de 50 pontos por década de frequência. Pode-se perceber que os pontos relacionados a cada amostra estão sobrepostos, que deve possivelmente à estabilização do sistema associada ao valor da tangente de perda.

Podemos observar de forma mais clara melhor diferenciação das soluções em um gráfico PCA das soluções sem a presença da solução de 1CH, como apresentado nas Figuras 41 e 42.

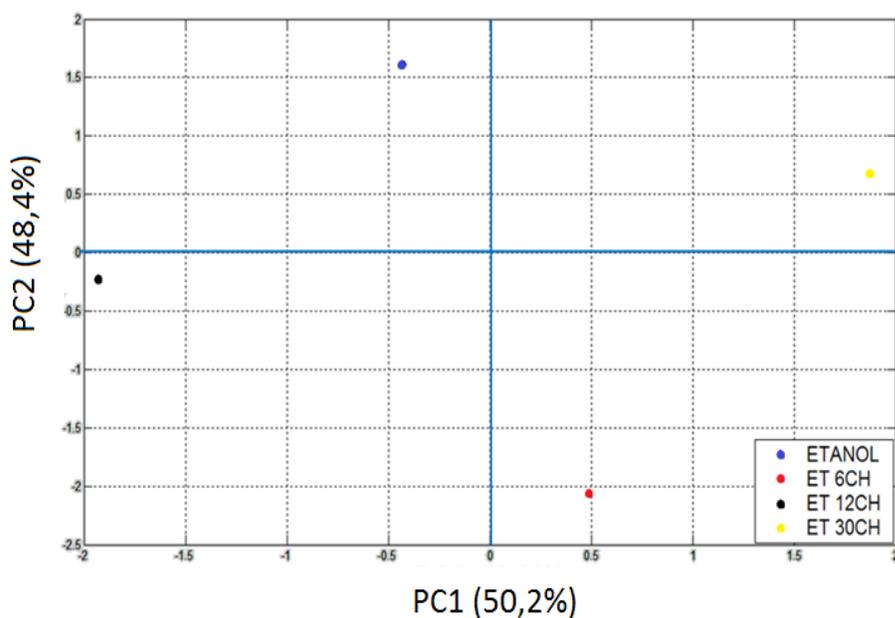


Figura 41 – PCA das soluções de etanol com diferentes concentrações de beladona dia 10 de Dezembro

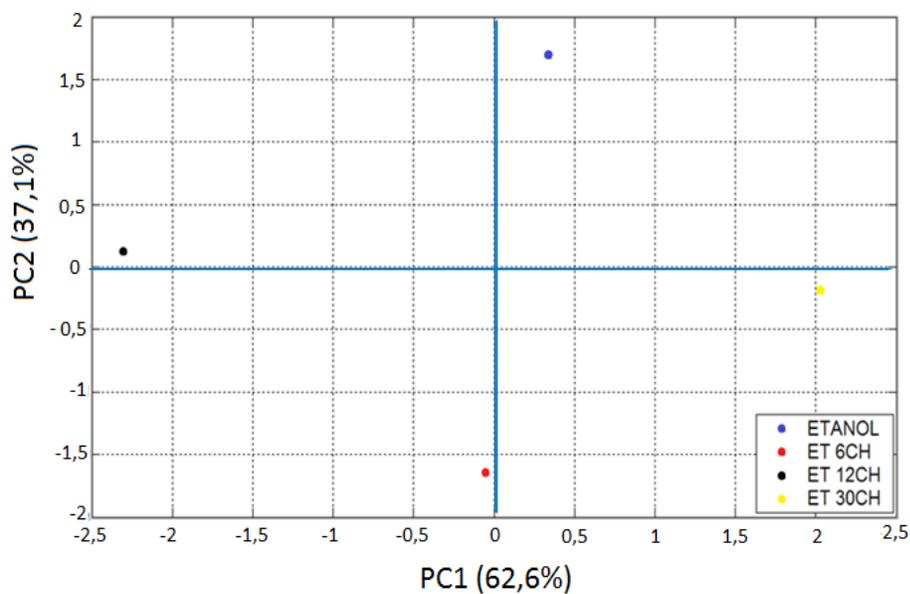


Figura 42 – PCA das soluções de etanol com diferentes concentrações de beladona dia 13 de Dezembro

Estas medidas ilustram a diferenciação das soluções analisadas em dias distintos, sendo melhor visualizada na ausência da solução de 1CH. É possível notar que as soluções de etanol

com o agente ativo em diferentes concentrações possuem disposições semelhantes nos dois gráficos (Figura 41 e 42) apresentados anteriormente. Infelizmente, não conseguimos atrelar variáveis físicas ou químicas, como concentração de beladona, por exemplo, às Componentes Principais.

5 – Algumas considerações

O efeito coletivo no volume da amostra, dirigido pelo processo de dinamização (diluir e agitar mecanicamente através das sucussões) disponibilizaria a informação inicial contida pela substância diluída em nível microscópico. Se tivermos muitas moléculas de água formando uma rede de ligações Hidrogênio distorcidas, teremos ruptura e rotações de algumas dessas ligações, produzindo defeitos orientacionais que migrarão através do líquido³³. Acreditamos que o campo elétrico de um íon ou molécula solvatados nessa estrutura poderia influenciar a migração desse defeito, que seria potencializada pela agitação causada durante a sucussão, favorecendo o transporte de informação no líquido. Sabe-se que as ligações Hidrogênio carregam informações de solutos e superfícies em distâncias significativas na água líquida, sendo um efeito sinérgico, direcionado e extensivo. Em outras palavras, a presença do soluto afeta a reorientação das moléculas de água vizinhas, induzindo movimentos correspondentes nas camadas mais próximas, tendo como resultado uma orientação molecular que persiste, alterando o padrão do sistema líquido como um todo.

Deste modo, a literatura indica que a água é capaz de armazenar e transmitir informação sobre substâncias dissolvidas através de sua rede de ligações via ligações Hidrogênio, qualquer que seja a variação causada nessa rede pelo soluto, mesmo quando diluído abaixo do número de

Avogadro (10^{-30} M, por exemplo). Sem entrarmos no mérito sobre o efeito memória da água, que tem causado grande controvérsia na comunidade científica, como evidenciado pelos resultados de L. Rey⁶⁹, os dados apresentados indicam que a “*língua eletrônica*” detecta diferença entre as soluções preparadas, mesmo naquelas que, em princípio, não teríamos mais a presença do insumo ativo.

6 – Conclusão

As medidas elétricas realizadas corroboraram as análises de UV-vis, mostrando a diferença de resposta elétrica do sensor antes e após a deposição dos filmes, demonstrando que de fato a adesão observada do material na superfície do substrato de quartzo também ocorre sobre o eletrodo interdigitado. Com a utilização da espectroscopia de impedância, foi possível observar a diferença de comportamento entre os filmes de quitosana, demonstrando que embora o filme de quitosana em solução salina tenha apresentado uma maior adsorção e adesão, quando comparado ao primeiro filme de quitosana fabricado, a sua utilização como sensor tornou-se inviável pela possibilidade de interferência do sal presente na estrutura do filme.

Os resultados das medidas de impedância durante a fabricação do filme indicaram que após a deposição dos filmes a resposta elétrica do sensor modificava, portanto, as unidades sensoriais fabricadas poderiam ser utilizadas para compor um dispositivo “*língua eletrônica*”. A análise das amostras foi realizada por meio dos resultados das medidas de capacitância juntamente com a utilização do método estatístico PCA, que favoreceu a diferenciação das soluções ultradiluídas e dinamizadas.

Inicialmente, obtivemos uma dificuldade de correlacionar os dados experimentais, que pode estar associada não somente aos dias em que os dados foram coletados, mas também às

variações de temperaturas devido à baixa umidade do ar, que propiciava uma amplitude térmica apreciável nos meses em que as primeiras medidas foram realizadas (Julho e Agosto). O controle de temperatura com a utilização do ar-condicionado favoreceu a diminuição desta amplitude térmica.

O método alternativo de se medir uma quantidade significativa de amostra durante um mesmo dia apresentou-se viável, devido obtermos uma maior correlação entre os dados obtidos durante este procedimento, e a utilização da tangente de perda como parâmetro de obtenção de informação indicou uma maior reprodutibilidade da análise PCA nas medidas de capacitância realizadas.

7 – Sugestões para trabalhos futuros

Uma contribuição fundamental desta dissertação foi à utilização do dispositivo “*língua eletrônica*” para a diferenciação das soluções ultradiluídas e dinamizadas. Acreditamos que haja necessidade de aplicar outras técnicas que possam contribuir na diferenciação e análise destas soluções, e que não foram apresentadas neste trabalho, como a espectroscopia Raman e SFG, mas que pretendemos dar continuidade através das colaborações existentes.

Desta forma, a continuidade do estudo de soluções ultradiluídas e dinamizadas deve ser respaldada no aperfeiçoamento do dispositivo “*língua eletrônica*” com o objetivo de torná-lo uma ferramenta usual no processo de avaliação destas soluções. Além disso, a utilização da espectroscopia de impedância durante o crescimento dos filmes utilizados neste trabalho demonstrou ser uma ferramenta interessante no processo de investigação da cinética de crescimento dos filmes ultrafinos, podendo também ser amplamente explorada neste sentido.

8 – Resultados decorrentes desta dissertação

No decorrer dos dois anos de Mestrado os seguintes trabalhos na forma de pôster foram apresentados em congressos:

- i) “Study of the kinetic growth of chitosan LbL films throughout electrical measurements”, autores – Mateus Silva Laranjeira, Cléber aparecido Rocha Dantas e Antonio Riul Jr. Apresentado em, IX Encontro da SBPMat na cidade de Ouro Preto – MG de 24 à 28 de outubro de 2010.
- ii) “Impedance spectroscopy measurements applied to the LbL technique”, autores – Mateus Silva Laranjeira, Cléber aparecido Rocha Dantas e Antonio Riul Jr. Apresentado em, 1º Workshop em ciência e Tecnologia de Superfícies e Filmes Finos na cidade de Sorocaba - SP, de 18 à 22 de outubro de 2010.
- iii) “Electrical Investigation of the Kinetic Growth of LbL PEDOT/PAH Films”, autores – Mateus Silva Laranjeira, Cléber aparecido Rocha Dantas e Antonio Riul Jr. Apresentado em, II Worksop do Instituto Nacional de Eletrônica Orgânica – INEO na cidade de Atibaia – SP, de 29 à 31 de março de 2010.

Anexo A: Determinação da tangente de perda através de um circuito RC paralelo

Os circuitos equivalentes são muito utilizados para a representação dos dados de impedância, e um modelo prático usualmente utilizado é um capacitor ideal C ligado em paralelo com um resistor ideal de resistência R. Este circuito está representado na Fig. A.1.

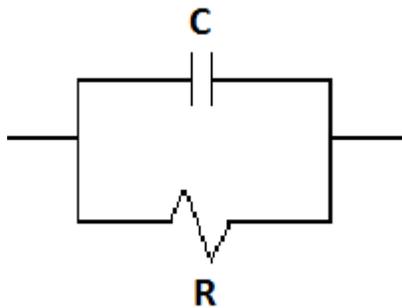


Figura A.1 – Associação em série de um capacitor C e um resistor R.

É possível realizar uma perturbação neste sistema ao aplicar uma diferença de potencial (d.d.p) V que varia com o tempo, gerando uma corrente que, do mesmo modo, varia com o tempo. Cada elemento do circuito produzirá uma corrente característica, e a corrente resultante será a soma destas correntes individuais nos elementos R e C, de modo que:

$$I(t) = I_c(t) + I_r(t) \quad (\text{A.1})$$

Considerando que a diferença de potencial aplicada possua a forma

$$V^*(\omega, t) = V_0 e^{i\omega t} \quad (\text{A.2})$$

temos que a carga no capacitor será dada por, $Q = CV$. Desta forma, podemos escrever

$$Q = CV^*(t) \quad (\text{A.3})$$

na qual a corrente pode ser representada pela equação:

$$I = dQ/dt = C \frac{d[CV^*(t)]}{dt} \quad (\text{A.4})$$

Desta forma, a corrente capacitiva será:

$$I^*_c(t) = C \frac{dV^*(t)}{dt} = C \frac{d}{dt}(V_0 e^{i\omega t}) = i\omega CV^*(t) \quad (\text{A.5})$$

Pela lei de Ohm, a corrente resistiva é representada por:

$$I^*_R = \frac{V^*(t)}{R} = \frac{V_0}{R} e^{i\omega t} \quad (\text{A.6})$$

Podemos observar por meio da equação (A.6) que a corrente no resistor está em fase com a diferença de potencial aplicada, entretanto, de acordo com a equação (A.5) a corrente no capacitor encontra-se defasada de 90° em relação a $V(t)$. A soma das correntes capacitiva e resistiva fornece:

$$I^*(t) = \frac{V^*(t)}{R} + i\omega CV^*(t) \quad (\text{A.7})$$

As duas partes de corrente que flui indica que a corrente resultante não estará 90° fora de fase com a voltagem (devido à contribuição de I_R), estabelecendo um ângulo existente entre $I(t)$ e $V(t)$ de $(90^\circ - \delta)$, que representa a dissipação de energia elétrica sob a forma de calor.

Na Figura A.2 o vetor I_c simula o armazenamento de energia elétrica, proporcional a intensidade de corrente I_c dependente da frequência. A energia dissipada no dielétrico é representada pelo vetor I_R , proporcional a corrente de condução no resistor que se encontra em fase com a diferença de potencial V .

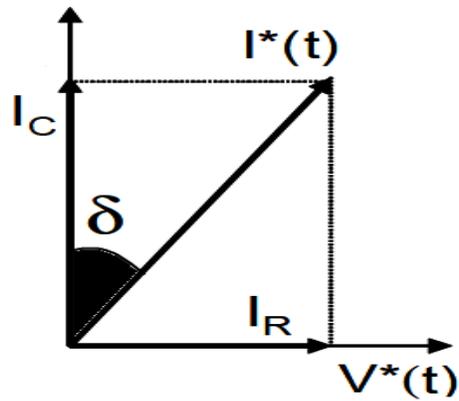


Figura A.2 – Representação vetorial das correntes alternadas e da tensão aplicada a um circuito RC paralelo.

A tangente do ângulo (δ), conhecida como tangente de perda, é uma propriedade do dielétrico e pode ser quantificada por meio da equação a seguir.

$$\mathit{tg}\delta = \frac{|I_R|}{|I_C|} = \frac{1}{\omega RC} \quad (\text{A.8})$$

na qual o valor RC é constante e tem dimensão de tempo, sendo que este valor está relacionado ao tempo de relaxação do sistema.

REFERÊNCIAS

- 1 SHAN, A. et al. Are the clinical effects of homoeopathy placebo effects? Comparative study of placebo-controlled trials of homoeopathy and allopathy. *The Lancet*, 366, p. 726-32, 2005.
- 2 CAICEDO, A.; ROPER, S.D. Taste receptor cells that discriminate between bitter stimuli. *Science*, v. 291, p. 1557-1560, 2001.
- 3 TOKO, K. A taste sensor. *Measurement Science and Technology, Bristol*, v. 9, n. 12, p. 1919-1936, 1998.
- 4 RIUL, Jr. A. A Ciência imitando o corpo humano. *Revista Physicae*, n. 3, p. 39-45, 2002.
- 5 SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN T. A. *Princípios de análise instrumental*. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.
- 6 MARTÍNEZ-MÁÑEZ, R. et al. An electronic tongue for qualitative and quantitative analyses of anions in natural waters. *Journal of Applied Electrochemistry*, v. 39, p. 2505-2511, 2009.
- 7 RUDNITSKAYA, A. et al. Instrumental measurement of beer taste attributes using an electronic tongue. *Analytica Chimica Acta*, 646, p. 111-118, 2009.
- 8 BEULLENS, K. et al. Analysis of tomato taste using two types of electronic tongues. *Sensors and Actuators B*, v. 131, p. 10-17, 2008.
- 9 WINQUIST, F. et al. Electronic tongues for environmental monitoring based on sensor arrays and pattern recognition: a review. *Analytica Chimica Acta*, v. 426, n. 2, p. 217-226, 2001.
- 10 MORENO-BARON, L. et al. Application of the wavelet transform coupled with artificial neural networks for quantification purposes in a voltammetric electronic tongue. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 113, n 1, p. 487-499, 2006.
- 11 APETREI, C. et al. Using an e-tongue based on voltammetric electrodes to discriminate among red wines aged in oak barrels or aged using alternative methods: Correlation between electrochemical signals and analytical parameters. *Electrochimica Acta*. v. 52, n. 7, p. 2588-2594, 2007.

-
- 12 CARLSSON, A.; KRANTZ-RÜLCKER, C. ;WINQUIST, F. An electronic tongue as a tool for wet-end monitoring. *Nordic Pulp Paper Res. J.*, v. 16, p. 319-326, 2006.
- 13 KOLLER, U. *The electronic tongue in Dairy industry*. (Licentiate Thesis n. 859). Linköping University 2000.
- 14 RIUL Jr., A. et al . Artificial taste sensor: efficient combination of sensors made from langmuir-blodget films of conducting polymers and a ruthenium complex and self-assembled films of na azobenzene-containing polymer. *Langmuir*, n. 18, p. 239-245, 2002.
- 15 WIZIACK, N. K. L. et al. *Sensors and Actuators. B: Chemical*, v. 140 n. 2, p. 508-513, 2009.
- 16 ZUCOLOTTI, Vet al. Integrated biosensor platforms for antibody detection. *Anal. Chem*, v. 79, p. 2163-2167, 2007.
- 17 RIUL. Jr., A. et al. Electronic Tongue: Science Mimicking Nature. In: FIRST WORLD CONGRESS ON SYNTHETIC RECEPTORS, 2003, Lisboa. *Anais*, Lisboa: [s.n.], 2003.
- 18 RIUL JÚNIOR, A.; GALLARDO SOTO, A. M.; MELLO, S. V.; BONE, S.; TAYLOR, D. M.; MATTOSO, L. H. C. An electronic tongue using polypyrrole and polyaniline. *Synthetic Metals*, Lausanne, v. 132, n° 2, p. 109-116, 2003.
- 19 SANTOS Jr., D. S. et al. A layer-by-layer film of chitosan in a taste sensor application. *Macromolecular Bioscience*, v. 3, p. 591-595, 2003.
- 20 CABRAL, F. P. A. et al. Impedance e-tongue instrument for rapid liquid assessment, *Review of Scientific Instruments*, v. 80, n. 2, 2009.
- 21 TOLEDO, G. L.; OVALE, I. I. *Estatística básica*. 2. ed. São Paulo: Atlas, 1991.
- 22 SHLENS, J. A Tutorial on Principal Component Analysis. *Institute for Nonlinear Science*, versão 2, dez., 2005.
- 23 BEEBE, K. R.; PEEL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. *Chemometrics: a practical guide*. New York: John Wiley & Sons, 1998.

-
- 24 HOTELLING, H. Analysis of a complex of statistical variables into principal components. *Journal of Educational Psychology*, v. 24, p. 417-441, p. 498-520, 1933.
- 25 RIUL Jr., A et al. Recent advances in electronic tongues *Analyst*, v. 135, 2481-2495, 2010.
- 26 MAOZ, R.; NETZER, L.; GUN, J. & SAVIG, J. *J. Chim. Phys.* 85, 1059–1065, 1988.
- 27 DECHER, G. et al. Fuzzy nanoassemblies : towards layered polymeric multicompo sites. *Science*, v. 277, n. 5330, p. 1232-1237, ago. 1997.
- 28 ILER, R. J. Multilayers of colloidal particles. *Colloid Interface Sci.*, v. 21, p. 569, 1966.
- 29 SCHONHOFF, M. Layered complexes: physics of formation and molecular properties. *Journal Physichys*, v. 15, p. R1781-R1808, 2003.
- 30 PATERNO, L. G.; MATTOSO, L. H. C.; OLIVEIRA Jr., O. N. Filmes poliméricos ultrafinos produzidos pela técnica de automontagem: preparação, propriedades e aplicações. *Quím. Nova*, p. 228-235, 2001.
- 31 CLARK S. L.; HAMMOND P. T. Engineering the microfabrication of LBL thin films. *Advanced Materials*, v. 10, n. 18, p. 1515-1519, jan. 1998.
- 32 BRAGA, G. S. *Influência de parâmetros de fabricação em filmes automontados poliméricos*. 2007. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
- 33 EISENBERG, D.; KAUZMANN, W. The structure and properties of water. Oxford: University Press, 2006.
- 34 ZUBAVICUS, Y.; GRUNZE, M. *New Insights into the Structure of Water with Ultrafast Probes*. *Science*, v. 304, p. 974-976, 2004.
- 35 UDACHIN, K. A.; RIPMEESTER, J. A. *A Complex Clathrate Hydrate Structure Showing Bimodal Guest Hydration*. *Nature*, v. 397, p. 420-423, 1999.
- 36 BROWN Jr., G. E. How minerals react with water. *Science*, v. 294, p. 67-70, 2001.
- 37 GARRETT, B. C. Ions at the AirWater interface. *Science*, v. 303, p. 1146-1147, 2004.

-
- 38 KROPMAN, M. F.; BAKKER, H. J. Dynamics of Water Molecules in Aqueous Solvation Shells. *Science*, v. 291, p. 2118-2120, 2001.
- 39 KIM, J. Y. et al. Enhancement of electrical conductivity of poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/poly(4-styrenesulfonate) by a change of solvents. *Synth. Metals*. v. 126, p. 311, 2002.
- 40 FARMACOPÉIA Homeopática Brasileira. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1997.
- 41 FAEZ, R. et al. Polímeros condutores. *Química Nova na Escola*, n. 11, p. 13-18, 2000.
- 42 CALLISTER Jr., W.D. *Fundamentals of materials science and engineering*. 5. ed. New York: John Wiley & Sons, 2001.
- 43 LI, H.S. et al. Preparation and Characterization of Polyaniline-Palladium Composite Films. *Journal Electrochemistry. Soc.* v. 142, p. 798, 1995.
- 44 MURRAY, R. W. *Techniques of chemistry: molecular design of electrodes surfaces*. New York: J. Wiley & Sons Inc, 1992. v. 22, cap. 9.
- 45 WANG, J. *Analytical electrochemistry*. New York: VCH Pub.Inc. cap. 4-5, 1994.
- 46 HEEGER, A. J. Their Applications to High-Efficiency. *Synth. Met. Materialstoday*, v. 15, cap. 6, p. 32-39, 2002.
- 47 GROENENDAAL, L. B. et al. Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) and Its Derivatives: Past, Present, and Future. *Adv. Mater*, v. 12, p. 481, 2000.
- 48 SMITH, R. R. et al. LBL Assembly of Poly (3,4-ethylenedioxythiophene): Poly(styrenesulfonate). *Macromolecules*, v. 39, n. 8, p. 6071-6074, 2006.
- 49 PARK, M.J. et al. Synthesis, Characterization, and Electroluminescence of Polyfluorene Copolymers with Phenothiazine Derivative; Their Applications to High-Efficiency Red and White PLEDs. *Macromolecules*, v. 41, n. 24, p 9643–9649, 2008.

50 GOODMAN, G. A.; RALL, W. T.; NIES, S. A. *The pharmacological basis of therapeutic*. 8. ed. New York: Mcgraw-Hill, 1992. p. 99-107.

51 WAKIZAKA, D. et al. Hole transport in conducting ultrathin films of PEDOT/PSS prepared by layer-by-layer deposition technique. *Polymer*, v. 45, n. 25, p. 8561- 8565, November 2004.

52 ROBERTS, G. A. F. *Chitin Chemistry*. London: Macmillan Press, 1992.

53 GOOSEN, M. E. A. *Applications of chitin and chitosan*. Lancaster: Technomic Publishing Company, 1996.

54 MAJETI, N. V.; KUMAR, R. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers*, v. 46, p.1-27, 2000.

55 AZEVEDO, V. V. C. et al. Quitina e Quitosana: aplicações como biomateriais. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v. 2, n. 3, p. 27-34, 2007.

56 SPIN-NETO, R. et al. Chitosan based biomaterials with medical and dental application: literature review. *Rev. Odontol. UNESP*, v. 37, n.2, p. 155-161, 2008.

57 THARANATHAN, R. N.; PRASHANTH K.V. H. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potentialdan overview. *Trends in Food Science & Technology*, v. 18, p.117-131, 2007.

58 KOLASINSKA, M.; WARSYNSKI, P. The effect of support material and conditioning on wettability of PAH/PSSmultilayer films. *Bioelectrochemistry*, v. 66, p. 65- 70, 2005

59 FELDÖTO, Z.; VARGA, I.; BLOMBERG, E. Influence of Salt and Rinsing Protocol on the Structure of PAH/PSSPolyelectrolyte Multilayers. *Langmuir*, v. 26, n. 22, p. 17048-17057, 2010.

60 SHEALY, N. *Enciclopédia ilustrada de remédios naturais*. Barcelona: Konemann, 1999.

61 WILSON, HEATHER; FOSTER, JEREMY. *Buzzed : the straight facts about the most used and abused drugs from alcohol to ecstasy*. New York: W.W. Norton, 2008. p. 107.

62 BELLAVITE, P. Immunology and homeopathy: historical background. *eCAM*, v. 2, n. 4, p. 441-452, 2005.

-
- 63 GOODMAN, G. A.; RALL, W. T.; NIES, S. A.; *The pharmacological basis of therapeutic*. 8. ed. New York: McGraw-Hill, 1992. p. 99-107.
- 64 JIAN-GING, CHEN; HUNG-YU, WEI; KUO-CHUAN, HO. Using modified poly(3,4-ethylene dioxythiophene): Poly(styrenesulfonate) film as a counter electrode in dye-sensitized solar cells. *Solar Energy Materials & Solar Cells*, v. 91, p. 1472–1477, 2007.
- 65 CLAESSEON, P. M.; NINHAM, B. W. pH-dependent interactions between adsorbed chitosan layers. *Langmuir*, v.8, p.1406-1412, fevereiro, 1992.
- 66 TAYLOR, D. M.; MACDONALD, A. G. AC Admittance of the metal/insulator/electrolyte interface. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, n.20, p.1277-1283, 1987.
- 67 CASELI, L. et al. Controlled fabrication of gold nanoparticles biomediated by glucose oxidase immobilized on chitosan layer-by-layer films. *Materials Science and Engineering, C* 29, p. 1687–1690, 2009.
- 68 LOURENÇO, J. M. C.; RIBEIRO, A. P.; BOTELHO, M. A.; RAPOSO, M. Counterions in layer-by-layer films: Influence of the drying process. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 313, p. 26–33, 2007.
- 69 REY, L. Thermoluminescence of ultra-high dilutions of lithium chloride and sodium chloride. *Physica*, v. 323, p. 67-74, 2003.