

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP  
Faculdade de Ciências e Tecnologia

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais  
POSMAT



Diogo Volpati

**Filmes nanoestruturados aplicados ao sistema de  
língua eletrônica: um estudo de interfaces**

Presidente Prudente, SP  
2012

Diogo Volpati

## **Filmes nanoestruturados aplicados ao sistema de língua eletrônica: um estudo de interfaces**

Tese apresentada como requisito à obtenção do título de Doutor à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais, área de concentração “Materiais Poliméricos, Híbridos e Nano-Estruturados”, sob a orientação do Prof. Dr. Carlos José Leopoldo Constantino.

Banca Examinadora:

**Prof. Dr. Carlos José Leopoldo Constantino**

Universidade Estadual Paulista – UNESP – Campus de Presidente Prudente, SP

**Prof. Dr. Dante Luis Chinaglia**

Universidade Estadual Paulista – UNESP – Campus de Rio Claro, SP

**Prof. Dr. Marcelo Mulato**

Universidade de São Paulo – USP – Campus de Ribeirão Preto, SP

**Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno**

Universidade de Brasília – UNB – Brasília, DF

**Prof. Dr. Fernando Vieira Paulovich**

Universidade de São Paulo – USP – Campus de São Carlos, SP

Presidente Prudente, SP

2012

Volpati, Diogo.

Filmes nanoestruturados aplicados ao sistema de língua eletrônica: um estudo de interfaces / Diogo Volpati, 2012

167 f. : il.

Orientador: Carlos José Leopoldo Constantino

Tese (Doutorado)-Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente, 2012

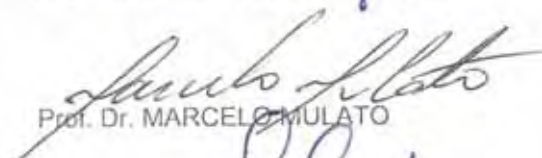
1. Língua eletrônica. 2. Espectroscopia de impedância. 3. Filmes finos. I. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia. II. Título.

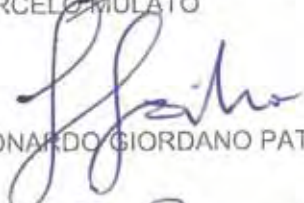
**ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE DIOGO VOLPATI, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MATERIAIS, DO(A) FACULDADE DE CIÊNCIAS DE BAURU.**

Aos 15 dias do mês de agosto do ano de 2012, às 13:00 horas, no(a) Anfiteatro II da FCT/Unesp, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. CARLOS JOSÉ LEOPOLDO CONSTANTINO do(a) Departamento de Física, Química e Biologia / Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente, Prof. Dr. DANTE LUIS CHINAGLIA do(a) Departamento de Física / Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Prof. Dr. MARCELO MULATO do(a) Departamento de Física e Matemática / Universidade de São Paulo, Prof. Dr. LEONARDO GIORDANO PATERNO do(a) Campus Universitário Darcy Ribeiro / Universidade de Brasília, Prof. Dr. FERNANDO VIEIRA PAULOVICH do(a) Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação / Universidade de São Paulo, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da TESE DE DOUTORADO de DIOGO VOLPATI, intitulado "FILMES NANOESTRUTURADOS DE MATERIAIS ORGÂNICOS APLICADOS AO SISTEMA DE LÍNGUA ELETRÔNICA: UM ESTUDO DE INTERFACES". Após a exposição, o discente foi argüido oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo 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. CARLOS JOSÉ LEOPOLDO CONSTANTINO

  
Prof. Dr. DANTE LUIS CHINAGLIA

  
Prof. Dr. MARCELO MULATO

  
Prof. Dr. LEONARDO GIORDANO PATERNO

  
Prof. Dr. FERNANDO VIEIRA PAULOVICH

# Dedicatória

*À minha família, mais uma vez.  
Pai, Mãe, Dedé e Preta:  
sem vocês eu teria ficado pelo meio do caminho.*

*“Aprendi com a primavera a me deixar cortar,  
e a voltar sempre inteira.”*

*Cecília Meireles*

## Agradecimentos

*Pai e Mãe, por me darem TODAS as condições para nunca desistir. Pelo apoio incondicional. Pelo amor incondicional. Pela simplicidade exemplar. Por sempre estarem lá, dispostos a me ajudar no que fosse preciso. Da mesma forma, minha irmã Dedé, pela amizade, carinho e companheirismo... amo vocês.*

*À Mo, Preta, pessoa com quem tenho dividido nos últimos anos alegrias e angustias. Agradeço por ser minha companheira e minha incentivadora particular, aturando todos os meus dias mal humorados. Agradeço pelo seu amor incondicional e por fazer parte da minha vida.*

*Ao Casé por me orientar nos últimos sete anos, me dando total incentivo, confiança e suporte. Sempre ensinando que a vida é para ser vivida, e que é caminhando que se faz o caminho. Obrigado pela sua amizade.*

*Ao Totó pelos inúmeros incentivos, pessoa fundamental para a realização deste trabalho. Da mesma maneira, agradeço aos que contribuíram diretamente no projeto: Fernando V. Paulovich, Milton H. Shimabukuro, Osvaldo N. Oliveira Jr. e Cleber R. Dantas. Também devo agradecer ao co-orientador Neri Alves e a Clarissa A. Olivati por toda ajuda.*

*Agradeço a toda equipe do Hemocentro da Unicamp. Obrigado por desenvolverem o trabalho com esmero e carinho. Da mesma forma, obrigado Dr. Marcelo Segal pela sua prontidão e cuidado. Sem vocês, talvez eu não estivesse aqui digitando essas palavras.*

*Àqueles amigos que quando “o tempo fechou” estavam lá para me suportar: obrigado Pedrones, Carlinhos e Ivo. Vocês são fera...parceiros!!*

*Aos amigos de “república” que me aturaram nos últimos 10 anos. Obrigado Luiz Fernando, Paulinho Nazo, Julião, Deuber, Caito, DaPonta, e Alvarito. Nesse time tenho que escalar Itu, Gean, Gleyson Negão e Pirapó.*

*À todos os amigos do Noix e DFQB, principalmente Pri, Leo, João, Zanfolim, Aldo, Carlitos, Silvio e Juvanir. Obrigado pela amizade e convivência.*

*I would like to thank Dr. Aroca and all friends from B-77 lab. Especially I have to thank my Canadian family, Janete and Bill, for all help, affection and friendship: you are something else!*

*À todos meus familiares que, mesmo não sabendo muito bem o que faço, sempre me deram força e incentivo. Especialmente tenho que agradecer ao meu Tio Gede pelo incentivo dado ao estudo desde criança, e pelo exemplo de perseverança.*

*À POSMAT, em especial ao professor Paulo Noronha e Andressa Talon.*

*À CNPq e CAPES, pelo apoio financeiro durante o doutorado.*

VOLPATI, D., **Filmes nanoestruturados aplicados ao sistema de língua eletrônica: um estudo de interfaces**. 2012. 164f. Tese (Doutor em Ciências e Tecnologia de Materiais)-UNESP, Presidente Prudente, 2012.

Neste trabalho foram combinadas técnica de projeções, análise de componentes principais (PCA) e correlações de Pearson, além das técnicas de espalhamento Raman e microscopia de força atômica (AFM), para abordar algumas questões relacionadas às *línguas eletrônicas* baseadas em filmes finos e espectroscopia de impedância. Foram preparadas unidades sensoriais compostas por eletrodos interdigitados (EID) de platina recobertos por filmes finos formando duas *línguas eletrônicas*. Na primeira abordagem (*língua eletrônica 1*) foi avaliado o papel desempenhado pela espessura do filme que compõe a unidade sensorial. Para isso optou-se por fixar o tipo do material que dá origem ao filme (perileno) e variar a espessura, desde uma monocamada até 120 nm. Na segunda abordagem (*língua eletrônica 2*) foi avaliado o papel desempenhado pelo tipo do material que dá origem ao filme e pela técnica de processamento empregada para crescer o filme. Para isso foram escolhidos diferentes materiais, como semicondutores (perileno e duas ftalocianinas metálicas), isolante (lignina) e lipídios utilizados como sistemas miméticos de biomembranas (DPPG e DODAB), os quais foram processados na forma de filmes finos pelas técnicas Langmuir-Blodgett (LB), Layer-by-Layer (LbL) e evaporação térmica a vácuo (PVD). As duas *línguas eletrônicas* foram utilizadas para detectar  $\text{Cu}^{2+}$ , o azul de metileno (fármaco) e sacarose em soluções aquosas com concentrações que variaram de 10 nM até 1 mM. Os dados de capacitância em função da frequência, obtidos a partir de medidas da impedância, foram analisados por métodos de visualização de informações (técnica de projeções), PCA e correlação de Pearson. A partir dos resultados foi verificado que o uso de filmes finos - até cerca de 10 nm de espessura - pode aumentar a sensibilidade das *línguas eletrônicas*, além destes filmes serem menos suscetíveis à mudanças na sua estrutura quando imersos nas soluções para as medidas elétricas se comparados com os filmes mais espessos. Também foi inferido que para baixas concentrações das soluções contendo  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno (até 1  $\mu\text{M}$ ), ou para todas as concentrações de sacarose, as respostas elétricas foram dominadas pelas características dos filmes finos que compõem as unidades sensoriais (tipo de material, técnica de fabricação e espessura do filme). Para as altas concentrações das soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno (soluções eletrolíticas), as respostas elétricas foram dominadas pelas características das soluções, principalmente a concentração, diminuindo a importância das características do filme. Foram encontrados indícios de que a adsorção dos analitos na superfície dos filmes seria um dos fatores relacionados à alta sensibilidade das unidades sensoriais, os quais foram verificados pela espectroscopia micro-Raman usando azul de metileno como analito alvo. As análises e os resultados apresentados neste trabalho podem servir como uma nova rota de seleção de materiais e arquiteturas supramoleculares para sensores e biossensores, além de sugerir caminhos para estudar os mecanismos que levam este conjunto de sensores a alta sensibilidade.

Palavras-chave: língua eletrônica, espectroscopia de impedância, filmes finos.



VOLPATI, D., **Nanostructured films applied to electronic tongue system: an interface study**. 2012. 164s. Thesis (Doctor in Science and Technology of Materials)- UNESP, Presidente Prudente, 2012.

This work combined projection techniques, principal component analysis (PCA) and Pearson's correlation, as well as micro-Raman scattering and atomic force microscopy (AFM), to address some issues regarding *electronic tongue* based on thin films and impedance spectroscopy. Sensing units were composed by interdigitated electrodes (EID) covered by thin films, forming two *electronic tongues*. In the first approach (*electronic tongue 1*) it was studied the role played by the film thickness. For this purpose it was fixed the material (perylene) used to grow the film and varied the thickness of the films since from one monolayer to 120 nm. In the second approach (*electronic tongue 2*) it was studied the role played by both the materials and the technique used to grown the films. For this propose it was deliberately chosen different materials as organic semiconductors (perylene and two metallic phthalocyanines), insulator (lignin) and lipids applied as biomembrane mimetic systems (DPPG and DODAB) to be processed in form of thin films by Langmuir-Blodget (LB), Layer-by-Layer (LbL) and physical vapour deposition (PVD) techniques. The sensing units fabricated by both approaches were used to detect  $\text{Cu}^{2+}$ , methylene blue and saccharose in aqueous solutions since 1 mM down to 10 nM, and the capacitance data obtained from impedance were analyzed by multivariate projection technique, PCA and Pearson's correlation. It was found that thin films – up to ca. 10 nm - can enhance the sensitivity of *electronic tongues* and they are also less susceptible to structural changes when immersed in solutions, compared to thicker films. It was also verified that to low concentrations of  $\text{Cu}^{2+}$  and methylene blue (up to 1  $\mu\text{M}$ ) or to all concentrations of saccharose, the electrical responses were governed by the thin film (material type, fabrication technique and thickness). For high concentrations of  $\text{Cu}^{2+}$  and methylene blue (above 1  $\mu\text{M}$ ) the electrical responses were governed by solution, mainly concentration, decreasing the thin film importance. It was also found evidences by micro-Raman spectroscopy using methylene blue as target molecule that adsorption of analyte in the films would be to one of the reasons of high sensibility reached by sensing units. The analyses and results presented in this work might be used as a new route to select materials or molecular architectures applied to sensors and biosensors, besides to suggest routs to study the mechanisms that lead sensing units to high sensitivity.

Keywords: electronic tongue, impedance spectroscopy, thin films.

- Figura 1. a) Composição da unidade sensorial: EID recoberto com filme fino (nanômetros de espessura). b) Várias unidades sensoriais compostas por diferentes filmes formando a *língua eletrônica*. A *língua eletrônica* é então imersa na solução em análise para realização das medidas elétricas. ....6
- Figura 2. Fluxograma representando a estratégia para avaliar o papel desempenhado pela espessura do filme no processo de discriminação de analitos com distintas características eletrolíticas, geometria molecular e concentrações, utilizando uma *língua eletrônica* formada por um único material (AzoPTCD). ....10
- Figura 3. Fluxograma representando a estratégia para avaliar o papel desempenhado pelos diferentes tipos de filmes na discriminação de analitos com distintas características eletrolíticas, geometria molecular e concentrações, utilizando uma *língua eletrônica* formada por vários tipos de materiais. ....12
- Figura 4. A cuba de Langmuir é formada por uma cuba de teflon onde é vertida a subfase aquosa, duas barreiras móveis para a compressão do filme, um sensor (balança de Wilhelmy) para determinar a pressão de superfície e e um braço mecânico empregado na transferência do filme para um substrato sólido. ....16
- Figura 5. Fabricação dos filmes LbL. O substrato é imerso numa solução A contendo o material a ser adsorvido. Posteriormente, o conjunto é lavado para eliminar o excesso de material, seco e então imerso numa solução B contendo outro material, de carga contrária a do material inicialmente adsorvido. Dessa forma, formam-se os filmes ultrafinos compostos por bicamadas AB. ....18
- Figura 6. Fabricação dos filmes PVD. O pó do material é colocado num cadinho por onde circulará uma corrente elétrica. O substrato que receberá o filme é posicionado acima do cadinho, ao lado do medidor de espessura. O processo de evaporação é facilitado pelo vácuo ( $10^{-6}$  a  $10^{-7}$  Torr) no interior da campânula. ....19
- Figura 7. (a) Circuito elétrico equivalente de Taylor e MacDonald [30] de um eletrodo metálico coberto com material fracamente condutor imerso em um eletrólito. No modelo,  $C_b$  e  $G_b$  representam a capacitância e a condutância do filme,  $C_g$  a capacitância geométrica dos eletrodos,  $C_d$  a capacitância da dupla camada elétrica,  $G_d$  a condutância da dupla camada e  $G_t$  a transferência de carga pela interface filme/eletrólito. (b) Curva experimental da capacitância real ajustada pelo circuito elétrico equivalente. ....22
- Figura 8. Matriz de dados  $m \times n$  para análise de componentes principais (PCA). As colunas carregam os dados de cada unidade sensorial utilizada para compor a *língua eletrônica*. As linhas são as amostras a serem discriminadas (soluções). ....24
- Figura 9. Ilustração da técnica de projeção multidimensional aplicada a curvas de capacitância em função da frequência. A direita são ilustradas duas curvas de capacitância características, compostas por 61 valores de capacitância relativos à frequências que variam de 1 Hz a  $10^6$  Hz. “d” representa a distância euclidiana entre as duas curvas. A esquerda é ilustrado um quadro de resultados em duas dimensões com os elementos visuais (círculos) relativos a cada uma das curvas. A distância “d” foi preservada no espaço projetado com a redução da dimensionalidade. ....28
- Figura 10. Diagrama de energia mostrando as transições dos espalhamentos Raman Stokes, Raman anti-stokes e Raman ressonante para um modelo considerando dois estados eletrônicos de energia  $E_0$  (fundamental) e  $E_1$ . Dentro de cada estado eletrônico, são mostrados três estados vibracionais  $v_0$  (fundamental),  $v_1$  e  $v_2$ . Todas as transições envolvem variações de energia resultante da ordem do infravermelho. ....30
- Figura 11. Microscópio de força atômica. A agulha faz o mapeamento na superfície da amostra e a alavanca mede a força de interação entre a agulha e a amostra. O sistema de

- varredura piezelétrico desloca-se nas direções x, y e z. O deslocamento da alavanca é detectado pelas alterações no feixe de laser que incide na ponta da própria alavanca. Os raios refletidos são captados por um fotodiodo e enviados ao microcomputador...32
- Figura 12. Estruturas moleculares dos materiais usados para a fabricação dos filmes finos e para detecção (analitos). A estrutura da lignina apresentada foi publicada no livro de *Glazer e Nikaido* e refere-se ao modelo proposto da lignina extraída da madeira conífera [107].....34
- Figura 13. Evaporadora de materiais orgânicos *Boc Edwards Auto 306* usada para crescimento dos filmes PVD. Na imagem são indicados os principais componentes do equipamento e detalhes do interior da campânula onde o processo de evaporação é realizado.....35
- Figura 14. Cuba de Langmuir *KSV 2000* onde foram fabricados os filmes Langmuir-Blodgett (LB). No detalhe são indicados os principais componentes do equipamento como a balança de pressão de superfície (sensor de Wilhelmy), braço mecânico, a cuba e os substratos (EID) que receberão os filmes. ....37
- Figura 15. a) Exemplos de curvas de capacitância para diferentes concentrações de analitos. Neste exemplo, a linha vertical pontilhada ilustra a região (1 kHz) onde foram coletados os dados para formar o conjunto frequência fixa. Os quadrados vermelhos ilustram os pontos de cada curva onde foram coletados os dados para formar o conjunto frequência variada. b) Procedimento realizado em cada curva de capacitância para determinar a região de frequência onde seria coletado o valor de capacitância baseado no pico de  $\text{Tan } \delta$ . Este ponto é representado pela linha vertical pontilhada (pico). ....45
- Figura 16. a) Espectros de absorção no UV-Vis para filmes PVD de AzoPTCD com 10 nm crescido em uma etapa e 120 nm crescido em 3 etapas de 40 nm cada (destaque: absorção em 540 nm para os filmes PVD em função da espessura dos filmes), monocamada LB (linha cinza) e solução do AzoPTCD (linha pontilhada). b) Variação da pressão de superfície e da TR acumulada em função do número de camada (neste caso, fração do substrato emergido da subfase aquosa) durante o processo de deposição da monocamada LB. ....47
- Figura 17. Medidas elétricas realizadas em água ultrapura para os EIDs sem a presença dos filmes.....50
- Figura 18. a) Medidas elétricas para a solução de  $\text{Cu}^{2+}$ . Valores de capacitância em função do tempo coletados em 25 kHz para as unidades sensoriais PVD de 120 nm imersas em soluções contendo os analitos b)  $\text{Cu}^{2+}$ , c) azul de metileno e d) sacarose, todas com concentração de 1  $\mu\text{M}$ . ....51
- Figura 19. Medidas elétricas para a *língua eletrônica* imersa em soluções aquosas de a)  $\text{Cu}^{2+}$ , b) azul de metileno e c) sacarose em diferentes concentrações (1 mM, 1  $\mu\text{M}$  e 10 nM) e em água ultrapura no início e no final das medidas.....54
- Figura 20. Curvas teóricas geradas pela simulação do modelo de Taylor e Macdonald para diferentes valores da capacitância geométrica  $C_g$ .....56
- Figura 21. Projeções a partir dos dados de capacitância coletados com diferentes unidades sensoriais imersas em analitos a)  $\text{Cu}^{2+}$ , b) azul de metileno e c) sacarose com diferentes concentrações. As projeções do  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno dentro dos retângulos indicam as análises feitas excluindo a solução mais concentrada (1 mM). 59
- Figura 22. Projeções das medidas elétricas para os analitos a)  $\text{Cu}^{2+}$  e b) azul de metileno (soluções com caráter eletrolítico) usando filmes PVD de AzoPTCD de 5 nm até 40 nm, além do EID sem filme. ....61

## Lista de figuras

- Figura 23. Análise das componentes principais das soluções contendo analitos  $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose. Os PCAs em a), c) e e) foram gerados com os conjuntos de dados frequência fixa, enquanto os PCAs em b), d) e f) foram gerados com os conjuntos de dados frequência variada.....64
- Figura 24. a) Espectros Raman do filme PVD de 120 nm do AzoPTCD e do pó do  $\text{CuCl}_2$  (sal usado para gerar analito  $\text{Cu}^{2+}$ ), azul de metileno e sacarose. b) Imagens óticas do EID coberto com monocamada LB e com os filmes PVD de 10 e 120 nm. As imagens óticas estão sobrepostas pelos mapeamentos micro-Raman. Os pontos mais claros representam as maiores intensidades da banda  $1290 \text{ cm}^{-1}$  do AzoPTCD, e estes resultados foram obtidos antes das medidas elétricas.....70
- Figura 25. Imagens óticas dos EIDs recobertos pela monocamada LB e filmes PVD de 10 e 120 nm superpostas pelos mapeamentos micro-Raman. Os pontos mais claros referem-se às maiores intensidades da banda  $1290 \text{ cm}^{-1}$  do AzoPTCD, e estes resultados foram coletados após as medidas elétricas, no final das medidas em água ultrapura. ....72
- Figura 26. a) Espectros Raman para os filmes de AzoPTCD que recobrem os EIDs após a imersão nas soluções de azul de metileno. Imagens óticas das unidades sensoriais compostas pelos filmes monocamada LB e PVD com 10 nm e 120 nm sobrepostas pelos mapeamentos micro-Raman. Os pontos mais claros se referem às maiores intensidades da banda  $1394 \text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno, e estes resultados foram coletados após as medidas elétricas em soluções de azul de metileno, no final das medidas em água ultrapura. ....74
- Figura 27. Imagens AFM das unidades sensoriais que compõem a *língua eletrônica*: a) EID sem filme, b) monocamada LB, c) filme PVD 10 nm e d) filme PVD 120 nm. As medidas AFM foram realizadas após as medidas elétricas nas soluções de sacarose, ao final das medidas em água ultrapura. ....76
- Figura 28. Espectros de absorção no UV-Vis para o filme LbL de PAH/DPPG com 2, 4 e 5 bicamadas. No destaque é mostrada a relação entre a absorbância do filme LbL em 200 nm com o número de bicamadas de PAH/DPPG.....79
- Figura 29. Espectros de absorção no UV-Vis para o filme de DODAB/NiTsPc coletados a cada bicamada a partir da segunda bicamada (para um total de 5 bicamadas). No destaque é exibida a absorbância em 632 nm em função do número de bicamadas DODAB/NiTsPc. ....79
- Figura 30. Espectros de absorção no UV-Vis do filme LB de lignina. No destaque é mostrada a absorbância em 280 nm em função do número de camadas depositadas. ....80
- Figura 31. Espectros de absorção no UV-Vis para filmes PVD de ZnPc (linha preta) e AzoPTCD (linha cinza) evaporados até 10 nm.....81
- Figura 32. Imagens de AFM (topografia) das unidades sensoriais que compõem a *língua eletrônica*. (a) EID sem filme e dos filmes LbL (b) PAH/DPPH e (c) DODAB/NiTsPc, (d) do filme LB de lignina e dos filmes PVD (e) AzoPTCD e (f) ZnPc. Estas medidas AFM foram realizadas antes da imersão das unidades sensoriais nos sistemas líquidos para medidas elétricas. ....83
- Figura 33. Curvas de capacitância das unidades sensoriais AzoPTCD, ZnPc, lignina, DODAB/NiTsPc, PAH/DPPG e EID sem filme imersas em diferentes soluções contendo  $\text{Cu}^{2+}$ . As soluções foram analisadas em concentrações de 10 nM, 100 nM, 1  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$  e 100  $\mu\text{M}$ , além de águas ultrapuras medidas no início e final de cada ciclo de medidas.....86

- Figura 34. Curvas de capacitância das unidades sensoriais AzoPTCD, ZnPc, lignina, DODAB/NiTsPc, PAH/DPPG e EID sem filme imersas em diferentes soluções contendo azul de metileno. As soluções foram analisadas em concentrações de 10 nM, 100 nM, 1  $\mu$ M, 10  $\mu$ M e 100  $\mu$ M, além de águas ultrapuras medidas no início e final de cada ciclo de medidas.....87
- Figura 35. Curvas de capacitância das unidades sensoriais AzoPTCD, ZnPc, lignina, DODAB/NiTsPc, PAH/DPPG e EID sem filme imersas em diferentes soluções contendo sacarose. As soluções foram analisadas em concentrações de 10 nM, 100 nM, 1  $\mu$ M, 10  $\mu$ M e 100  $\mu$ M, além de soluções de águas ultrapuras medidas no início e final de cada ciclo de medidas. ....88
- Figura 36. a) Projeções dos dados de capacitância coletados com as unidades sensoriais EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD atingindo discriminação por concentração. b) Projeção excluindo as soluções com 100  $\mu$ M de  $\text{Cu}^{2+}$  e AM.....92
- Figura 37. a) Projeções dos dados de capacitância das unidades sensoriais EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD discriminando todas as concentrações de  $\text{Cu}^{2+}$ . b) Projeções excluindo a solução de 100  $\mu$ M de  $\text{Cu}^{2+}$ .....93
- Figura 38. a) Projeções dos dados de capacitância das unidades sensoriais EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD discriminando todas as concentrações de azul de metileno. b) Projeções excluindo a solução de 100  $\mu$ M de azul de metileno. ....94
- Figura 39. Projeções dos dados de capacitância das unidades sensoriais EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD discriminando as concentrações de sacarose. ....94
- Figura 40. a) Projeções dos dados de capacitância das unidades EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD analisadas conjuntamente em soluções de  $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose com concentrações a partir de 10 nM até 100  $\mu$ M, além das águas iniciais e finais. b) Projeções a partir do mesmo conjunto de dados excluindo as soluções de 100 e 10  $\mu$ M. ....96
- Figura 41. Projeções dos dados de capacitância das unidades EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD imersas em soluções de  $\text{Cu}^{2+}$ . a) Todas as concentrações. b) Sem as soluções de 100  $\mu$ M. c) Sem as soluções de 10 e 100  $\mu$ M.....98
- Figura 42. Projeções dos dados de capacitância das unidades EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD imersas em soluções de azul de metileno. a) Todas as concentrações. b) Sem as soluções de 100  $\mu$ M. c) Sem as soluções de 10 e 100  $\mu$ M. ....101
- Figura 43. Projeções dos dados de capacitância coletados com as unidades sensoriais EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD imersas em a)  $\text{Cu}^{2+}$  e b) azul de metileno com concentrações de 10  $\mu$ M e 100  $\mu$ M. ....103
- Figura 44. Projeções dos dados de capacitância coletados com as unidades sensoriais EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD imersas em soluções de sacarose com concentrações de 10 nM até 100  $\mu$ M, além das águas iniciais e finais. ....104
- Figura 45. Análise das componentes principais das soluções contendo  $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose discriminados usando a *língua eletrônica* composta pelas unidades sensoriais PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, lignina, AzoPTCD, ZnPc e EID sem filme. Os PCAs

- de a) c) e e) foram gerados com os conjuntos de dados formados pelas capacitâncias coletadas para frequência fixa, enquanto os PCAs de b), d) e f) foram gerados com as capacitâncias coletadas para a frequência variada. ....107
- Figura 46. Análise das componentes principais utilizando o conjunto de dados frequência variada das soluções contendo  $\text{Cu}^{2+}$ . a) As contribuições da unidade sensorial PAH/DPPG foram descartadas. b) As contribuições da unidade sensorial lignina foram descartadas. ....112
- Figura 47. Análise das componentes principais utilizando o conjunto de dados frequência variada das soluções contendo sacarose. a) As contribuições da unidade sensorial PAH/DPPG foram descartadas. b) As contribuições da unidade sensorial DODAB/NiTsPc foram descartadas. ....112
- Figura 48. (a) Espectros do filme de PAH/DPPG (vermelho) antes das medidas elétricas e do azul de metileno em pó (azul) usados como referências. Os espectros em preto foram escolhidos das regiões claras do mapeamento micro-Raman. (b) Mapeamento micro-Raman realizado sobre a unidade sensorial baseado na banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno (faixa cinza nos espectros) após as medidas elétricas. Imagem ótica da unidade sensorial está sobreposta pelo mapeamento, e os pontos mais claros se referem às maiores intensidades da banda do azul de metileno. ....120
- Figura 49. (a) Espectros do filme de DODAB/NiTsPc (vermelho) antes das medidas elétricas e do azul de metileno em pó (azul) usados como referências. Os espectros em preto foram escolhidos das regiões claras do mapeamento micro-Raman. (b) Mapeamento micro-Raman realizado sobre a unidade sensorial após as medidas elétricas baseado na intensidade banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno (faixa cinza nos espectros). Nos mapeamentos, a imagem ótica da unidade sensorial está sobreposta pelo mapeamento, e os pontos mais claros se referem às maiores intensidades da banda do azul de metileno. ....121
- Figura 50. (a) Espectros do filme de ZnPc (vermelho) antes das medidas elétricas e do azul de metileno em pó (azul) usados como referências. Os espectros em preto foram escolhidos das regiões claras do mapeamento micro-Raman. (b) Mapeamento micro-Raman realizado sobre a unidade sensorial após as medidas elétricas baseado na intensidade banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno (faixa cinza nos espectros). Nos mapeamentos, a imagem ótica da unidade sensorial está sobreposta pelo mapeamento, e os pontos mais claros se referem às maiores intensidades da banda do azul de metileno. ....122
- Figura 51. (a) Espectros do filme AzoPTCD (vermelho) antes das medidas elétricas e do azul de metileno em pó (azul) usados como referências. Os espectros em preto foram escolhidos das regiões claras do mapeamento. (b) Mapeamento micro-Raman realizado sobre a unidade sensorial após as medidas elétricas baseado na intensidade banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno (faixa cinza nos espectros). Nos mapeamentos a imagem ótica da unidade sensorial está sobreposta pelo mapeamento. Os pontos mais claros se referem às maiores intensidades da banda do azul de metileno. ....123
- Figura 52. (a) Espectro do filme de lignina (vermelho) antes das medidas elétricas e do azul de metileno em pó (azul) usados como referências. Os espectros em preto foram escolhidos das regiões claras do mapeamento. (b) Mapeamento micro-Raman realizado sobre a unidade sensorial lignina baseado na banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno (faixa cinza nos espectros) após as medidas elétricas. Imagem ótica da unidade sensorial está sobreposta pelo mapeamento, e os pontos mais claros se referem às maiores intensidades da banda do azul de metileno. ....124

## Lista de tabelas

Tabela 1. Valores dos parâmetros obtidos com o circuito elétrico equivalente para as unidades sensoriais PVD 10 nm, LB e PVD 120 nm imersas em água ultrapura.....	57
Tabela 2. Correlação $\rho$ e p-valor para o conjunto de dados frequência fixa. ....	66
Tabela 3. Correlação $\rho$ e p-valor para o conjunto de dados frequência variada. ....	66
Tabela 4. Valores de rugosidade para área de $5 \times 5 \mu\text{m}^2$ . ....	85
Tabela 5. Correlação $\rho$ e p-valor para o conjunto de dados frequência fixa. ....	109
Tabela 6. Correlação $\rho$ e p-valor para o conjunto de dados frequência variada. ....	109
Tabela 7. Valores dos parâmetros obtidos com o circuito elétrico equivalente para as unidades sensoriais de EID sem filme, AzoPTCD, ZnPc, DODAB/NiTsPc, PAH/DPPG e lignina em água ultrapura.....	114
Tabela 8. Valores dos parâmetros obtidos com o circuito elétrico equivalente da unidade sensorial lignina para as medidas das soluções contendo $\text{Cu}^{2+}$ e águas ultrapuras inicial e final. ....	115
Tabela 9. Valores dos parâmetros obtidos com o circuito elétrico equivalente da unidade sensorial lignina para as medidas das soluções contendo azul de metileno e águas ultrapuras inicial e final.....	115
Tabela 10. Valores dos parâmetros obtidos com o circuito elétrico equivalente da unidade sensorial lignina para as medidas das soluções contendo sacarose e águas ultrapuras inicial e final. ....	116
Tabela 11. Valores dos parâmetros obtidos com o circuito elétrico equivalente da unidade sensorial PAH/DPPG para as medidas das soluções contendo azul de metileno e águas ultrapuras inicial e final.....	117

## Lista de abreviações

**AFM** – Microscopia de força atômica

**AzoPTCD** – Perileno bis benzimidazo

**CuCl<sub>2</sub>** – Cloreto de cobre

**DODAB** – Dioctadecildimetilamônio, lipídio catiônico

**DPPC** – dipalmitoilfosfatidilcolina, fosfolipídio

**DPPG** – Dipalmitoil fosfatidil glicerol, fosfolipídio aniônico

**FePc** – Ftalocianina de ferro

**FTIR** – Infravermelho com transformada de Fourier

**EID** – Eletrodo interdigitado

**LB** – Langmuir-Blodgett

**LbL** – Camada por camada

**NiTsPc** – Ftalocianina tetrasulfonada de níquel

**PAH** - Poli alilamina hidrocloreada, polímero catiônico

**PCA** – Análise das componentes principais

**PVD** – Evaporação térmica em vácuo

**RRS** – Espalhamento Raman ressonante

**SMD** – Detecção de uma única molécula

**SEF** – Fluorescência amplificada em superfície

**SERS** – Espalhamento Raman amplificado em superfície

**THF** – Tetrahidrofurano

**TR** – Razão de transferência

**TR acumulada** - Razão de transferência acumulada

**UV-Vis** – Ultravioleta-visível

**W** – Tungstênio

**ZnPc** – Ftalocianina de zinco



# Sumário

Apresentação .....	2
CAPÍTULO 1. Introdução .....	5
CAPÍTULO 2. Conceitos teóricos .....	14
2.1 Processamentos de filmes finos: LB, LbL e PVD .....	14
2.1.1 Filmes LB .....	15
2.1.2 Filmes LbL .....	17
2.1.3 Filmes PVD .....	18
2.2 Espectroscopia de impedância .....	20
2.3 Análise de componentes principais e correlação de Pearson .....	23
2.4 Técnica de projeção .....	26
2.5 Espalhamento Raman .....	28
2.6 Microscopia de força atômica .....	31
CAPÍTULO 3. Materiais e métodos .....	33
3.1 Materiais .....	33
3.2 Fabricação dos filmes PVD, LB e LbL .....	35
3.2.1 Fabricação dos filmes PVD .....	35
3.2.2 Fabricação dos filmes LB .....	36
3.2.3 Fabricação dos filmes LbL .....	37
3.3 Técnicas de caracterização dos filmes .....	39
3.4 Língua eletrônica e espectroscopia de impedância .....	40
3.5 Técnica de projeção multidimensional .....	42
3.6 Análise de componentes principais e correlação de Pearson .....	43
CAPÍTULO 4. Língua eletrônica: filmes com diferentes espessuras e mesmo material .....	46
4.1 Crescimento e caracterização dos filmes finos .....	46
4.2 Medidas de espectroscopia de impedância .....	49
4.3 Técnica de projeções .....	57
4.4 Análises de PCA .....	63
4.5 Otimização da língua eletrônica – técnica de projeções e análises estatísticas .....	67
4.6 Micro-Raman e AFM – efeitos de interface e recobrimento dos EID .....	69
CAPÍTULO 5. Língua eletrônica: filmes com diferentes materiais e nanoestruturas .....	78
5.1 Crescimento e morfologia dos filmes finos .....	78
5.2 Medidas de espectroscopia de impedância .....	85
5.3 Técnica de projeção .....	90
5.4 PCA e correlação de Pearson .....	105
5.5 Ajustes teóricos via circuito elétrico equivalente .....	113
5.6 Efeitos de interface - mapeamentos micro-Raman .....	119
CAPÍTULO 6. Conclusões e perspectivas .....	126
Anexo 1 .....	130
Anexo 2 .....	139
Anexo 3 .....	141
Anexo 4 .....	144
Referências .....	145

## Apresentação

**E**sta tese de doutorado originou-se na conclusão do mestrado do candidato Diogo Volpati realizado na FCT/UNESP sob a orientação do professor Dr. Carlos J. L. Constantino, quando foi estudado o processo de fabricação de filmes finos (nanômetros de espessura) de um derivado do perileno tetracarboxílico, o perileno bis benzimidazo (AzoPTCD) [1]. Naquela ocasião, os filmes foram depositados sobre eletrodos interdigitados (EIDs) de platina depositados sobre vidro compondo unidades sensoriais, e estas unidades, diferentes entre si pela espessura do filme (de 5 a 40 nm), formavam uma *língua eletrônica* aplicada à detecção de analitos em soluções aquosas. As soluções continham o fármaco azul de metileno e  $\text{Cu}^{2+}$  em concentrações de 100 ng/L a 10  $\mu\text{g/L}$ . O objetivo no mestrado foi investigar como diferentes espessuras dos filmes finos sobre o EID influenciavam no desempenho da *língua eletrônica* quanto à capacidade de detecção. Porém, algumas questões surgiram e outras ficaram abertas na conclusão do mestrado.

Como resultado, foi observado que as respostas elétricas sofriam grande alteração quando comparadas as medidas obtidas com a unidade EID sem filme com as obtidas com as unidades recobertas com filme. Mais ainda, as respostas eram modificadas, porém em menor escala, quando eram comparadas com as unidades sensoriais recobertas com os filmes de diferentes espessuras. Um estudo estatístico preliminar utilizando análise das componentes principais (PCA) revelou que estas diferenças no recobrimento do EID eram refletidas na análise final desta técnica estatística. Este é um trecho da dissertação onde fica evidente tal observação:

*“O estudo qualitativo realizado pela remoção das unidades sensoriais dentro da análise de PCA revelou que o eletrodo descoberto é o que mais modifica o padrão de respostas quando removido. Pode-se especular que este efeito seja dominado pela interface, uma vez que o eletrodo descoberto é o único que possui uma interface eletrodo/solução....”*

Em outro trecho fica evidente a possibilidade dos efeitos de interface no processo de detecção:

*“A interface filme/eletrolito é um ponto que exige atenção, como foi relatado nesta dissertação. Há um indicativo de que o padrão das respostas obtidas pelo conjunto de sensores que formam a língua eletrônica seja de procedência interfacial...”*

Com isso, foi aproveitada a experiência do grupo coordenado pelo professor Constantino na fabricação e caracterização de filmes finos de materiais orgânicos, além da experiência em medidas elétricas aplicadas na *língua eletrônica* (espectroscopia de impedância), para abordar algumas destas questões de forma sistemática. Procurou-se assim avançar na otimização das unidades sensoriais que compõem a *língua eletrônica*, aplicando técnicas de análise de dados e de caracterização de filmes finos, conhecimentos importantes para a formação na área de ciência dos materiais.

Paralelamente ao projeto de doutorado desenvolvido pelo candidato, houve a colaboração com o aluno de iniciação científica Aislan Douglas Machado, sob orientação do professor Constantino, em um estudo de crescimento e caracterização elétrica de filmes fabricados por evaporação térmica em vácuo (*physical vapor deposition* – PVD) de lignina. Outro trabalho desenvolvido paralelamente ao desta tese foi na área de substratos nanoestruturados capazes de ativar fenômenos de amplificação em superfície (espalhamento Raman e fluorescência), desenvolvido em colaboração com a professora Dra. Maria Luisa Sartorelli da Universidade Federal de Santa Catarina. Como a área de fenômenos de amplificação em superfície é de interesse também do professor Dr. Ricardo F. Aroca da

*University of Windsor*, Canadá, referência na área e com quem o grupo mantém estreita colaboração científica, uma bolsa CAPES modalidade PDSE de doutorado sanduiche foi concebida para o período de janeiro a maio de 2012. Durante este estágio na *University of Windsor* foram realizados experimentos e discussões sobre substratos ativos contando com a experiência do Dr. Aroca nesta área. Também foi realizado um trabalho paralelo na área de detecção de uma única molécula (*single molecule detection – SMD*) por espalhamento Raman amplificado em superfície (SERS). Neste trabalho, um fosfolipídio ligado a um corante (*tag phospholipid – OG488-DHPE<sup>®</sup>*) foi usado como molécula alvo. Além do SMD, a caracterização por espectroscopias Raman, FTIR e no UV-Vis do material em forma de filme fino foi realizada. Todos os trabalhos descritos acima propiciaram ainda a participação em congressos nacionais e internacionais durante o período de doutoramento.

Esta tese está estruturada em 6 capítulos: no capítulo 1 são apresentadas uma introdução ao estado da arte do tema *língua eletrônica* e a síntese das estratégias e dos objetivos do trabalho. No capítulo 2 é feita uma introdução teórica às principais técnicas utilizadas. No capítulo 3 são descritos os materiais e métodos adotados. No capítulo 4 são apresentados os resultados sobre a otimização da *língua eletrônica* quanto à espessura do filme que recobre o EID e as concentrações das soluções analisadas. No capítulo 5 são apresentados os resultados sobre a otimização da *língua eletrônica* quanto ao tipo do material que compõem os filmes sobre o EID. No capítulo 6 as principais conclusões deste estudo são revistas e comentadas junto com as perspectivas de novos trabalhos oriundos desta tese. O anexo 1 apresenta um exemplo da tabela de dados utilizada na análise pela técnica de projeção, enquanto que o anexo 2 apresenta o algoritmo utilizado nas análises de PCA. O anexo 3 apresenta o algoritmo utilizado nas análises de correlação de Pearson, e o anexo 4 apresenta carta da CAPES confirmando o estágio no exterior durante o desenvolvimento do doutorado.

# CAPÍTULO 1

## Introdução

**A** *língua eletrônica* é um sistema multissensorial empregado em sistemas líquidos e foi inspirado nas características da língua humana para a discriminação de sabores. No sistema biológico, a língua possui diferentes tipos de papilas gustativas distribuídas na boca, as quais possuem habilidades específicas de detecção. Na *língua eletrônica*, as unidades sensoriais são equivalentes às papilas gustativas, e no caso deste trabalho são formadas por EIDs recobertos com filmes finos (Figura 1a). Quando temos um conjunto de unidades sensoriais formadas por diferentes filmes, então forma-se o sensor do tipo *língua eletrônica* (Figura 1b). Este conjunto de unidades sensoriais é imerso na solução a ser analisada, e então são realizadas medidas elétricas em cada uma das unidades sensoriais (aquisição de dados). Esta parte de aquisição de dados é análoga às transmissões de informações feitas pelos neurotransmissores desde as papilas até o cérebro. As repostas obtidas pelas medidas elétricas na *língua eletrônica* são processadas por técnicas estatísticas ou computacionais, e então é formada a resposta discriminativa, semelhante ao trabalho desenvolvido pelo cérebro humano no reconhecimento dos sabores.

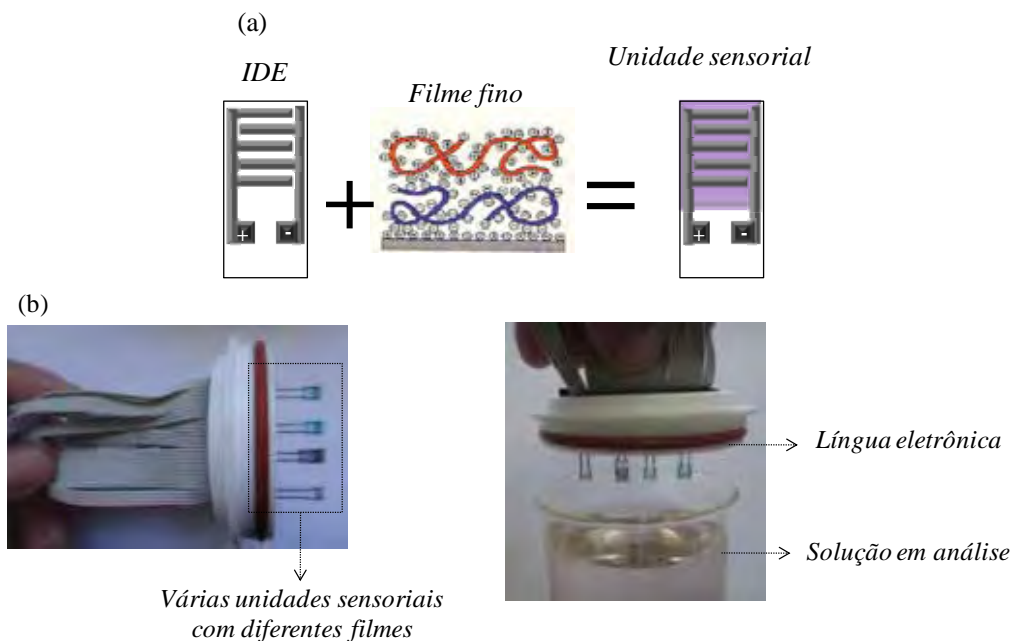


Figura 1. a) Composição da unidade sensorial: EID recoberto com filme fino (nanômetros de espessura). b) Várias unidades sensoriais compostas por diferentes filmes formando a *língua eletrônica*. A *língua eletrônica* é então imersa na solução em análise para realização das medidas elétricas.

Geralmente a tarefa destes dispositivos alterna entre reconhecer padrões de sabores, estimar quantidades de determinadas substâncias ou detectar moléculas específicas, todas executadas em meios líquidos. Há vários tipos de *línguas eletrônicas* descritas na literatura, diferentes principalmente pelos métodos empregados na aquisição de dados, como a voltametria cíclica [2-4], potenciometria [5, 6], espectroscopia de impedância [7-9] e até métodos óticos [10]. Dentre estes, o método mais avançado em termos de produto acabado para aplicação comercial é o potenciométrico, método base de alguns dispositivos disponíveis no mercado, como os produtos *Tasting Sensing System* da empresa *Isent* (Japão), *ASTREE* da empresa *Alpha MOS* (França) e *MultiArray* da *McScience* (Korea). Há ainda o equipamento *OpTongue* da *BRSensor* (Brasil), cujo o método de aquisição de dados não foi encontrado.

Os primeiros trabalhos na área de *língua eletrônica* apareceram na década de 1990, e desde então o tema tem sido investigado intensivamente, gerando um aumento expressivo no número de publicações: de aproximadamente 30 artigos publicados até o ano 2000 para mais de 750 trabalhos publicados até o presente momento (base de dados *Web of Science* buscando por “*electronic tongue OR e-tongue*”, julho de 2012). Em 2002, *Riul Jr.* e coautores [7] reportaram

um sistema até então inédito de *língua eletrônica*, baseado em filmes finos nanoestruturados sobre EID formando as unidades sensoriais e utilizando a espectroscopia de impedância como método de aquisição de dados. Essa combinação deu origem a novos sensores com elevada sensibilidade, facilmente capaz de detectar analitos em concentrações abaixo de nM, gerando impacto expressivo nesta área de pesquisa [11]. O novo método mostrou-se capaz de distinguir os sabores básicos (amargo, azedo, doce e salgado) [7] e também foi aplicado com sucesso na discriminação qualitativa de bebidas complexas, como cafés, vinhos e águas minerais [12-14], abrindo possibilidades para várias aplicações [15-18]

Em 2006, o conceito deste dispositivo, até então baseado na seletividade global [19, 20], foi estendido para o reconhecimento específico de moléculas na área de biossensores por *Zucolotto* e coautores [21]. Eles reportaram um biossensor altamente sensível, obtido pela imobilização de enzimas nas unidades sensoriais e aplicados na detecção de catecol (detecções até  $10^{-10}$  M), expandindo as possibilidades de aplicações [22, 23]. Já em 2010, *Perinoto* e coautores [24] reportaram um biossensor capaz de distinguir a Leishmaniose da Doença de Chagas, ambas muito similares e que ainda ocasionam falsos positivos, fabricado pela imobilização de antígenos nas unidades sensoriais e aplicado na detecção de anticorpos em amostras sanguíneas (par antígeno - anticorpo), autenticando a potencialidade desta *língua eletrônica*. Em todas essas aplicações de elevada sensibilidade e reconhecimento molecular específico, os filmes finos que compõem as unidades sensoriais são peças-chaves do sistema, e até os dias atuais são fabricados pelas técnicas LB [25], LbL [26] ou PVD. Porém, a elevada sensibilidade atingida pelo dispositivo também representa a fragilidade desse sistema pela dificuldade na reprodutibilidade das medidas, dificultando sua aplicação comercial, como as *línguas eletrônicas* potenciométricas.

Hoje em dia há três grandes desafios a serem superados para obter sucesso no uso de *línguas eletrônicas* em aplicações reais, incluindo diagnósticos clínicos. O primeiro desafio trata da otimização dos procedimentos experimentais e a escolha adequada das unidades sensoriais

para aplicações específicas, uma vez que determinados materiais apresentam melhor desempenho para analitos particulares através da estreita relação entre eles. O segundo desafio, e mais relevante do ponto de vista tecnológico e das aplicações práticas, trata-se de resolver a limitação intrínseca das flutuações nas medidas, principalmente quando as unidades sensoriais necessitam ser repostas. Esta limitação é um indesejado efeito colateral da alta sensibilidade atingida pela *língua eletrônica*, já que tais flutuações podem ser resultado das mudanças nas propriedades elétricas das unidades sensoriais causadas pelos efeitos da interação filme/analito. De fato, a resposta elétrica não é precisamente igual até mesmo para unidades sensoriais compostas pelos mesmos materiais e fabricadas nas mesmas condições, uma vez que os materiais orgânicos ou híbridos (orgânicos-inorgânicos) normalmente utilizados exibem uma intrínseca variabilidade que pode ser detectável pelas medidas elétricas. Portanto, como em aplicações reais a unidade sensorial frequentemente precisa ser trocada, a resposta geral do conjunto sensorial (*língua eletrônica*) mudará.

O terceiro desafio é relacionado com a ciência fundamental, onde se deseja entender por que a sensibilidade é tão alta em algumas aplicações. Para estudar este problema o ideal seria investigar todas as interações em nível molecular que governam as respostas elétricas das unidades sensoriais enquanto em contato com a solução sob análise. Atualmente isto não é factível, seja por perspectivas teóricas ou experimentais. Por outro lado, se sabe que as respostas elétricas das unidades sensoriais dependem de alguns parâmetros como os efeitos de dupla-camada na interface filme/solução, a interação filme/metal, mudanças na morfologia do filme e as propriedades da solução em si [8, 12, 18, 27, 28]. Assim, métodos acessíveis podem ser usados para investigar algumas destas interações, como AFM [29] e espalhamento micro-Raman convencional ou SERS [27].

Esta tese de doutorado foi delineada para abordar alguns problemas associados com os três desafios descritos. Os assuntos foram abordados usando métodos de visualização de informação [30, 31] que são essenciais para os dois primeiros desafios. Estudos estatísticos de



correlação de Pearson foram incorporados neste trabalho para avaliar o desempenho de cada unidade sensorial no resultado final de PCA. Também foi estudada a interação do filme com o analito, para a qual técnicas espectroscópicas e de microscopia foram usadas para caracterizar os filmes orgânicos nas unidades sensoriais (terceiro desafio).

### **Objetivos**

Nesta tese algumas questões relativas à *língua eletrônica* baseada em espectroscopia de impedância e filmes finos (nanômetros de espessura) depositados sobre EID foram abordadas com o intuito de gerar subsídios que auxiliem na aplicação deste dispositivo, seja na forma comercial ou na forma de ferramenta auxiliar em estudos científicos. O objetivo foi investigar a influência da espessura e do tipo do filme que recobre o EID e das características das soluções em análise no processo final de detecção do dispositivo.

Os principais pontos abordados foram:

- i) a importância da espessura do filme que recobre o EID no processo de detecção;
- ii) o papel da nanoestrutura e do tipo de material do filme que recobre o EID no processo de detecção;
- iii) a importância do caráter eletrolítico e da concentração das soluções analisadas no resultado final de discriminação.

Todos os filmes escolhidos para compor esta tese já eram conhecidos e utilizados pelo grupo, e estudos básicos sobre o crescimento e propriedades destes filmes já haviam sido realizados. Optou-se pelos filmes já conhecidos para não adicionar outras variáveis aos estudos realizados de desempenho das unidades sensoriais além daquelas que queríamos abordar pelas estratégias montadas.

## Estratégias

Os estudos realizados durante este doutoramento podem ser divididos em duas linhas principais. A Figura 2 mostra em um fluxograma a abordagem realizada para investigar o papel desempenhado pela espessura do filme e pelas características da solução no desempenho da *língua eletrônica* (objetivos i e iii). Foram analisados analitos com distintas características eletrolíticas, em baixas concentrações (ordem de nanomolar), concentrações intermediárias (micromolar) e altas concentrações (milimolar) e usando unidades sensoriais com filmes finos (PVD 10 nm e monocamada LB) e filmes relativamente espessos (PVD 120 nm). A morfologia dos filmes também foi estudada, antes e depois das medidas sensoriais, em escalas nano e micrométrica via microscopia de força atômica (AFM) e espectroscopia micro-Raman, respectivamente.

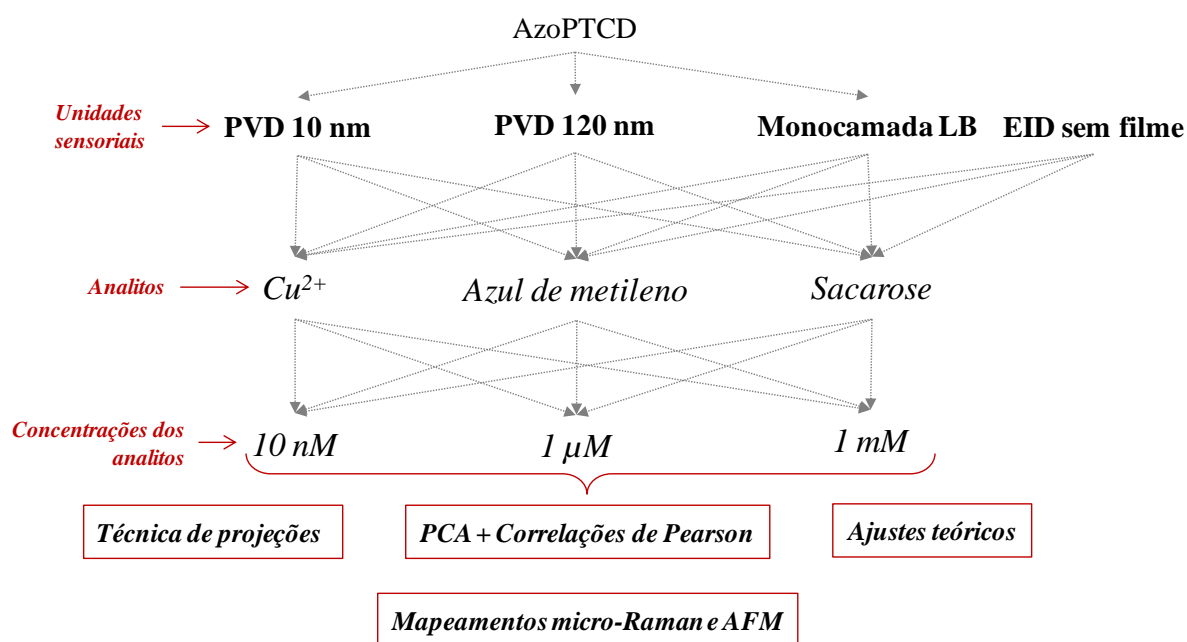


Figura 2. Fluxograma representando a estratégia para avaliar o papel desempenhado pela espessura do filme no processo de discriminação de analitos com distintas características eletrolíticas, geometria molecular e concentrações, utilizando uma *língua eletrônica* formada por um único material (AzoPTCD).

Nesta primeira abordagem optou-se por fixar o tipo do material que dá origem ao filme e variar a espessura e o tipo de filme que recobre o EID. Os filmes foram fabricados a partir do corante orgânico AzoPTCD sobre EID de platina utilizando as técnicas de Langmuir-

Blodgett (filmes LB com 1 camada = monocamada) e evaporação térmica a vácuo (filmes PVD com 10 nm e 120 nm de espessura). As espessuras foram escolhidas em complemento àquelas investigadas durante o mestrado (filmes PVD de AzoPTCD entre 5 e 40 nm) e considerando a altura de 100 nm dos dígitos, proporcionando assim diferentes formas de recobrimentos do EID. O filme PVD de 120 nm foi escolhido com a intenção de que preenchesse todos os espaços entre os dígitos do EID, o qual possui as seguintes características geométricas: 50 pares de dígitos com comprimento de 3 mm, 100 nm de altura, 10  $\mu\text{m}$  de largura e espaçados por 10  $\mu\text{m}$ . Com este conjunto de unidades sensoriais foi possível analisar as respostas elétricas obtidas de acordo com a presença do filme (usando a unidade EID sem filme como referência), a espessura dos filmes que recobrem o dígito (monocamada LB e PVD 10 nm e PVD 120 nm) e o tipo do filme fabricado (LB e PVD). Estas unidades sensoriais foram empregadas na discriminação de amostras contendo três analitos: azul de metileno,  $\text{Cu}^{2+}$  e sacarose. As concentrações escolhidas para cada um dos analitos foram 10 nM, 1  $\mu\text{M}$  e 1 mM, além de medidas em água ultrapura usadas como referência. Como complemento aos resultados obtidos, os dados de medidas elétricas oriundos do mestrado do candidato foram revisitados e inseridos na discussão desta abordagem.

A Figura 3 mostra em um fluxograma a segunda abordagem, realizada para investigar o papel desempenhado pela nanoestrutura e pelo tipo de material do filme que recobre o EID, além das características da solução, no desempenho no processo de detecção (objetivos ii e iii). A morfologia dos filmes também foi estudada, antes e depois das medidas sensoriais, em escalas nano e micrométrica via AFM e espectroscopia micro-Raman.

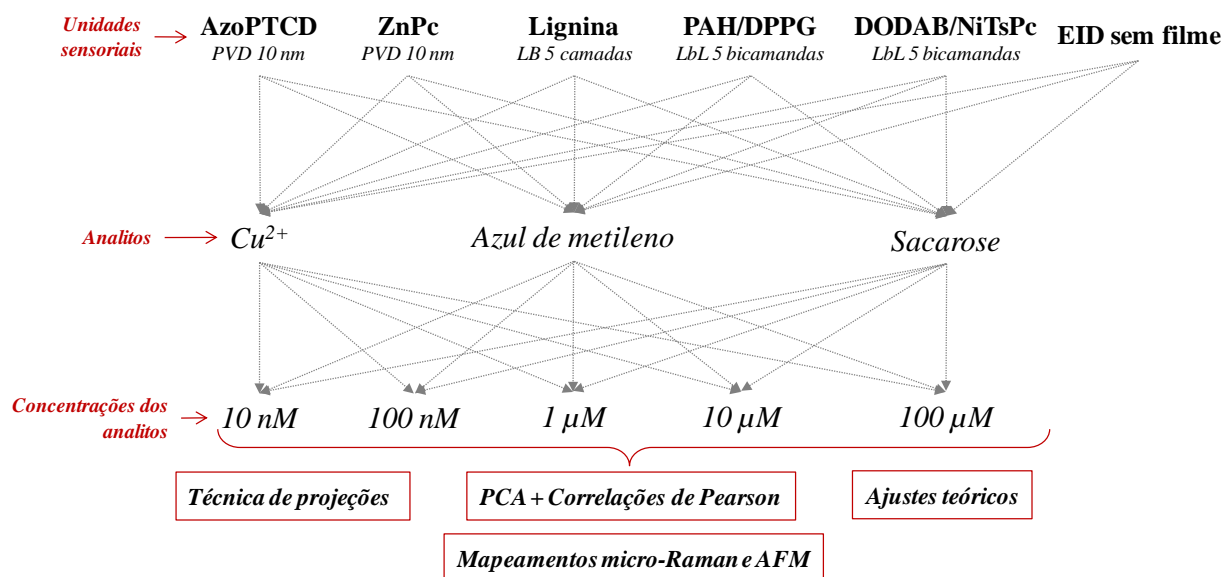


Figura 3. Fluxograma representando a estratégia para avaliar o papel desempenhado pelos diferentes tipos de filmes na discriminação de analitos com distintas características eletrolíticas, geometria molecular e concentrações, utilizando uma *língua eletrônica* formada por vários tipos de materiais.

Nesta segunda abordagem os filmes diferenciavam-se entre eles, principalmente, pela forma de nanoestruturação (filmes LB, LbL e PVD) e pela natureza dos materiais que os compunham: i) DPPG (dipalmitoil fosfatidil glicerol), um fosfolipídio aniônico crescido com o polímero catiônico PAH (hidrocloro de polialilamina), formando o filme LbL (do inglês *Layer-by-Layer*) PAH/DPPG com 5 bicamadas; ii) DODAB (dioctadecildimetilamônio), um lipídio catiônico crescido com o semicondutor aniônico ftalocianina tetrassulfonada de níquel (NiTsPc), formando o filme LbL DODAB/NiTsPc com 5 bicamadas; iii) a ftalocianina de zinco (ZnPc), um semicondutor tipo-p, depositado com 10 nm de espessura crescida via técnica PVD; iv) o derivado de perileno AzoPTCD, semicondutor orgânico tipo-n, depositado com 10 nm de espessura utilizando a técnica PVD; v) lignina, um isolante orgânico extraído do bagaço de cana de açúcar, crescido com 5 camadas via técnica Langmuir-Blodgett. Estas unidades sensoriais foram empregadas na discriminação dos mesmos analitos (azul de metileno,  $\text{Cu}^{2+}$  e sacarose), porém em um maior número de concentrações. Como as soluções muito concentradas já haviam sido analisadas na abordagem anterior, neste estudo aumentou-se o número de concentrações, porém menos concentradas (10 nM, 100 nM, 1  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$  e 100  $\mu\text{M}$ ).

A partir das medidas elétricas adquiridas nas duas abordagens supracitadas, os dados foram analisados usando técnicas estatísticas, como PCA e correlação de Pearson, e métodos computacionais, como técnicas de projeções (visualização de informação). A técnica de projeção foi introduzida neste projeto pela colaboração com o professor Dr. Fernando V. Paulovich do Instituto de Ciências Matemáticas e Computação da USP de São Carlos. Estas análises também foram realizadas em colaboração com o professor Dr. Milton H. Shimabukuro do Departamento de Matemática e Computação da UNESP de Presidente Prudente, facilitando a realização e a discussão dos resultados por questões de proximidade geográfica. Este projeto também contou com o suporte do professor Dr. Antonio Riul Jr. da Universidade Federal de São Carlos, campus de Sorocaba, nas discussões relacionadas às medidas elétricas, análises estatísticas e os métodos de mineração de dados. Desta forma, físicos, matemáticos e cientistas da computação contribuíram nesta tese para abordar algumas das atuais questões da *língua eletrônica* por diferentes maneiras e com ferramentas distintas, concedendo um caráter multidisciplinar ao trabalho.

# CAPÍTULO 2

## Conceitos teóricos

### 2.1 Processamentos de filmes finos: LB, LbL e PVD

A pesquisa em deposição de filmes finos, tanto básica quanto aplicada, é um campo interdisciplinar em pleno desenvolvimento no mundo todo. A motivação das pesquisas em laboratórios industriais ou nas universidades reside na busca por uma nova geração de dispositivos avançados, os quais levarão ao surgimento de novas tecnologias. Filmes finos têm sido utilizados há mais de quatro milênios, porém só recentemente esta tecnologia começou a ser estudada cientificamente. Os egípcios foram os primeiros a obter folhas de ouro de espessuras muito finas (menores que  $300 \mu\text{m}$ ) para utilização em ornamentação e na proteção contra corrosão. A partir de 1850 se iniciou o desenvolvimento de técnicas de processamento de filmes finos e métodos para a determinação da espessura. Porém, estes só começaram a ser aplicados na indústria a partir de 1940, devido a crescente necessidade de miniaturização de dispositivos de alta tecnologia. A utilização de materiais na forma de filmes finos apresenta diversas vantagens como menor tamanho, menor peso e fácil integração à tecnologia do circuito integrado, além de benefícios adicionais como: baixa voltagem de operação, alta velocidade e a possibilidade de fabricação de estruturas em nível microscópico. Por esse motivo, diversos materiais estudados anteriormente na forma de pó ou pastilhas passaram a ser desenvolvidos na forma de filmes finos. No grupo onde esta tese foi desenvolvida são pesquisados processamentos de materiais

orgânicos na forma de filmes finos, sejam estes materiais de origem biológica, extraídos da natureza ou sintetizados. Dentre dezenas de técnicas de processamento disponíveis atualmente, as técnicas mais utilizadas no grupo, e empregadas na tese, são LB, LbL e PVD.

### 2.1.1 Filmes LB

Uma película ultrafina (filme) pode se formar pelo espalhamento de uma gota de óleo na superfície da água. A primeira aplicação deste fenômeno, conhecido antes mesmo da era cristã, foi em uma antiga técnica de impressão japonesa chamada *suminagashi* [32]. *Irving Langmuir*, trabalhando nos laboratórios da empresa *General Electric* (Estados Unidos) no início do século 20 reuniu dados experimentais e teóricos descrevendo importantes características e propriedades dos filmes monomoleculares. Tais estudos deram início à área de filmes de Langmuir e LB. A fabricação de filmes ultrafinos monomoleculares e insolúveis em água exige a utilização de moléculas que apresentam equilíbrio entre os grupos hidrofílico e hidrofóbico, para que assim estes filmes sejam formados na interface ar/água [33]. Os grupos hidrofílicos permitem o espalhamento das moléculas na superfície da água, enquanto os grupos hidrofóbicos não permitem que as moléculas se dissolvam na água. Resumidamente, uma solução contendo o material dissolvido em um solvente orgânico volátil é espalhada sobre a subfase de água ultrapura (18,2 MΩ.cm). Após a evaporação do solvente, as moléculas do material são comprimidas por barreiras móveis formando uma monocamada denominada filme de Langmuir. Os filmes LB são fabricados pela transferência do filme de Langmuir formado sobre a subfase aquosa para um substrato sólido [34-37]. Na fabricação destes filmes ultrafinos utiliza-se um sistema experimental conhecido como cuba de Langmuir, como mostra a Figura 4. O sistema é formado por uma cuba de teflon onde é vertida a subfase líquida, barreiras móveis para a compressão do filme com velocidade controlada, um sensor para determinar a pressão de superfície e um braço mecânico empregado na transferência do filme para um substrato sólido (do inglês *dipper*) formando os filmes LB. Estes filmes devem ser fabricados em um ambiente limpo e com temperatura controlada. A caracterização dos filmes de Langmuir pode ser realizada

na forma de isotermas  $\pi$ -A [37, 38]. Tais isotermas revelam informações quanto à estruturação da monocamada, além de possíveis transições de fase relacionadas às reorientações moleculares durante a compressão.

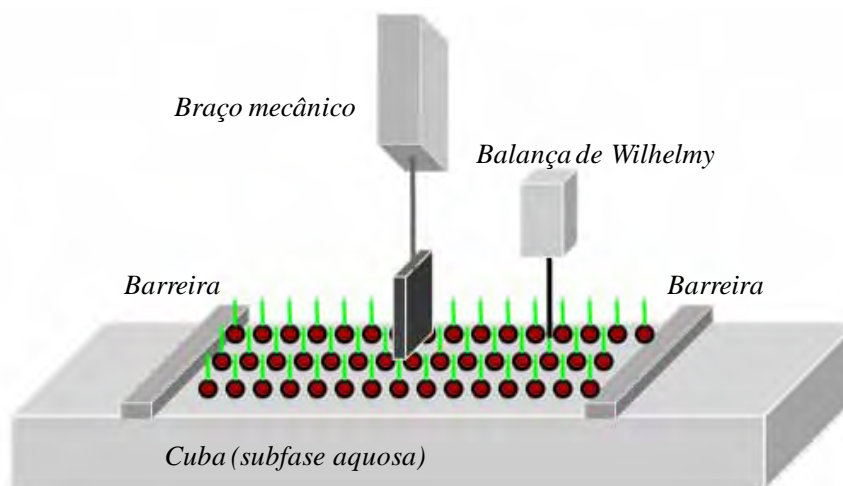


Figura 4. A cuba de Langmuir é formada por uma cuba de teflon onde é vertida a subfase aquosa, duas barreiras móveis para a compressão do filme, um sensor (balança de Wilhelmy) para determinar a pressão de superfície e um braço mecânico empregado na transferência do filme para um substrato sólido.

A técnica de fabricação de filmes de Langmuir foi aperfeiçoada por sua assistente, *Katharine Blodgett* na década de 1930 [25], permitindo dessa forma a deposição sucessiva de monocamadas sobre um mesmo substrato sólido. Em homenagem aos dois cientistas, tais filmes receberam o nome de filmes Langmuir-Blodgett. As principais características dos filmes são a alta precisão de espessura, que pode ser controlada até a ordem de angstroms, o elevado ordenamento molecular e a uniformidade da superfície [33]. Uma boa deposição depende da natureza das moléculas empregadas, da estabilidade do filme de Langmuir e dos parâmetros envolvidos no processo de deposição, tais como: i) velocidades do braço mecânico de imersão e retirada do substrato da subfase, ii) pressão para manter a monocamada no estado condensado; iii) rigidez da monocamada. A garantia desta deposição de filmes é determinada a partir de quatro parâmetros que são registrados em tempo real durante o experimento na tela do computador acoplado a cuba: pressão de superfície ( $\pi$ ), razão de transferência ou TR, transferência acumulada e *transfer*. Basicamente, estes parâmetros habilitam o acompanhamento da taxa de transferência e da quantidade de material transferido durante a deposição do filme no



substrato sólido. Podem-se obter, de acordo com a forma de deposição, três tipos de filmes LB, denominados filmes tipo X, Y ou Z. O tipo Y implica na deposição de uma camada a cada imersão e retirada do substrato. No tipo Z as camadas são depositadas somente nas retiradas do substrato, enquanto que no tipo X as camadas são depositadas somente nas imersões.

### 2.1.2 Filmes LbL

Inicialmente proposto por *Iler* em 1966 [39], o método de preparação de filmes LbL se dava pelas interações eletrostáticas com adsorção alternada de partículas coloidais com cargas opostas. Duas décadas mais tarde, *Sagiv* e colaboradores [40, 41] propuseram um sistema de multicamadas baseado em interações químicas, geralmente ligações covalentes, entre as camadas depositadas, utilizando o termo “automontado” (do inglês *self-assembly*). Já na década de 1990, *Decher* e colaboradores [42] basearam-se na técnica de *Iler*, porém empregando polieletrólitos, sendo mais simples e denominada pelo termo LbL (do inglês *layer-by-layer*). Em 1994, o grupo liderado por *Rubner* [43, 44] aplicou com sucesso este procedimento em polímeros condutores, e a partir disso a técnica começou a se difundir no meio científico de processamento de filmes finos. A técnica LbL consiste na imersão de um substrato sólido numa solução aquosa contendo o material a ser adsorvido. Posteriormente, o conjunto é lavado com o intuito de eliminar o excesso de material adsorvido e então seco com ar comprimido ou nitrogênio. Em seguida o conjunto é imerso numa solução contendo outro material de carga contrária a do material inicialmente adsorvido (cargas opostas). Assim, formam-se os filmes ultrafinos compostos por bicamadas moleculares catiônicas e aniônicas alternadamente adsorvidas [45], como ilustra a Figura 5.

A grande maioria dos filmes LbL são fabricados desta forma, ou seja, utilizando materiais com cargas opostas em soluções aquosas para o crescimento de bicamadas por interações eletrostáticas. Faz-se necessário citar que *Alessio* e colaboradores [46] reportaram recentemente o crescimento de filmes em meio não aquoso pelas interações químicas entre

grupos específicos dos materiais depositados. A deposição de multicamadas dos filmes LbL pode ser realizada manual ou mecanicamente. Entretanto, uma nova tendência na fabricação de filmes LbL vem sendo reportada, onde a deposição de camadas alternadas de materiais é feita por meio de *spray* (*spray-LbL*), possibilitando a obtenção de filmes em um tempo muito menor [47-49].

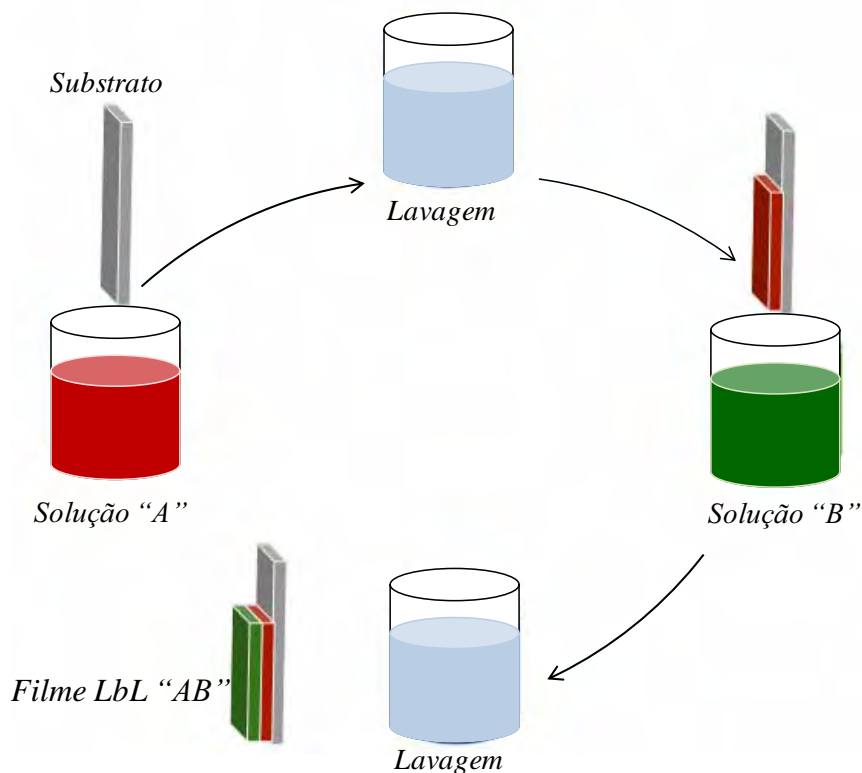


Figura 5. Fabricação dos filmes LbL. O substrato é imerso numa solução A contendo o material a ser adsorvido. Posteriormente, o conjunto é lavado para eliminar o excesso de material, seco e então imerso numa solução B contendo outro material, de carga contrária a do material inicialmente adsorvido. Dessa forma, formam-se os filmes ultrafinos compostos por bicamadas AB.

### 2.1.3 Filmes PVD

O processo de evaporação dos materiais pode ser feito por diversos métodos, como a deposição por vaporização física (do inglês *physical vapour deposition*), a deposição por vaporização química (do inglês *chemical vapour deposition*) e *sputtering* [50-52]. Materiais como metais, semicondutores inorgânicos ou orgânicos e dielétricos como os polímeros podem ser processados por estes métodos. A deposição por evaporação física e o *sputtering* requerem um sistema de vácuo operando a baixa pressão, enquanto a deposição por evaporação química

pode ser feita em baixa ou pressão atmosférica [52]. A técnica de deposição por evaporação física [50], a qual foi empregada nesta tese, consiste em colocar o pó do material que originará o filme ultrafino em um cadinho metálico por onde circulará uma corrente elétrica. O ajuste de tal corrente é responsável por aquecer o cadinho que suporta o material, até que ocorra a transição de fase deste material e ele comece a evaporar. O substrato que receberá este filme fino é posicionado acima do cadinho contendo o material, ao lado do medidor de espessura (balança de cristal de quartzo). O processo de evaporação é facilitado pelo vácuo no interior da campânula, onde é desenvolvido todo este processo, como ilustra a Figura 6. A experiência do grupo na fabricação de filmes PVD orgânicos mostra que o ajuste vagaroso da corrente e o tempo de espera entre cada ajuste são fundamentais para o controle da taxa de deposição. Este ajuste vagaroso impede que explosões súbitas do material ocorram, implicando na perda do controle da espessura e da morfologia do filme [17, 53-57].

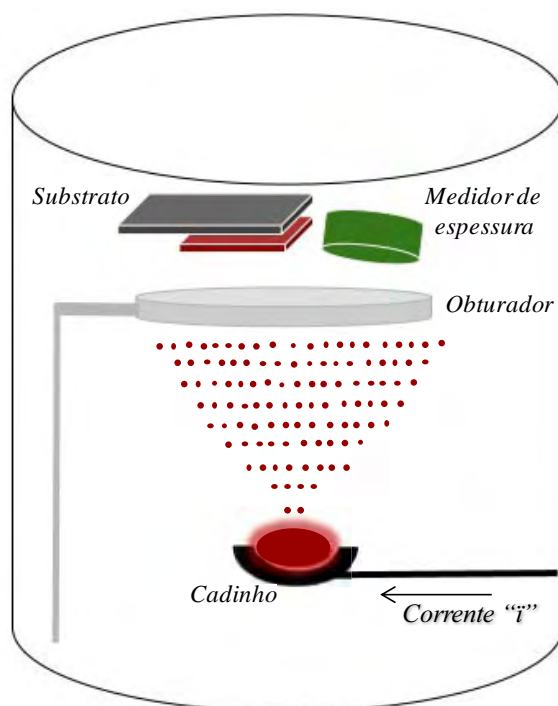


Figura 6. Fabricação dos filmes PVD. O pó do material é colocado num cadinho por onde circulará uma corrente elétrica. O substrato que receberá o filme é posicionado acima do cadinho, ao lado do medidor de espessura. O processo de evaporação é facilitado pelo vácuo ( $10^{-6}$  a  $10^{-7}$  Torr) no interior da campânula.

## 2.2 Espectroscopia de impedância

A espectroscopia de impedância é uma ferramenta utilizada para realizar estudos das propriedades elétricas de diversos sistemas ou ainda acompanhar processos eletroquímicos, entre outras possibilidades [58-61]. Sua principal vantagem reside no fato de, num único experimento, fornecer um quadro geral dos mais variados processos ocorrentes na amostra, onde uma vasta gama de tempos de relaxação, característicos para cada processo, é alcançada [62]. Os parâmetros que podem ser obtidos através de um espectro de impedância podem ser divididos em duas categorias: i) aqueles correspondentes à natureza dos materiais, como, por exemplo, a constante dielétrica ou portadores de carga e ii) aqueles que dependem das propriedades da interface eletrodo/solução, como por exemplo a capacitância da região interfacial devido ao processo de adsorção e/ou reação ocorridos nesta região. [63]

A medida realizada por um analisador de impedância consiste basicamente em aplicar uma diferença de potencial AC (do inglês *alternating current*) de amplitude conhecida, e medir a amplitude e a fase da corrente em relação a tensão aplicada. A partir destas grandezas é possível calcular os vários parâmetros do sistema em análise (neste caso, filme sobre eletrodo interdigitado imerso em solução ou água) [62]. Em geral nos atuais equipamentos comerciais, determina-se a impedância (ou a admitância), e dela determina-se a constante dielétrica complexa da amostra por relações matemáticas, as quais serão mostradas a seguir [62]. Sejam

$$V^*(t) = V_0 e^{j\omega t} \text{ e } I^*(t) = I_0 e^{j(\omega t + \phi)} \quad (2.1)$$

a tensão elétrica complexa e a corrente elétrica complexa, em que  $V_0$  e  $I_0$  são as amplitudes da tensão e da corrente, respectivamente, e  $\phi$  é o ângulo de fase entre a corrente e a tensão. A tensão elétrica aplicada é senoidal e de frequência  $f = \frac{\omega}{2\pi}$ , onde  $\omega$  é a frequência angular. A impedância complexa  $Z^*$  pode ser definida como

$$Z^* = Z' + jZ'' \equiv \frac{V^*(t)}{I^*(t)} \quad (2.2)$$

onde  $Z'$  é a parte real e  $Z''$  é a parte imaginária da impedância elétrica complexa. O ângulo de fase  $\phi$  em função das impedâncias real e imaginária é dado por

$$\phi = \tan^{-1}\left(\frac{Z''}{Z'}\right). \quad (2.3)$$

Assim, os equipamentos comerciais determinam a impedância do sistema que se deseja estudar pelas amplitudes da tensão aplicada, da corrente medida e a diferença de fase entre a tensão aplicada e corrente medida. Geralmente, quando são estudadas amostras por medidas AC, os resultados são descritos através da permissividade elétrica complexa  $\epsilon^*$  ou da capacitância complexa  $C^*$ . Os valores da parte real  $C'$  e da parte imaginária  $C''$  da capacitância complexa da amostra podem ser definidos como

$$C^* = C' + jC'' \quad (2.4)$$

onde  $C'$  é a capacitância real e  $C''$  é a capacitância imaginária, também conhecida como perda dielétrica. A corrente elétrica AC através de um capacitor pode ser definida por

$$I^* = C^* \frac{dV}{dt} \quad (2.5)$$

onde  $\frac{dV}{dt}$  é a variação da tensão nas placas do capacitor com o tempo. Combinando a equação

2.5 com as equações 2.1, 2.2 e 2.3, as partes real e imaginária da capacitância complexa podem ser expressas em função das componentes  $Z'$  e  $Z''$  da impedância complexa como

$$C' = \frac{1}{\omega} \left( \frac{-Z''}{(Z')^2 + (Z'')^2} \right) \quad (2.6)$$

$$C'' = \frac{1}{\omega} \left( \frac{Z'}{(Z')^2 + (Z'')^2} \right). \quad (2.7)$$

Utilizando as componentes real e imaginária da capacitância complexa é possível ainda determinar a tangente do ângulo de perda conhecida como  $\tan \delta$  (lê-se tan delta) pela razão  $\tan \delta = C''/C'$ . Esta grandeza fornece informações sobre a energia dissipada pela amostra em cada ciclo da tensão elétrica. Há ainda outras grandezas que podem ser derivadas da

impedância elétrica complexa, como por exemplo, a admitância e a condutância, as quais são importantes em estudos fundamentais das propriedades elétricas dos materiais [62]. Porém, como o intuito deste trabalho é somente utilizar a capacitância do sistema nas análises, essas grandezas não serão apresentadas [7, 8, 28, 64].

A varredura do espectro de impedância ocorre para uma faixa de frequência relativamente ampla, entre 1 e  $10^6$  Hz, onde é possível detectar variações nos materiais que recobrem os EID (filmes LB, LbL ou PVD). O comportamento elétrico da unidade sensorial – um EID recoberto com filme – pode ser representado por um circuito elétrico equivalente como o apresentado por Taylor e MacDonald [28]. A Figura 7a apresenta o circuito equivalente que descreve as características elétricas de um sistema aproximado ao que é estudado: um eletrodo metálico coberto com um material fracamente condutor imerso em um eletrólito. Uma simulação da dependência da capacitância real ( $C$ ) do circuito equivalente é ilustrada na Figura 7b.

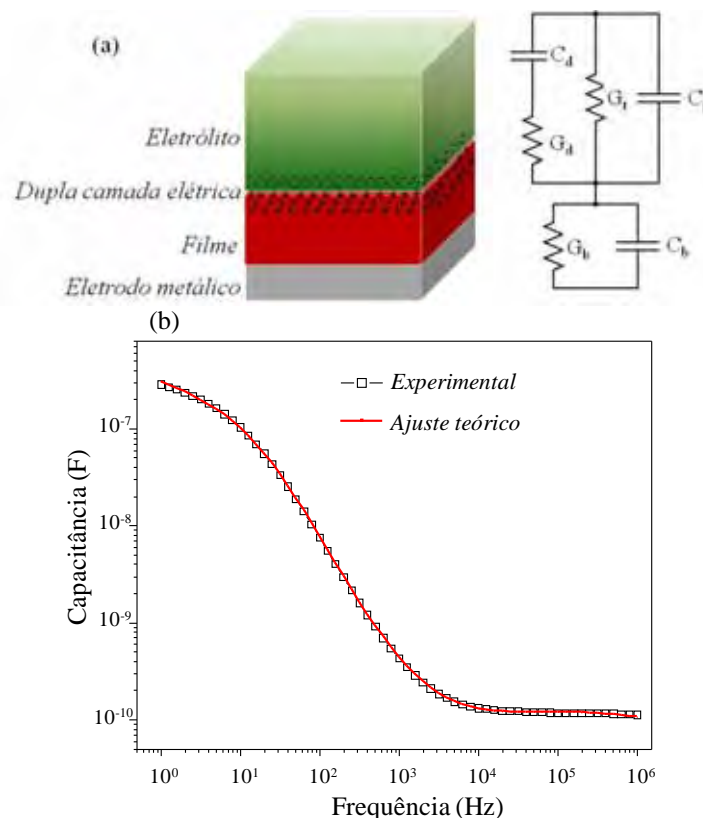


Figura 7. (a) Circuito elétrico equivalente de Taylor e MacDonald [28] de um eletrodo metálico coberto com material fracamente condutor imerso em um eletrólito. No modelo,  $C_b$  e  $G_b$  representam a capacitância e a condutância do filme,  $C_g$  a capacitância geométrica dos eletrodos,  $C_d$  a capacitância da dupla camada elétrica,  $G_d$  a condutância da dupla camada e  $G_t$  a transferência de carga pela interface filme/eletrólito. (b) Curva experimental da capacitância real ajustada pelo circuito elétrico equivalente.

Neste circuito equivalente, a presença do filme que recobre os eletrodos é feita através da combinação em paralelo de um capacitor com um elemento de condutância ( $C_b$  e  $G_b$ ). Estes dois componentes estão em série com a impedância do eletrólito que contém 3 componentes. O primeiro componente é a capacitância geométrica dos eletrodos utilizados imersos em um eletrólito ( $C_g$ ). A segunda componente é a capacitância da dupla camada elétrica ( $C_d$ ) que surge devido à acumulação de íons na interface filme/eletrólito e que também possui uma condutância ( $G_d$ ). A última componente é a transferência de cargas pela interface filme/eletrólito ( $G_t$ ). Nas curvas ilustradas na Figura 7b a região de baixas frequências ( $< 50$  Hz) é dominada pelos efeitos de dupla camada elétrica e deslocamento de íons no interior dos filmes, enquanto que os efeitos do filme cobrindo os eletrodos aparecem na região entre  $10^2$  Hz e  $10^5$  Hz. Em frequências acima de  $10^5$  Hz a capacitância do sistema é dominada pela capacitância geométrica da configuração do EID adotada. Ressalta-se que vários modelos de circuitos elétricos equivalentes podem fornecer ótimos ajustes para uma mesma curva experimental, e que o modelo de Taylor e Macdonald não possui nenhuma característica universal, mas se ajusta relativamente bem aos sistemas em estudo e ainda é passível de alterações.

### **2.3 Análise de componentes principais e correlação de Pearson**

A análise de componentes principais (PCA, do inglês *principal component analysis*), ou transformação de Karhunen-Loeve, é um método estatístico multivariado. Este método cria um novo sistema de eixos através de combinações lineares dos dados originais, chamadas de componentes principais (PC, do inglês *principal component*), buscando sempre a máxima variação dos dados e mínima perda de informações [65, 66]. As combinações lineares são efetuadas de modo que os dados possam ser representados por um número menor de fatores descritivos, reduzindo a dimensão do conjunto analisado. Por esse motivo o PCA é amplamente usado para facilitar a interpretação, projeção, descrição e extração de características de conjuntos multivariados. Os dados para PCA são apresentados na forma de matriz, na qual as linhas

representam as observações (amostras analisadas) e as colunas as variáveis (no nosso caso as unidades sensoriais que compõem a *língua eletrônica*). O número de componentes principais será igual ao número de variáveis utilizadas.

<i>unidade sensorial 1</i>	<i>unidade sensorial 2</i>	...	<i>unidade sensorial "n"</i>	
$X_{11}$	$X_{12}$	$X_{...}$	$X_{1n}$	<i>amostra 1</i>
$X_{21}$	$X_{22}$	$X_{...}$	$X_{2n}$	<i>amostra 2</i>
$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$	$\vdots$
$X_{m1}$	$X_{m2}$	$X_{...}$	$X_{mn}$	<i>amostra "m"</i>

Figura 8. Matriz de dados  $m \times n$  para análise de componentes principais (PCA). As colunas carregam os dados de cada unidade sensorial utilizada para compor a *língua eletrônica*. As linhas são as amostras a serem discriminadas (soluções).

O PCA tem sido amplamente utilizado na análise de *línguas eletrônicas*, como por exemplo na distinção dos padrões de paladar (doce, salgado, azedo e amargo), na análise de bebidas comerciais como café, água mineral, cerveja, vinho, chá e efeitos de supressão [14, 67-75]. Alguns trabalhos trazem boa descrição do método para analisar poluentes em água [69], e verificar o envelhecimento e qualidade de leites e sucos [70, 71, 76, 77]. Em trabalhos mais recentes o PCA está sendo utilizado na análise qualitativa de águas minerais e suco de maçãs, analisando-se a capacidade do dispositivo na discriminação dessas substâncias ao reduzir o número de sensores [78]. Com formalidade matemática, a análise de componentes principais cria um novo sistema de coordenadas  $Y_1, Y_2, \dots, Y_p$  que são combinações lineares do sistema original  $X_1, X_2, \dots, X_p$  na direção de variabilidade máxima dos dados, ou seja,

$$Y_i = l_{i1}X_1 + l_{i2}X_2 + \dots + l_{ip}X_p, \text{ com } i = 1, 2, \dots, p \quad (2.8)$$

Os pesos  $l_{ij}$  são dados por autovetores associados ao  $j$ -ésimo autovalor da matriz de covariância. Os autovalores representam a quantidade de variância da matriz de covariância, que é expressa por cada componente principal. Toda vez que os dados forem padronizados, os



autovalores são extraídos da matriz. Em outras palavras, as componentes principais têm variâncias iguais aos autovalores, sendo as variâncias iguais à porcentagem de explicação retida por esses fatores. A PC1 tem a maior variância, e é a combinação linear  $l'X$  que maximiza a variância ( $l'X$ ), sendo que  $X' = (X_1, X_2, \dots, X_p)$  são os dados originais. Neste caso os pesos  $l_{ij}$  são os autovetores associados ao maior autovalor. A PC2 tem a segunda maior variância, e assim sucessivamente, construindo as componentes principais. Sabendo a variação sucessiva das PC, é necessário decidir quantas componentes utilizar na análise. Para isso são adotados critérios de escolha. Esta decisão diminui o risco de descartar componentes principais com contribuições importantes. No método utilizado nesta tese – critério da porcentagem da variância explicada – fixamos um valor de modo que o conjunto de componentes principais escolhido explique uma porcentagem pré-definida da variabilidade total dos dados [79]. Neste trabalho determinamos que 70% da variância total dos dados esteja contida na soma das componentes principais.

A avaliação do desempenho das unidades sensoriais foi realizada aplicando-se a análise de correlação de Pearson [80], a qual traz basicamente uma medida do grau de correlação entre duas variáveis. Estas análises de correlação têm sido empregadas nas mais distintas áreas de pesquisa, buscando informações atreladas a duas variáveis a partir de conjuntos de dados [81-83]. Neste trabalho ela foi testada para verificar se há ou não há correlação entre cada uma das unidades sensoriais e cada uma das componentes principais (duas variáveis). Nessa análise, uma hipótese inicial  $H_0$  é proposta como verdadeira. A análise verifica, baseada no conjunto de dados, se a hipótese é verdadeira. Caso não seja, então uma hipótese alternativa  $H_1$  é adotada. No resultado é verificado se o coeficiente de correlação é igual ou diferente de zero, isto é,  $H_0: \rho=0$  ou  $H_1: \rho \neq 0$ , sendo  $\rho$  a correlação entre as unidades sensoriais e as componentes principais. A correlação  $\rho$  varia de -1 a 1, onde valores próximos a zero significam que não há correlação entre as variáveis. A análise é realizada em programa computacional e fornece como resultado a correlação  $\rho$  e o p-valor obtido.

Neste trabalho, sendo variáveis as unidades sensoriais e as componentes principais, foi assumida a hipótese nula  $H_0$  como “não há correlação entre as variáveis” ( $\rho=0$ ), enquanto a hipótese  $H_1$  será “há correlação entre as variáveis” ( $\rho\neq 0$ ). Em termos de correlação  $\rho$ , é avaliada a contribuição de cada unidade sensorial para a discriminação final do PCA. O p-valor é uma probabilidade diretamente relacionada com a hipótese nula  $H_0$ , fornecendo a probabilidade de rejeição da hipótese  $H_0$  sendo  $H_0$  verdadeira. Explicitamente, o p-valor responde a seguinte questão: “qual é a probabilidade de eu errar se eu decido não rejeitar uma das unidades sensoriais da *língua eletrônica*?”. O nível de significância escolhido foi 0,05 (5%), isto é, p-valor  $< 0,05$  significa que a unidade sensorial deve ser considerada na análise de PCA, enquanto p-valor  $> 0,05$  indica que as contribuições da unidade sensorial podem ser descartadas nas análises.

### 2.4 Técnica de projeção

A constante evolução da instrumentação técnica para a realização de estudos científicos em laboratório tem possibilitado que mais medidas sejam feitas em menor tempo. Esse fato implica em um aumento na geração de resultados, e está atrelado à incorporação de microcomputadores aos equipamentos de aquisição de dados. Com isso, surge a necessidade do emprego de técnicas que possam auxiliar na análise pela redução da dimensão destes dados, facilitando e/ou habilitando a interpretação do pesquisador. Visualizações denominadas mapas de dados por similaridade, geradas por técnicas de projeção multidimensional [84, 85], vêm sendo muito utilizadas para apoiar tarefas de análise exploratória em problemas que envolvem grande volume de dados multidimensionais. Esse é o caso dos sensores do tipo *língua eletrônica*, onde a aquisição de dados está relativamente cada vez mais fácil, tornando as análises comparativas mais demoradas por parte dos pesquisadores. Recentemente, métodos de projeção têm sido aplicados com sucesso nesses sistemas envolvendo sensores e biossensores [24, 30, 31, 86-89], evidenciando uma nova tendência para a análise dos dados obtidos com o mínimo de perda de informação.

O método de visualização de informação conhecido como Projeção Multidimensional, ou simplesmente *técnica de projeção* [90], foi utilizado para avaliar e comparar as respostas elétricas obtidas por todas as unidades sensoriais empregadas neste trabalho. As respostas das unidades sensoriais (valores de capacitância) foram consideradas como vetores dentro de um espaço  $m$ -dimensional, sendo  $m$  o número de frequências para os quais valores de capacitância foram coletados. Em nossos testes,  $m=61$  variando de 1 a  $10^6$  Hz, o que significa que para cada frequência há um valor de capacitância correspondente, totalizando 61 pares frequência/capacitância. A técnica de projeção mapeia cada vetor dentro de um elemento visual (cada círculo no quadro de resultados) preservando, até certo ponto, as relações de similaridade entre eles. No quadro de resultados, vetores similares (isto é, respostas similares das unidades sensoriais) são posicionados próximos uns aos outros e a diferença entre eles leva ao distanciamento. Isto facilita a comparação das respostas oriundas de diferentes unidades sensoriais, permitindo checar quão similares elas são dentro de um quadro em duas dimensões. Na Figura 9 é representado como ocorre a redução das dimensões a partir dos dados originais de capacitância para um plano em duas dimensões, preservando ao máximo as relações de similaridade entre as amostras. Note que no quadro de resultados cada curva de capacitância é representada por um elemento visual (neste caso, um círculo).

Formalmente, seja  $\delta(x_i, x_j)$  a distância entre dois vetores  $m$ -dimensionais  $x_i, x_j \in \mathcal{R}^m$  (resposta das unidades sensoriais) e seja  $d(y_i, y_j)$  a distância entre dois elementos gráficos  $y_i, y_j \in \mathcal{R}^p$ , com  $p=[1,2,3]$  (elementos visuais projetados no quadro de resultados). Uma técnica de projeção pode ser definida como uma função injetora  $f$  que mapeia  $f : \mathcal{R}^m \rightarrow \mathcal{R}^p$  tal que  $|\delta(x_i, x_j) - d(f(x_i), f(x_j))| \approx 0, \forall x_i, x_j \in \mathcal{R}^m$  [90, 91]. Existem muitas técnicas de projeção, as quais diferem principalmente na habilidade de tratar dados não-lineares ou na capacidade de processar grandes bancos de dados, entre outros pontos. Portanto, é necessário escolher entre elas a técnica que é mais apropriada para as aplicações desejáveis. Para mais detalhes sobre discussões e aplicações de diferentes técnicas de projeções, veja *Paulovich* e coautores [85].

*Técnica de projeção multidimensional*

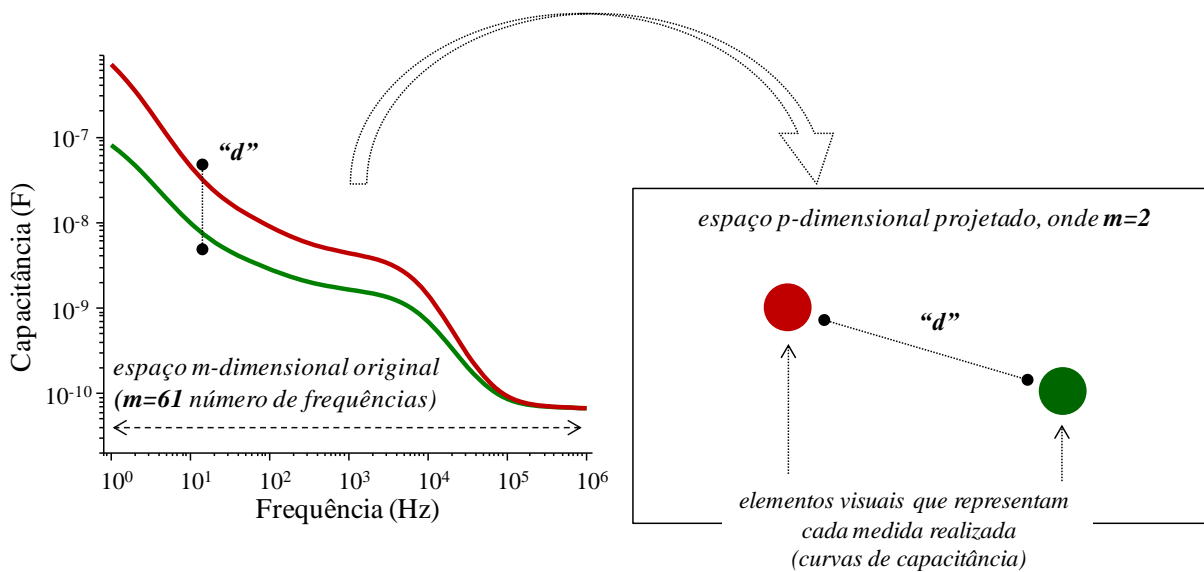


Figura 9. Ilustração da técnica de projeção multidimensional aplicada a curvas de capacitância em função da frequência. A esquerda são ilustradas duas curvas de capacitância características, compostas por 61 valores de capacitância relativos à frequências que variam de 1 Hz a  $10^6$  Hz. “d” representa a distância euclidiana entre as duas curvas. A direita é ilustrado um quadro de resultados em duas dimensões com os elementos visuais (círculos) relativos a cada uma das curvas. A distância “d” foi preservada no espaço projetado com a redução da dimensionalidade.

## 2.5 Espalhamento Raman

O espalhamento Raman é uma técnica espectroscópica complementar à espectroscopia de absorção no infravermelho na medida em que também se refere aos modos de vibração molecular [92]. Porém, modos vibracionais que podem ser observados via absorção no infravermelho podem não ser via espalhamento Raman e vice-versa. Os modos vibracionais ativos em cada uma das técnicas são determinados pelas regras de seleção [93]. Embora as técnicas de absorção no infravermelho e espalhamento Raman sejam complementares, ambas as técnicas espectroscópicas envolvem mecanismos físicos diferentes. Como diz o próprio nome, uma se refere ao espalhamento da luz e a outra se refere à absorção desta radiação. No espalhamento Raman, a radiação incidente, que geralmente está no visível ou no ultravioleta, é espalhada pela molécula com uma energia ligeiramente diferente da energia da radiação incidente. Daí o espalhamento Raman ser conhecido também como espalhamento inelástico da luz [94]. A diferença entre a radiação incidente e a radiação que foi espalhada pela molécula está na região do infravermelho, e esta diferença é registrada pelo equipamento. Seguindo um modelo

clássico e equacionado, o espalhamento Raman está intimamente relacionado com o momento de dipolo  $p$  induzido na molécula pela radiação incidente segundo o produto escalar

$$p = \alpha \cdot E \quad (2.9)$$

onde  $E$  é o campo elétrico da radiação incidente e  $\alpha$  a polarizabilidade molecular (as notações vetoriais e tensoriais são negligenciadas por simplificação). A polarizabilidade  $\alpha$  é representada pela equação 2.10; o primeiro termo ( $\alpha_0$ ) refere-se à polarizabilidade permanente da molécula, o segundo termo (primeira derivada em relação às coordenadas normais =  $\alpha'$ ) é o responsável pelo espalhamento Raman e o terceiro termo (segunda derivada em relação às coordenadas normais =  $\alpha''$ ) é o responsável pela presença de frequências dobradas e combinações nos espectros Raman [94-96].

$$\alpha = \alpha_0 + \left. \frac{\partial \alpha}{\partial Q} \right)_0 \delta Q + \left. \frac{1}{2} \frac{\partial^2 \alpha}{\partial Q^2} \right)_0 \delta Q^2 + \dots \quad (2.10)$$

Outra abordagem é que a incidência da radiação eletromagnética produz na molécula uma perturbação dependente do tempo, a qual se manifesta por um estado virtual de energia. Quando os estados estacionários final e inicial são os mesmos, diz-se que o efeito da perturbação é o espalhamento Rayleigh, para o qual as frequências das radiações incidente e espalhada são as mesmas. Quando a frequência da radiação espalhada é maior que a da radiação incidente, tem-se o espalhamento Raman anti-Stokes. No caso contrário, quando a frequência da radiação espalhada é menor que a da radiação incidente tem-se o espalhamento Raman Stokes [94]. Na Figura 10 é apresentado um diagrama para dois estados eletrônicos de energia – fundamental e excitado – com os respectivos estados vibracionais de cada estado eletrônico [92]. Também são mostradas as possíveis transições para os efeitos Raman Stokes, Raman anti-Stokes e espalhamento Raman ressonante.

O espalhamento Raman Stokes é mais intenso que o Raman anti-Stokes à temperatura ambiente, pois sua probabilidade de ocorrer é maior, uma vez que ele se dá para as

moléculas situadas no estado fundamental de energia  $v_0$ . No caso Raman anti-Stokes, o espalhamento ocorre para moléculas que já ocupam um estado vibracional excitado  $v_1$ . Nesse estado excitado, a população é menor que no estado fundamental a temperatura ambiente, daí sua probabilidade de ocorrer ser menor. Quando a energia da radiação incidente coincide com a necessária para uma transição eletrônica da molécula que espalha a luz, tem-se o espalhamento Raman ressonante (RRS, do inglês *resonance Raman scattering*). Este efeito ressonante aumenta a probabilidade de uma transição que resultará em um espalhamento Raman (aumenta a seção de choque do espalhamento Raman por um fator em torno de  $10^6$ ). Vale citar que a intensidade do espalhamento Raman depende da intensidade do laser ( $I_{laser}$ ), da frequência  $\nu$  do laser incidente e da polarizabilidade  $\alpha$  da molécula, segundo a equação

$$I_{Raman} = I_{laser} \cdot \nu^4_{laser} \cdot \alpha'^2. \quad (2.11)$$

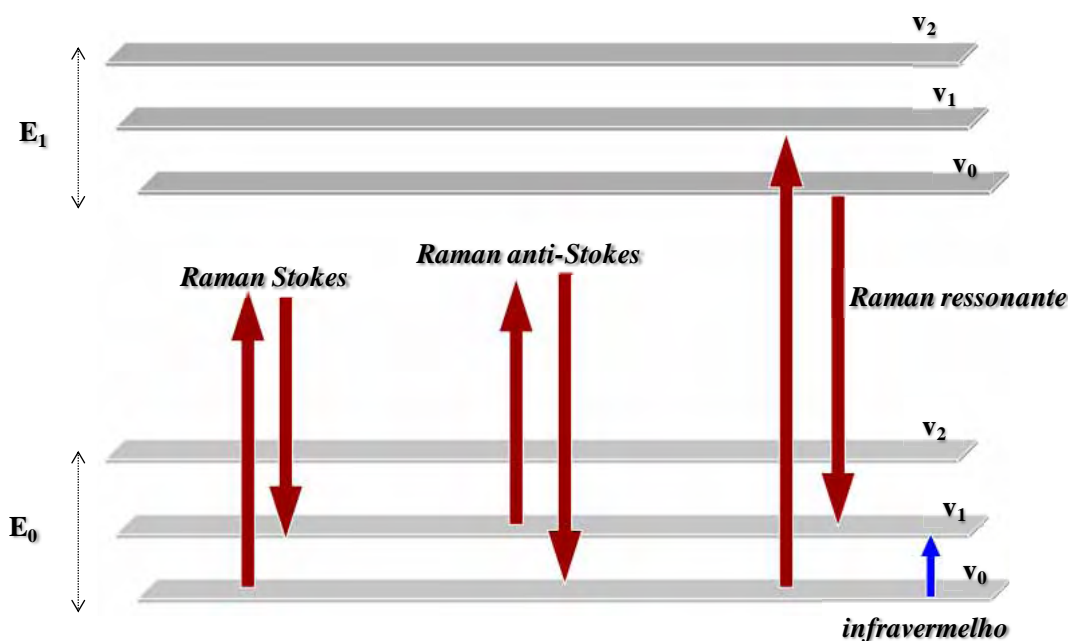


Figura 10. Diagrama de energia mostrando as transições dos espalhamentos Raman Stokes, Raman anti-stokes e Raman ressonante para um modelo considerando dois estados eletrônicos de energia  $E_0$  (fundamental) e  $E_1$ . Dentro de cada estado eletrônico, são mostrados três estados vibracionais  $v_0$  (fundamental),  $v_1$  e  $v_2$ . Todas as transições envolvem variações de energia resultante da ordem do infravermelho.

Geralmente, a energia necessária para realizar uma transição eletrônica é da ordem de  $10^0$  eV, enquanto que a energia para realizar uma transição vibracional é da ordem de  $10^{-2}$  eV

[92, 97]: Basicamente, as vibrações moleculares são classificadas em dois tipos: vibrações de deformação axial (do inglês *stretching*) e de deformação angular (do inglês *bending*). As deformações de estiramento são oscilações radiais das distâncias das ligações químicas. As deformações angulares envolvem mudanças dos ângulos entre as ligações ou, como no modo de deformação antissimétrica fora do plano, alterações do ângulo entre o plano que contém as ligações e um plano de referência [97].

### 2.6 Microscopia de força atômica

A microscopia de força atômica é uma técnica que utiliza as interações entre uma ponta de contato (agulha) e a superfície da amostra para realizar análises morfológicas [98]. Tais interações ocorrem a partir de forças de *Van der Waals*, forças eletrostáticas, magnéticas e de atrito, dependendo do tipo de material e da distância entre a ponta e a amostra [99]. Fazendo uso dessas interações, a técnica AFM pode fornecer informações sobre a superfície da amostra em áreas que variam de nanômetros quadrados até centenas de micrometros quadrados. Desde sua invenção em 1986 [100], as aplicações desta técnica têm evoluído constantemente, atingindo estudos de interação na área de biotecnologia [101, 102]. Uma de suas potencialidades é que a técnica não requer que a superfície analisada seja condutora eletricamente (como a microscopia eletrônica de tunelamento), ampliando suas possíveis aplicações para amostras como os filmes finos orgânicos.

O microscópio de força atômica é um sistema constituído basicamente por uma alavanca e uma agulha, um sistema de varredura, um sistema de detecção a laser do deslocamento da alavanca e um sistema de controle e realimentação. Um esboço da configuração experimental do microscópio é apresentado na Figura 11. A alavanca e a agulha são os elementos sensoriais responsáveis pela interação com a amostra, sendo que a agulha faz o mapeamento da superfície e a alavanca mede a força de interação entre a agulha e a superfície da amostra. O sistema de varredura piezelétrico desloca-se em escala micro e nanométrica nas

direções x, y e z quando uma diferença de potencial é aplicada em suas extremidades, proporcionando imagens em 3 dimensões. O deslocamento da alavanca é detectado pelas alterações no ângulo de reflexão do feixe de laser que incide na parte superior da alavanca. Os raios refletidos são captados e enviados ao sistema de controle (um microcomputador), o qual procura manter a distância entre a amostra e a agulha constante através da variação da tensão aplicada no piezelétrico.

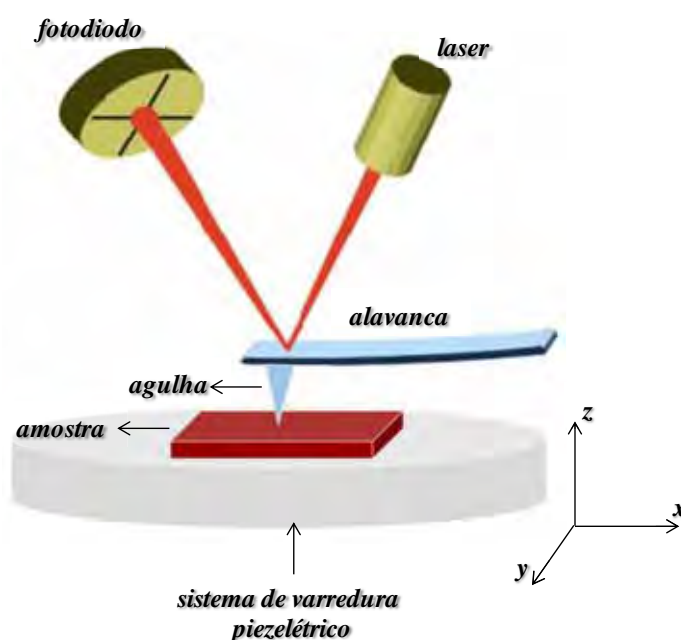


Figura 11. Microscópio de força atômica. A agulha faz o mapeamento na superfície da amostra e a alavanca mede a força de interação entre a agulha e a amostra. O sistema de varredura piezelétrico desloca-se nas direções x, y e z. O deslocamento da alavanca é detectado pelas alterações no feixe de laser que incide na ponta da própria alavanca. Os raios refletidos são captados por um fotodiodo e enviados ao microcomputador.

Os principais modos de operação de um microscópio de força atômica são os modos contato, não contato e contato intermitente. Este último foi usado para realizar as análises desta tese. No modo contato intermitente (do inglês *tapping mode*), a distância entre a agulha e a superfície da amostra fica por volta de 10 a 100 nm, onde prevalecem as forças como *Van der Waals* e eletrostática. As forças de interação são da ordem de  $10^{-12}$  N, o que minimiza o contato da agulha com a amostra e, portanto, evita possíveis danos à amostra. Neste modo, ao invés de se medir a deflexão da alavanca, esta é colocada a vibrar próximo à sua frequência de ressonância de forma que alterações nesta frequência de vibração são provocadas pela interação agulha/filme.



# CAPÍTULO 3

## Materiais e métodos

### 3.1 Materiais

O AzoPTCD possui massa molar 536,58 g/mol, e foi fornecido pelo Dr. J. Duff da *Xerox Resource Centre of Canada* em uma colaboração com o professor Aroca. O fosfolipídio aniônico DPPG foi comprado da *Avanti Polar Lipids Inc* e possui massa molar 745 g/mol. O PAH e a NiTsPc foram adquiridos da *Sigma-Aldrich Co.*, e possuem massas molares  $56 \times 10^3$  g/mol e 979,40 g/mol, respectivamente. O DODAB possui massa molar de 630,95 g/mol e foi adquirido da *Fluka*. A ZnPc foi adquirida da *Kodak* e possui massa molar de 577,91 g/mol. A lignina foi extraída do bagaço de cana de açúcar usando o processo *organosolve* [103] com solvente butanol, e possui massa molar de 1594 g/mol. Ela foi fornecida pelo professor Dr. Antonio A. S. Curvelo do IQSC/USP. Todos estes materiais foram processados a partir do pó e usados na forma de filmes finos.

O fármaco azul de metileno com massa molar 319,85 g/mol e o cloreto de cobre ( $\text{CuCl}_2$ ) com massa molar de 170,48 g/mol foram adquiridos da *Sigma-Aldrich Co*. A sacarose com massa molar de 342,30 g/mol foi adquirida da *Synth*. Todos os materiais descritos, com exceção da lignina, foram usados sem procedimento adicional de purificação, pois possuem código de pureza analítica da *American Chemical Society* (P.A.-A.C.S.). A lignina possui características moleculares de composição reprodutíveis considerando o processo de extração utilizado [104]. As estruturas moleculares dos materiais são mostradas na Figura 12.

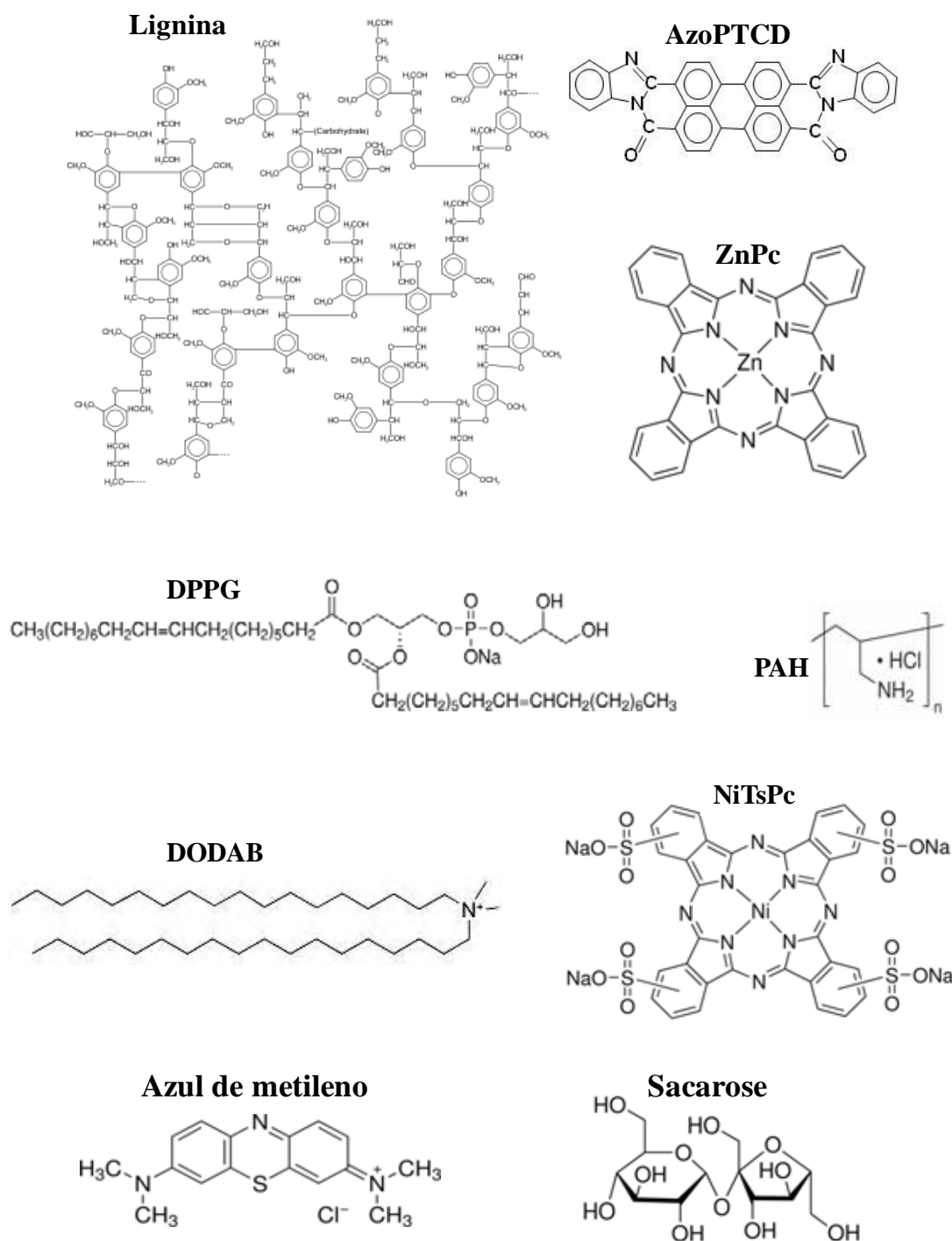


Figura 12. Formula estrutural dos materiais usados para a fabricação dos filmes finos e para detecção (analitos). A estrutura da lignina apresentada foi publicada no livro de *Glazer e Nikaido* e refere-se ao modelo proposto da lignina extraída da madeira conífera [105].

### 3.2 Fabricação dos filmes PVD, LB e LbL

#### 3.2.1 Fabricação dos filmes PVD

Os filmes PVD foram fabricados em uma evaporadora de materiais orgânicos *Boc Edwards Auto 306*, sendo as espessuras monitoradas por uma microbalança de cristal de quartzo. Uma foto da evaporadora de materiais orgânicos é mostrada na Figura 13 exibindo os detalhes dos principais componentes do equipamento.



Figura 13. Evaporadora de materiais orgânicos *Boc Edwards Auto 306* usada para crescimento dos filmes PVD. Na imagem são indicados os principais componentes do equipamento e detalhes do interior da câmara onde o processo de evaporação é realizado.

Uma pequena quantidade do pó do material foi colocada num cadinho metálico de tungstênio (W), por onde se fez passar uma corrente elétrica. As superfícies que receberam os filmes (EID e lâminas de quartzo ou vidro) e a microbalança de cristal de quartzo foram posicionadas 15 cm acima do cadinho de W. Todo o processo de evaporação foi realizado em uma câmara de alto vácuo ( $10^{-6}$  a  $10^{-7}$  Torr). O vácuo é utilizado neste processo para facilitar a evaporação dos materiais, e também para evitar contaminações por partículas/vapores presentes no ambiente de trabalho. Para os materiais utilizados neste trabalho, a corrente elétrica foi ajustada vagarosamente de 0 até 2,2 A, fazendo com que a temperatura do cadinho de W

atingisse no máximo 440 °C. Quando o material começou a evaporar e atingiu uma taxa de evaporação entre 0,2 e 0,5 nm/s, a balança de cristal de quartzo foi zerada e o obturador que protege os substratos foi aberto. Então os filmes PVD foram depositados sobre as superfícies até a espessura desejada. Neste trabalho foram crescidos filmes PVD do AzoPTCD com espessuras de 10 e 120 nm, e filmes de ZnPc com 10 nm. No caso do AzoPTCD, o filme de 10 nm foi crescido em uma única etapa, enquanto o filme de 120 nm foi crescido em 3 etapas de 40 nm cada. Esse procedimento foi adotado porque o AzoPTCD não apresenta um crescimento linear para espessuras maiores que 40 nm se evaporados em uma única etapa [1, 54], resultando na perda de controle da espessura. Porém, é conhecido que a organização molecular dos filmes mais espessos são as mesmas do filme de 10 nm, pelo menos para a espessura de 120 nm [54].

### 3.2.2 Fabricação dos filmes LB

As monocamadas LB foram depositadas em uma cuba de Langmuir da KSV modelo 2000, mostrada na Figura 14 juntamente com os principais componentes do equipamento. Para a fabricação dos filmes LB do AzoPTCD, uma solução de AzoPTCD de  $10^{-4}$  mM (10% do volume de ácido trifluoroacético completado com diclorometano) foi espalhada sobre a água ultrapura com uma microsseringa. Após 15 minutos necessários para a evaporação do solvente, as moléculas flutuantes sobre a água foram simetricamente comprimidas e empacotadas a uma velocidade de 10 mm/min, formando assim a monocamada de Langmuir [33] na interface ar/água. A monocamada foi então transferida para o EID ou lâmina de quartzo sob pressão de superfície constante de 28 mN/m para formar o filme LB [25, 33]. O filme LB de monocamada foi depositado para o tipo Z. A velocidade de emersão do substrato variou entre 0,7 e 1,0 mm/min, sendo manualmente ajustada durante a deposição para manter a TR acumulada próxima a 1.

Os filmes LB de lignina foram fabricados na mesma cuba de Langmuir KSV modelo 2000 (Figura 14). O pó da lignina foi solubilizado no solvente tetrahydrofurano (THF) para

solução com concentração final de 0,85 mg/mL. Os filmes foram primeiramente fabricados em subfase de água ultrapura a 20 °C, onde foram espalhados lentamente 200 µL da solução de lignina (filmes de Langmuir). Após espalhar a solução, foram esperados cerca de 15 minutos para evaporação do solvente antes de iniciar a compressão dos filmes. As moléculas foram comprimidas simetricamente por barreiras móveis a uma velocidade de 10 mm/min até que a pressão superficial atingisse 25 mN/m, a qual foi mantida durante a transferência das monocamadas para o substrato sólido (filmes LB). Os filmes LB foram depositados tanto na emersão quanto na imersão do substrato, dando origem aos chamados filmes LB do tipo Y com um total de 5 camadas.

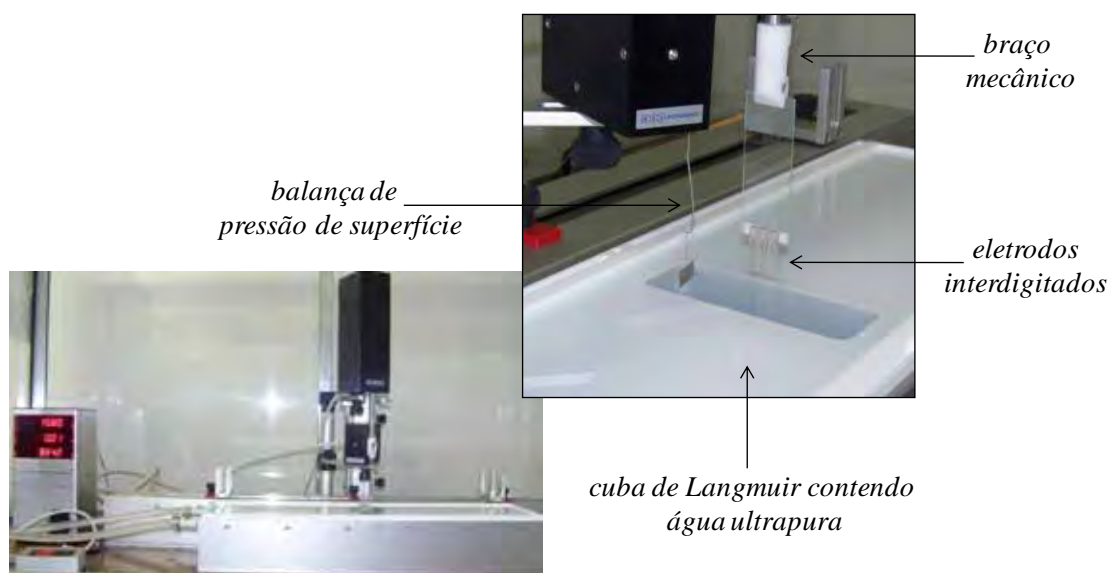


Figura 14. Cubo de Langmuir KSV 2000 onde foram fabricados os filmes Langmuir-Blodgett (LB). No detalhe são indicados os principais componentes do equipamento como a balança de pressão de superfície (sensor de Wilhelmy), braço mecânico, a cuba e os substratos (EID) que receberão os filmes.

### 3.2.3 Fabricação dos filmes LbL

Os filmes LbL de PAH/DPPG foram crescidos a partir de soluções preparadas usando água ultrapura (pH 5,6) para concentrações finais de 1 mM de DPPG (0,74 mg/mL) e 0,80 mg/mL de PAH. As soluções foram preparadas sem nenhum procedimento especial: o pó foi simplesmente adicionado na água ultrapura e as soluções foram então agitadas usando agitador mecânico. No caso do DPPG é conhecido que este procedimento leva a formação

espontânea de vesículas multilamelares (MLV) [18], as quais são imobilizadas nos filmes LbL. O filme LbL de PAH/DPPG foi fabricado pela imersão alternada do substrato (lâmina de quartzo ou EID) nas soluções seguindo a sequência: 3 minutos imersos na solução PAH → água ultrapura em agitação moderada para remover o excesso de PAH → 3 minutos imersos na solução de DPPG → água ultrapura em agitação moderada para remover o excesso de DPPG. Ao final deste processo, a primeira bicamada de PAH/DPPG foi formada, e então o processo repetido cinco vezes para obter-se o filme PAH/DPPG com 5 bicamadas.

Os filmes LbL de DODAB/NiTsPc foram crescidos a partir de soluções fabricadas usando água ultrapura (pH 5,6) para concentrações finais de 1 mM de DODAB e 0,05 mM de NiTsPc. No caso das soluções de DODAB, o pó foi dissolvido em água ultrapura e a solução aquecida até 60 °C para solubilização dos lipídios e consequente formação das vesículas [106]. Após esse procedimento, a solução foi armazenada por 24 horas em temperatura ambiente (23 °C) antes do crescimento dos filmes LbL. Já a solução de NiTsPc foi preparada pela simples adição do pó em água ultrapura e consequente agitação em ultrassom. O filme LbL de DODAB/NiTsPc foi fabricado pela imersão alternada dos substratos (lâmina de quartzo ou EID) nas soluções com a sequência: 3 minutos imersos na solução DODAB → água ultrapura em agitação moderada para remover o excesso de DODAB → 3 minutos imersos na solução de NiTsPc → água ultrapura em agitação moderada para remover o excesso de NiTsPc. Ao final deste processo a primeira bicamada de DODAB/NiTsPc foi formada, e então o processo repetido cinco vezes para se obter um filme DODAB/NiTsPc com 5 bicamadas.

Desta forma, as unidades sensoriais utilizadas neste trabalho foram fabricadas pela deposição destes filmes sobre os EIDs. Nos resultados apresentados no capítulo 4, as unidades sensoriais empregadas foram: filmes PVD de AzoPTCD 10 nm e 120 nm e filme LB do AzoPTCD com uma camada (monocamada). Nos resultados descritos no capítulo 5 as unidades sensoriais empregadas foram formadas pelos seguintes filmes: um filme PVD do AzoPTCD e

um PVD da ZnPc com 10 nm de espessura cada, um filme LB de lignina butanol com 5 camadas e dois filmes LbL, DODAB/NiTsPc e PAH/DPPG, com 5 bicamadas cada um.

### 3.3 Técnicas de caracterização dos filmes

Os filmes fabricados foram caracterizados por técnicas espectroscópicas e microscópicas com o intuito de checar a estrutura e morfologia das unidades sensoriais fabricadas. Espectros de absorção no UV-Vis dos filmes depositados sobre o quartzo ou vidro foram obtidos em um espectrofotômetro *Varian* modelo *Cary 50* entre 290 e 900 nm. Os espectros de espalhamento micro-Raman foram coletados usando um espectrógrafo micro-Raman *Renishaw* modelo *in-Via* acoplado a um microscópio ótico *Leica* com lentes objetivas de 50x, o que leva a uma resolução espacial de aproximadamente  $1 \mu\text{m}^2$  usando o laser com comprimento de onda 633 nm. O espectrógrafo é equipado com grades de difração com 1800 linhas/mm, o que resulta em uma resolução espectral máxima de aproximadamente  $4 \text{ cm}^{-1}$  com a linha de laser utilizada. Filtros adicionais e uma base XYZ motorizada controlada por computador também estão inclusas e permitem imagens Raman (mapeamento micro-Raman) com um passo mínimo de  $0,1 \mu\text{m}$ . Diferentes potências de incidência do laser foram usadas visando melhor relação sinal-ruído sem comprometer a integridade química da amostra em análise. Os mapeamentos micro-Raman foram coletados nos modos estáticos ou estendidos de aquisição, enquanto os espectros foram obtidos usando o modo estendido de aquisição na faixa de 500 a  $2000 \text{ cm}^{-1}$ .

As imagens de AFM foram coletadas sobre os EIDs com e sem filme varrendo diferentes áreas. Estas análises foram realizadas em dois laboratórios distintos. As imagens AFM apresentadas no capítulo 4 foram realizadas em um equipamento da *Digital Instrument* modelo *Nanoscope IV* no modo de contato intermitente com agulha de nitreto de silício. Estas imagens foram obtidas no laboratório do professor Aroca. As imagens apresentadas no capítulo 5 foram realizadas em um equipamento *Nanosurf* modelo *Easyscan 2* também no modo contato

intermitente com agulha de nitreto de silício. Estas imagens foram obtidas no laboratório de filmes finos do Departamento de Física, Química e Biologia da FCT-UNESP.

### 3.4 Língua eletrônica e espectroscopia de impedância

Neste trabalho foram montadas duas *línguas eletrônicas* visando diferentes estudos, como descrito no capítulo 1. A *língua eletrônica* discutida no capítulo 4 foi composta por quatro unidades sensoriais: um EID de platina sem filme, um EID de platina recoberto por uma monocamada LB (unidade monocamada LB) do AzoPTCD e dois EIDs de platina recobertos com filmes PVD do AzoPTCD com 10 nm e 120 nm de espessura (unidades PVD 10 nm e 120 nm, respectivamente). A unidade sensorial EID sem filme foi inserida para compor a *língua eletrônica* com o intuito de checar alterações nas respostas elétricas em virtude da presença do filme. Nesta *língua eletrônica* as soluções analisadas continham concentrações de 1 mM, 1  $\mu$ M e 10 nM dos três analitos ( $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose). A sequência de medida adotada foi da menor concentração para a maior concentração, e medidas em água ultrapura foram coletadas no início e no final de cada ciclo de medida (entenda-se um ciclo como as medidas em todas as concentrações de um mesmo analito). Entre cada concentração medida, as unidades sensoriais passavam por um processo de lavagem em água ultrapura para evitar efeitos acumulativos. Cada tipo de analito ( $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno ou sacarose) foi medido por uma *língua eletrônica* montada especificamente para ele, ou seja, três conjuntos distintos contendo unidades EID sem filme, monocamada LB e filmes PVD de 10 nm e 120 nm foram produzidos e cada um dos conjuntos foi empregado nos experimentos sensoriais com  $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose, respectivamente.

A *língua eletrônica* empregada nas análises do capítulo 5 foi composta por seis unidades sensoriais: um EID de platina sem filme e EIDs de platina recobertos pelos filmes LbL de PAH/DPPG e DODAB/NiTsPc com 5 bicamadas, PVD de ZnPc e AzoPTCD com 10 nm cada e filme LB de lignina butanol com 5 camadas. Esta segunda *língua eletrônica* também foi



empregada na discriminação de soluções aquosas de  $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose. Porém, aumentou-se o número de concentrações em comparação à aquelas utilizadas no capítulo 4. As concentrações analisadas foram 10 nM, 100 nM, 1  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$  e 100  $\mu\text{M}$ , além das águas ultrapuras medidas no início e final de cada ciclo de medidas elétricas. Novamente, entre cada concentração medida as unidades sensoriais passavam por um processo de lavagem em água ultrapura para evitar efeitos acumulativos.

As medidas elétricas foram realizadas em um analisador de impedância *Solartron* modelo *1260A* com interface dielétrica modelo *1296* para eliminação de ruídos em baixa frequência. Os espectros de impedância foram coletados na região de frequência entre 1 e  $10^6$  Hz, usando um sinal de entrada com 50 mV de amplitude e com todas as unidades sensoriais imersas na solução em análise ao mesmo tempo. A aquisição dos dados foi realizada no programa *Smart*. No próprio programa de aquisição de dados as curvas originais de impedância complexa foram exportadas para curvas de capacitância real e capacitância imaginária. Porém, para as análises, somente as curvas da capacitância real foram utilizadas [28, 62]. Neste trabalho optou-se por manter o padrão de resultados produzidos até o momento pelo grupo de Presidente Prudente e por outros grupos no Brasil que trabalham com este tipo de *língua eletrônica* [7, 8, 12, 14, 15, 18, 24, 30, 86, 88, 89, 107, 108], habilitando comparações diretas nos resultados obtidos independentemente de quando estes tenham sido gerados.

O programa utilizado para ajustes das curvas experimentais foi o *Z-View* da *Solartron Analytical*. Ao invés de uma representação puramente capacitiva (ideal), os elementos capacitivos no modelo de Taylor e Macdonald foram representados por um elemento de fase constante (CPE, do inglês *constant phase element*) [62]. O *Z-view* permite escolher o ângulo de fase CPE-P no intervalo de  $-1 < \text{CPE-P} < 1$  ou deixá-lo como parâmetro variável para obter o melhor ajuste nas curvas. Como no sistema estudado os efeitos indutivos eram praticamente desprezíveis, os efeitos capacitivos eram predominantes, fazendo com se limitasse o CPE ao intervalo  $0 < \text{CPE-P} < 1$ . Além disso, os elementos de condutância G foram trocados por

elementos resistivos  $R$  ( $R = G^{-1}$ ) no modelo de circuito equivalente. Em todos os ajustes, os elementos foram variados ou fixados até que se obtivesse erro de 20% para cada elemento.

### 3.5 Técnica de projeção multidimensional

Uma técnica de projeção de dados foi utilizada para comparar as respostas das unidades sensoriais com relação à espessura do filme, tipo do filme, concentração do analito e caráter eletrolítico do analito. As análises foram conduzidas no programa computacional *PEX-Sensor* [109]. Neste trabalho foi usada uma técnica de mapeamento de dados conhecida como mapa de documentos interativos (do inglês, *interactive document map* – IDMAP) [109, 110]. Além de ser uma técnica rápida e capaz de processar centenas de vetores em segundos, ela preserva no espaço visual (duas dimensões) a maioria das relações de distância a partir do espaço original; uma característica essencial para os tipos de análises conduzidas aqui. Neste trabalho foram analisadas pela técnica de projeção tanto as medidas elétricas realizadas durante o doutoramento quanto medidas elétricas realizadas no mestrado, as quais foram comentadas e discutidas na dissertação [1], porém ainda não haviam sido analisados pela técnica de projeção. Os detalhes da fabricação dos filmes e a discussão das medidas elétricas realizadas durante o mestrado não foram trazidas para esta tese, pois estão presentes na dissertação. Os dados do mestrado foram processados pela técnica de projeção para complementar e verificar a consistência das conclusões obtidas neste trabalho da tese.

Cada curva de capacitância descrita no tópico 3.4 foi formada por um conjunto de 61 pontos (61 valores de capacitância). Para a realização das análises por técnica de projeção, os valores das curvas de capacitância foram dispostos em linhas; na primeira linha foram colocadas as 61 frequências para as quais foram coletados os valores de capacitância durante a medida elétrica (entre 1 Hz e 1 MHz). Nas linhas subsequentes foram colocados os 61 valores de capacitância correspondentes aos pontos que formam as curvas de capacitância. Nos resultados de projeção, cada linha (neste caso, cada curva de capacitância) é representada por um elemento

visual no quadro de resultados. Por exemplo, um determinado experimento gerou 10 curvas de capacitâncias a partir de 5 unidades sensoriais que mediram 2 soluções. Então o conjunto de dados terá 10 linhas contendo cada curva de capacitância, acrescido de uma primeira linha que descreve as frequências onde foram coletados os pontos (totalizando 11 linhas). No quadro final de resultados são mostrados 10 elementos visuais; um para cada curva de capacitância. Esse tipo de abordagem será referenciado neste trabalho como discriminação por filme (exemplo da tabela de dados usada nas análises por técnica de projeções é mostrada no anexo 1).

Outra abordagem possível é compor uma linha contendo as informações de todas as unidades sensoriais. Suponha as mesmas 5 unidades sensoriais empregadas na discriminação de 2 amostras. Para cada amostra medida, são geradas 5 curvas de capacitância, sendo uma para cada unidade sensorial. Na abordagem anterior, os dados seriam apresentados para a técnica de projeções em 10 linhas, acrescida da linha de frequências. Nesta outra abordagem, a resposta das 5 unidades sensoriais foram combinadas em uma única linha, formando um padrão de resposta para a amostra que carrega as informações de todas unidades sensoriais. Assim, os dados foram apresentados para análise por técnica de projeções em 2 linhas, uma para cada amostra, gerando apenas 2 elementos visuais no quadro de resultados. Este tipo de abordagem será referenciado no texto como discriminação por concentração (exemplo no anexo 1).

### **3.6 Análise de componentes principais e correlação de Pearson**

Nas análises de PCA os conjuntos de dados de entrada (matriz de dados –Figura 8) foram formados a partir dos valores de capacitância obtidos pelas medidas elétricas realizadas com cada unidade sensorial. Um valor de capacitância foi extraído de cada curva de capacitância para representá-la. Estes valores foram coletados na curva de capacitância usando dois métodos distintos de mineração dos dados. O primeiro conjunto de dados foi formado por valores de capacitância tomados para uma frequência fixa em todas as concentrações. Neste método, um valor fixo de frequência foi adotado para cada tipo de analito e para cada unidade sensorial,

independente da concentração. Um exemplo deste procedimento é indicado pela linha vertical pontilhada na Figura 15a. Este procedimento é similar ao que foi feito em outros trabalhos na literatura com *línguas eletrônicas* [8, 12, 15, 18, 21, 24, 54]. A frequência fixa em que os valores de capacitância são coletados geralmente é escolhida entre  $10^2$  e  $10^5$  Hz. Essa região é governada pelo filme depositado sobre o EID de acordo com o modelo de Taylor e Macdonald [28], e onde os valores de capacitância apresentam uma variação significativa de acordo com a amostra analisada. Este tipo de conjunto de dados será referenciado como frequência fixa em citações futuras neste trabalho.

O segundo tipo de conjunto de dados foi formado por valores de capacitância tomados em uma frequência específica para cada curva de capacitância, considerando os analitos e as unidades sensoriais separadamente. Esta frequência é representada pelos quadrados vermelhos na Figura 15a. Neste caso, a frequência é escolhida de acordo com o valor máximo (pico) da curva de Tan Delta ( $\text{Tan } \delta$ ), onde  $\text{Tan } \delta = C''/C'$  ( $C'$  é a componente real e  $C''$  é a componente imaginária da capacitância complexa – veja tópico 2.3) [62]. Um exemplo do procedimento para determinação da frequência na qual será coletado o valor de capacitância é mostrado na Figura 15b. Esse tipo de conjunto de dados será referenciado como frequência variada em futuras citações neste trabalho. Neste conjunto de dados de frequência variada, buscou-se uma condição em que todos os valores de capacitância que compunham a matriz fossem escolhidos a partir de uma situação de equivalência em relação à resposta do filme ao campo elétrico aplicado durante as medidas de espectroscopia de impedância. Assim, o  $\text{Tan } \delta$  foi escolhido para indicar em que frequência os valores de capacitância seriam escolhidos sob esta situação de equivalência; ponto de máxima perda de energia para uma tensão AC aplicada.

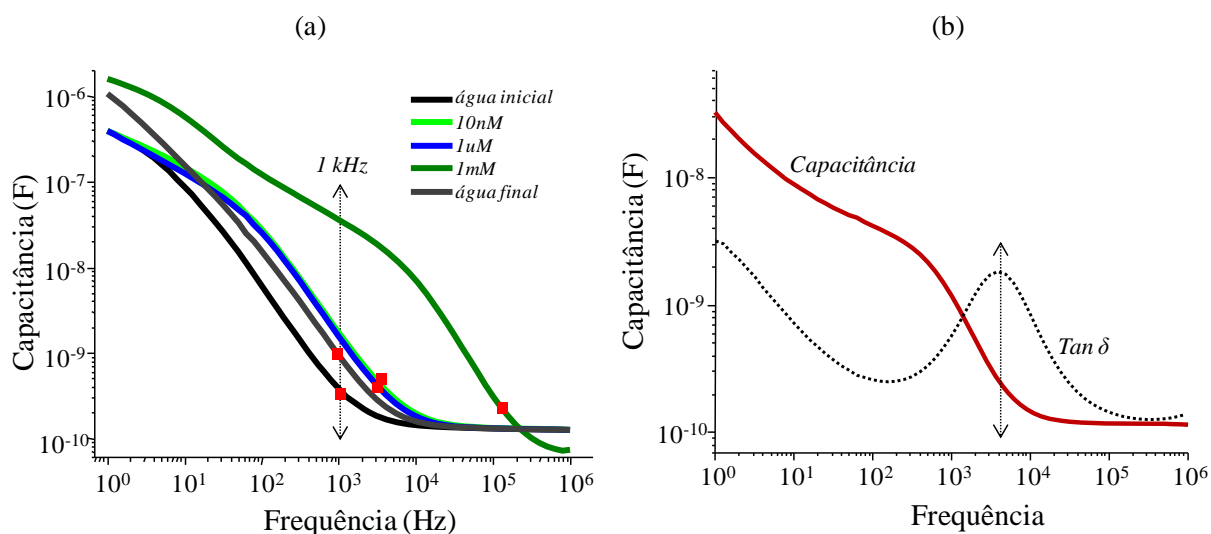


Figura 15. a) Exemplos de curvas de capacitância para diferentes concentrações de analitos. Neste exemplo, a linha vertical pontilhada ilustra a região (1 kHz) onde foram coletados os dados para formar o conjunto frequência fixa. Os quadrados vermelhos ilustram os pontos de cada curva onde foram coletados os dados para formar o conjunto frequência variada. b) Procedimento realizado em cada curva de capacitância para determinar a região de frequência onde seria coletado o valor de capacitância baseado no pico de  $Tan \delta$ . Este ponto é representado pela linha vertical pontilhada (pico).

As análises de PCA foram realizadas no programa computacional *MatLab*<sup>®</sup>, enquanto as análises de correlação de Pearson foram realizadas no programa computacional *SAS*<sup>®</sup>. O anexo 2 mostra o modelo do algoritmo utilizado para realizar as análises de PCA e um resultado como exemplo. De forma semelhante, o anexo 3 mostra o modelo do algoritmo utilizado para realizar as análises de correlação de Pearson e um resultado como exemplo.

# CAPÍTULO 4

## Língua eletrônica: filmes com diferentes espessuras e mesmo material

**A** pouca espessura do filme fino que recobre o EID é um dos fatores responsáveis pela alta sensibilidade das *línguas eletrônicas* [12, 15, 107], e tal sensibilidade pode estar associada aos efeitos na interface filme/solução. Porém, o papel desempenhado pela espessura do filme e como esta espessura afeta esses efeitos de interface ainda são desconhecidos. Neste capítulo foram examinadas unidades sensoriais formadas por filmes finos do AzoPTCD depositados com diferentes espessuras com o intuito de investigar o papel desempenhado pela espessura do filme, uma vez que a otimização das *línguas eletrônicas* requer o entendimento de como a resposta elétrica é afetada pelas propriedades do filme (entenda-se arquitetura e composição) na unidade sensorial.

### 4.1 Crescimento e caracterização dos filmes finos

O crescimento dos filmes PVD (10 e 120 nm de espessura) foi monitorado com a espessura medida por uma microbalança de cristal de quartzo, além de um acompanhamento pela espectroscopia de absorção no UV-Vis. Como já mencionado, o filme de 10 nm foi crescido em um único processo de evaporação, enquanto o filme de 120 nm de espessura foi crescido em três

processos consecutivos de 40 nm de espessura cada. Para cada filme fabricado, seja ele para espessura final ou para etapa de evaporação, um espectro UV-Vis foi coletado para monitorar o crescimento do filme, como é mostra a Figura 16a. O destaque da Figura 16a mostra que a absorção do filme de AzoPTCD em 540 nm aumenta com a espessura do filme até 120 nm de espessura após a segunda etapa de evaporação, indicando uma taxa de deposição constante sobre o substrato, ou ainda que quantidades proporcionais de material foram adsorvidas na superfície do substrato a cada evaporação.

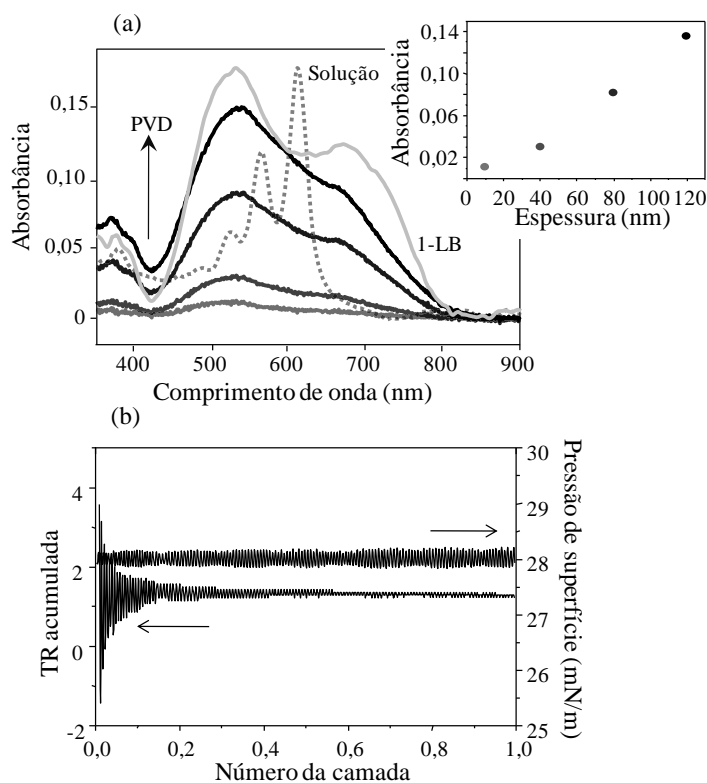


Figura 16. a) Espectros de absorção no UV-Vis para filmes PVD de AzoPTCD com 10 nm crescendo em uma etapa e 120 nm crescendo em 3 etapas de 40 nm cada (destaque: absorção em 540 nm para os filmes PVD em função da espessura dos filmes), monocamada LB (linha cinza) e solução do AzoPTCD (linha pontilhada). b) Variação da pressão de superfície e da TR acumulada em função do número de camada (neste caso, fração do substrato emergido da subfase aquosa) durante o processo de deposição da monocamada LB.

Em um trabalho publicado com dados da dissertação de mestrado do doutorando [54] foi mostrado, pela absorção no UV-Vis, que as moléculas do AzoPTCD nos filmes PVD podem estar empacotadas uma sobre as outras, formando multicamadas de agregados do tipo H e J. Além disso, as moléculas estão estruturadas em pé - plano do cromóforo perpendicular à

superfície do substrato - e apoiadas sobre o seu maior eixo, determinado pela espectroscopia FTIR combinada com as regras de seleção de superfície e corroborada por resultados de absorção no UV-Vis e por medidas de fluorescência amplificada em superfície (SEF).

A transferência dos filmes LB foi controlada ajustando a velocidade de emersão do substrato para manter a curva de transferência acumulada (TR acumulada) próxima de 1. A curva de TR acumulada é dada pela TR calculada a cada 1,1 s durante todo o processo de deposição, e não somente uma vez durante todo o processo (caso da TR), o que permite um melhor controle da transferência da monocamada para o substrato sólido. A Figura 16b mostra o número de camadas (neste caso de monocamada, fração do substrato já recoberto pela monocamada) em função da TR acumulada e da pressão de superfície durante a deposição da monocamada sobre os EID de platina. A TR acumulada foi mantida próxima de 1 durante quase todo processo de deposição e a flutuação da pressão de superfície foi abaixo de 0,4 mN/m. Este procedimento assegura que a monocamada foi transferida homoganeamente da superfície aquosa para os EID de platina. Um espectro de absorção no UV-Vis da monocamada LB é indicado pela linha cinza na Figura 16a em unidades arbitrárias (fora de escala). No trabalho de *Constantino* e coautores [111, 112] foi observado que o AzoPTCD, juntamente com outros derivados de perileno, formam monocamadas estáveis na interface ar/água, com as moléculas ficando agregadas devido as interações  $\pi$ - $\pi$  entre os macrociclos (cromóforos). As moléculas sobre a água provavelmente adotam uma estruturação com o plano do cromóforo perpendicular à superfície e apoiado sobre seu maior ou menor eixo, dependendo dos grupos ligados ao cromóforo, de acordo com estudos usando método *rigid docking* [112]. O empacotamento molecular (interações  $\pi$ - $\pi$ ) foi mantido durante a deposição de acordo com a absorção no UV-Vis e as medidas de SEF. No caso do SEF ainda há maiores indícios dessa estruturação, já que se as moléculas estivessem com o cromóforo paralelo ao substrato, não seriam observadas as intensas emissões devido à supressão do sinal pelas ilhas de Ag, como as observadas nos trabalhos de *Constantino* e coautores, [54, 111].



Os espectros de absorção no UV-Vis de derivados do perileno geralmente consistem em uma transição eletrônica do estado fundamental para diferentes níveis vibracionais do estado eletrônico excitado, sendo estas transições dominadas pelo cromóforo da molécula [53, 113-115]. O espectro da solução de AzoPTCD na Figura 16a (linha pontilhada) caracterizou uma estrutura vibracional ligada à transição eletrônica do tipo  $\pi$ - $\pi^*$ , com a principal transição 0-0 atribuída em 610 nm, seguida por subseqüentes transições para estados vibracionais distintos do estado eletrônico excitado 0-1 e 0-2 atribuídas às bandas 563 e 524 nm, respectivamente. Tomando o espectro de absorção no UV-Vis da solução como referência, os espectros para os filmes PVD de 10 e 120 nm de espessura e para monocamada LB apresentaram um deslocamento para o azul com a absorção máxima ocorrendo em 540 nm e um deslocamento para o vermelho com absorção em 670 nm. Os deslocamentos para o azul e para o vermelho são indicativos de um caso intermediário de organização molecular *cabeça-cauda*, descrito pelo modelo dipolo-dipolo de *Kasha* [116] resultando em uma divisão da banda de absorção da solução em duas bandas mais largas nos filmes, como foi observado para este e para outros derivados de perileno [37, 53, 54, 117, 118].

### 4.2 Medidas de espectroscopia de impedância

Todos os EIDs utilizados neste trabalho foram previamente testados antes das deposições dos filmes de AzoPTCD, exibindo uma resposta elétrica muito similar para toda a região de frequência analisada. A Figura 17 mostra as medidas em água ultrapura para todos os EID utilizados para deposição dos filmes finos do AzoPTCD. A similaridade das respostas observadas suportam que qualquer futura mudança nas repostas elétricas é decorrente da presença do filme fino depositado sobre o EID, permitindo uma comparação direta entre as unidades sensoriais.

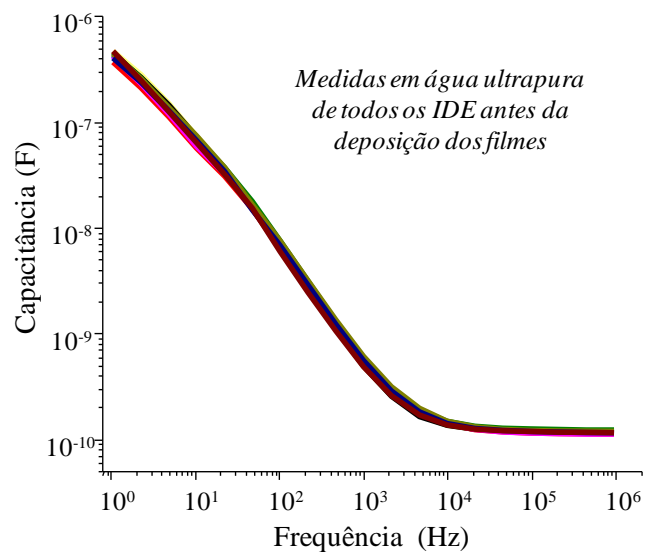


Figura 17. Medidas elétricas realizadas em água ultrapura para os EIDs sem a presença dos filmes.

Após a deposição dos filmes sobre os EIDs, medidas de impedância a cada 5 minutos ao longo de 1 hora foram realizadas para as unidades sensoriais PVD de 120 nm imersas nas três soluções contendo os distintos analitos. Esta unidade sensorial foi escolhida porque, provavelmente, quanto mais espessa a camada de material orgânico, mais tempo deve ser necessário para se estabilizar os efeitos de interface ou ocorrer a difusão de analitos no filme. Este estudo visou monitorar a estabilização temporal do sinal elétrico devido à formação da dupla camada elétrica na interface filme-solução. A Figura 18a exibe as respostas elétricas de capacitância vs. frequência obtidas para a solução de  $\text{Cu}^{2+}$  1  $\mu\text{M}$  e a Figura 18b mostra os valores de capacitância coletados em 25 kHz em função do tempo. De forma semelhante, a Figura 18c mostra os valores de capacitância para a solução de azul de metileno e a Figura 18d para a solução de sacarose, ambas com concentração de 1  $\mu\text{M}$ .

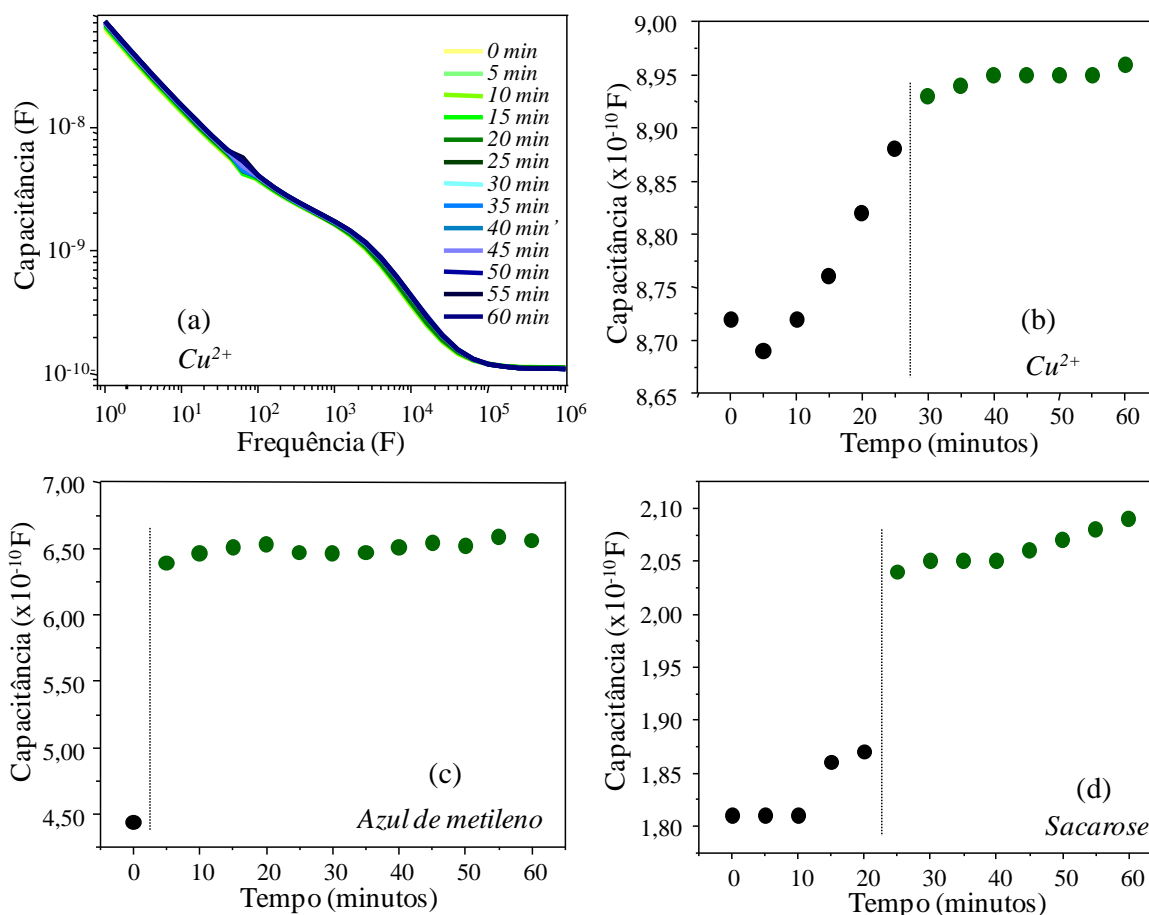


Figura 18. a) Medidas elétricas para a solução de  $Cu^{2+}$ . Valores de capacitância em função do tempo coletados em 25 kHz para as unidades sensoriais PVD de 120 nm imersas em soluções contendo os analitos b)  $Cu^{2+}$ , c) azul de metileno e d) sacarose, todas com concentração de 1  $\mu M$ .

A flutuação inicial do sinal elétrico (capacitância, no caso) pode prejudicar a reprodutibilidade das medidas de impedância. Os resultados apontaram que os analitos do azul de metileno estabilizam o valor de capacitância aproximadamente 15 minutos após a imersão das unidades sensoriais, enquanto o  $Cu^{2+}$  e a sacarose estabilizaram o sinal por volta de 25 minutos após a imersão das unidades sensoriais. Baseado nestes resultados, e como forma de padronização, para todas as medidas futuras foram esperados 30 minutos antes de iniciar as medidas elétricas de cada amostra para evitar flutuações no sinal elétrico medido em todos os tipos de analito.

A Figura 19a mostra as medidas elétricas com as unidades sensoriais EID sem filme, monocamada LB e PVD de 10 e 120 nm imersas nas soluções de  $Cu^{2+}$ . De forma idêntica, a Figura 19b mostra as medidas para as soluções contendo azul de metileno e a Figura 19c para as

soluções de sacarose. Note que cada uma das unidades sensoriais foi imersa em soluções do respectivo analito em várias concentrações (10 nM, 1  $\mu$ M e 1 mM) e em águas ultrapura no início e no final do ciclo de medidas. Entre cada concentração, as unidades sensoriais foram lavadas para evitar os efeitos acumulativos de íons sobre os filmes, mas sem a realização de medidas elétricas.

(a) Soluções de  $\text{Cu}^{2+}$

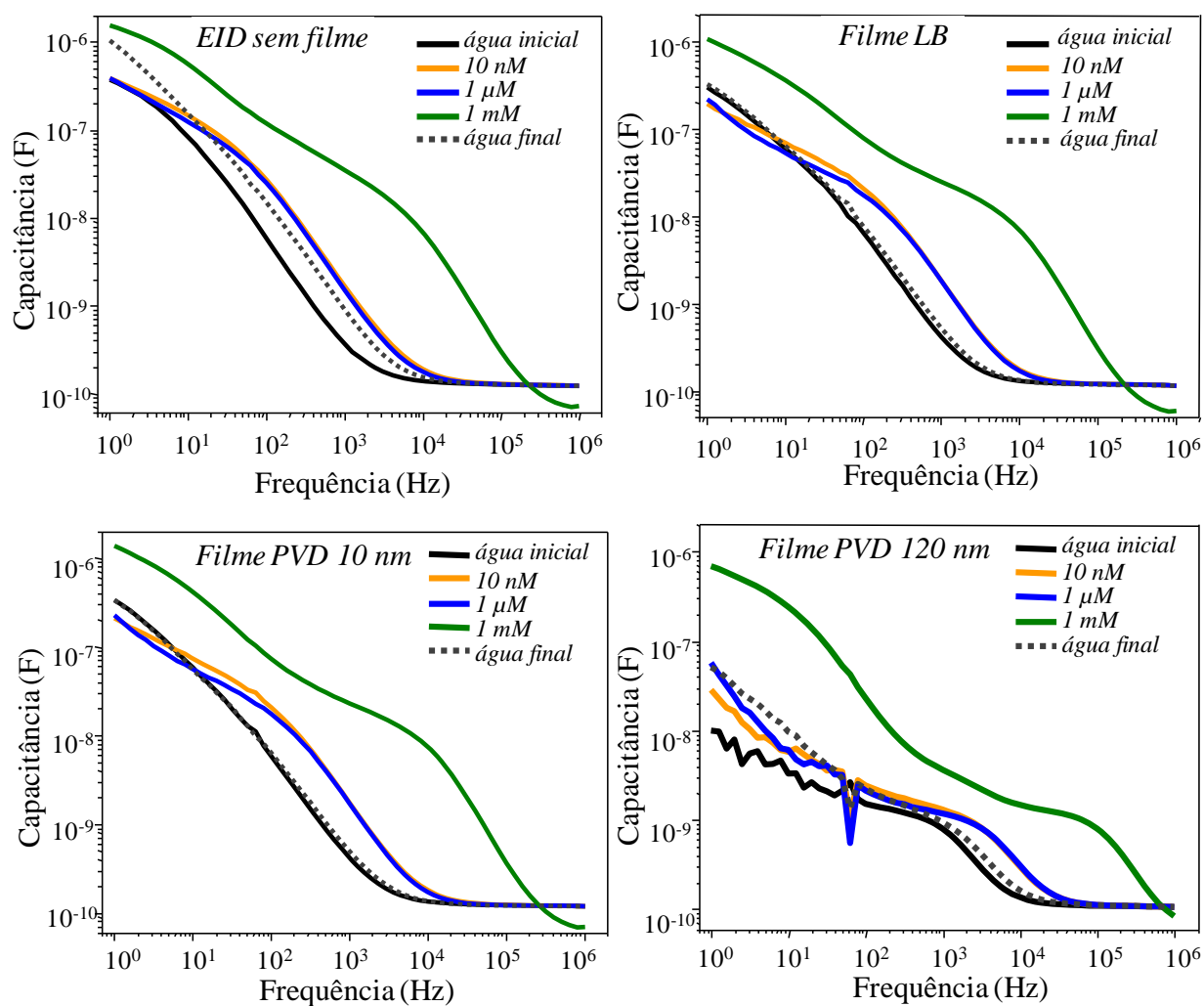


Figura 19a. Medidas elétricas para a língua eletrônica imersa em soluções aquosas de  $\text{Cu}^{2+}$  em diferentes concentrações (1 mM, 1  $\mu$ M e 10 nM) e em água ultrapura no início e no final das medidas.

(b) Soluções de azul de metileno

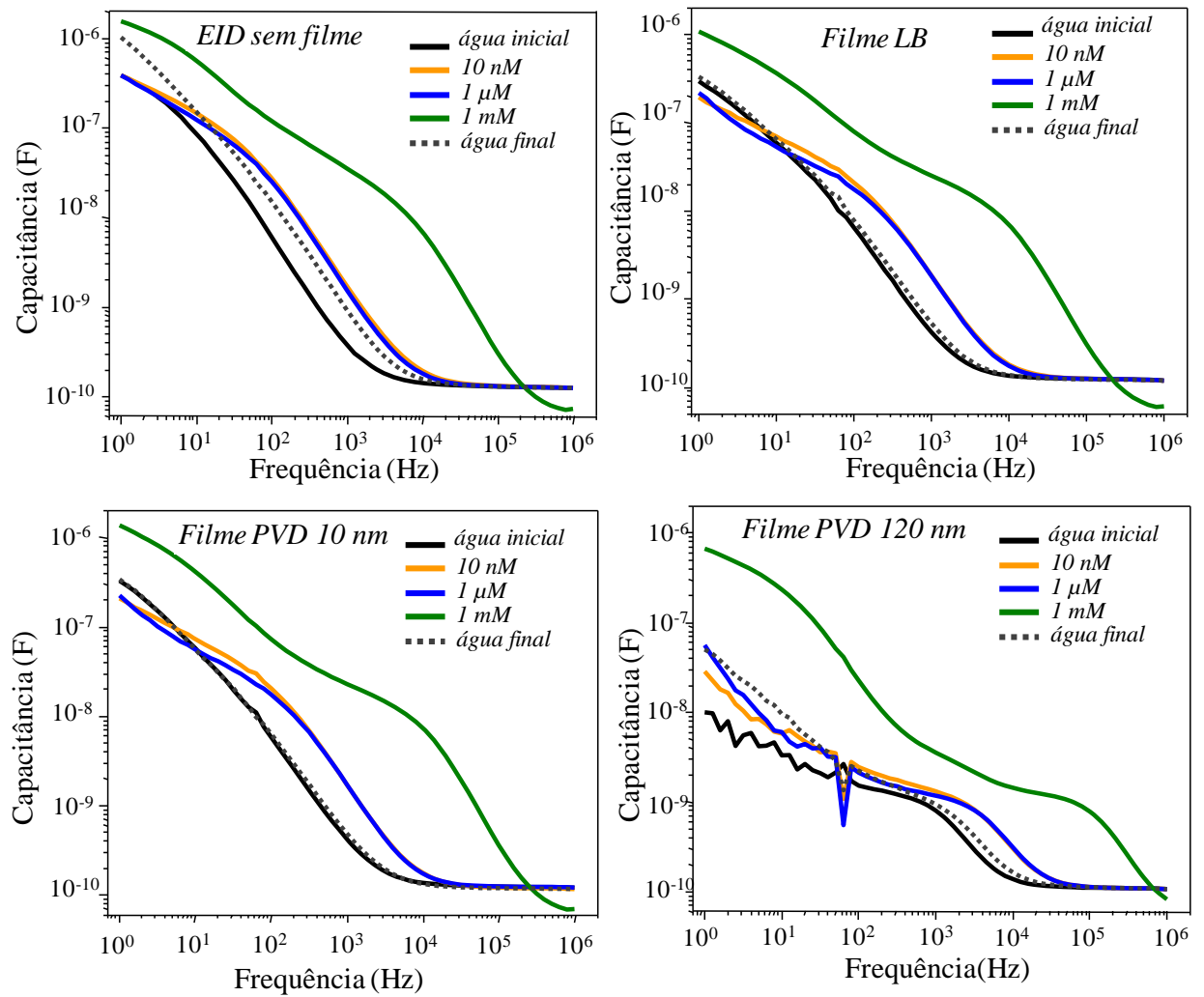


Figura 19b. Medidas elétricas para a língua eletrônica imersa em soluções aquosas de azul de metileno em diferentes concentrações (1 mM, 1  $\mu$ M e 10 nM) e em água ultrapura no início e no final das medidas.

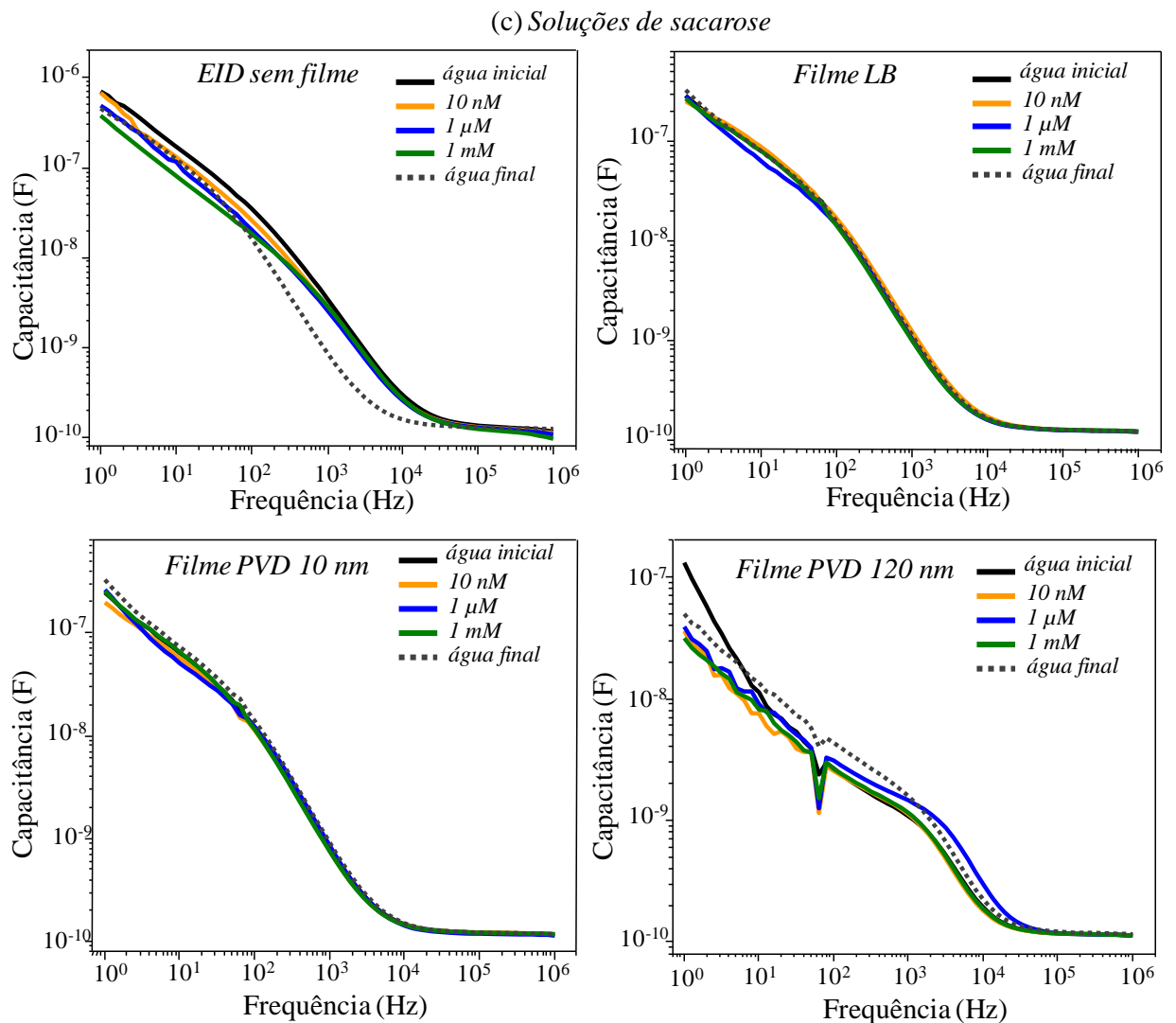


Figura 19c. Medidas elétricas para a *língua eletrônica* imersa em soluções aquosas de sacarose em diferentes concentrações (1 mM, 1  $\mu$ M e 10 nM) e em água ultrapura no início e no final das medidas.

De modo geral, as soluções com caráter eletrolítico ( $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno) mostraram que a resposta elétrica depende da concentração do analito, além da espessura do filme que recobre o EID (Figura 19a e Figura 19b). Para soluções sem caráter eletrolítico (sacarose), o filme que recobre o EID teve um papel importante na resposta elétrica (Figura 19c). Houve uma tendência de aumento dos valores de capacitância com o aumento da concentração para as soluções contendo  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno em frequências abaixo de  $10^5$  Hz, enquanto que para frequências acima de  $10^5$  Hz as curvas ficaram sobrepostas. A exceção ficou por conta da solução de 1 mM que deslocou as curvas para baixo após  $10^5$  Hz. Esse deslocamento nas regiões de altas frequências pode ser atribuído à capacitância geométrica das unidades sensoriais,

sendo causada por mudanças na constante dielétrica do meio (vales entre os dígitos) ou na constante de cela (geometria) do sistema [28]. Se a concentração iônica aumenta, a resistência da solução diminui, resultando em uma condutividade eletrolítica maior. Em outras palavras, as predições teóricas sobre a impedância total do sistema, as quais podem ser feitas explicitamente usando um modelo de circuito elétrico equivalente [28], são satisfeitas.

Foi observada uma variação do sinal (ruído) para a região de baixa frequência em todas as unidades com filme PVD 120 nm, independentemente do analito. Pode ser especulado que o preenchimento dos vales entre os dígitos do EID pela deposição do filme PVD 120 nm seja o responsável por essas alterações. O ruído observado para baixas frequências pode ser atribuído à migração de cargas da solução para o volume do filme ou ainda a deslocamentos de cargas (possíveis impurezas remanescentes do processo de síntese do material) no volume do filme [28, 63]. Essa migração ou deslocamento de cargas torna-se irrelevante nos filmes finos e inexistente na unidade EID sem filme devido à inexistência de material.

No modelo proposto por Taylor e Macdonald [28] (tópico 2.3), parâmetros como a capacitância e condutância da dupla camada elétrica  $C_d$  e  $G_d$ , capacitância e a condutância do filme sobre o eletrodo  $C_b$  e  $G_b$ , a transferência de carga entre filme e solução  $G_t$  e a capacitância geométrica  $C_g$  do eletrodo preenchido com a solução eletrolítica são combinados em um circuito equivalente. Simulações computacionais realizadas usando o circuito equivalente (Figura 7) são mostradas na Figura 20 com pequenas variações nos valores da capacitância geométrica  $C_g$ .

Pode ser verificado que a variação de  $C_g$  levou ao deslocamento das curvas teóricas nas regiões acima de  $10^4$  Hz. Essa variação nos valores de  $C_g$  possivelmente foi ocasionada, no caso experimental, por mudanças na constante dielétrica do meio, pois a geometria dos eletrodos é invariável. As mudanças na constante dielétrica do meio devem ter sido causadas pela alta concentração iônica das soluções, que afetam até mesmo os filmes mais espessos (PVD 120 nm) onde o vale entre os dígitos foi preenchido com AzoPTCD. Estes deslocamentos foram

observados para as soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno (Figura 19a e 4b) que possuem caráter eletrolítico, mas não foram observados para a sacarose (Figura 19c).

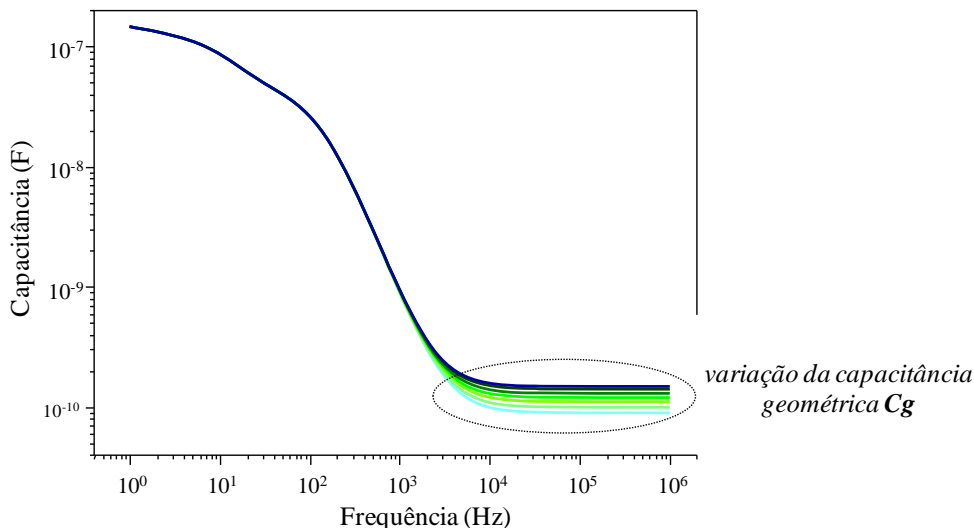


Figura 20. Curvas teóricas geradas pela simulação do modelo de Taylor e Macdonald para diferentes valores da capacitância geométrica  $C_g$ .

Curvas experimentais de capacitância foram ajustadas usando o circuito elétrico equivalente, e então parâmetros relacionados ao filme, solução ou interface filme/solução foram extraídos buscando informações quanto às características dos filmes que recobrem o EID. Os ajustes foram realizados para as unidades sensoriais imersas em água ultrapura, e o elemento capacitivo e o elemento de condutância foram trocados por um elemento de fase constante CPE e um elemento resistor, respectivamente (veja tópico 3.4). Algumas opções foram adotadas para melhorar o ajuste experimental/teórico: i) todas as unidades tiveram valores da capacitância geométrica ( $\text{CPE}_{g-T}$  e  $\text{CPE}_{g-P}$ ) iguais, uma vez que os EID são todos idênticos; ii) como todas as unidades foram imersas em água ultrapura, o elemento de transferência de carga  $R_t$  foi zerado. A Tabela 1 exibe os valores extraídos a partir dos ajustes das curvas experimentais de capacitância.



Tabela 1. Valores dos parâmetros obtidos com o circuito elétrico equivalente para as unidades sensoriais PVD 10 nm, LB e PVD 120 nm imersas em água ultrapura.

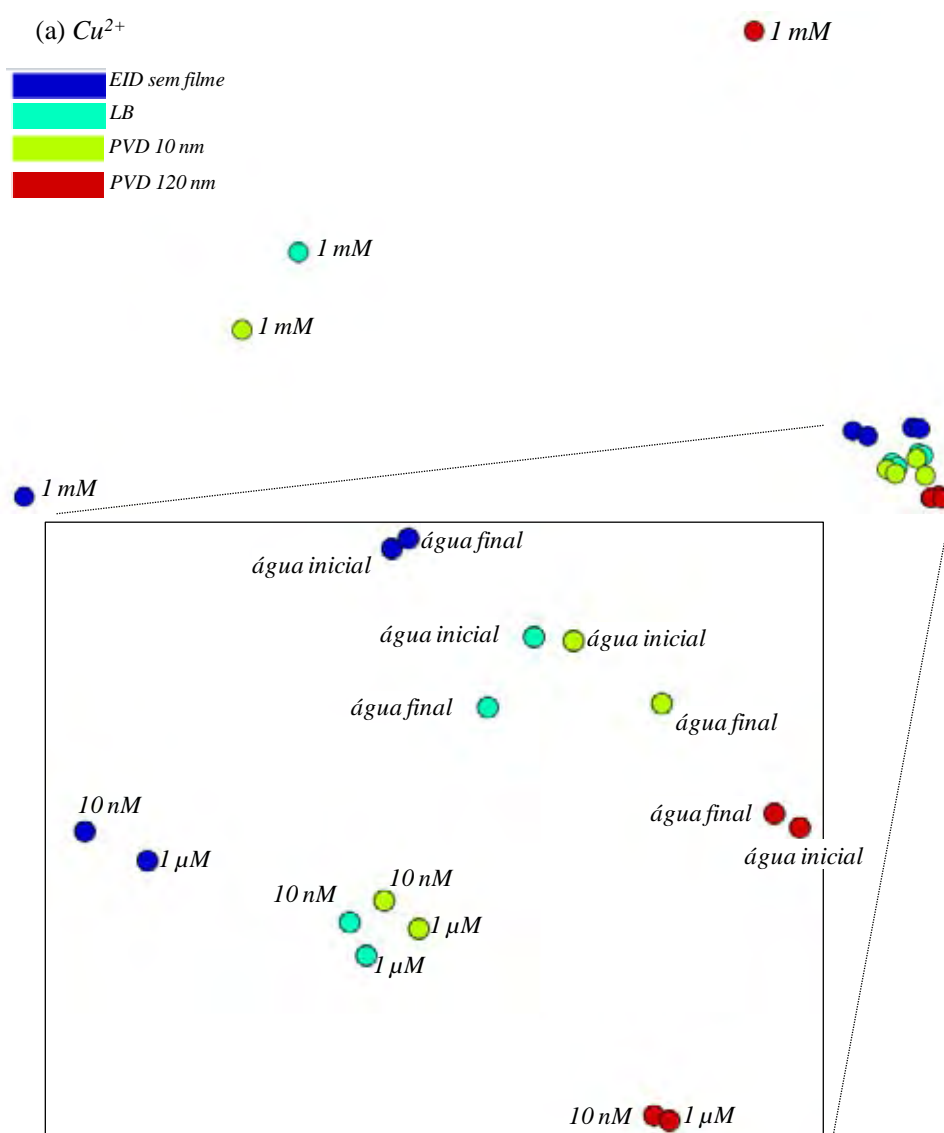
	$CPE_{e-T}$	$CPE_{e-P}$	$R_f$	$CPE_{d-T}$	$CPE_{d-P}$	$R_d$	$R_f$	$CPE_{b-T}$	$CPE_{b-P}$
PVD 10 nm	$1,28E^{-10}$	1	0	$9,92E^{-7}$	0,86	42040	162310	$2,08E^{-6}$	0,48
LB	$1,28E^{-10}$	1	0	$8,54E^{-7}$	0,77	42828	110500	$1,95E^{-6}$	0,48
PVD 120 nm	$1,28E^{-10}$	1	0	$3,84E^{-7}$	0,63	53688	2280000	$4,78E^{-8}$	0,69

A partir dos valores extraídos foi possível encontrar algumas similaridades entre as unidades formadas pelos filmes finos PVD 10 nm e monocamada LB. Os parâmetros capacitância e resistência da dupla-camada elétrica ( $CPE_{d-T}$  e  $R_d$ ) e capacitância do filme ( $CPE_{b-T}$ ) apresentaram valores próximos para os filme PVD 10 nm e monocamada LB, enquanto a resistência do filme apresentou diferença significativa entre as duas unidades sensoriais. Isto mostra que diferentes técnicas de processamento de filmes induzem diferenças na estrutura do filme, refletida aqui em diferenças na condutividade do filme. O filme mais espesso PVD 120 nm apresentou valores distintos em todos os parâmetros, principalmente para os valores de resistência e capacitância do filme. Isto mostra que para filmes mais espessos, para os quais os vales do EID são preenchidos, todos os parâmetros são alterados, corroborando a importância da espessura dos filmes nessas medidas elétricas.

### 4.3 Técnica de projeções

A análise visual das curvas de capacitância serve para indicar a importância da espessura dos filmes nas unidades sensoriais, mas não permite, por exemplo, uma verificação clara do poder de separação das concentrações de cada unidade sensorial. Portanto, foi realizada uma análise quantitativa dos dados de capacitância usando a técnica de projeção. Este estudo foi motivado por trabalhos recentes [24, 85, 109, 119] em que métodos de visualização de informação provaram ser aplicáveis a este tema sensorial, não somente para verificar a

sensibilidade e a seletividade do sistema, mas também para otimizar o desempenho do sensor. A Figura 21a mostra as análises pela técnica de projeção realizadas a partir das curvas de capacitância das soluções contendo  $\text{Cu}^{2+}$ , a Figura 21b para as soluções contendo azul de metileno e a Figura 21c para as soluções contendo sacarose. Note que os eixos dos quadros de resultados de projeções não são escalonados, pois nos resultados de projeção de projeções as distâncias relativas entre os pontos são as medidas relevantes. Quanto mais próximos dois pontos estiverem, mais semelhantes são as medidas que eles representam, e o diâmetro do elemento visual não tem nenhum significado associado às medidas.



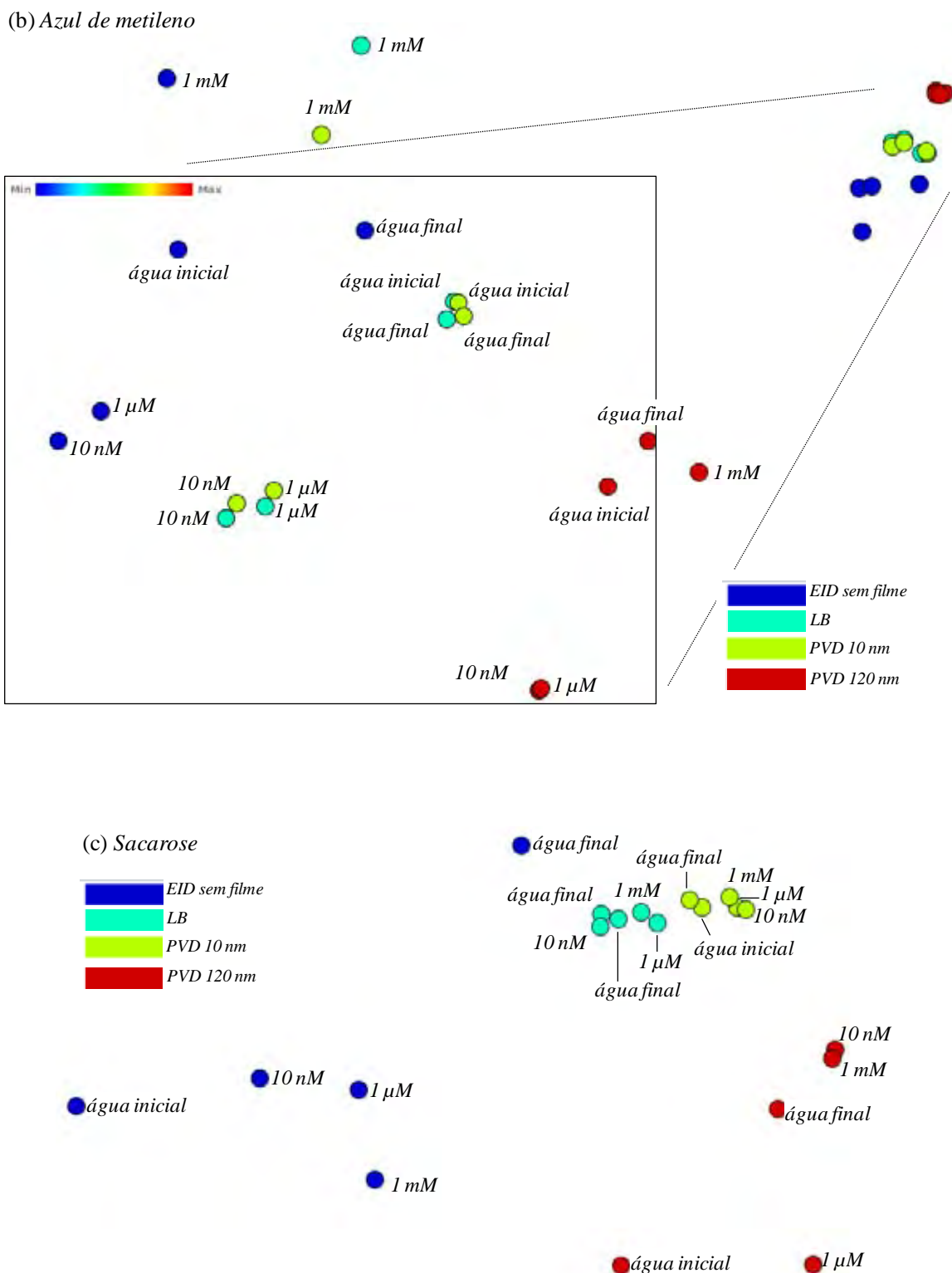


Figura 21. Projeções a partir dos dados de capacitância coletados com diferentes unidades sensoriais imersas em analitos a)  $\text{Cu}^{2+}$ , b) azul de metileno e c) sacarose com diferentes concentrações. As projeções do  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno dentro dos retângulos indicam as análises feitas excluindo a solução mais concentrada (1 mM).

A mais alta concentração (1 mM) dos analitos com caráter eletrolítico ( $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno) foi bem distinguida e se agrupou independentemente do tipo da unidade sensorial. Isto significa que a importância da espessura do filme PVD foi diminuída e que a resposta elétrica

das unidades foi basicamente governada pelo eletrólito (projeções fora do retângulo). Já as menores concentrações (1  $\mu\text{M}$  e 10 nM) não foram agrupadas de acordo com a solução, mas sim de acordo com filme que compõe a unidade sensorial, formando grupos de acordo com o tipo da unidade sensorial. Portanto, a espessura e o tipo do filme foram fatores dominantes dentro deste regime de concentração. Houve uma tendência de que os círculos relativos às unidades sensoriais com filmes mais finos permanecessem próximos (unidades PVD 10 nm e monocamada LB). Quando a mais alta concentração (1 mM) foi removida e as análises refeitas para o  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno, o novo resultado (projeções em destaque dentro dos retângulos) mostrou que todas as concentrações são distinguidas, inclusive as águas iniciais e finais, demonstrando que em concentrações até 1  $\mu\text{M}$  a espessura do filme tem um grande efeito nas respostas elétricas.

Para a sacarose (analito sem caráter eletrolítico) a semelhança entre as amostras foi dominada pelo tipo da unidade sensorial, fato que pode ser verificado pelo agrupamento dos círculos de acordo com o tipo da unidade sensorial. Não houve uma padronizada separação entre as concentrações ou uma tendência de deslocamento de acordo com a concentração, com as altas concentrações ficando próximas às menores concentrações. Desta forma é crucial considerar a composição e o tipo do filme, especialmente porque a capacitância depende principalmente das propriedades do material que compõe o filme e da espessura do filme.

Os resultados de medidas elétricas da *língua eletrônica* estudada durante o mestrado do próprio candidato foram revisitados e analisados usando a técnica de projeções. A Figura 22a mostra os resultados de projeção para as soluções de  $\text{Cu}^{2+}$ , enquanto que a Figura 22b mostra as projeções para o azul de metileno, onde menores concentrações e filmes PVD mais finos foram usados. Os filmes PVD de AzoPTCD depositados sobre as EID tinham 5, 10, 15, 20, 30 e 40 nm de espessura, além de um EID descoberto, e a concentração das soluções analisadas variavam de 10 ng/L até 10  $\mu\text{g/L}$  (0,58 nM a 586 nM para  $\text{Cu}^{2+}$  e 3,12 nM a 31,2  $\mu\text{M}$  para azul de metileno).

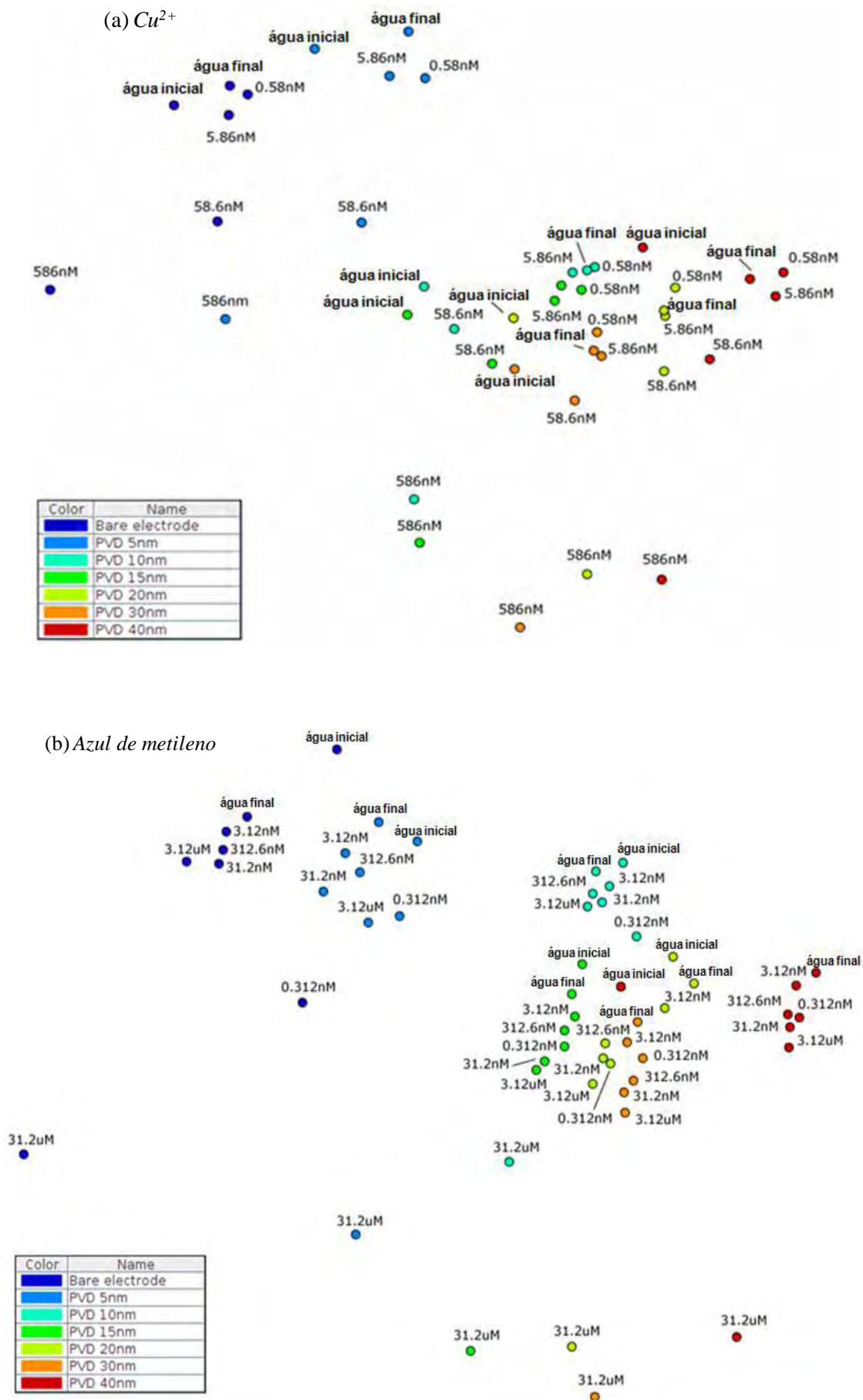


Figura 22. Projeções das medidas elétricas para os analitos a)  $Cu^{2+}$  e b) azul de metileno (soluções com caráter eletrolítico) usando filmes PVD de AzoPTCD de 5 nm até 40 nm, além do EID sem filme.

Nas análises para os dois analitos houve uma tendência nos resultados para os círculos se organizarem da esquerda para direita (azul para vermelho) com o aumento da espessura do filme. Isto significa que a espessura do filme desempenha um importante papel nas respostas elétricas, consistentemente com os resultados obtidos neste doutoramento e descritos na Figura 21 para concentrações até 1  $\mu\text{M}$ . É também importante mencionar que as medidas em água ultrapura, antes e após os ciclos de medida nos analitos, ficam próximas dentro do quadro de resultados, como esperado, mas os pontos não coincidem, mostrando que as respostas elétricas das unidades sensoriais foram parcialmente reversíveis. Quando o analito é o azul de metileno (Figura 22b), o qual dá origem a soluções com caráter eletrolítico menor que a solução de  $\text{Cu}^{2+}$  (comparando mesmas concentrações), a concentração do analito ainda foi um pouco menos importante que a espessura do filme, como indicado na Figura 22b, mas a contribuição da espessura do filme nas respostas elétricas é evidente.

Mesmo com essa forte contribuição da espessura, houve uma tendência de separação das soluções com diferentes concentrações na direção vertical de cima para baixo (menor para maior concentração), dentro dos grupos relativos a cada unidade sensorial. Para as altas concentrações, a importância da espessura do filme foi diminuída, como verificado com uma tendência de agrupamento para a solução mais concentrada de azul de metileno (31,2  $\mu\text{M}$ ), corroborando com os resultados da Figura 22. No trabalho de *Wiziack* e coautores [120] foi verificado que, dentro do limite estudado para analitos de NaCl (1 nM até 100 mM), a sensibilidade do sensor aumentava com a espessura do filme. Porém, os autores associaram este aumento da sensibilidade ao aumento da rugosidade dos filmes LbL de polímeros condutores. É difícil estabelecer uma relação direta entre os resultados de *Wiziack* e os resultados apresentados nessa tese, uma vez que aqui foi usado um semicondutor orgânico como filme (AzoPTCD), enquanto no trabalho de *Wiziack* usou-se polímeros condutores para crescer filmes LbL. Entretanto, fica evidente nos dois trabalhos que a espessura do filme que recobre o EID desempenha um importante papel no processo de detecção de *línguas eletrônicas*.

A partir destas análises para as soluções com caráter eletrolítico, baseado tanto nos resultados deste doutorado (Figura 21) quanto nos resultados do mestrado (Figura 22), pode-se inferir que as unidades sensoriais separaram os analitos até determinada concentração (por volta de 1  $\mu\text{M}$ ) onde quem domina é a concentração da solução. A espessura do filme passou a dominar as repostas elétricas em concentrações abaixo de 1  $\mu\text{M}$ , diminuindo a importância da concentração da solução no processo de separação das amostras. Para os analitos sem ou com pouco caráter eletrolítico, as repostas elétricas foram dominadas principalmente pela espessura do filme e, portanto, é mais difícil distinguir as amostras pelas concentrações dos analitos, mesmo que para altas concentrações destes analitos não eletrolíticos.

### 4.4 Análises de PCA

As análises de PCA foram empregadas complementarmente neste trabalho para avaliar o desempenho das unidades sensoriais da *língua eletrônica*, verificando a capacidade de separação de acordo com as concentrações. Nas Figuras 23a, 23c e 23e são mostrados os resultados de PCA para o conjunto de dados frequência fixa dos analitos  $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose, respectivamente. Nas Figuras 23b, 23b e 23f são mostrados os resultados das análises de PCA para o conjunto de dados frequência variada dos analitos  $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose, respectivamente.

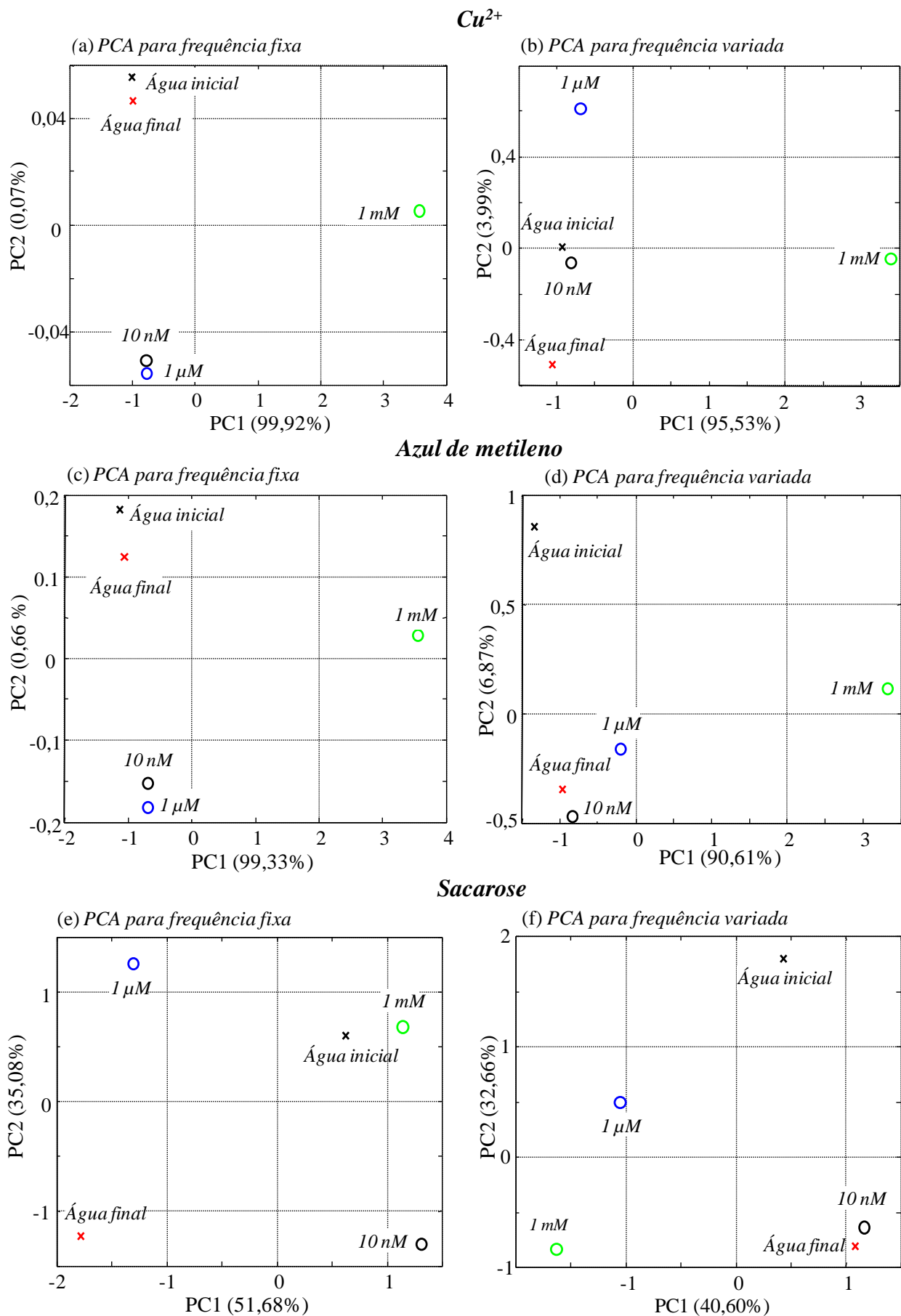


Figura 23. Análise das componentes principais das soluções contendo analitos  $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose. Os PCAs em a), c) e e) foram gerados com os conjuntos de dados frequência fixa (1 kHz), enquanto os PCAs em b), d) e f) foram gerados com os conjuntos de dados frequência variada.



Na análise dos resultados percebeu-se claramente que o método de mineração de dados via  $\text{Tan } \delta$ , formando o conjunto de dados frequência variada, não alterou drasticamente a distribuição dos pontos, reposicionando as soluções mais diluídas para perto das águas iniciais, o que é coerente do ponto de vista analítico. Notou-se também que as soluções com caráter eletrolítico ( $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno) apresentaram uma discriminação satisfatória das amostras usando os dois conjuntos de dados, com a PC1 apresentando altos valores de explicação. Os resultados para sacarose apresentaram valores maiores para PC2 (e conseqüentemente valores menores para PC1) quando comparados com aqueles das soluções com caráter eletrolítico. No conjunto frequência fixa (Figura 23e) observou-se a falta de tendência na distribuição das amostras, enquanto o conjunto de dados frequência variada exibiu uma pequena tendência de deslocamento na PC1 da direita para a esquerda com o aumento da concentração a (Figura 23f). A dificuldade de encontrar tendências claras nos analitos da sacarose dentro dos resultados de PCA pode estar relacionada com a falta de tendência nas curvas de capacitância com o aumento da concentração das soluções (Figura 19c), uma vez que a sacarose não tem carga livre em solução aquosa, diferentemente do  $\text{Cu}^{2+}$  e do azul de metileno.

Com o objetivo de avaliar o desempenho de cada unidade sensorial que compõe a *língua eletrônica* na discriminação do  $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose, as análises de correlação de Pearson foram aplicadas para os dois conjuntos de dados - frequência fixa e frequência variada - utilizando os mesmos dados de entrada usados nas análises de PCA. Com as análises de Pearson procurou-se avaliar a contribuição de cada unidade sensorial em cada uma das componentes principais presentes nos gráficos de PCA (componentes PC1 ou PC2). Os resultados obtidos são a correlação  $\rho$  e o p-valor, os quais são exibidos na Tabela 2 para o conjunto de dados frequência fixa e na Tabela 3 para o conjunto de dados frequência variada. Como todas as análises de PCA dos analitos com caráter eletrolítico apresentaram altos valores de explicação na PC1 (geralmente acima de 90%), os resultados de correlação para as outras componentes principais tornam-se irrelevantes. Por outro lado, as análises de Pearson são

necessárias nas componentes PC1 e PC2 das soluções de sacarose, uma vez que somente com a soma das duas componentes é atingida uma explicação de dados acima de 70% [79].

Tabela 2. Correlação  $\rho$  e p-valor para o conjunto de dados frequência fixa.

		LB	10 nm	120 nm	EID
<b>Cu<sup>2+</sup></b>	<i>PC1 (99,92%) correlação <math>\rho</math></i>	0,999	0,999	0,998	0,999
	<i>p-valor</i>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>Azul de metileno</b>	<i>PC1 (99,33%) correlação <math>\rho</math></i>	0,999	0,999	0,990	0,997
	<i>p-valor</i>	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>Sacarose</b>	<i>PC1 (51,68%) correlação <math>\rho</math></i>	-0,132	0,968	0,740	-0,750
	<i>p-valor</i>	0,832	0,006	0,152	0,144
	<i>PC2 (35,08%) correlação <math>\rho</math></i>	-0,892	-0,111	0,541	0,548
	<i>p-valor</i>	0,041	0,858	0,345	0,338

Tabela 3. Correlação  $\rho$  e p-valor para o conjunto de dados frequência variada.

		LB	10 nm	120 nm	EID
<b>Cu<sup>2+</sup></b>	<i>PC1 (95,53%) correlação <math>\rho</math></i>	0,990	0,966	0,937	-0,964
	<i>p-valor</i>	0,008	0,007	0,001	0,002
<b>Azul de metileno</b>	<i>PC1 (90,61%) correlação <math>\rho</math></i>	0,972	0,967	0,956	0,911
	<i>p-valor</i>	0,005	0,018	0,011	0,017
<b>Sacarose</b>	<i>PC1 (40,60%) correlação <math>\rho</math></i>	0,906	-0,414	0,239	0,757
	<i>p-valor</i>	0,033	0,488	0,698	0,137
	<i>PC2 (32,66%) correlação <math>\rho</math></i>	-0,250	0,754	0,645	0,508
	<i>p-valor</i>	0,683	0,040	0,239	0,381

As análises de correlação de Pearson para o conjunto de dados frequência fixa (Tabela 2) apresentaram, para todas as unidades sensoriais, altos valores de correlação ( $\rho > 0,99$ ) com a PC1 para os analitos Cu<sup>2+</sup> e azul de metileno. Os p-valores encontrados foram menores que 0,001, rejeitando a hipótese de descartar qualquer unidade sensorial da *língua eletrônica*. Já os resultados para a sacarose indicaram que as unidades sensoriais PVD 10 nm e monocamada LB estão mais correlacionadas (0,968 e 0,892, respectivamente) com as componentes principais PC1 e PC2 do que as unidades sensoriais PVD 120 nm e EID sem filme (0,740 e 0,750, respectivamente). Mais ainda, os p-valores encontrados para as unidades sensoriais menos

correlacionadas (PVD 120 nm e EID sem filme) foram 0,152 e 0,144 (maiores que 0,05) confirmando, baseado em probabilidades, que as contribuições destas unidades sensoriais poderiam ser descartadas. Já os p-valores encontrados para as unidades sensoriais LB e PVD 10 nm foram 0,041 e 0,006 (menores que 0,05) negando a possibilidade de descartar a contribuição de qualquer uma destas unidades sensoriais nas análises de sacarose.

No conjunto de dados frequência variada o p-valor também rejeitou a hipótese de descartar qualquer unidade sensorial da *língua eletrônica* para os analitos com caráter eletrolítico (Tabela 3). Entretanto, foram encontrados valores de correlação  $\rho$  entre a PC1 e as unidades sensoriais ligeiramente diferentes entre eles, onde para os dois analitos com caráter eletrolítico as unidades sensoriais monocamada LB e PVD 10 nm apresentaram maiores valores de correlação do que as unidades PVD 120 nm e EID sem filme. Desta forma, pode-se supor que as unidades sensoriais formadas pelos filmes mais finos estão mais correlacionadas com o processo de discriminação do que aquelas com filmes mais espessos (PVD 120 nm) ou ainda sem filmes. Os resultados para o analito sem caráter eletrolítico reforçaram o fato que as unidades sensoriais LB e PVD 10 nm desempenham papéis preponderantes na *língua eletrônica* com maiores valores de correlação  $\rho$  do que as unidades PVD 120 nm e EID sem filme. Além disso, os resultados de p-valor indicaram novamente que as contribuições das unidades sensoriais PVD 120 nm e o EID sem filme poderiam ser descartados considerando ambas PC1 e PC2.

### **4.5 Otimização da língua eletrônica – técnica de projeções e análises estatísticas**

A principal informação extraída a partir da aplicação dos métodos de visualização de informação (técnica de projeção) e das análises de PCA junto com a correlação de Pearson é que o filme que recobre o EID desempenha um papel importante na discriminação das *línguas eletrônicas*, seja pelos dados coletados neste doutorado ou pelos dados obtidos no mestrado. Para a *língua eletrônica* testada neste trabalho foi encontrado que em altas concentrações (acima de 1  $\mu\text{M}$ ) dos analitos com caráter eletrolítico ( $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno) as unidades sensoriais do

mesmo material foram suficientes para discriminar as concentrações, mesmo usando filmes mais espessos. Porém, para as aplicações que requerem alta sensibilidade com concentrações abaixo de 1  $\mu\text{M}$ , ou ainda para soluções sem ou com pouco caráter eletrolítico independente da concentração, os filmes de AzoPTCD necessitam ser mais finos (por volta de 10 nm, no máximo). Obviamente que a capacidade de separação das amostras pela *língua eletrônica* deve aumentar ainda mais se diferentes materiais, com interações específicas com os analitos, forem usados para compor as unidades sensoriais. Neste âmbito, de especial importância seria a escolha de materiais com interação com os analitos não-eletrolíticos para compor as unidades sensoriais, como indicado pelo baixo desempenho da *língua eletrônica* na discriminação de sacarose, ou pela falta de tendência dos resultados de projeção ou PCA. Um fato observado foi a reversibilidade parcial das respostas elétricas pelas medidas em água ultrapura inicial e final, independentemente do analito utilizado. Como indicado pela técnica de projeção (Figura 21 e Figura 22) e pelas análises de PCA (Figura 23), a resposta das águas finais são próximas, mas não idênticas, às medidas das águas iniciais, sendo parcialmente reversíveis. Alguma mudança deve estar sendo induzida nos filmes das unidades sensoriais, embora ela possa ser reutilizada em outras aplicações onde a precisão das respostas elétricas não seja tão alta como, por exemplo, em analitos com caráter eletrolítico em altas concentrações (assim a distância entre os pontos representados pelas águas iniciais e finais seria desprezível comparado com a distância aos pontos que representam os analitos). É importante citar que a técnica de projeção, juntamente com as análises estatísticas de PCA e de correlação de Pearson, são ferramentas complementares para a avaliação dos filmes que compõem as unidades sensoriais aplicadas em discriminações específicas, e podem fornecer rotas para a escolha dos melhores materiais para compor as unidades sensoriais, otimizando a composição das unidades sensoriais.

#### 4.6 Micro-Raman e AFM – efeitos de interface e recobrimento dos EID

Técnicas microscópicas e espectroscópicas foram usadas para verificar se a exposição das unidades sensoriais aos três analitos causou mudanças nas propriedades dos filmes, as quais podem estar relacionadas com a capacidade de detecção das unidades sensoriais. Primeiramente as unidades sensoriais foram caracterizadas pela espectroscopia micro-Raman coletando espectros a cada 3  $\mu\text{m}$  (ponto-a-ponto  $\rightarrow$  resolução espacial da ordem de 1  $\mu\text{m}^2$ ) sobre uma área de 60  $\mu\text{m}$  x 60  $\mu\text{m}$  da unidade sensorial recoberta com o filme (mapeamento micro-Raman), sendo a penetração do laser no volume da amostra por volta de 1  $\mu\text{m}$ . Desta forma, todo o volume do filme sob o foco do laser contribui para o espectro obtido, uma vez que os filmes possuem no máximo 120 nm de espessura (0,12  $\mu\text{m}$ ). Os mapeamentos micro-Raman foram formados seguindo, através de uma escala de cores, a intensidade de uma dada banda vibracional do AzoPTCD ou do analito. No modo de mapeamento utilizado (sinal até a linha de base - *signal to baseline*) a área abaixo de uma banda é calculada até uma linha de base traçada automaticamente no espectro pelo programa computacional, desprezando qualquer contribuição de possíveis ruídos de fundo (fluorescência no caso). Como a intensidade do sinal Raman espalhado é proporcional a quantidade de material presente na análise, alguma mudança na propriedade estrutural do filme em si, ou ainda uma possível adsorção do analito na superfície do filme, pode ser acompanhada combinando microscopia ótica (morfologia) e espectroscopia micro-Raman (informações químicas).

A Figura 24a mostra os espectros Raman coletados com laser em 633 nm para o filme PVD de 120 nm e para os analitos  $\text{CuCl}_2$ , azul de metileno e sacarose (todos na forma de pó), os quais foram usados como referência. Na Figura 24b são mostrados os mapeamentos micro-Raman sobre as unidades sensoriais monocamada LB, PVD 10 nm e PVD 120 nm antes das análises sensoriais. O mapeamento corresponde a distribuição de intensidade da banda em 1290  $\text{cm}^{-1}$  referente ao AzoPTCD .

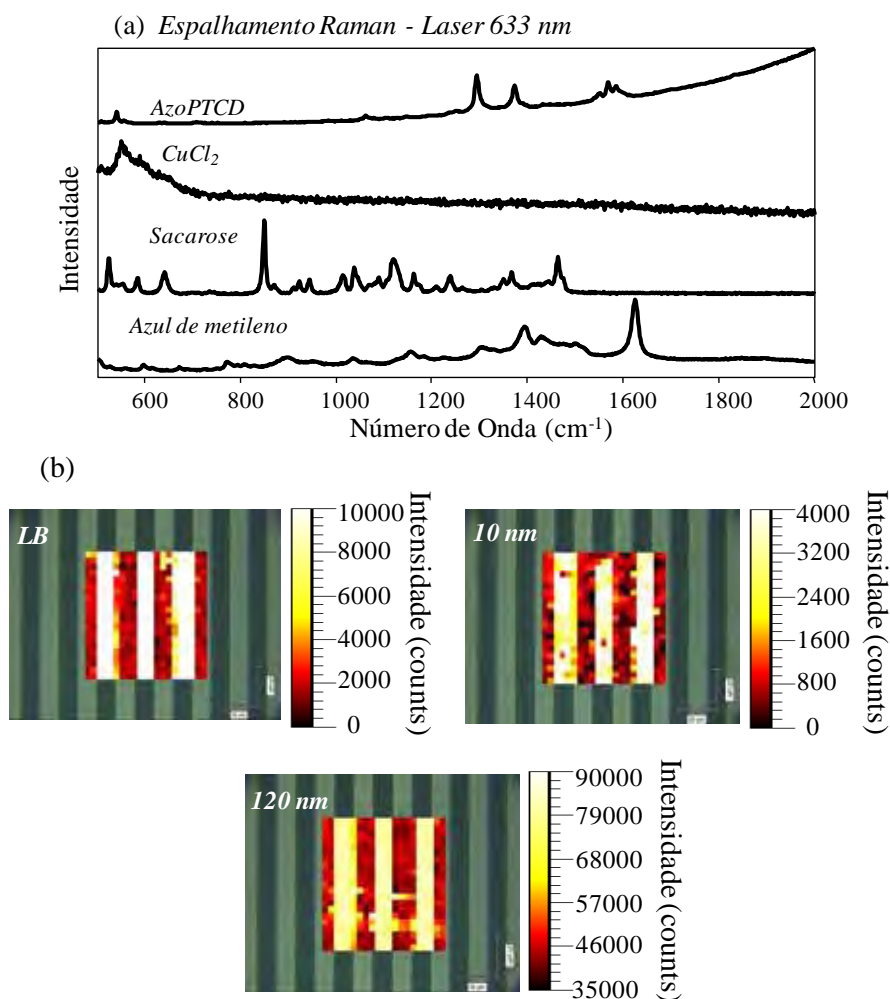


Figura 24. a) Espectros Raman do filme PVD de 120 nm do AzoPTCD e do pó do  $\text{CuCl}_2$  (sal usado para gerar analito  $\text{Cu}^{2+}$ ), azul de metileno e sacarose. b) Imagens óticas do EID coberto com monocamada LB e com os filmes PVD de 10 e 120 nm. As imagens óticas estão sobrepostas pelos mapeamentos micro-Raman. Os pontos mais claros representam as maiores intensidades da banda  $1290\text{ cm}^{-1}$  do AzoPTCD, e estes resultados foram obtidos antes das medidas elétricas.

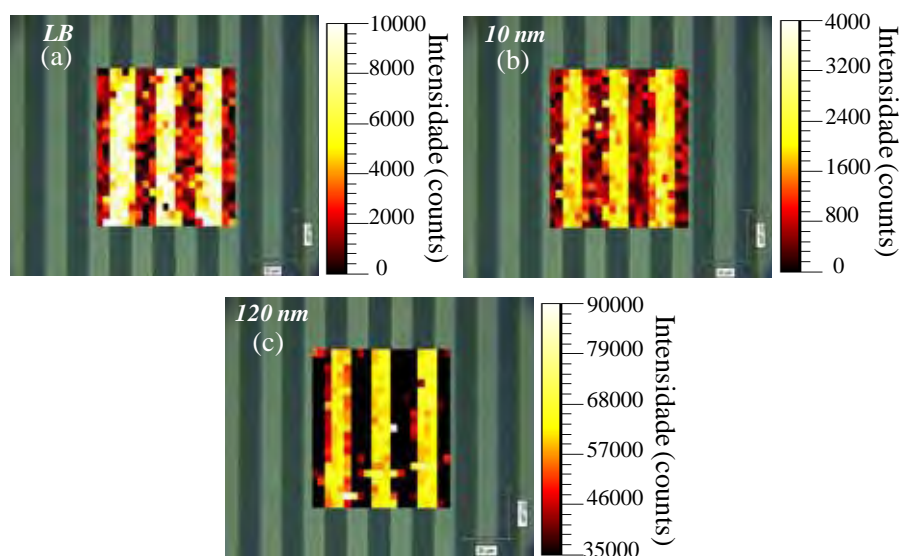
Quando o laser 633 nm é usado, os espectros Raman do AzoPTCD apresentaram bandas vibracionais superpostas à fluorescência do material. As bandas em  $1583$ ,  $1567$  e  $1547\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas ao estiramento  $\text{C}=\text{C}$  de toda molécula, estiramento dos anéis do cromóforo e ao estiramento  $\text{C}=\text{N}$  + estiramento dos anéis da molécula, respectivamente. A banda em  $1360\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída ao estiramento  $\text{C}-\text{N}$  + estiramento anel + deformação angular  $\text{C}-\text{H}$ , enquanto a banda em  $1290\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída à deformação angular  $\text{C}-\text{H}$  + estiramento do anel no cromóforo [54]. O  $\text{CuCl}_2$  apresentou uma banda larga para baixos valores de número de onda dentro da região do espectro investigado, a qual é relacionada ao íon metálico, enquanto a sacarose apresentou um espectro similar a outros reportados na literatura [121, 122]. Entretanto,

o  $\text{CuCl}_2$  e a sacarose não exibiram espectros Raman em solução, mesmo para as soluções mais concentradas usadas neste trabalho. Por outro lado, o azul de metileno apresentou um espectro Raman típico, uma vez que ele é favorecido pelo fato da sua absorção no UV-Vis estar em ressonância com o laser utilizado, resultando em um espectro de espalhamento Raman ressonante (RRS). Uma atribuição detalhada das bandas do azul do metileno pode ser encontrada no trabalho de *Aoki* e coautores [123].

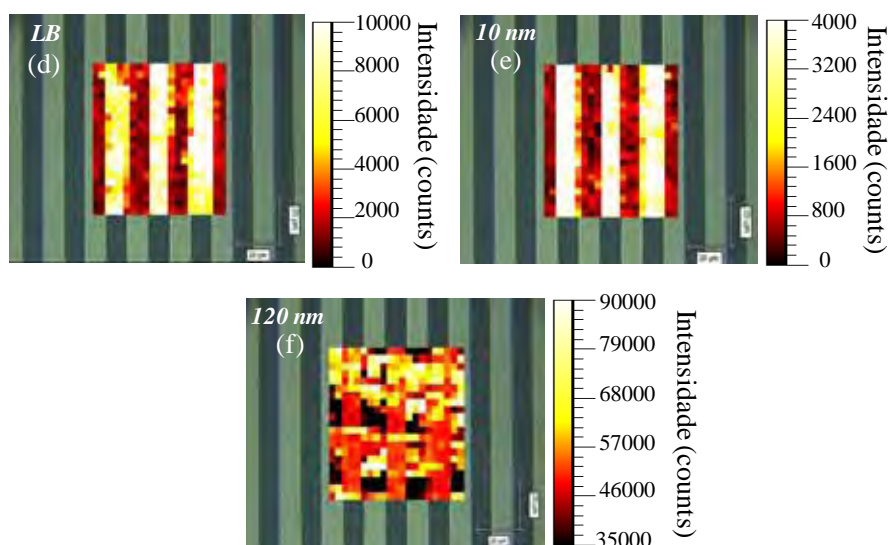
A intensidade da banda em  $1290\text{ cm}^{-1}$  do AzoPTCD nos filmes monocamada LB e PVD de 10 nm e 120 nm foi conservada nos vales e dígitos (Figura 24b) das unidades sensoriais. Usando uma escala de cores associada à intensidade do sinal espalhado, foi possível estabelecer um padrão e comparar os efeitos dos analitos nos filmes após a imersão das unidades sensoriais nas soluções, possibilitando inferir se a estrutura do filme que compõe a unidade sensorial é afetada durante as medidas elétricas.

Os mapeamentos micro-Raman após a imersão nas soluções de todos os analitos são apresentados na Figura 25.

*Unidades sensoriais após imersão nas soluções de sacarose*



*Unidades sensoriais após imersão nas soluções de  $\text{Cu}^{2+}$*



*Unidades sensoriais após imersão nas soluções de azul de metileno*

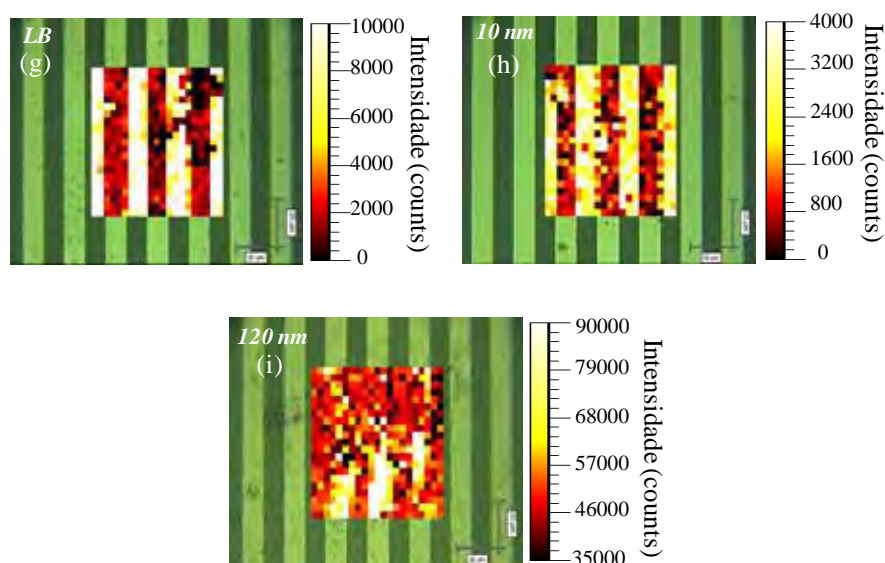


Figura 25. Imagens óticas dos EIDs recobertos pela monocamada LB e filmes PVD de 10 e 120 nm superpostas pelos mapeamentos micro-Raman. Os pontos mais claros referem-se às maiores intensidades da banda  $1290 \text{ cm}^{-1}$  do AzoPTCD, e estes resultados foram coletados após as medidas elétricas, no final das medidas em água ultrapura.

A estrutura dos filmes que recobrem os EIDs foi parcialmente alterada em escala micrométrica pela imersão nas soluções de sacarose (Figuras 25a, 25b E 25c). Uma diminuição da intensidade do sinal espalhado do AzoPTCD foi verificado com algumas mudanças na escala de cores, mas o padrão de cores entre dígitos e vales foi mantido. A superfície do filme PVD de 120 nm parece ter sido a mais alterada, o que pode estar relacionado com a questão das águas iniciais e finais ficarem afastadas dentro das análises da técnica de projeção (Figura 21c). Os



mapeamentos micro-Raman para as unidades sensoriais após a imersão nas soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  (Figuras 25d, 25e E 25f) também mostraram maiores mudanças no filme PVD de 120 nm, enquanto os filmes mais finos não apresentaram mudanças significativas. Resultados similares foram encontrados para as unidades sensoriais imersas nas soluções de azul de metileno (Figuras 25g, 25h E 25i). Basicamente, as mudanças na escala de cores com a presença dos pontos escuros nos mapeamentos das unidades sensoriais com caráter eletrolítico ( $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno) e sem caráter eletrolítico (sacarose) revelam que estas soluções devem modificar os filmes levando a mudanças estruturais irreversíveis. O fato de esta mudança ser principalmente observada para o filme PVD de 120 nm é significativa, uma vez que as unidades sensoriais amplamente aplicadas em *línguas eletrônicas* baseadas em espectroscopia de impedância são recobertas, na maioria das vezes, por filmes mais finos, como 5 camadas LB [15, 107, 108], 5 bicamadas LbL [27] ou 10 nm PVD [15, 107]. Pelo menos para o AzoPTCD, o uso de filmes mais espessos que 10 nm não é recomendado, já que a adsorção do filme orgânico ao EID não é suficientemente forte para suportar as medidas elétricas causando a desestruturação do material que recobre o EID. Certamente as mínimas mudanças encontradas nos filmes mais finos (LB e PVD 10 nm), quando comparadas com as mudanças do filme mais espesso, devem estar diretamente relacionadas com a forte adsorção destes filmes de AzoPTCD nos EIDs.

Como o azul de metileno apresenta alta seção de choque para o RRS utilizando o laser 633 nm, a adsorção deste analito pode ser analisada por mapeamentos micro-Raman. A Figura 26a mostra espectros coletados sobre os filmes do AzoPTCD das unidades sensoriais após serem imersas nas soluções de azul de metileno para as medições elétricas. A aparição da banda em  $1394\text{ cm}^{-1}$  foi notada e é atribuída ao azul de metileno como estiramento simétrico do C=N (centros e laterais da molécula) + deformação C-H no plano (anel) + deformação C-H fora do plano ( $\text{CH}_3$ ) ou ainda estiramento C=N + estiramento C=C [123]. Note que no filme PVD de 120 nm esta banda apareceu como um ligeiro ombro (Figura 26a). A Figura 26b mostra mapeamentos micro-Raman baseados na intensidade da banda  $1394\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno

para unidades sensoriais após serem imersas na solução de azul de metileno, revelando uma distribuição espacial destas moléculas adsorvidas no filme de AzoPTCD sobre toda a região analisada.

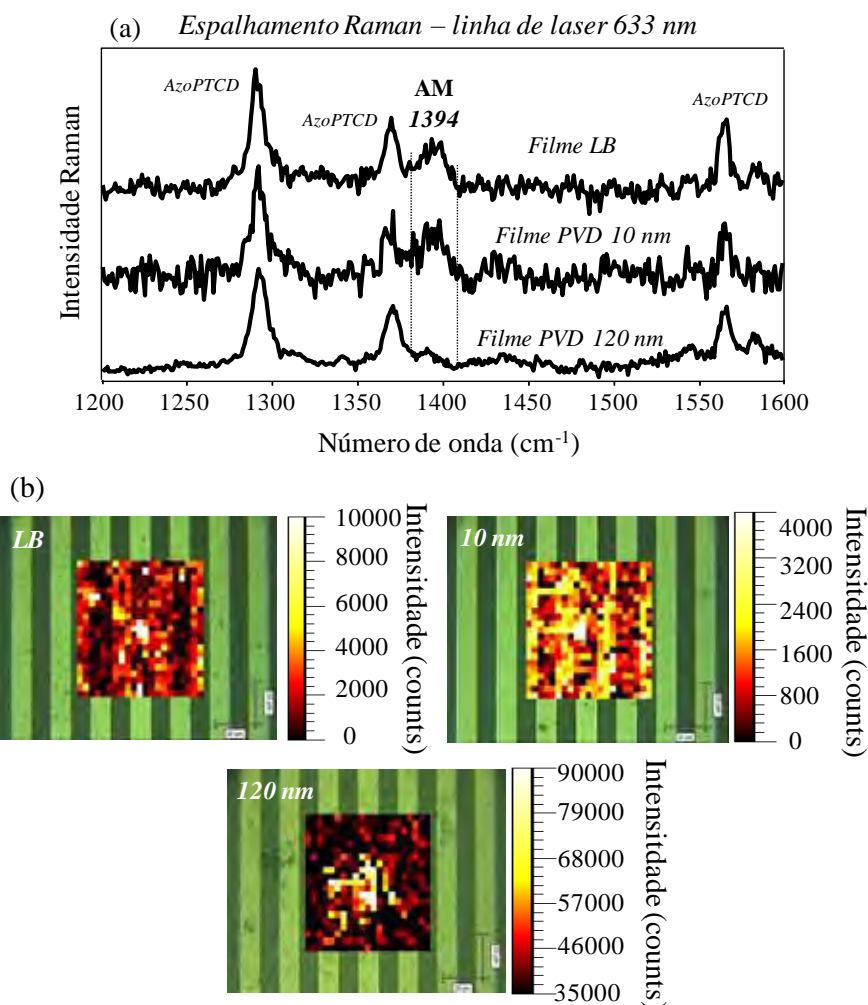


Figura 26. a) Espectros Raman para os filmes de AzoPTCD que recobrem os EIDs após a imersão nas soluções de azul de metileno. Imagens óticas das unidades sensoriais compostas pelos filmes monocamada LB e PVD com 10 nm e 120 nm sobrepostas pelos mapeamentos micro-Raman. Os pontos mais claros se referem às maiores intensidades da banda  $1394\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno, e estes resultados foram coletados após as medidas elétricas em soluções de azul de metileno, no final das medidas em água ultrapura.

Os filmes mais finos exibiram uma maior quantidade de regiões claras, enquanto a unidade sensorial com o filme PVD de 120 nm apresentou uma menor quantidade de pontos claros. Através destes mapeamentos supõe-se que a quantidade de moléculas de azul de metileno adsorvidas ao filme seja a mesma para as três unidades sensoriais, já que as áreas das unidades sensoriais expostas às soluções são semelhantes. Porém, no filme mais espesso a relação entre o número de moléculas de azul de metileno adsorvidas ao filme e o número de moléculas do

AzoPTCD presentes no filme é pequena, uma vez que o número de moléculas de AzoPTCD é maior no filme PVD 120 nm do que nos filmes mais finos – PVD 10 nm e monocamada LB. Da mesma forma, nos filmes mais finos de AzoPTCD a presença de moléculas de azul de metileno adsorvidas à superfície dos filmes pode causar mudanças mais significativas, uma vez que a relação entre número de moléculas de azul de metileno e o número de moléculas de AzoPTCD é maior. Estas relações podem levar a uma menor sensibilidade dos filmes mais espessos, pois é diminuída a influência da presença das moléculas alvo de azul de metileno nos filmes, o que pode indicar uma capacidade de detecção menor destas unidades formadas pelos filmes mais espessos, concordando com as análises computacionais e estatísticas discutidas anteriormente.

As unidades sensoriais feitas com os filmes PVD de 10 nm e monocamada LB não foram significativamente afetadas pelas medidas elétricas, o que é consistente com o fato de que as respostas elétricas são parcialmente reversíveis após as unidades sensoriais serem lavadas em água ultrapura. A parcial reversibilidade, como verificado pela técnica de projeção e análises de PCA, pode ser atribuída às pequenas mudanças observadas nos mapeamento micro-Raman. A alta sensibilidade destas unidades sensoriais pode ser causada a partir da adsorção dos analitos na superfície do filme, como indicado com os resultados apontados para o azul de metileno (para os outros analitos isto não pode ser checado, pois são indetectáveis via micro-Raman para as concentrações analisadas). Porém, no trabalho de *Taylor* e coautores [28] foi mostrado a difusão de íons para dentro do filme de material orgânico quando estes filmes são imersos em soluções com caráter eletrolítico, semelhante aos procedimentos utilizados nesta tese. Portanto, pode se supor que, mesmo não sendo passível de detecção, o  $\text{Cu}^{2+}$  tenha difundido na estrutura dos filmes de AzoPTCD.

A morfologia das unidades sensoriais também foi investigada em escala nanométrica através da técnica AFM. Esta técnica foi empregada para averiguar como os EIDs são recobertos pelos filmes finos monocamada LB e PVD com 10 e 120 nm. Este estudo foi realizado no final das medidas elétricas com as unidades sensoriais aplicadas nas medidas de sacarose, após a

medida final em água ultrapura. A Figura 27a mostra imagens topográficas de AFM para o EID sem o filme em três dimensões, enquanto as imagens para as unidades sensoriais recobertas com a monocamada LB e os filmes PVD de 10 e 120 nm são mostradas nas Figuras 27b, 27c e 27d, respectivamente, em duas e três dimensões. Também é mostrado um perfil da superfície das unidades sensoriais exibindo detalhes morfológicos para a linha em destaque na região da borda dígito/vale.

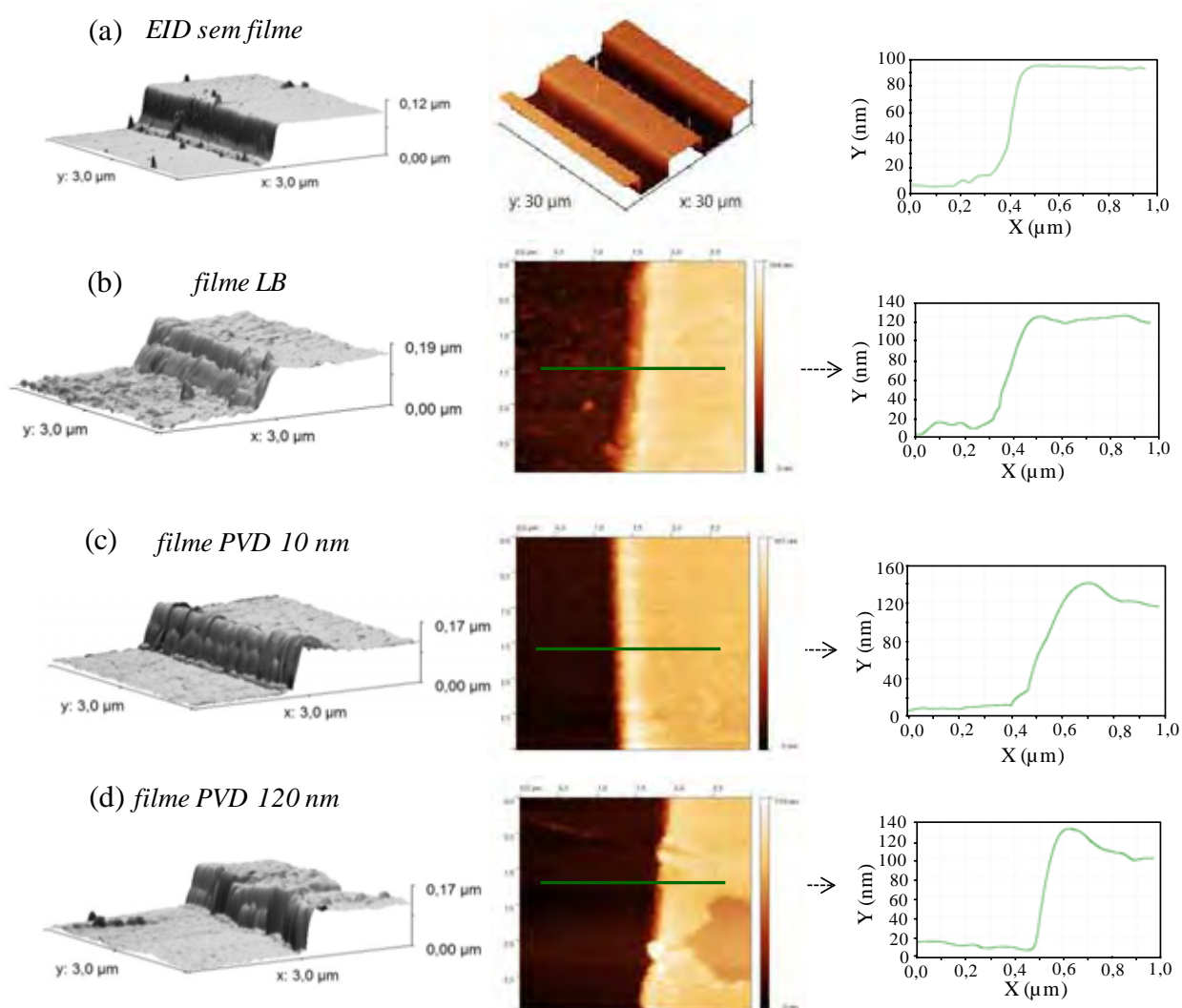


Figura 27. Imagens AFM das unidades sensoriais que compõem a *língua eletrônica*: a) EID sem filme, b) monocamada LB, c) filme PVD 10 nm e d) filme PVD 120 nm. As medidas AFM foram realizadas após as medidas elétricas nas soluções de sacarose, ao final das medidas em água ultrapura.

Algumas informações relevantes, que não são óbvias em escala nanométrica, puderam ser extraídas das imagens na Figura 27. Primeiramente, parece que mesmo as paredes

de cada dígito (parte interna) foram recobertas pelos filmes monocamada LB e PVD de 10 nm, e que mesmo sendo muito fina, a monocamada LB foi suficiente para modificar a morfologia da superfície do EID. Outra informação relevante é que a diferença de 100 nm entre a superfície de um dígito e o vale entre dois dígitos (altura do dígito) foi mantida para todos os filmes, mesmo para o filme PVD de 120 nm. Isto mostra que o filme PVD cresceu uniformemente sobre o dígito e no vale, preservando a diferença de aproximadamente 100 nm entre eles. Os resultados de AFM estão de acordo com os mapeamentos micro-Raman, mostrando que o filme PVD de 120 nm é o mais afetado pelas medidas de espectroscopia de impedância. Porém, todos os filmes de AzoPTCD, mesmo os mais finos, continuaram na superfície do EID após as medidas elétricas serem realizadas.

# CAPÍTULO 5

## Língua eletrônica: filmes com diferentes materiais e nanoestruturas

Neste capítulo serão apresentados os principais resultados obtidos por uma *língua eletrônica* constituída de 6 unidades sensoriais; 5 delas contendo materiais diferentes, mais 1 EID de sem recobrimento. Os resultados deste capítulo são complementares àqueles discutidos no capítulo 4, e foram obtidos utilizando as mesmas técnicas. Como o papel desempenhado pela espessura do filme nas medidas elétricas foi investigado no capítulo 4, o papel desempenhado pelo filme com diferentes materiais e distintas nanoestruturas no processo de detecção da *língua eletrônica* é o objeto de estudo neste capítulo 5.

### 5.1 Crescimento e morfologia dos filmes finos

Os crescimentos dos filmes LbL, LB e PVD foram monitorados, além de *in situ* quando possível como no caso dos filmes PVD (via microbalança de cristal de quartzo) e LB (via TR acumulada), *ex situ* pela espectroscopia de absorção no UV-Vis. A Figura 28 mostra espectros de absorção no UV-Vis para o filme LbL de PAH/DPPG com 5 bicamadas. No destaque é ilustrada a absorbância em 200 nm em função do número de bicamadas depositadas, revelando uma relação linear entre as duas variáveis. Esta relação linear indicou que quantidades proporcionais de material foram adsorvidas ao substrato em cada processo de deposição, revelando uma deposição homogênea [18].

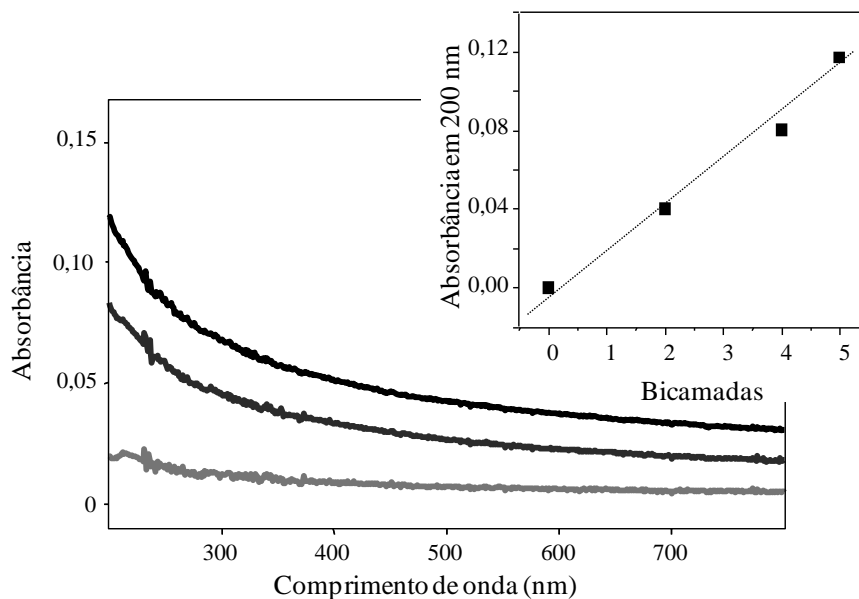


Figura 28. Espectros de absorção no UV-Vis para o filme LbL de PAH/DPPG com 2, 4 e 5 bicamadas. No destaque é mostrada a relação entre a absorbância do filme LbL em 200 nm com o número de bicamadas de PAH/DPPG.

Na Figura 29 são exibidos os espectros de absorção no UV-Vis do filme LbL de DODAB/NiTsPc coletados para acompanhar o crescimento do filme nas bicamadas 2, 3, 4 e 5. No destaque é exibido a absorbância da banda 632 nm em função do número de bicamadas DODAB/NiTsPc depositadas sobre o substrato de quartzo, revelando uma relação linear entre as variáveis.

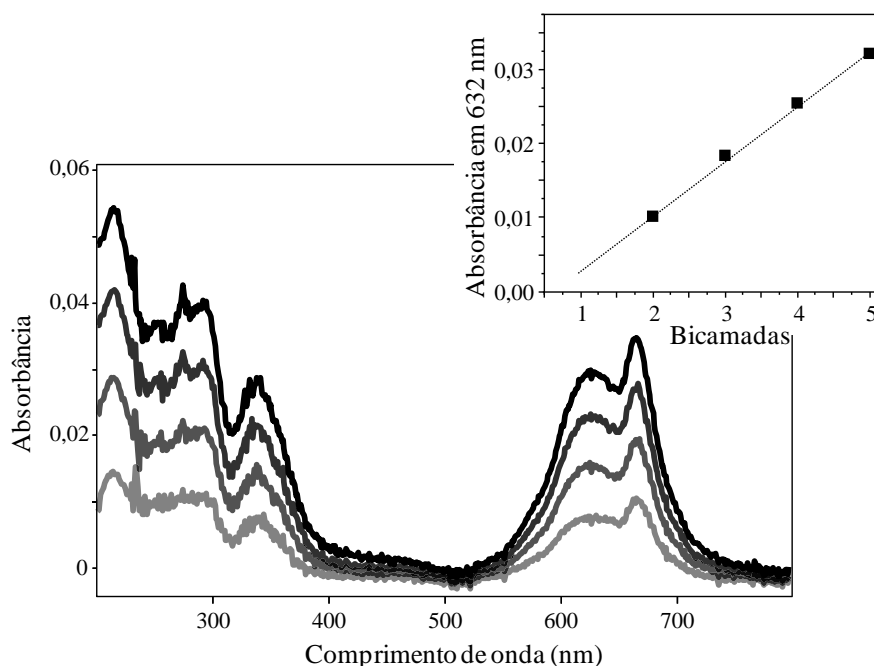


Figura 29. Espectros de absorção no UV-Vis para o filme de DODAB/NiTsPc coletados a cada bicamada a partir da segunda bicamada (para um total de 5 bicamadas). No destaque é exibida a absorbância em 632 nm em função do número de bicamadas DODAB/NiTsPc.

Os espectros da Figura 29 são característicos da NiTsPc, já que o DODAB não apresenta bandas de absorção na região visível. Os espectros exibiram duas regiões de absorção, sendo uma na região do visível denominada banda Q, com bandas de absorção em 632 e 669 nm, e a outra na região do ultravioleta, a qual é denominada banda B com absorção entre 250 nm e 400 nm. Todas estas bandas são atribuídas às transições eletrônicas  $\pi$ -  $\pi^*$ , sendo que na banda Q os picos em 632 nm e 669 nm são referentes à forma agregada (dímeros, trímeros, etc) e à monomérica, respectivamente [124-126]. No destaque foi observada uma relação linear de crescimento entre a absorção da banda monitorada em 632 nm e o número de bicamadas depositadas. Esta relação linear, semelhante a observada para o filme PAH/DPPG, garantiu que quantidades iguais de material fossem depositadas a cada processo (bicamada), revelando uma deposição homogênea [127].

Os filmes LB de lignina foram fabricados para um total de 5 camadas. Além do acompanhamento em tempo real da transferência do filme da interface ar-água para o substrato sólido realizado através da TR acumulada, espectros de absorção no UV-Vis foram coletados para as camadas 1, 3 e 5 com o intuito de acompanhar e confirmar o crescimento do filme. A Figura 30 mostra estes espectros e o destaque mostra a absorbância da banda em 280 nm em função do número de camadas de lignina depositadas.

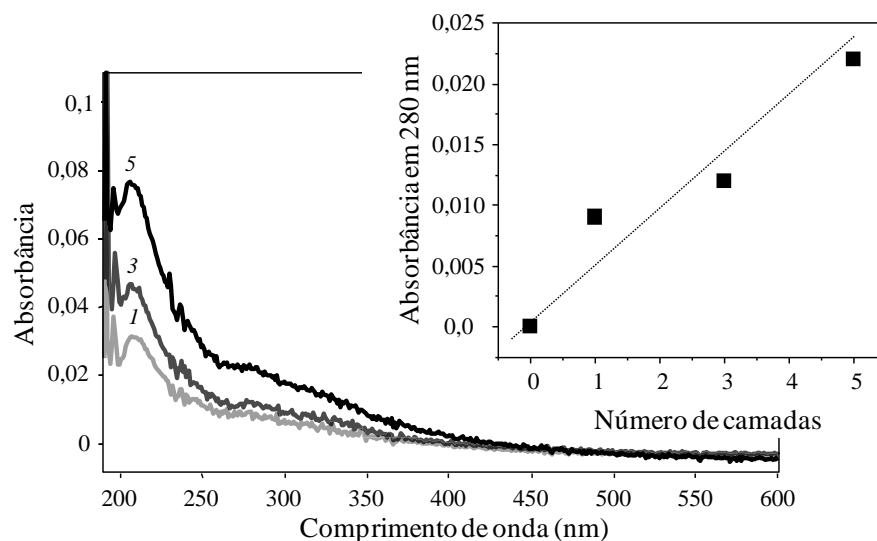


Figura 30. Espectros de absorção no UV-Vis do filme LB de lignina. No destaque é mostrada a absorbância em 280 nm em função do número de camadas depositadas.



O crescimento do filme LB foi monitorado pelo máximo da banda de absorção em 280 nm característica da lignina, a qual é atribuída à transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  do grupo fenil [128, 129]. Os espectros de absorção no UV-Vis obtidos para os filmes LB são consistentes com os obtidos por *Pereira* e coautores [16, 104] para filmes LB de lignina extraída usando o mesmo solvente. No destaque foi observado uma linearidade entre o valor máximo da absorbância em 280 nm e o número de camadas depositadas sobre o substrato de quartzo. Esta linearidade indica que, para cada camada depositada, quantidades próximas de material foram transferidas da subfase aquosa para o substrato.

Os processos de fabricação dos filmes PVD com 10 nm da ZnPc e do AzoPTCD foram acompanhados com a microbalança de cristal de quartzo, e os crescimentos foram confirmados via espectroscopia de absorção no UV-Vis. A Figura 31 ilustra espectros de absorção no UV-Vis para os filmes de AzoPTCD (linha cinza) e ZnPc (linha preta). Foram verificadas as bandas características da ZnPc: a banda B na região de 340 nm e a banda Q presente em 633 nm e em 699 nm, todas associadas a transições do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  [124]. Semelhante à atribuição da NiTsPc, a banda em 633 nm é atribuída à formação de dímeros, trimeros e outras ordens de agregação, enquanto a banda em 699 nm é relacionada a monômeros de ZnPc [55, 124, 130].

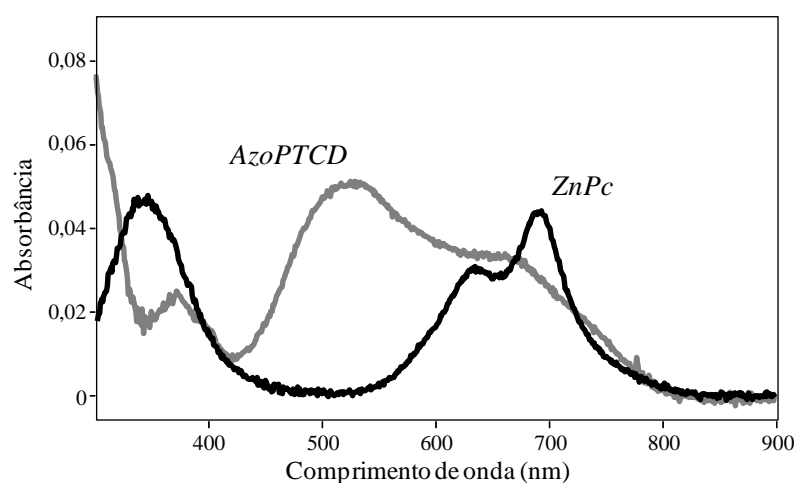
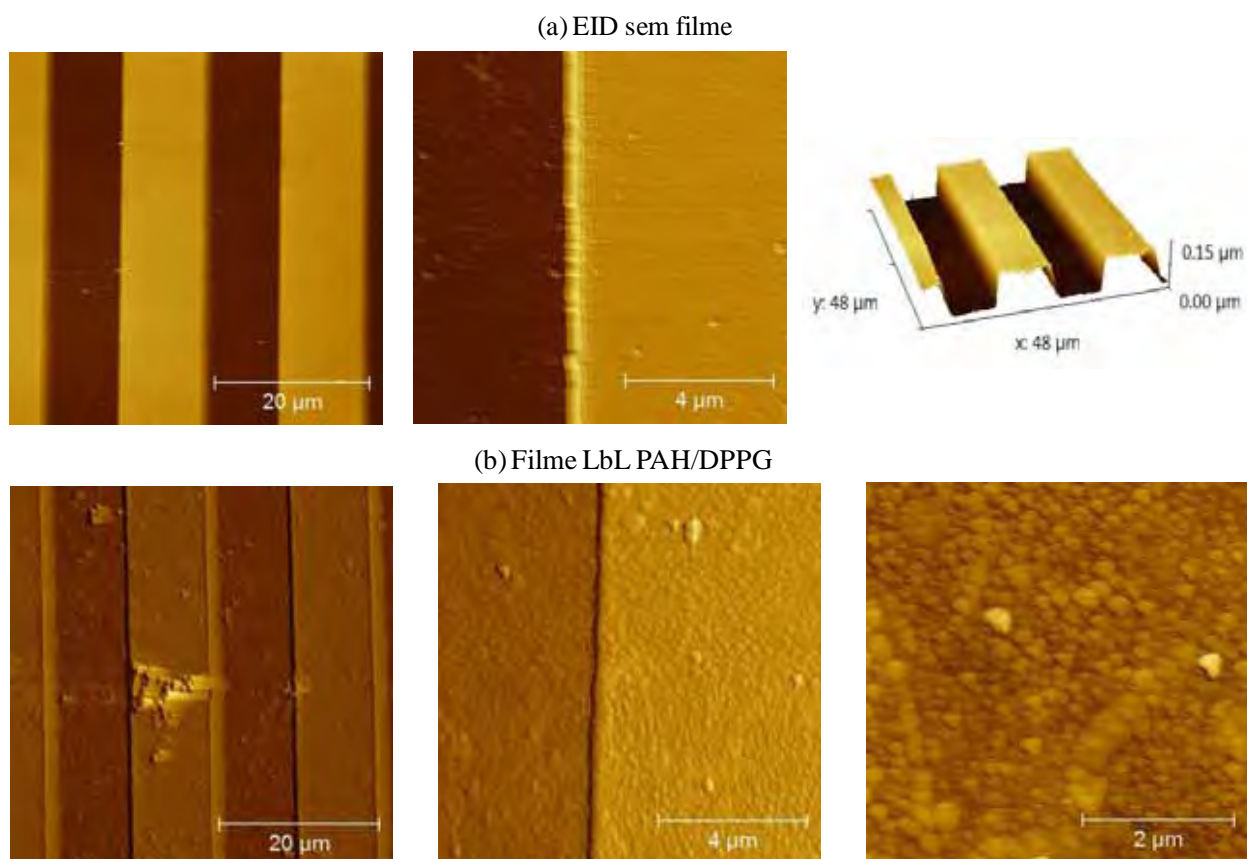


Figura 31. Espectros de absorção no UV-Vis para filmes PVD de ZnPc (linha preta) e AzoPTCD (linha cinza) evaporados até 10 nm.

Após o crescimento dos filmes sobre os EIDs formando as unidades sensoriais, a morfologia dos filmes foi investigada em escala nanométrica via AFM. Diferente do que foi feito no capítulo 4, este estudo foi realizado antes das medidas elétricas. Várias imagens topográficas foram coletadas em diferentes regiões das unidades sensoriais para todos os filmes, sendo apresentadas três imagens de cada unidade sensorial com distintas ampliações:  $50 \times 50 \mu\text{m}^2$ ,  $10 \times 10 \mu\text{m}^2$  e  $5 \times 5 \mu\text{m}^2$ . As imagens na Figura 32a são do EID sem filme em duas e três dimensões. As imagens AFM para os filmes LbL de PAH/DPPG e DODAB/NiTsPc são apresentadas em duas dimensões na Figura 32b e Figura 32c, respectivamente. A Figura 32d apresenta imagens AFM do filme LB de lignina, enquanto as imagens AFM dos filmes PVD de AzoPTCD e ZnPc são apresentadas na Figura 32e e na Figura 32f, respectivamente. É possível observar as diferenças na morfologia pela direta comparação entre as imagens do EID sem filme e as imagens dos EIDs recobertos pelos filmes, os quais formam as unidades sensoriais.



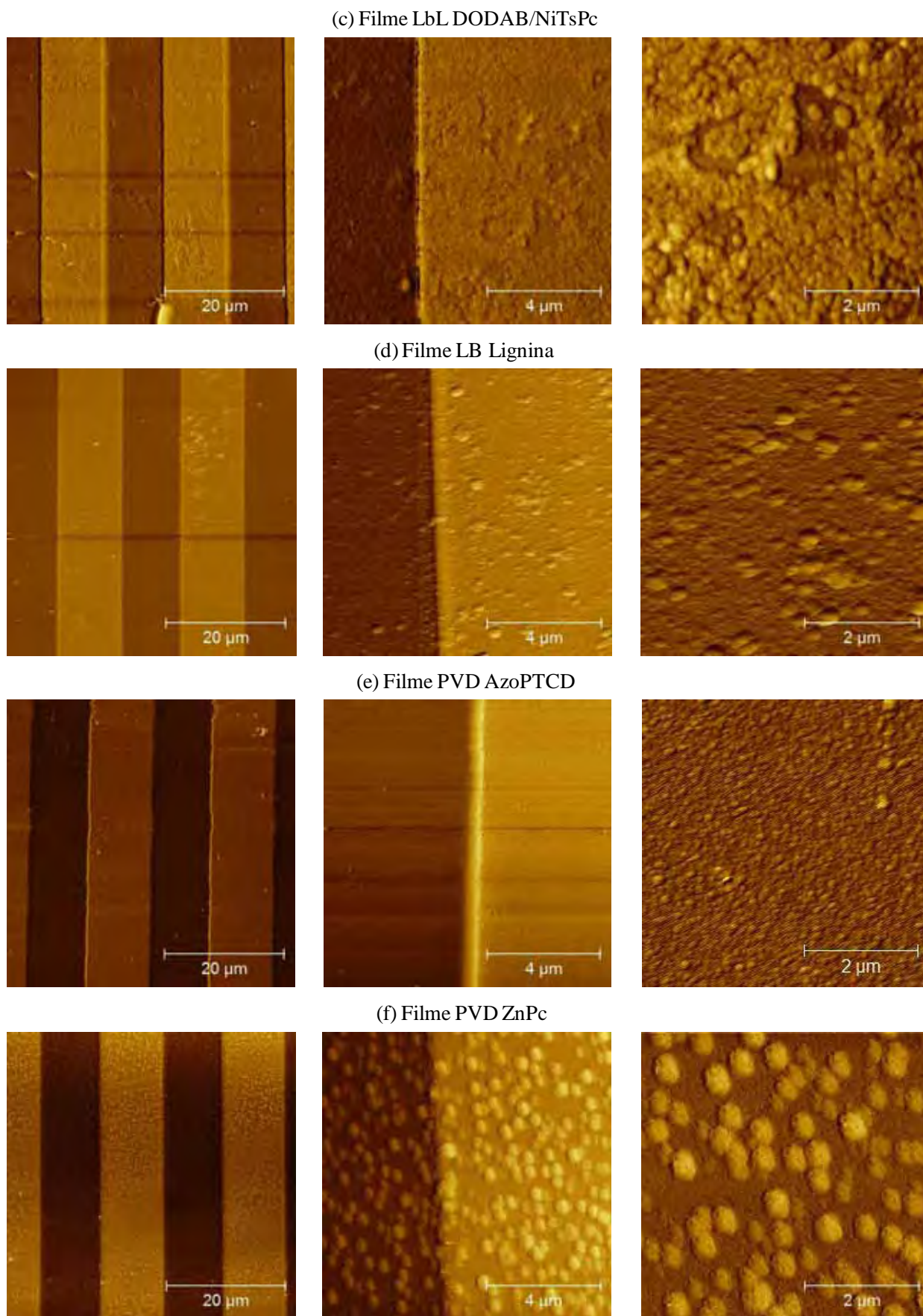


Figura 32. Imagens de AFM (topografia) das unidades sensoriais que compõem a *língua eletrônica*. (a) EID sem filme e dos filmes LbL (b) PAH/DPPG e (c) DODAB/NiTsPc, (d) do filme LB de lignina e dos filmes PVD (e) AzoPTCD e (f) ZnPc. Estas medidas AFM foram realizadas antes da imersão das unidades sensoriais nos sistemas líquidos para medidas elétricas.

As imagens revelaram que todos os filmes fabricados foram capazes de modificar as superfícies dos EIDs e exibiram diferenças claras entre as morfologias de acordo com o tipo e técnica de processamento do filme. Novamente a altura do dígito de 100 nm foi mantida para todos os filmes, revelando que os filmes cresceram uniformemente sobre o dígito e no vale. O filme LbL de PAH/DPPG com 5 bicamadas (Figura 32b) apresentou uma superfície rugosa, dominada pela formação de vesículas do fosfolipídio DPPG e com presença de agregados. As imagens obtidas foram semelhantes às aquelas publicadas na literatura para o mesmo tipo de material [18]. As imagens do filme LbL de DODAB/NiTsPc (Figura 32c) apresentaram também uma superfície rugosa, dominada pela formação de vesículas do lipídio DODAB e com presença de alguns agregados. Estes resultados estão de acordo com aqueles obtidos para os mesmos filmes fabricados na dissertação de mestrado do estudante Leonardo N. Furini (em andamento). Os filmes LB de lignina (Figura 32d) exibiram uma superfície com presença de agregados moleculares, consistente com a literatura para este e outros tipos de lignina [56, 131]. O filme PVD de 10 nm do AzoPTCD (Figura 32e) apresentou uma superfície mais suave que as anteriores, com a presença de pequenos agregados moleculares que só podem ser vistos nas imagens com maior ampliação ( $5,0 \times 5,0 \mu\text{m}^2$ ). Este tipo de morfologia verificada para o AzoPTCD é semelhante àquela reportada na literatura [54]. O filme PVD de 10 nm de ZnPc (Figura 32f) apresentou uma superfície com agregados moleculares que podem ser verificados em todas as imagens, os quais são um pouco maiores a aqueles reportados na literatura para este tipo de ftalocianina metálica [55].

A presença dos agregados moleculares na superfície de todos os filmes foi melhor avaliada por medidas de rugosidade média  $R_a$  e da média quadrática da rugosidade  $R_{rms}$ . A Tabela 4 apresenta os valores de  $R_a$  e  $R_{rms}$  medidos nas imagens de  $5,0 \times 5,0 \mu\text{m}^2$  coletados sobre a superfície dos dígitos do EID. O EID sem filme apresentou o menor de todos os valores para  $R_a$  e  $R_{rms}$ , como esperado. O filme com menor rugosidade foi o PVD com 10 nm do AzoPTCD, seguido pelo filme LB de lignina com 5 camadas. Os dois filmes LbL, PAH/DPPG e

DODAB/NiTsPc, apresentaram valores de rugosidade próximos para as duas abordagens estatísticas, com valores ligeiramente maiores para o segundo filme. O filme com maior valor de rugosidade foi o PVD de ZnPc com 10 nm. Para o filme de ZnPc, os valores de rugosidade ficaram próximos aos valores de espessura do filme. A taxa de evaporação adotada durante o processo de fabricação ou a diferente superfície do substrato (metal – superfície do EID) pode ter levado a esta singular formação de grandes agregados, o que explicaria os altos valores estatísticos encontrados.

Tabela 4. Valores de rugosidade para área de  $5 \times 5 \mu\text{m}^2$ .

Unidade sensorial	$R_a$ (nm)	$R_{rms}$ (nm)
EID sem filme	0,8	1,3
PAH/DPPG <i>5 bicamadas LbL</i>	5,4	6,9
DODAB/NiTsPc <i>5 bicamadas LbL</i>	6,6	8,3
lignina <i>5 camadas LB</i>	3,7	5,4
AzoPTCD <i>10 nm PVD</i>	1,28	1,7
ZnPc <i>10 nm PVD</i>	7,6	8,64

## 5.2 Medidas de espectroscopia de impedância

Antes de iniciar qualquer medida elétrica de espectroscopia de impedância, foram esperados 30 minutos para diminuir possíveis interferências pela formação da dupla camada elétrica [7, 28, 132]. A Figura 33 mostra as curvas de capacitância obtidas para as medidas realizadas nas soluções de  $\text{Cu}^{2+}$ , a Figura 34 mostra as curvas para as soluções de azul de metileno e a Figura 35 para as soluções de sacarose.

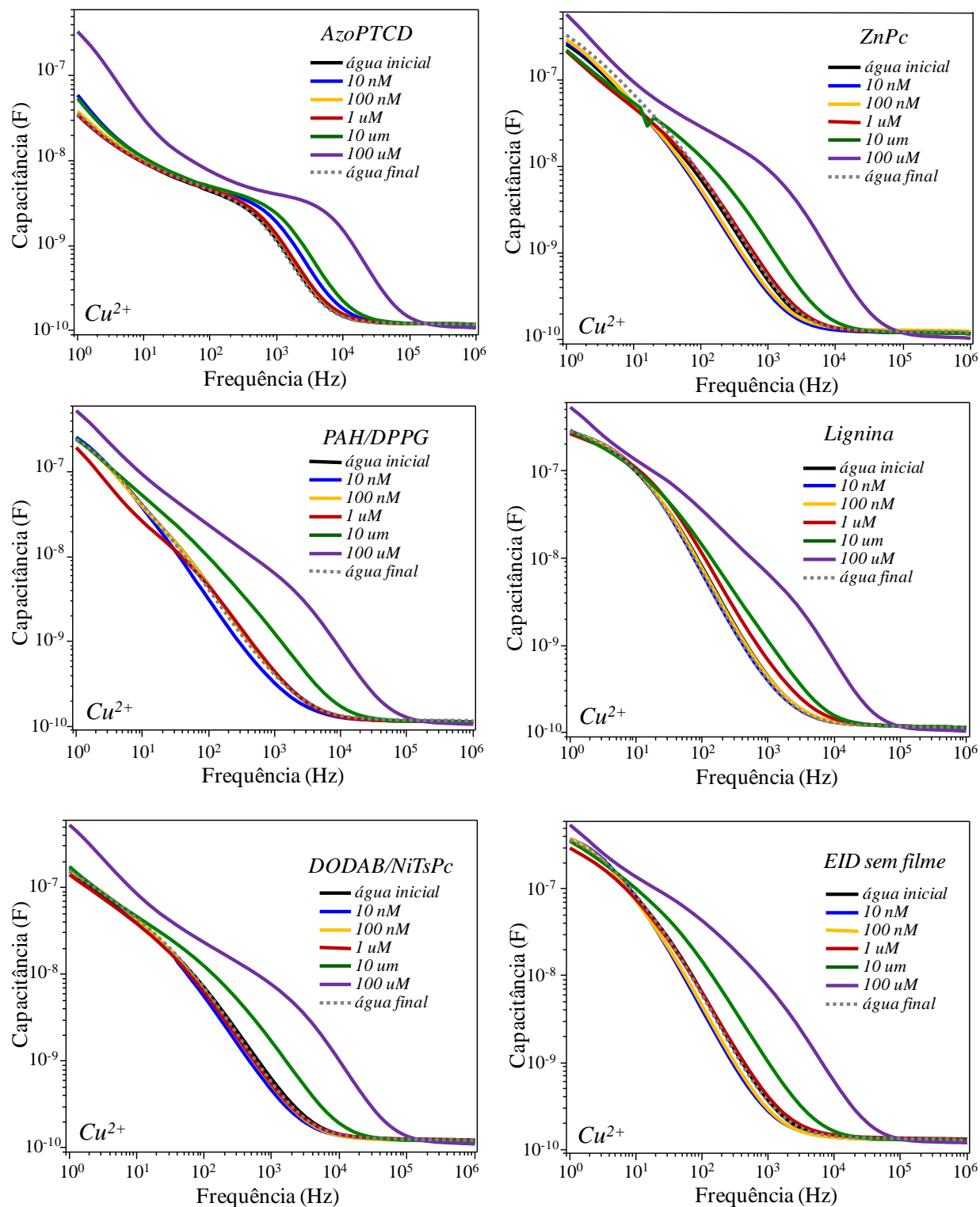


Figura 33. Curvas de capacitância das unidades sensoriais AzoPTCD, ZnPc, lignina, DODAB/NiTsPc, PAH/DPPG e EID sem filme imersas em diferentes soluções contendo  $Cu^{2+}$ . As soluções foram analisadas em concentrações de 10 nM, 100 nM, 1  $\mu$ M, 10  $\mu$ M e 100  $\mu$ M, além de águas ultrapuras medidas no início e final de cada ciclo de medidas.

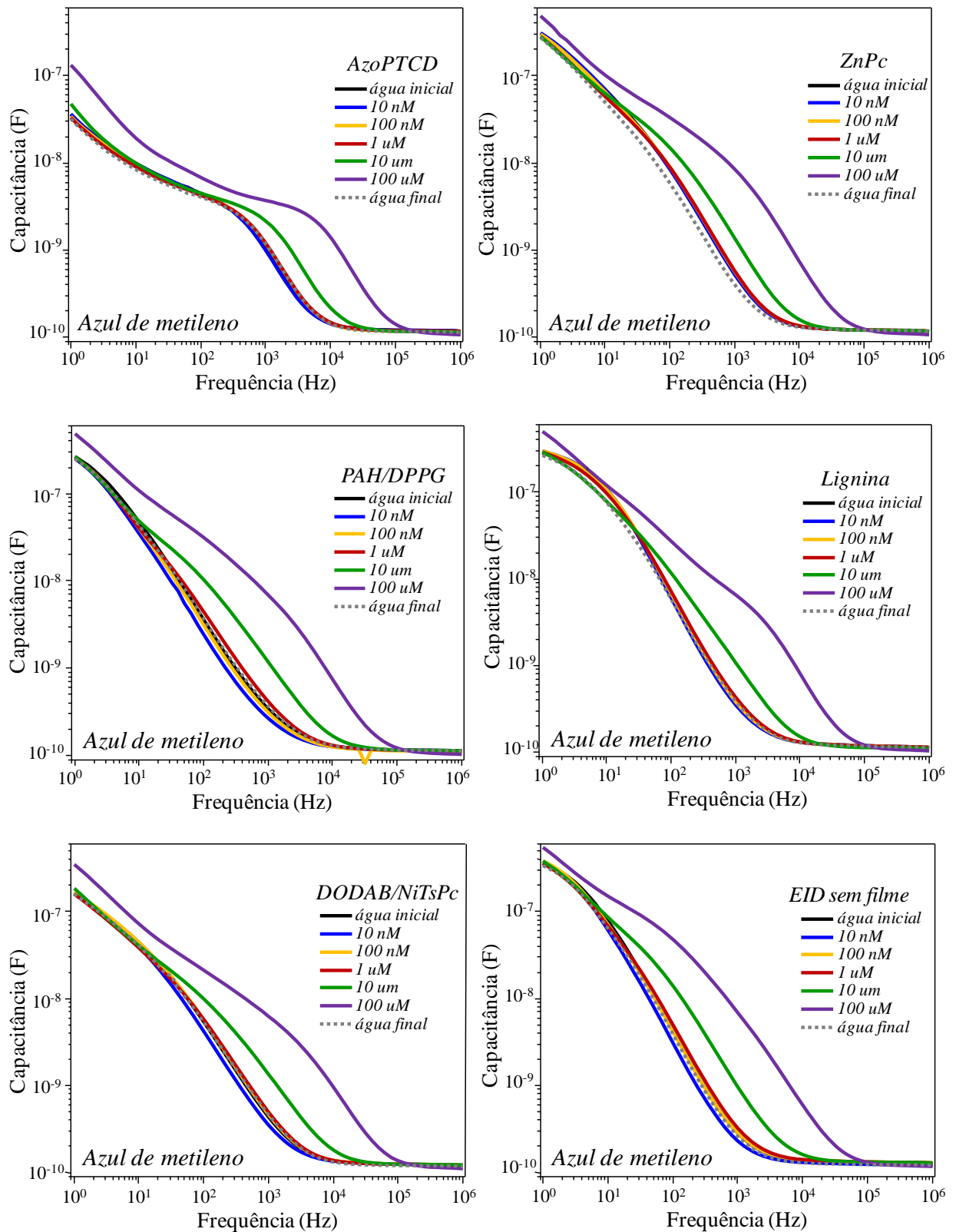


Figura 34. Curvas de capacitância das unidades sensoriais AzoPTCD, ZnPc, lignina, DODAB/NiTsPc, PAH/DPPG e EID sem filme imersas em diferentes soluções contendo azul de metileno. As soluções foram analisadas em concentrações de 10 nM, 100 nM, 1 μM, 10 μM e 100 μM, além de águas ultrapuras medidas no início e final de cada ciclo de medidas.

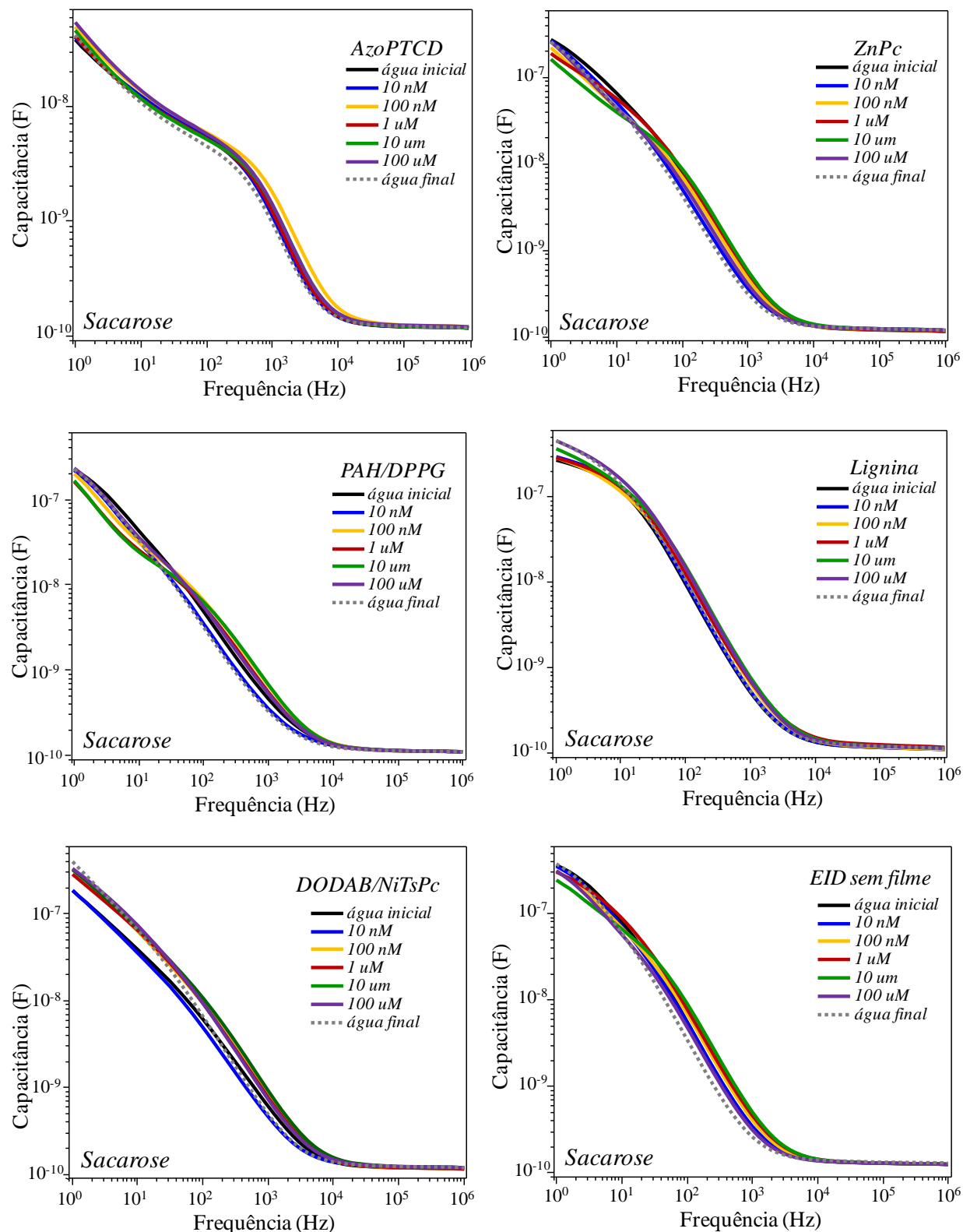


Figura 35. Curvas de capacitância das unidades sensoriais AzoPTCD, ZnPc, lignina, DODAB/NiTsPc, PAH/DPPG e EID sem filme imersas em diferentes soluções contendo sacarose. As soluções foram analisadas em concentrações de 10 nM, 100 nM, 1  $\mu$ M, 10  $\mu$ M e 100  $\mu$ M, além de soluções de águas ultrapuras medidas no início e final de cada ciclo de medidas.

As medidas realizadas nas soluções contendo  $\text{Cu}^{2+}$  apresentaram variações nas curvas de capacitância para todas as concentrações analisadas, mesmo para as mais diluídas



(Figura 33), possivelmente devido ao caráter eletrolítico do analito. Na região de baixa frequência, as unidades não apresentaram uma discriminação satisfatória das soluções de  $\text{Cu}^{2+}$ . Na região de média frequência, as unidades foram capazes de separar as soluções medidas dentro do intervalo de concentrações analisado, deslocando as curvas de capacitância para maiores valores de capacitância com o aumento das concentrações. Na região de altas frequências todas as curvas de capacitância ficaram próximas e sobrepostas, exceto para a solução mais concentrada (100  $\mu\text{M}$ ), que foi deslocada para menores valores de capacitância em todos os filmes. Nas regiões de baixa e média frequência, as soluções mais concentradas foram deslocadas para maiores valores de capacitância. Isso pode estar relacionado com uma suposta alteração na constante dielétrica do material devido a alta concentração de analitos iônicos. Assim, a capacitância também seria modificada nesta região. As curvas das águas iniciais e finais ficaram muito próximas umas das outras em todos os filmes, sugerindo mínimas alterações na estrutura dos filmes.

As medidas realizadas para as soluções de azul de metileno apresentaram um comportamento similar ao observado para as soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  (Figura 34). Na região de baixa frequência, as unidades sensoriais não apresentaram discriminação satisfatória das soluções analisadas. Na região de média frequência, as unidades sensoriais discriminaram as soluções analisadas deslocando as curvas de 10 e 100  $\mu\text{M}$  para maiores valores com o aumento da concentração. Na região de altas frequências, apenas as curvas de capacitância de 100  $\mu\text{M}$  foram deslocadas, consistente com uma possível alteração na constante dielétrica do material. Como nas medidas do  $\text{Cu}^{2+}$ , as curvas de capacitância das águas iniciais ficaram próximas das águas finais, evidenciando pequenas alterações nos filmes durante o processo de medidas.

As medidas para as soluções de sacarose (Figura 35) não apresentaram grandes mudanças no perfil das curvas de capacitância com a variação da concentração. Os experimentos revelaram um deslocamento aleatório das curvas de capacitância com o aumento das concentrações. Os filmes PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc e ZnPc apresentaram variações um

pouco mais evidentes nas curvas, porém aleatórias. Os filmes de AzoPTCD e lignina foram os que apresentaram as menores variações na capacitância para as diferentes concentrações.

Os três analitos ( $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose) apresentaram respostas que podem ser relacionadas com o caráter eletrolítico das soluções. As soluções de sacarose apresentaram pequenas separações das curvas de capacitância em função das diferentes concentrações, o que pode estar relacionado à baixa condutividade das soluções. Já as soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno, que possuem caráter eletrolítico, apresentaram maior variação entre as curvas de capacitância. Assim, pode ser atribuída uma dependência do caráter eletrolítico da solução nas respostas elétricas, independentemente das unidades sensoriais empregadas. Para as soluções que possuem caráter eletrolítico ( $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno), parece que existe uma determinada concentração a partir da qual as soluções modificam de forma mais acentuada as medidas elétricas para todas as unidades sensoriais, neste caso a partir de 100  $\mu\text{M}$ .

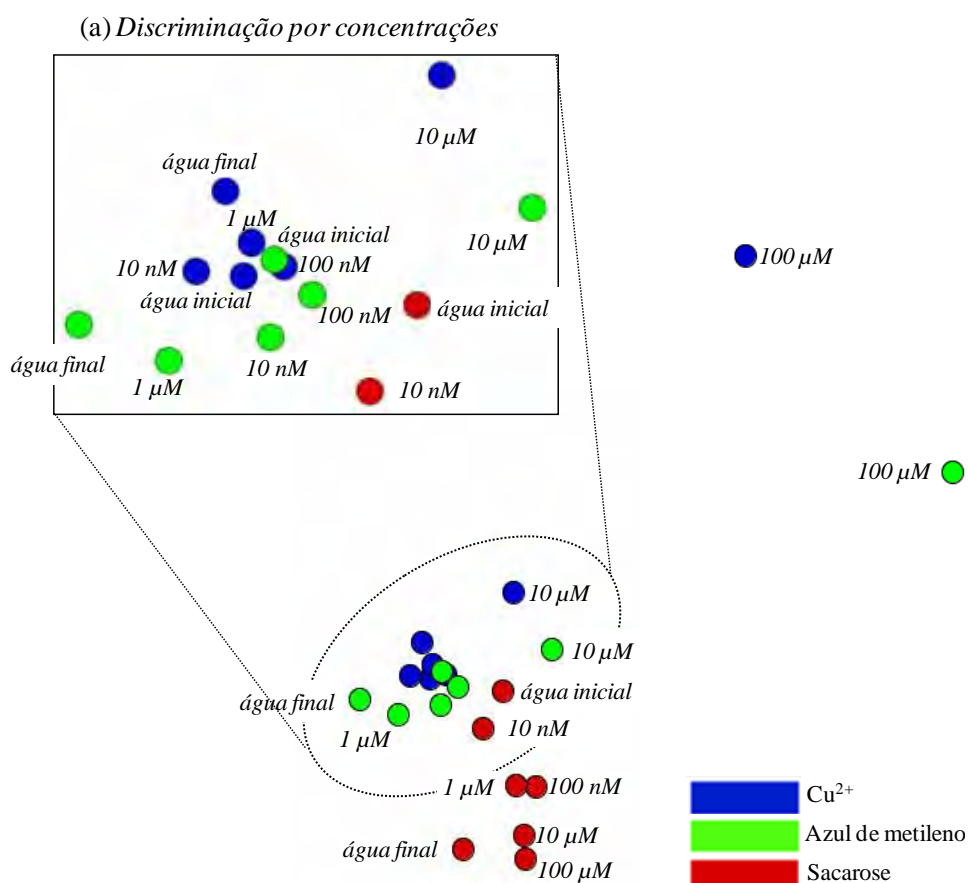
Estes fatos apontam uma dependência das características e propriedades da solução e do filme na resposta elétrica. Porém, pela grande quantidade de curvas de capacitância geradas (6 unidades sensoriais analisando 7 soluções, totalizando 42 curvas de capacitância para cada um dos analitos sacarose,  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno), se torna difícil a interpretação visual dos resultados e a comparação entre as respostas obtidas. Desta forma, técnicas estatísticas e computacionais de processamento de dados foram empregadas com o intuito de estabelecer relações entre as diferentes unidades sensoriais e as soluções analisadas a partir das respostas elétricas.

### 5.3 Técnica de projeção

Os dados de capacitância obtidos das unidades sensoriais expostas aos três analitos foram submetidos a análises computacionais por técnica de projeção. Nestas análises foi utilizada a ferramenta IDMAP disponível no programa *PEx-Sensor* [84, 85, 119]. As análises foram divididas em dois subtópicos de acordo com a abordagem realizada sobre os dados.

### 5.3.1 Discriminação por concentrações dos analitos

Na primeira abordagem os dados apresentados foram organizados para uma discriminação por concentrações. As respostas de cada uma das unidades sensoriais foram combinadas formando um padrão de respostas, a qual carrega informações das 6 unidades sensoriais utilizadas na discriminação de cada solução. Na Figura 36a é apresentada a análise de projeção utilizando todas as concentrações e na Figura 36b é apresentada uma análise dos dados eliminando as soluções de 100  $\mu\text{M}$  dos analitos  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno.



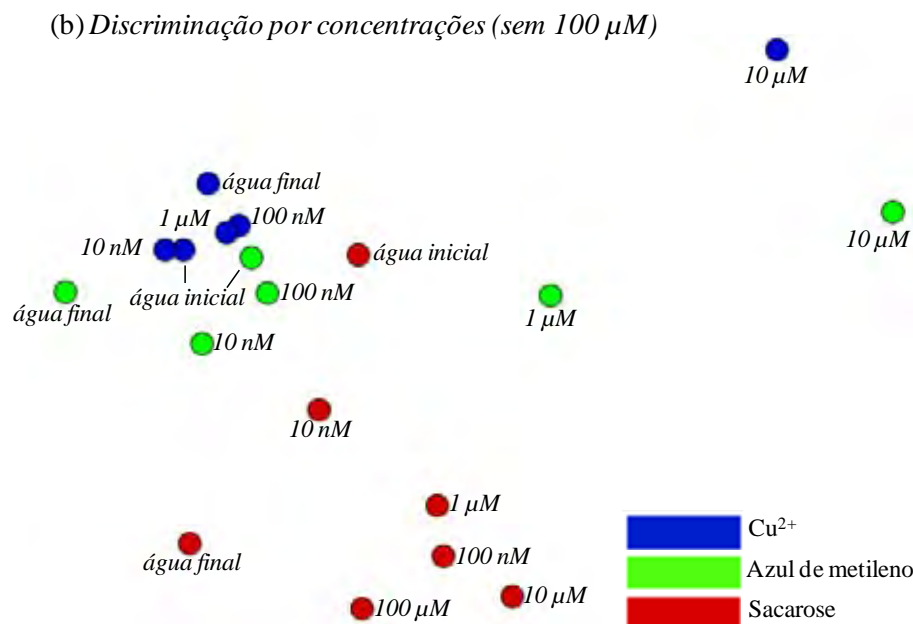


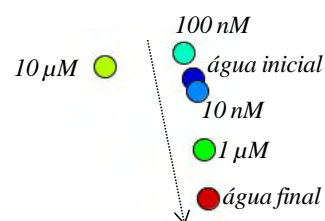
Figura 36. a) Projecções dos dados de capacitância coletados com as unidades sensoriais EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD atingindo discriminação por concentração. b) Projecção excluindo as soluções com 100  $\mu\text{M}$  de  $\text{Cu}^{2+}$  e AM.

Considerando que há 3 analitos e 5 concentrações (mais 2 águas) para cada analito, a *língua eletrônica* conseguiu discriminar relativamente bem as diferentes soluções pela concentração e o tipo do analito (Figura 36a). Os elementos visuais das soluções de azul de metileno e  $\text{Cu}^{2+}$  foram posicionados próximos uns aos outros, revelando a similaridade destas soluções do ponto de vista sensorial. Quando as soluções mais concentrada dos analitos  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno foram removidas (Figura 36b), a análise distinguiu melhor os tipos e as concentrações de todas as soluções. Porém, a proximidade entre as soluções com caráter eletrolítico permaneceu. O  $\text{Cu}^{2+}$  forma uma solução eletrolítica a partir da solubilização do sal de  $\text{CuCl}_2$ , o qual se dissocia em  $\text{Cu}^{2+}$  e  $2\text{Cl}^-$ . O azul de metileno, mesmo possuindo dimensões moleculares, também é um sal; quando solubilizado, a molécula de azul de metileno é ionizada pela liberação do  $\text{Cl}^-$  dando origem ao caráter eletrolítico da solução. A presença do  $\text{Cl}^-$  e do  $2\text{Cl}^-$  nestas soluções –  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno – pode estar relacionada com a similaridade das respostas elétricas.

As análises por projecção foram realizadas também separadamente para cada tipo de solução buscando a discriminação por concentração. Na Figura 37a são apresentadas as

projeções com as respostas combinadas das 6 unidades sensoriais para as soluções de  $\text{Cu}^{2+}$ , enquanto a Figura 37b mostra as projeções para o mesmo conjunto de dados, porém excluindo a solução de  $100 \mu\text{M}$ . De forma semelhante, a Figura 38a mostra as projeções com as respostas das 6 unidades combinadas para discriminação das concentrações de azul de metileno e a Figura 38b mostra as projeções excluindo a solução de azul de metileno com  $100 \mu\text{M}$ . A Figura 39 mostra as projeções com as respostas das unidades sensoriais combinadas para a discriminação das concentrações de sacarose.

(a) *Soluções de  $\text{Cu}^{2+}$*



$100 \mu\text{M}$

(b) *Soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  (sem  $100 \mu\text{M}$ )*

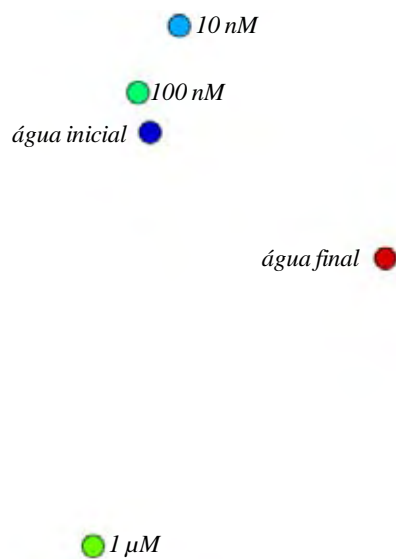
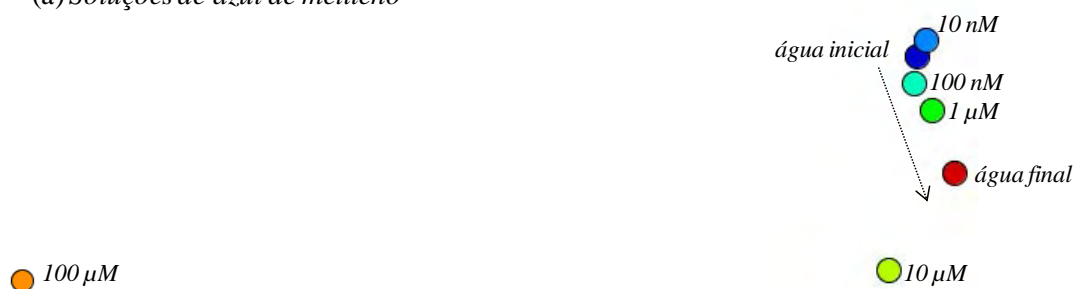


Figura 37. a) Projeções dos dados de capacitância das unidades sensoriais EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD discriminando todas as concentrações de  $\text{Cu}^{2+}$ . b) Projeções excluindo a solução de  $100 \mu\text{M}$  de  $\text{Cu}^{2+}$ .

(a) *Soluções de azul de metileno*



(b) *Soluções de azul de metileno (sem 100 μM)*



Figura 38. a) Projeções dos dados de capacitância das unidades sensoriais EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD discriminando todas as concentrações de azul de metileno. b) Projeções excluindo a solução de 100 μM de azul de metileno.

*Soluções de sacarose*

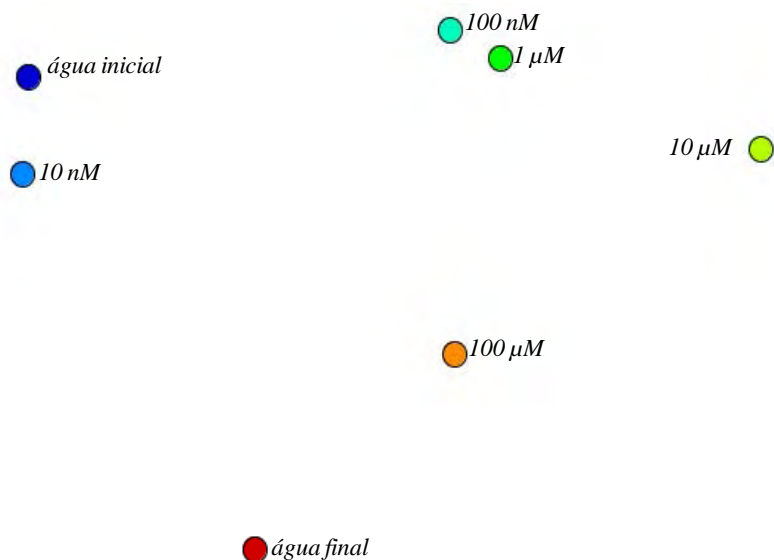
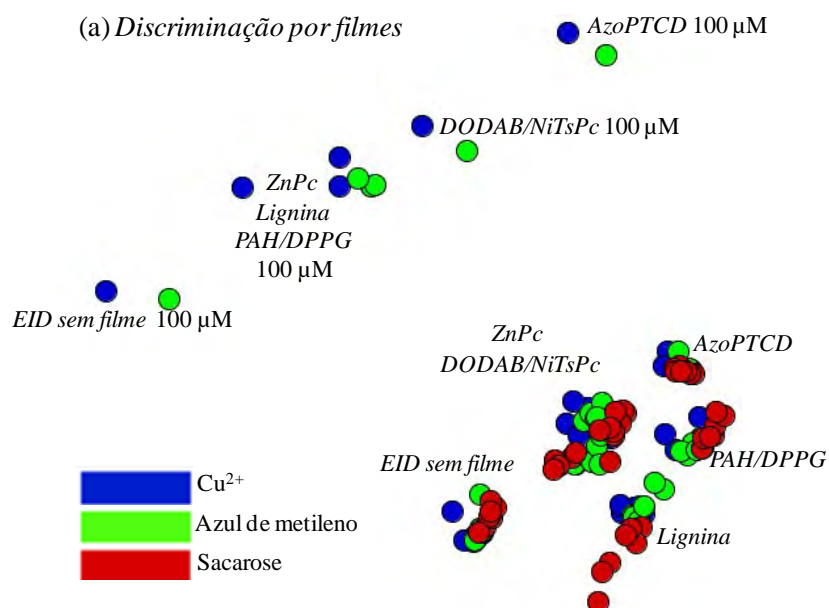


Figura 39. Projeções dos dados de capacitância das unidades sensoriais EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD discriminando as concentrações de sacarose.

A solução mais concentrada pode ter causado um efeito de supressão sobre a discriminação das soluções mais diluídas. Quando as soluções mais concentradas foram removidas (Figura 37b e Figura 38b), foi melhorada a discriminação das concentrações menores. Nas soluções de sacarose (Figura 39) foi observada uma grande separação entre as concentrações das soluções, mesmo com a presença da solução mais concentrada. O efeito de supressão da solução mais concentrada sobre as mais diluídas não foi observado, talvez devido ao não caráter eletrolítico característico das soluções de sacarose.

### 5.3.2 Discriminação por tipos de filme

Em outra abordagem através da técnica de projeção, as análises foram realizadas para o conjunto de dados separados por unidades sensoriais e por soluções, atingindo uma discriminação por filmes. A Figura 40a mostra as análises de projeções para os analitos  $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose nas concentrações de 10 nM até 100  $\mu\text{M}$ , além das águas iniciais e finais. A Figura 40b mostra outra análise excluindo os dados das soluções 10  $\mu\text{M}$  e 100  $\mu\text{M}$  do  $\text{Cu}^{2+}$  e o azul de metileno. As cores dos elementos visuais indicam cada tipo dos analitos, como atribuído na legenda.



(b) *Discriminação por filmes (sem 100 e 10  $\mu$ M)*

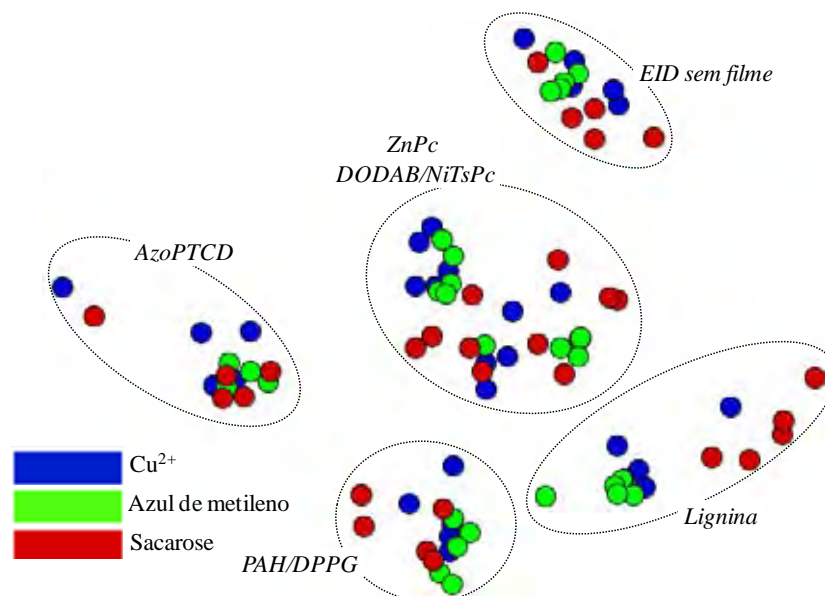


Figura 40. a) Projecções dos dados de capacitância das unidades EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD analisadas conjuntamente em soluções de  $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose com concentrações a partir de 10 nM até 100  $\mu$ M, além das águas iniciais e finais. b) Projecções a partir do mesmo conjunto de dados excluindo as soluções de 100 e 10  $\mu$ M.

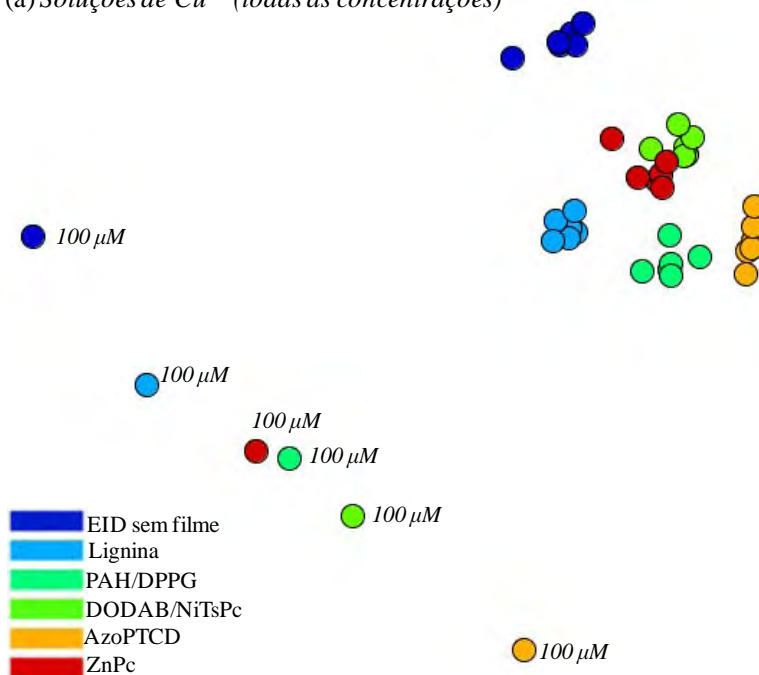
Na Figura 40a as soluções mais concentradas (100  $\mu$ M) dos analitos com caráter eletrolítico foram bem distinguidas e se agruparam de acordo com a concentração da solução, independente do tipo da unidade sensorial. Isto significa que as similaridades entre as soluções de 100  $\mu$ M prevaleceram sobre os tipos dos materiais que compõe as unidades sensoriais. Pode-se supor que a importância do filme que compõe a unidade sensorial foi diminuída para tal concentração. Para as menores concentrações dos analitos com caráter eletrolítico e todas as concentrações dos analitos de sacarose, os grupos foram formados de acordo com o tipo da unidade sensorial, isto é, as similaridades se dão de acordo com o tipo do filme. Quando as soluções de 10 e 100  $\mu$ M dos analitos com caráter eletrolítico foram excluídas e as análises por projeções refeitas (Figura 40b), as similaridades entre as unidades sensoriais foram confirmadas, e os grupos se formaram de acordo com o filme que compõem a unidade sensorial. As unidades sensoriais formadas pelos filmes de ZnPc e DODAB/NiTsPc apresentaram respostas similares para todos os tipos de analitos, como pode ser verificado pela proximidade dos elementos visuais relacionados a estas unidades sensoriais. Esta proximidade revela que a ftalocianina metálica,



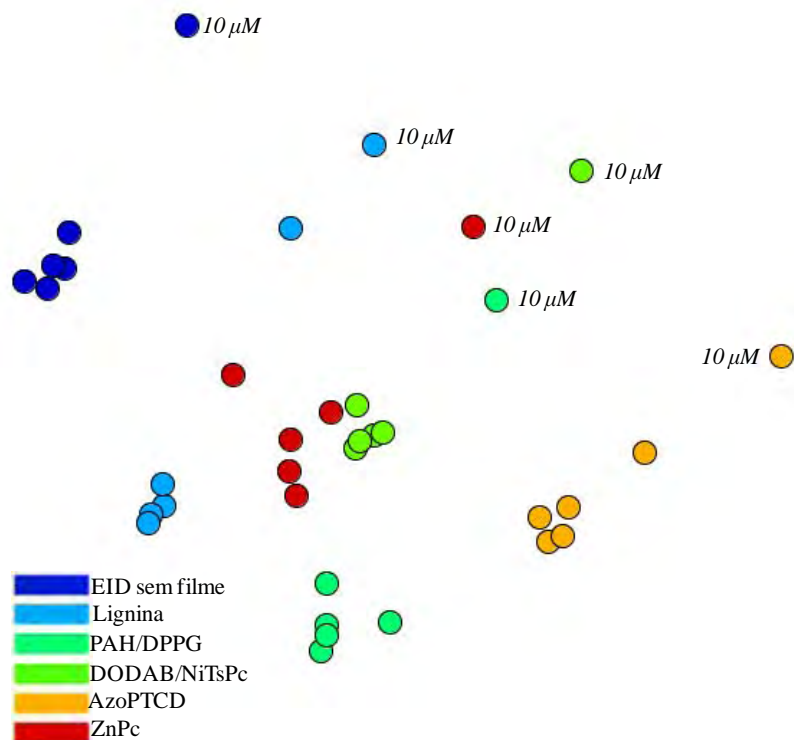
seja Zn ou Ni, desempenhou um papel semelhante na resposta elétrica destas duas unidades sensoriais.

Com o intuito de verificar o papel desempenhado pelos filmes finos na discriminação dos diferentes analitos separadamente, análises usando a discriminação por filmes foram refeitas individualmente para cada analito. A Figura 41a mostra a análise por projeções para discriminação por filme do analito  $\text{Cu}^{2+}$  com todas as concentrações. A Figura 41b mostra a análise de projeções para o mesmo analito excluindo a solução de  $100 \mu\text{M}$ . A Figura 41c mostra a análise feita sob as mesmas configurações excluindo as soluções de  $10$  e  $100 \mu\text{M}$ .

(a) Soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  (todas as concentrações)



(b) Soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  (sem  $100 \mu\text{M}$ )



(c) Soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  (sem  $10$  e  $100 \mu\text{M}$ )

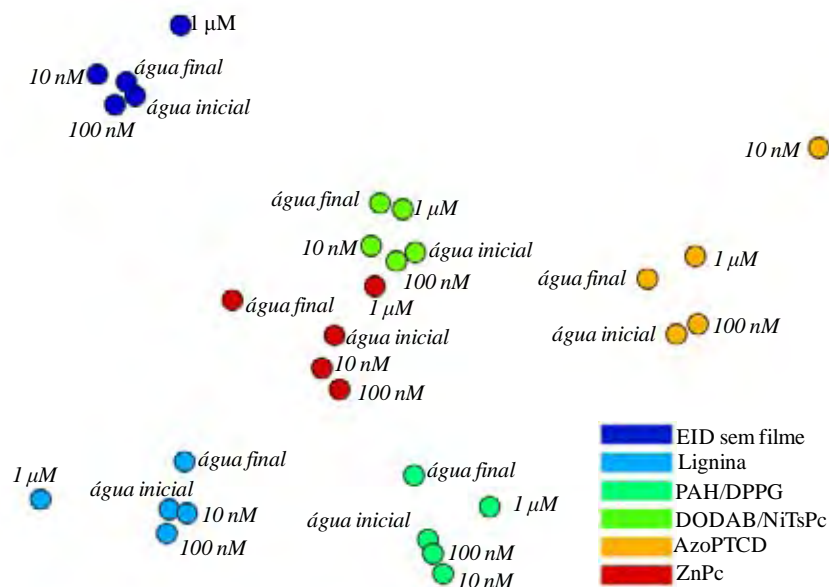
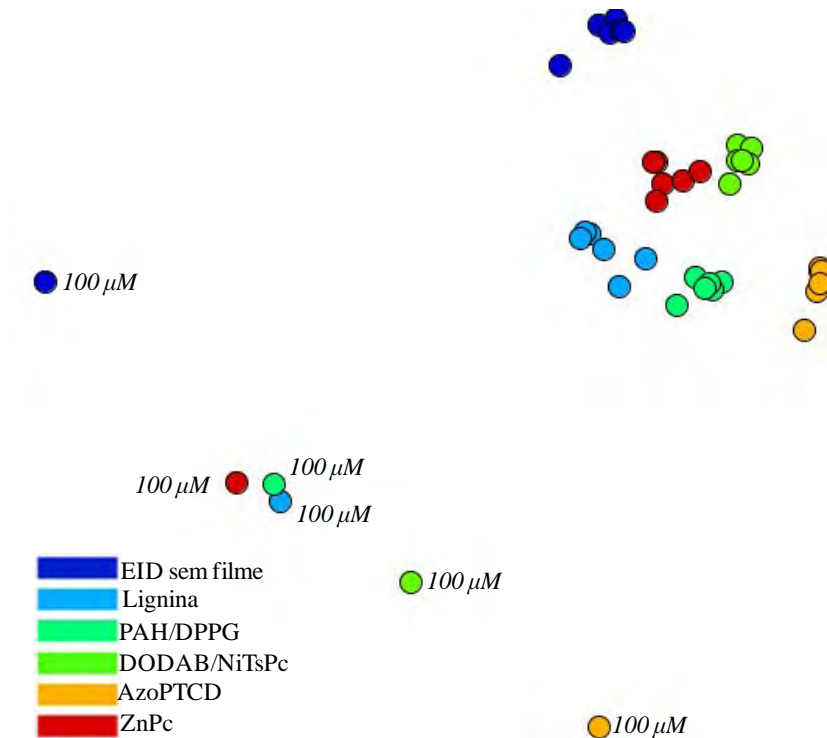


Figura 41. Projeções dos dados de capacitância das unidades EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD imersas em soluções de  $\text{Cu}^{2+}$ . a) Todas as concentrações. b) Sem as soluções de  $100 \mu\text{M}$ . c) Sem as soluções de  $10$  e  $100 \mu\text{M}$ .

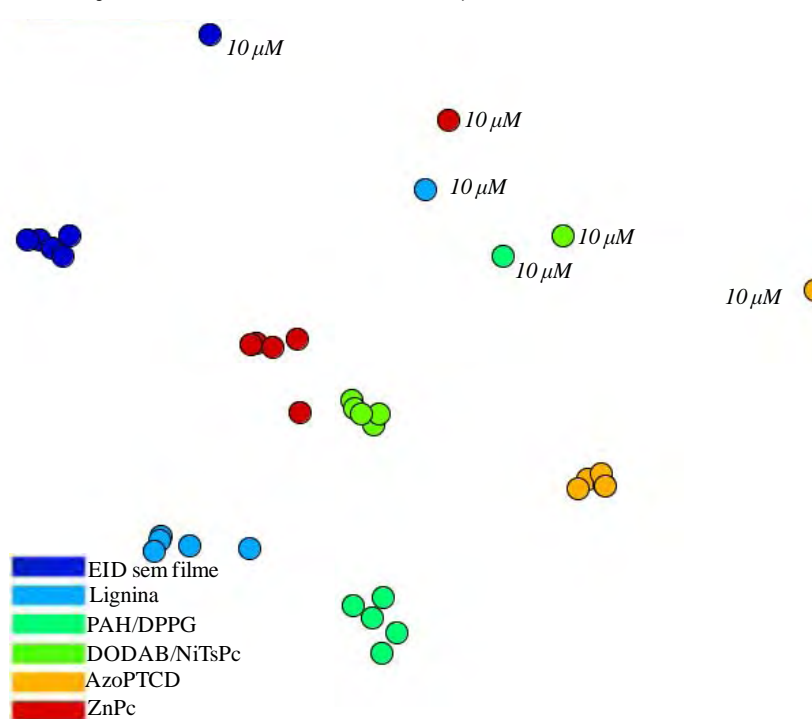
A solução de 100  $\mu\text{M}$  de  $\text{Cu}^{2+}$  foi bem distinguida do restante e se agrupou separadamente (Figura 41a). Isto mostra que para esta concentração de  $\text{Cu}^{2+}$ , a similaridade entre as respostas é dada pela concentração da solução. Quando a solução mais concentrada foi removida, as soluções com concentração 10  $\mu\text{M}$  foram deslocadas para a fronteira e separadas dos grupos formados pelos tipos das unidades sensoriais (Figura 41b), semelhante ao observado para a solução de 100  $\mu\text{M}$ . Porém, pela proximidade entre os elementos visuais das soluções com concentrações 10  $\mu\text{M}$  e os elementos visuais das menores concentrações, sugere-se que a importância da concentração da solução ainda exista, mas que tenha sido diminuída. Quando as soluções de 10 e 100  $\mu\text{M}$  foram removidas, os efeitos da concentração das soluções desaparecem e os elementos visuais foram reunidos em 6 grupos: um para cada unidade sensorial de acordo com o tipo do filme fino (Figura 41c). Isto significa que para este conjunto de soluções, as medidas elétricas foram mais similares de acordo com o tipo do filme que recobre a unidade sensorial, suprimindo o papel desempenhado pela concentração das soluções.

As análises por projeções usando discriminação por filmes também foram feitas para os analitos de azul de metileno. A Figura 42a mostra a análise por projeções para discriminação por filme do analito azul de metileno com todas as concentrações. A Figura 42b mostra a análise de projeções para o mesmo analito excluindo a solução de 100  $\mu\text{M}$ . A Figura 42c mostra a análise feita excluindo as soluções de 10 e 100  $\mu\text{M}$  do analito azul de metileno.

(a) Soluções de azul de metileno (todas as concentrações)



(b) Soluções de azul de metileno (sem 100  $\mu\text{M}$ )



(c) Soluções de azul de metileno (sem 10 e 100  $\mu\text{M}$ )

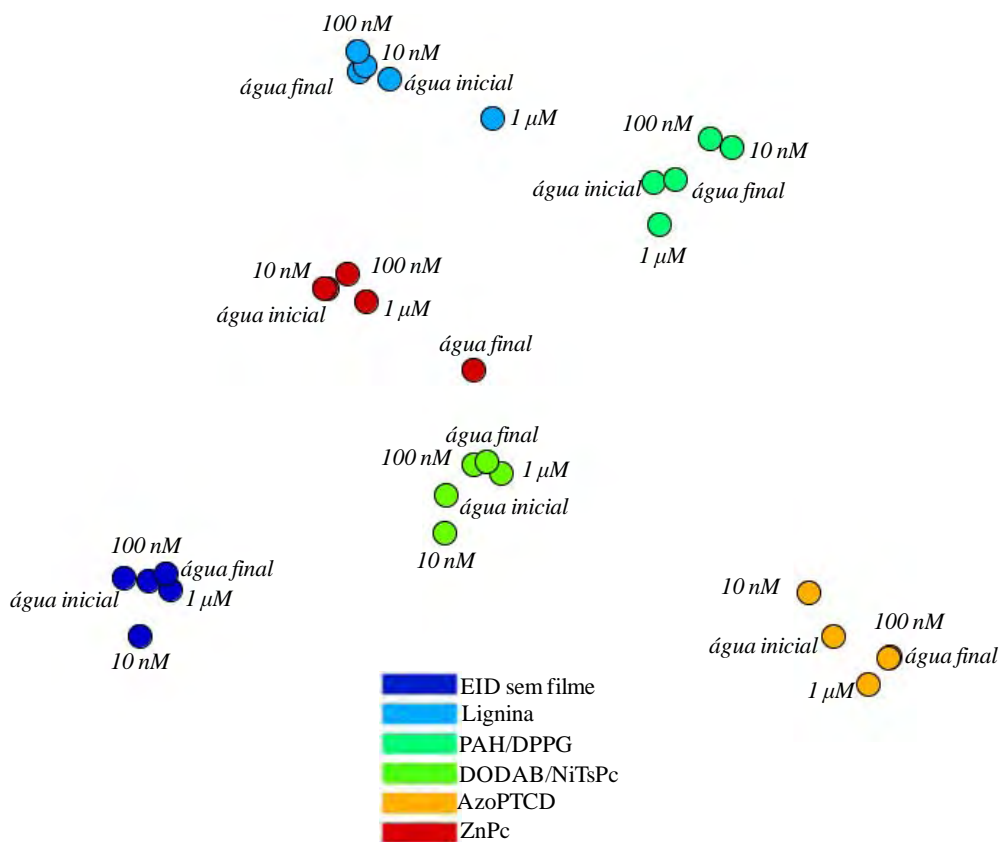


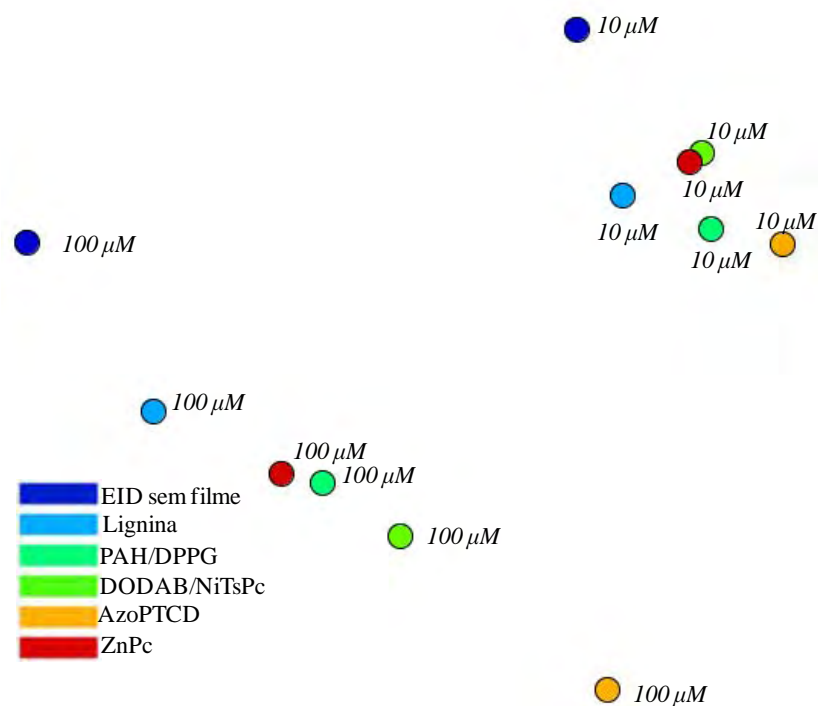
Figura 42. Projeções dos dados de capacitância das unidades EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD imersas em soluções de azul de metileno. a) Todas as concentrações. b) Sem as soluções de 100  $\mu\text{M}$ . c) Sem as soluções de 10 e 100  $\mu\text{M}$ .

Os resultados obtidos para o azul de metileno se mostraram semelhantes àqueles obtidos para o  $\text{Cu}^{2+}$ . A solução de 100  $\mu\text{M}$  de azul de metileno foi bem distinguida e se agrupou separadamente (Figura 42a) das demais soluções. Quando a solução mais concentrada foi removida, as soluções com concentração 10  $\mu\text{M}$  foram deslocadas para a fronteira e separadas dos grupos formados pelos tipos das unidades sensoriais (Figura 42b). Quando as soluções de 10 e 100  $\mu\text{M}$  foram removidas, os efeitos da concentração da solução desapareceram e os elementos visuais foram agrupados de acordo com o tipo do filme fino (Figura 42c). Portanto, o domínio das respostas elétricas se deu pela concentração em soluções a partir de 10  $\mu\text{M}$ , enquanto que abaixo desta concentração o domínio das respostas elétricas se deu pelo tipo da unidade sensorial para as soluções com caráter eletrolítico. Resultados semelhantes a este foram observados no capítulo 4, mas como as soluções apresentavam grandes intervalos de concentração, passando de

1  $\mu\text{M}$  para 1 mM, não eram evidentes. Neste capítulo 5 os intervalos entre as concentrações eram menores, tornando os regimes mais claros.

A existência dos regimes de domínio das respostas elétricas – concentração da solução ou tipo do filme – foi confirmada através da realização de novas projeções. Na Figura 43a é mostrado uma projeção para as soluções mais concentradas, 100  $\mu\text{M}$  e 10  $\mu\text{M}$ , de  $\text{Cu}^{2+}$ , enquanto que a Figura 43b mostra a análise para as soluções de azul de metileno com as mesmas concentrações.

(a) Soluções com 10 e 100  $\mu\text{M}$  de  $\text{Cu}^{2+}$



(b) Soluções com com 10 e 100  $\mu\text{M}$  de azul de metileno

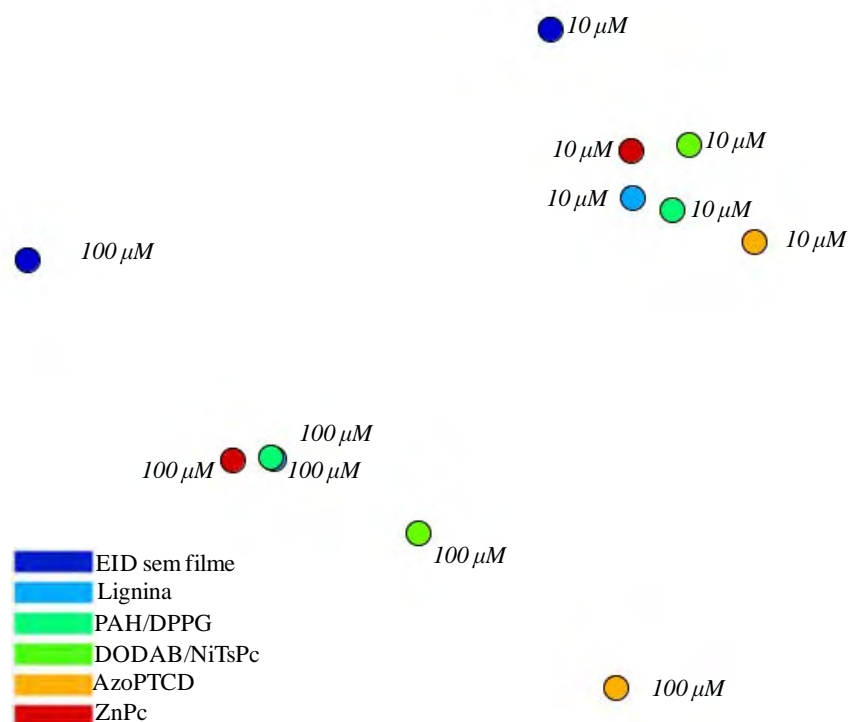


Figura 43. Projeções dos dados de capacitância coletados com as unidades sensoriais EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD imersas em a)  $\text{Cu}^{2+}$  e b) azul de metileno com concentrações de 10  $\mu\text{M}$  e 100  $\mu\text{M}$ .

Os resultados das Figuras 43a e 43b relacionados às soluções mais concentradas 10  $\mu\text{M}$  e 100  $\mu\text{M}$  de  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno mostraram que a concentração da solução foi o fator determinante nas respostas elétricas, uma vez que os elementos visuais foram agrupados de acordo com a concentração. Dois grandes grupos foram formados, um em cada lado do quadro de resultados, de acordo com a similaridade entre as respostas elétricas, ou seja, de acordo com as concentrações das soluções medidas (10  $\mu\text{M}$  e 100  $\mu\text{M}$ ). Portanto, pode-se deduzir que o fator dominante das respostas elétricas é a concentração das soluções a partir de 10  $\mu\text{M}$ . O filme que recobre o EID continua sendo importante: embora tenham sido formados dois grupos de acordo com as concentrações das soluções (Figuras 43a e 43b), os elementos visuais relativos a cada uma das unidades sensoriais ficaram dispersos dentro dos grupos, revelando uma importância intrínseca dos filmes sobre os EID mesmo em soluções muito concentradas. Se o papel

desempenhado pelo filme fosse totalmente suprimido pela concentração, os elementos visuais relativos a cada uma das unidades sensoriais estariam sobrepostos.

A Figura 44 mostra a análise de projeções discriminando pelo tipo do filme os dados de todas as soluções de sacarose.

(a) Soluções de sacarose (todas as concentrações)

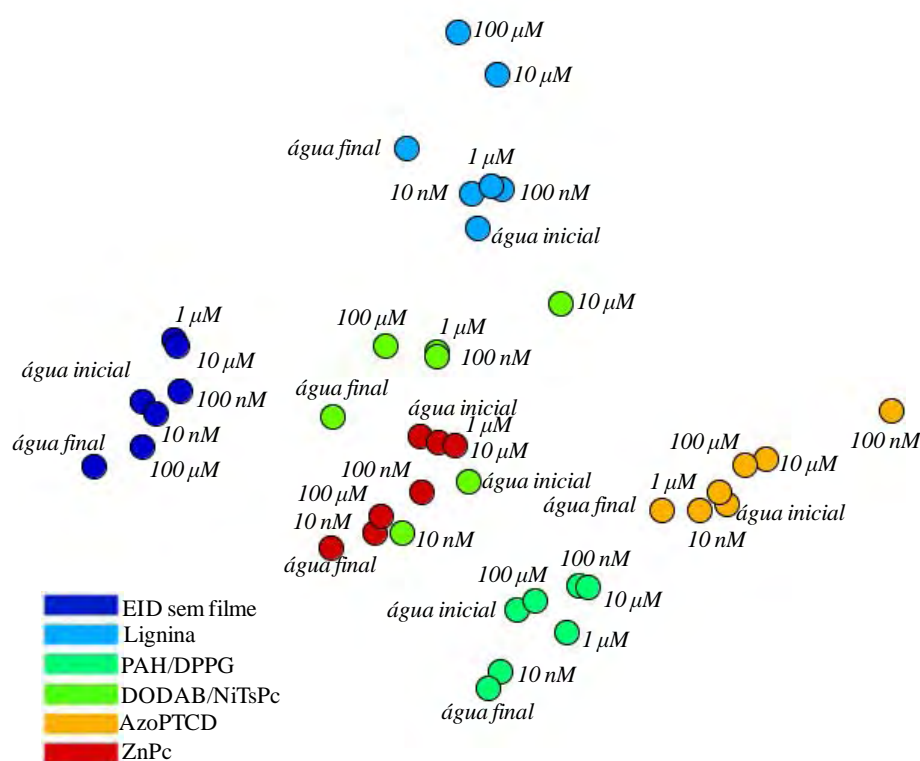


Figura 44. Projeções dos dados de capacitância coletados com as unidades sensoriais EID sem filme, lignina, PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, ZnPc e AzoPTCD imersas soluções de sacarose com concentrações de 10 nM até 100  $\mu$ M, além das águas iniciais e finais.

Para as soluções de sacarose as respostas elétricas foram dominadas pelo tipo da unidade sensorial, independentemente da concentração das soluções (Figura 44). Este fato foi verificado pelo agrupamento dos elementos visuais de acordo com a unidade sensorial. Isto significa que as medidas foram mais similares de acordo com o tipo do filme que recobre a unidade sensorial, suprimindo o papel desempenhado pela concentração das soluções. Também foi confirmada a similaridade entre as unidades sensoriais com filme PVD de ZnPc e filme LbL de DODAB/NiTsPc, semelhantes pelos dois tipos de ftalocianinas metálicas, corroborando os



resultados observados para as soluções menos concentradas de  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno (Figura 41c e Figura 42c).

A partir do tratamento dos dados utilizando a técnica de projeções, diferentes regimes de domínio das respostas elétricas podem ser sugeridos dependendo do tipo e da concentração das soluções. Para os analitos com caráter eletrolítico, as respostas elétricas foram governadas pela concentração em soluções a partir de  $10 \mu\text{M}$ . Em soluções eletrolíticas com concentrações abaixo de  $10 \mu\text{M}$ , as respostas elétricas foram dominadas pelo tipo da unidade sensorial. Para a faixa de concentrações de sacarose estudada, somente o tipo do filme dominou as respostas elétricas. Mais ainda, o tipo do analito pareceu afetar a separação das concentrações dentro do regime de domínio dos filmes. As concentrações do analito  $\text{Cu}^{2+}$  foram todas separadas, com as unidades sensoriais AzoPTCD e ZnPc apresentando as melhores separações entre as concentrações. As concentrações dos analitos azul de metileno e sacarose apresentaram discriminações mais modestas comparados com o analito  $\text{Cu}^{2+}$ , o que revela uma dependência do tipo do analito na discriminação final da *língua eletrônica*. É importante mencionar que todas essas conclusões só foram possíveis pelo emprego da técnica de projeções na análise dos dados de capacitância, evidenciando a potencialidade desta técnica computacional na análise de dados multivariados.

### 5.4 PCA e correlação de Pearson

O PCA foi empregado de forma complementar aos resultados de projeções com o intuito de avaliar o desempenho de cada unidade sensorial da *língua eletrônica*. Os conjuntos de dados de entrada (matrizes de dados) foram formados a partir dos valores de capacitância extraídos de cada uma das 6 unidades sensoriais, de forma semelhante àquela realizada no capítulo 4. Um valor de capacitância foi extraído para cada curva, e estes valores foram escolhidos usando dois métodos distintos de mineração dos dados: frequência fixa e frequência variada (veja descrição em técnicas experimentais – tópico 3.6). O conjunto de dados frequência

fixa foi adotado porque é o método que vem sendo usado pelo grupo e outros grupos de pesquisa no processamento de dados da *língua eletrônica*. O conjunto frequência variada foi adotado por estar, de certa forma, relacionado com o fator de perda de energia ( $\text{Tan } \delta$ ) do filme fino que compõe a unidade sensorial, podendo fornecer alguma informação relacionada à interação do filme com o analito.

A Figura 45a mostra os resultados de PCA com o conjunto de dados frequência fixa das soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  e na Figura 45b os resultados para o conjunto de dados frequência variada. A Figura 45c mostra os resultados com o conjunto de dados frequência fixa das soluções de azul de metileno e na Figura 45d os resultados para o conjunto de dados frequência variada. A Figura 45e mostra os resultados com o conjunto de dados frequência fixa das soluções de sacarose e Figura 45f mostram os resultados do conjunto de dados frequência variada.

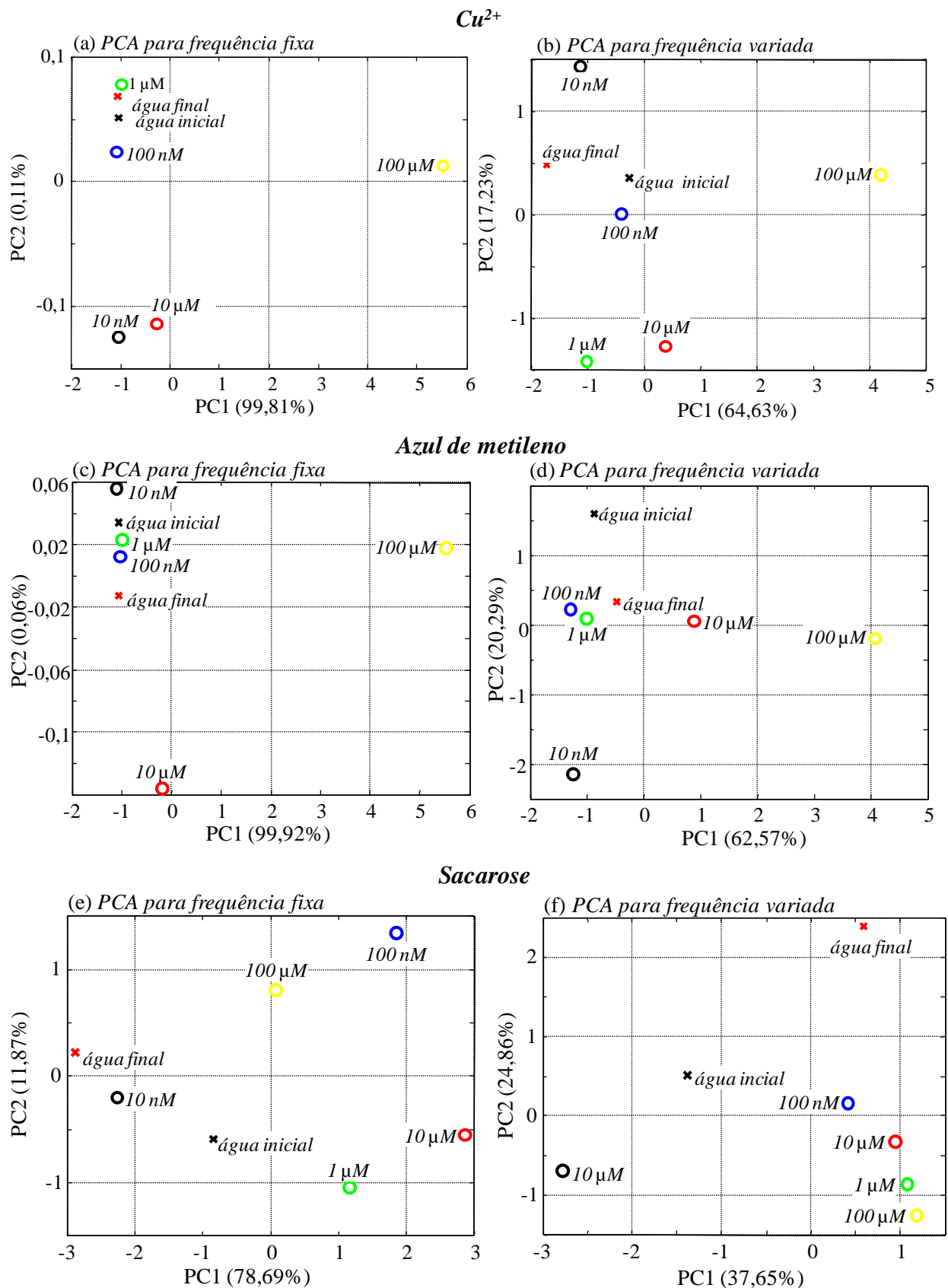


Figura 45. Análise das componentes principais das soluções contendo  $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose discriminados usando a língua eletrônica composta pelas unidades sensoriais PAH/DPPG, DODAB/NiTsPc, lignina, AzoPTCD, ZnPc e EID sem filme. Os PCAs de a) c) e e) foram gerados com os conjuntos de dados formados pelas capacitâncias coletadas para frequência fixa, enquanto os PCAs de b), d) e f) foram gerados com as capacitâncias coletadas para a frequência variada.

Todas as soluções apresentaram discriminação das concentrações usando os dois conjuntos de dados, o que é satisfatório do ponto de vista sensorial. As soluções com caráter eletrolítico apresentaram tendência no posicionamento das concentrações com a PC1, da esquerda para a direita, com o aumento da concentração (Figura 45a, Figura 45b, Figura 45c e Figura 45d). Já as soluções de sacarose exibiram tendência de posicionamento das concentrações somente com o conjunto frequência variada (Figura 45f). Tal fato sugere uma possível relação (do ponto de vista sensorial) entre o fator de perda de energia dos filmes ( $\text{Tan } \delta$ ) e os analitos de sacarose. É importante citar que os resultados de PCA para sacarose com o conjunto frequência variada do capítulo 4 também apresentaram um padrão no posicionamento das concentrações em PC1.

Análises estatísticas de Pearson foram aplicadas para os dois conjuntos de dados – frequência fixa e frequência variada – com intuito de avaliar a contribuição de cada unidade sensorial nos resultados discriminativos de PCA. Os resultados das análises de Pearson, correlação  $\rho$  e o p-valor, são exibidos na Tabela 5 para o conjunto de dados frequência fixa e na Tabela 6 para o conjunto de dados frequência variada. Como o PCA das soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno apresentaram valores de explicação na PC1 acima de 99% no conjunto de dados da frequência fixa, as análises da PC2 foram desprezadas. Nos conjuntos frequência variada as análises são necessárias em PC1 e PC2 para estas soluções, pois só assim foi atingida explicação acima de 70% [79]. Para os analitos de sacarose também foram utilizadas PC1 e PC2 nas análises, sendo ainda utilizada a componente PC3 no conjunto frequência variada.

Tabela 5. Correlação  $\rho$  e p-valor para o conjunto de dados frequência fixa.

		PAH/DPPG	DODAB/NiTsPc	Lignina	AzoPTCD	ZnPc	EID sem filme
<b>Cu<sup>2+</sup></b>	PC1 (99,81%) correlação $\rho$	0,999	0,998	0,999	0,996	0,999	0,999
	p-valor	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>Azul de metileno</b>	PC1 (99,92%) correlação $\rho$	0,999	0,999	0,999	0,998	0,999	0,999
	p-valor	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
<b>Sacarose</b>	PC1 (78,69%) correlação $\rho$	0,987	0,982	0,859	0,736	0,842	0,888
	p-valor	<0,001	<0,001	0,013	0,059	0,017	0,007

Tabela 6. Correlação  $\rho$  e p-valor para o conjunto de dados frequência variada.

		PAH/DPPG	DODAB/NiTsPc	Lignina	AzoPTCD	ZnPc	EID sem filme
<b>Cu<sup>2+</sup></b>	PC1 (64,63%) correlação $\rho$	0,691	0,786	0,907	0,762	0,897	0,755
	p-valor	0,085	0,035	0,004	0,046	0,006	0,049
	PC2 (17,23%) correlação $\rho$	-0,671	0,087	-0,083	0,374	-0,287	0,587
	p-valor	0,098	0,851	0,858	0,408	0,531	0,165
<b>Azul de metileno</b>	PC1 (62,57%) correlação $\rho$	0,922	0,875	0,849	0,428	0,759	0,809
	p-valor	0,003	0,009	0,015	0,337	0,047	0,027
	PC2 (20,29%) correlação $\rho$	0,181	-0,431	0,238	0,840	-0,484	0,019
	p-valor	0,697	0,334	0,606	0,0178	0,270	0,966
<b>Sacarose</b>	PC1 (37,65%) correlação $\rho$	0,697	0,849	0,294	-0,427	0,385	0,795
	p-valor	0,081	0,015	0,521	0,338	0,393	0,032
	PC2 (24,86%) correlação $\rho$	0,294	0,045	-0,844	0,275	0,753	-0,211
	p-valor	0,521	0,922	0,016	0,549	0,050	0,649
	PC3 (15,64%) correlação $\rho$	0,282	0,278	0,318	0,726	-0,112	-0,180
	p-valor	0,539	0,546	0,486	0,052	0,809	0,699

As análises de Pearson para o conjunto de dados frequência fixa (Tabela 5) mostraram que todas as unidades sensoriais têm altos valores de correlação ( $\rho > 0,996$ ) com a PC1 para as soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno. Todos os p-valores foram menores que 0,001, rejeitando a hipótese de descartar qualquer unidade sensorial da *língua eletrônica*. Já os resultados para a sacarose indicaram que a unidade sensorial AzoPTCD apresentou a menor correlação, e o p-valor (0,059) sugeriu que as contribuições desta unidade poderiam ser descartadas (baseado em probabilidades).

Nas análises do conjunto de dados frequência variada, a unidade sensorial lignina apresentou o maior valor de correlação para as soluções de  $\text{Cu}^{2+}$ . A menor correlação com o analito  $\text{Cu}^{2+}$  foi evidenciada pela unidade PAH/DPPG, para a qual o p-valor sugeriu que a contribuição poderia ser descartada. Entretanto, esta mesma unidade sensorial PAH/DPPG apresentou a maior correlação na discriminação das soluções de azul de metileno, mas a contribuição de nenhuma unidade sensorial poderia ser descartada neste analito (nenhum p-valor acima de 0,05 foi verificado). Nos resultados de sacarose, novamente a unidade sensorial AzoPTCD apresentou baixos valores de correlação e o p-valor sugeriu que a contribuição desta unidade poderia ser descartada, juntamente com as contribuições da unidade PAH/DPPG. As unidades DODAB/NiTsPc e lignina foram as que apresentaram maiores correlações com a discriminação das soluções de sacarose.

A afinidade entre filmes finos de lignina, como os que compõem a unidade sensorial, e o  $\text{Cu}^{2+}$  foi reportada por *Martins* e coautores [16]. Neste trabalho o  $\text{Cu}^{2+}$  foi adicionado na subfase aquosa da cuba de Langmuir, e os filmes de lignina (filmes de Langmuir) apresentaram as maiores variações nas isotermas  $\pi$ -A para o  $\text{Cu}^{2+}$  dentre todos os íons testados ( $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  e  $\text{Cu}^{2+}$ ). Os filmes de lignina também foram depositados sobre eletrodos e puderam separar diferentes concentrações do  $\text{Cu}^{2+}$  em soluções aquosas através de medidas de espectroscopia de impedância e medidas de eletroquímica. De forma semelhante, a interação entre o azul de metileno e o DPPG foi reportada por *Aoki* e coautores através de estudos por filmes de

Langmuir, LB e LbL [15, 18, 27, 133]. No trabalho de Aoki [15] uma *língua eletrônica* foi montada com diferentes filmes depositados sobre EID: filmes LB de DPPC, DPPG e ácido esteárico, filme PVD do AzoPTCD e FePc, além de um EID sem filme. Os resultados indicaram que as unidades sensoriais com filmes DPPC e DPPG eram as mais relevantes para os resultados de PCA, e os autores apontaram para alguma interação específica entre o azul de metileno e estes filmes. Desta forma, os resultados obtidos pelas análises estatísticas de Pearson se mostraram de acordo com os resultados reportados na literatura, e evidenciam um caminho objetivo para averiguar o desempenho de unidades sensoriais em sensores do tipo *língua eletrônica*.

### 5.4.1 As implicações nos resultados de PCA ao descartar unidades sensoriais

Alguns PCA foram realizados excluindo os dados das unidades sensoriais rejeitadas nos testes de Pearson com o intuito de verificar as implicações de descartar tais contribuições. A Figura 46a mostra análises de PCA com o conjunto frequência variada para as soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  excluindo os dados da unidade rejeitada PAH/DPPG, enquanto o PCA da Figura 46b excluiu os dados da unidade sensorial mais correlacionada lignina. De forma semelhante, a Figura 47a mostra PCA para as soluções de sacarose excluindo a unidade sensorial rejeitada nos testes PAH/DPPG, enquanto a Figura 47b mostra o PCA rejeitando a unidade sensorial mais correlacionada DODAB/NiTsPc utilizando conjunto de frequência variada.

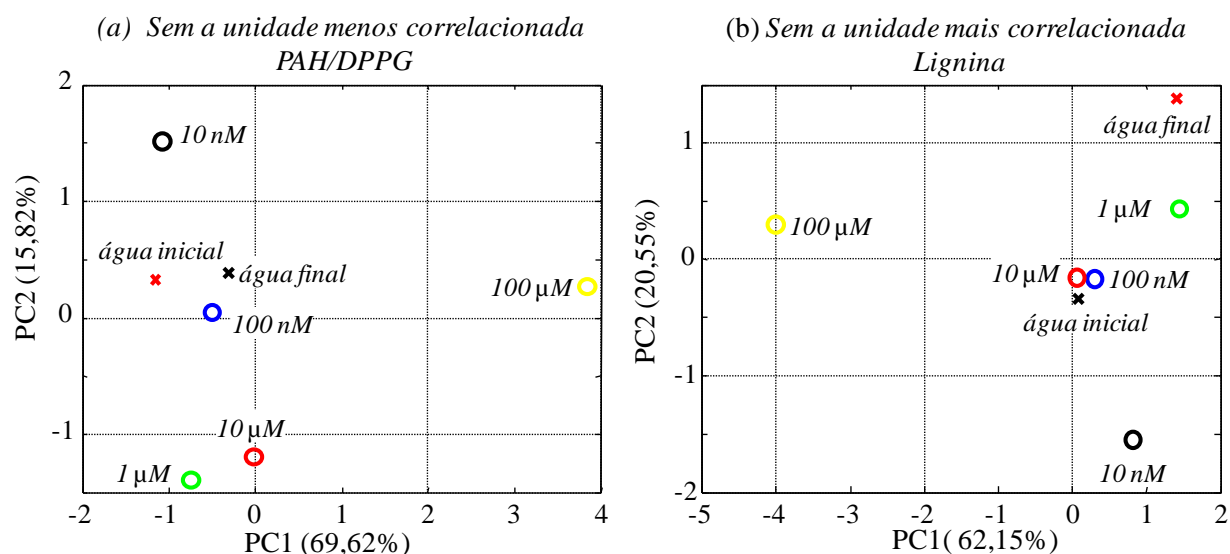


Figura 46. Análise das componentes principais utilizando o conjunto de dados frequência variada das soluções contendo  $\text{Cu}^{2+}$ . a) As contribuições da unidade sensorial PAH/DPPG foram descartadas. b) As contribuições da unidade sensorial lignina foram descartadas.

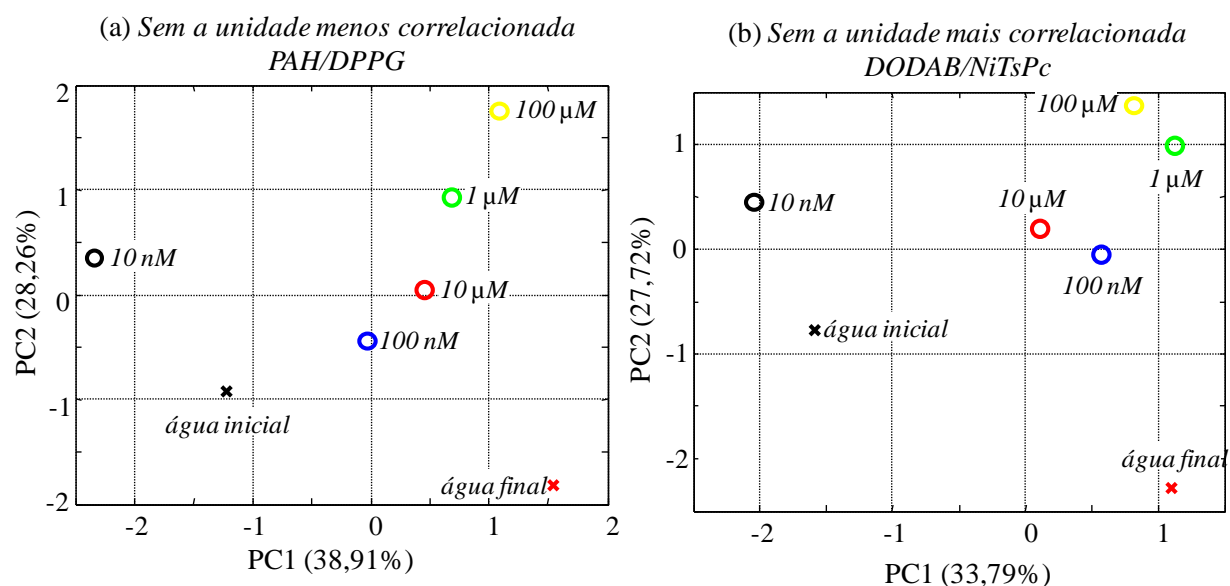


Figura 47. Análise das componentes principais utilizando o conjunto de dados frequência variada das soluções contendo sacarose. a) As contribuições da unidade sensorial PAH/DPPG foram descartadas. b) As contribuições da unidade sensorial DODAB/NiTsPc foram descartadas.

Não foram observadas grandes variações na porcentagem total de explicação (PC1 + PC2) quando foram retiradas as unidades menos correlacionadas ou mais correlacionadas (Figura 46 e Figura 47), se comparadas com o PCA com todas as unidades sensoriais (Figura 45b e Figura 45f). Parece ocorrer uma redistribuição das porcentagens de explicação entre as duas componentes. Porém, a distribuição das concentrações dentro do quadro de resultados apresentou pouca alteração quando as unidades menos correlacionadas foram excluídas, tomando o PCA



com todas as unidades sensoriais como referência (Figura 45b e Figura 45f). De outra forma, essa distribuição de concentrações apresentou grandes variações quando as unidades mais correlacionadas foram removidas. Estas observações são consistentes com as análises empíricas de importância das unidades sensoriais que foram feitas nos últimos trabalhos do grupo [1, 15, 18], onde as unidades são removidas individualmente procurando aquela que mais altera a distribuição das concentrações. Assim, estes resultados do conjunto frequência variada apontam tendências sobre a interação filme-análito que demandam o emprego de outras técnicas para averiguar tais relações.

### 5.5 Ajustes teóricos via circuito elétrico equivalente

Simulações computacionais foram realizadas baseadas no circuito elétrico equivalente proposto por Taylor e Macdonald [28]. Algumas curvas experimentais de capacitância foram ajustadas, e então parâmetros relacionados ao filme, solução ou interface filme/solução foram extraídos. Os primeiros ajustes foram realizados para buscar informações quanto às características intrínsecas dos filmes que recobrem o EID, e para isso a primeira série foi realizada para as unidades sensoriais imersas em água ultrapura. Nesses ajustes algumas opções foram tomadas para melhor compreender o sistema e melhorar o ajuste experimental/teórico: i) todas as unidades tiveram valores da capacitância geométrica ( $CPE_g-T$  e  $CPE_g-P$ ) iguais, uma vez que os EID são todos idênticos; ii) como todas as unidades foram imersas em água ultrapura, o elemento de transferência de carga  $R_t$  foi zerado; iii) os valores da unidade EID sem filme para capacitância ( $CPE_b-T$  e  $CPE_b-P$ ) e resistência ( $R_b$ ) do filme foram zerados. A Tabela 7 exhibe os valores extraídos a partir dos ajustes das curvas experimentais de capacitância.

Tabela 7. Valores dos parâmetros obtidos com o circuito elétrico equivalente para as unidades sensoriais de EID sem filme, AzoPTCD, ZnPc, DODAB/NiTsPc, PAH/DPPG e lignina em água ultrapura.

	$CPE_{g-T}$	$CPE_{g-P}$	$R_t$	$CPE_{d-T}$	$CPE_{d-P}$	$R_d$	$R_b$	$CPE_{b-T}$	$CPE_{b-P}$
EID sem filme	$1,28E^{-10}$	1	0	$8,520E^{-7}$	0,67	52556	0	0	0,00
AzoPTCD	$1,28E^{-10}$	1	0	$2,39E^{-7}$	0,78	44196	1510000	$4,17E^{-6}$	0,75
ZnPc	$1,28E^{-10}$	1	0	$6,430E^{-7}$	0,74	44556	113490	$1,89E^{-6}$	0,48
DODAB/NiTsPc	$1,28E^{-10}$	1	0	$1,80E^{-6}$	0,43	48061	220150	$1,43E^{-6}$	0,51
PAH/DPPG	$1,28E^{-10}$	1	0	$5,36E^{-7}$	0,71	59642	76505	$4,45E^{-7}$	0,56
lignina	$1,28E^{-10}$	1	0	$4,35E^{-7}$	0,81	33159	13809	$2,18E^{-6}$	0,45

A partir dos valores extraídos foi possível encontrar algumas similaridades (Tabela 7). A resistência  $R_d$  da dupla-camada elétrica não apresentou grandes variações com o tipo do filme, e os filmes AzoPTCD, ZnPc e DODAB/NiTsPc apresentaram valores próximos. Esta similaridade entre os valores de  $R_d$  pode estar relacionada com as características dos materiais: todos são semicondutores orgânicos ou possuem esse material em sua composição. Já a resistência  $R_b$  e a capacitância  $CPE_{b-T}$  dos filmes apresentaram variações de até duas ordens de grandeza entre os materiais utilizados para compor as unidades sensoriais.

Explorando a potencialidade dos ajustes, as curvas de capacitância da unidade sensorial lignina obtidas das medidas dos três analitos foram ajustadas, buscando relações entre as diferentes características dos analitos e os filmes. A Tabela 8 apresenta os valores extraídos da solução de  $Cu^{2+}$ , a Tabela 9 apresenta os valores extraídos das soluções de azul de metileno e a Tabela 10 apresenta os valores extraídos das soluções de sacarose. O elemento  $R_t$  foi novamente zerado em todos os ajustes.

Tabela 8. Valores dos parâmetros obtidos com o circuito elétrico equivalente da unidade sensorial lignina para as medidas das soluções contendo  $\text{Cu}^{2+}$  e águas ultrapuras inicial e final.

	$\text{CPE}_g\text{-T}$	$\text{CPE}_g\text{-P}$	$R_t$	$\text{CPE}_d\text{-T}$	$\text{CPE}_d\text{-P}$	$R_d$	$R_b$	$\text{CPE}_b\text{-T}$	$\text{CPE}_b\text{-P}$
água inicial	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$5,62\text{E}^{-7}$	0,71	40347	11545	$3,76\text{E}^{-6}$	0,74
10 nM	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$4,32\text{E}^{-7}$	0,83	41748	10927	$2,37\text{E}^{-6}$	0,46
100 nM	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$5,68\text{E}^{-7}$	0,75	39666	10283	$2,48\text{E}^{-6}$	0,45
1 $\mu\text{M}$	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$6,21\text{E}^{-7}$	0,70	30440	7647	$2,59\text{E}^{-6}$	0,45
10 $\mu\text{M}$	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$8,42\text{E}^{-7}$	0,61	23553	7822	$2,59\text{E}^{-6}$	0,47
100 $\mu\text{M}^*$	$1,39\text{E}^{-10}$	0,9	0	$6,71\text{E}^{-6}$	0,7	4023	0	$2,32\text{E}^{-6}$	0,48
água final	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$6,29\text{E}^{-7}$	0,73	42531	8784	$2,78\text{E}^{-6}$	0,45

Tabela 9. Valores dos parâmetros obtidos com o circuito elétrico equivalente da unidade sensorial lignina para as medidas das soluções contendo azul de metileno e águas ultrapuras inicial e final.

	$\text{CPE}_g\text{-T}$	$\text{CPE}_g\text{-P}$	$R_t$	$\text{CPE}_d\text{-T}$	$\text{CPE}_d\text{-P}$	$R_d$	$R_b$	$\text{CPE}_b\text{-T}$	$\text{CPE}_b\text{-P}$
água inicial	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$5,73\text{E}^{-7}$	0,76	43300	8849	$3,45\text{E}^{-6}$	0,43
10 nM	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$5,63\text{E}^{-7}$	0,78	45044	10068	$3,50\text{E}^{-6}$	0,43
100 nM	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$5,66\text{E}^{-7}$	0,78	41771	11885	$3,13\text{E}^{-6}$	0,44
1 $\mu\text{M}$	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$5,97\text{E}^{-7}$	0,74	42372	12863	$2,70\text{E}^{-6}$	0,45
10 $\mu\text{M}$	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$8,51\text{E}^{-7}$	0,62	26791	34706	$2,02\text{E}^{-6}$	0,47
100 $\mu\text{M}$	$2,12\text{E}^{-10}$	0,9	0	$1,40\text{E}^{-6}$	0,56	5143	14413	$1,60\text{E}^{-7}$	0,79
água final	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$5,86\text{E}^{-6}$	0,72	50660	19890	$1,89\text{E}^{-6}$	0,47

Tabela 10. Valores dos parâmetros obtidos com o circuito elétrico equivalente da unidade sensorial lignina para as medidas das soluções contendo sacarose e águas ultrapuras inicial e final.

	$CPE_{b-T}$	$CPE_{b-P}$	$R_t$	$CPE_{d-T}$	$CPE_{d-P}$	$R_d$	$R_b$	$CPE_{b-T}$	$CPE_{b-P}$
água inicial	$1,28E^{-10}$	1	0	$4,35E^{-7}$	0,81	33421	14238	$2,55E^{-6}$	0,45
10 nM	$1,28E^{-10}$	1	0	$4,87E^{-7}$	0,80	31485	11677	$3,15E^{-6}$	0,42
100 nM	$1,28E^{-10}$	1	0	$5,35E^{-7}$	0,75	29038	12079	$5,43E^{-6}$	0,40
1 $\mu$ M	$1,28E^{-10}$	1	0	$4,61E^{-7}$	0,79	28479	12679	$2,38E^{-6}$	0,44
10 $\mu$ M	$1,28E^{-10}$	1	0	$8,25E^{-7}$	0,69	24334	4393	$2,01E^{-5}$	0,31
100 $\mu$ M	$1,28E^{-10}$	1	0	$9,96E^{-7}$	0,70	23405	4315	$2,01E^{-5}$	0,31
água final	$1,28E^{-10}$	1	0	$1,04E^{-6}$	0,70	29098	9330	$1,80E^{-5}$	0,38

O elemento  $R_t$  (transferência de carga entre filme e solução) apresentou grandes variações com o decorrer das interações para o ajuste entre as curvas experimental/teórica, atingindo valores inconsistentes. Assim optou-se por zerar o elemento em todos os ajustes, o que acarretou numa melhora tanto em termos visuais do ajuste quanto na porcentagem de erro (abaixo de 20%). Os valores apresentados das soluções contendo  $Cu^{2+}$  (Tabela 8) mostraram que as resistências do filme e da dupla camada elétrica ( $R_b$  e  $R_d$ ) decresceram com o aumento da concentração da solução. Isso pode informar que tanto a interface filme/solução quanto a estrutura do filme foram modificadas pela presença do analito  $Cu^{2+}$ , acarretando num aumento da condutividade de ambos os parâmetros com o aumento da concentração de íons.

Os resultados das soluções de azul de metileno (Tabela 9) mostraram que a capacitância do filme  $CPE_{b-T}$  apresentou uma diminuição de valores com o aumento da concentração da solução. Este fato mostra que as interações entre analito e filme também causam mudanças na estrutura do filme, porém de uma forma diferente daquela observada nas interações

com a solução de  $\text{Cu}^{2+}$ . O fator expoente da capacitância do filme  $\text{CPE}_b\text{-P}$  teve seus valores aumentados com a concentração da solução, porém nenhuma interpretação física foi atribuída.

Os resultados da solução de sacarose (Tabela 10) mostraram que a resistência da dupla camada  $R_d$  na interface filme/solução apresentou uma diminuição dos valores com o aumento da concentração de sacarose. Este fato pode revelar que as interações entre analito e filme se deram preferencialmente na região interfacial filme/solução. Provavelmente, o tamanho da molécula de sacarose ou a falta de carga desta em solução (se comparada com o analito  $\text{Cu}^{2+}$ ) pode ser o fator que determina essa interação ser limitada na região da dupla camada elétrica.

As curvas de capacitância da unidade sensorial PAH/DPPG obtidas das medições das soluções de  $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose também foram ajustadas usando o mesmo procedimento. Nenhum padrão foi encontrado para as soluções de  $\text{Cu}^{2+}$  e sacarose usando esta unidade, e os resultados foram omitidos por questões de simplicidade. A Tabela 11 apresenta os valores extraídos para as soluções de azul de metileno.

Tabela 11. Valores dos parâmetros obtidos com o circuito elétrico equivalente da unidade sensorial PAH/DPPG para as medidas das soluções contendo azul de metileno e águas ultrapuras inicial e final.

	$\text{CPE}_g\text{-T}$	$\text{CPE}_g\text{-P}$	$R_t$	$\text{CPE}_d\text{-T}$	$\text{CPE}_d\text{-P}$	$R_d$	$R_b$	$\text{CPE}_b\text{-T}$	$\text{CPE}_b\text{-P}$
água inicial	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$5,29\text{E}^{-7}$	0,64	67363	28517	$4,1\text{E}^{-7}$	0,58
10 nM	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$7,81\text{E}^{-7}$	0,68	92195	49098	$3,97\text{E}^{-7}$	0,58
100 nM	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$7,45\text{E}^{-7}$	0,67	76749	44459	$4,11\text{E}^{-7}$	0,57
1 $\mu\text{M}$	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$7,74\text{E}^{-7}$	0,69	64922	82912	$5,25\text{E}^{-7}$	0,56
10 $\mu\text{M}$	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$1,07\text{E}^{-6}$	0,65	28418	149180	$5,56\text{E}^{-7}$	0,55
100 $\mu\text{M}$	$1,17\text{E}^{-10}$	0,9	0	$1,14\text{E}^{-6}$	0,92	4469	196970	$1,01\text{E}^{-6}$	0,53
água final	$1,28\text{E}^{-10}$	1	0	$7,44\text{E}^{-7}$	0,65	68539	39455	$3,95\text{E}^{-7}$	0,58

Os resultados para as soluções de azul de metileno (Tabela 11) mostraram que os valores de resistência da dupla camada elétrica  $R_d$  decresceram com o aumento da concentração, enquanto que os valores da capacitância do filme  $CPE_b$ -T aumentaram. Neste caso, pode ser que as interações afetaram tanto a interface filme/solução como a estrutura do filme PAH/DPPG. De forma semelhante, foi observado que as interações do analito azul de metileno com os filmes de lignina (Tabela 9) se refletiam em mudanças na capacitância do filme, mostrando conexão entre interações do mesmo analito para diferentes filmes.

Os resultados dos ajustes teóricos podem ser relacionados com os resultados das análises de Pearson para os conjuntos de dados frequência variada. A interação da lignina com o  $Cu^{2+}$  apresentou variações na região interfacial filme/solução e na estrutura do filme, e a unidade sensorial apresentou o maior valor de correlação para as soluções de  $Cu^{2+}$  por análises de Pearson. A menor correlação com o analito  $Cu^{2+}$  nas análises de Pearson foi verificado para a unidade PAH/DPPG (sugerida ao descarte), e os ajustes por curvas teóricas não apresentaram variações padronizadas nos elementos do circuito equivalente. A mesma unidade sensorial PAH/DPPG apresentou nas análises de Pearson o maior valor de correlação na discriminação das soluções de azul de metileno, e nos ajustes das soluções de azul de metileno (Tabela 11) as interações se refletiram em variações na região interfacial filme/solução e na estrutura do filme.

A unidade sensorial PAH/DPPG não apresentou padrão nos valores dos elementos do circuito equivalente para os analitos de sacarose, e esta unidade sensorial foi indicada a ser descartada nas análises de Pearson. Os ajustes por circuito equivalente mostraram que a unidade sensorial lignina interagiu com a sacarose na região interfacial filme/solução, e esta unidade apresentou o segundo maior valor de correlação nas análises de Pearson. Portanto, pode-se verificar que as unidades que apresentaram algum padrão nos ajustes teóricos também apresentaram valores expressivos de correlação nas análises de Pearson. Quando não houve padrão nos ajustes, a correlação foi mínima e a unidade sugerida ao descarte.

A capacitância geométrica  $CPE_g-T$  e seu expoente  $CPE_g-P$  precisaram ser variados em todos os resultados das soluções de 100  $\mu M$  com caráter eletrolítico (Tabela 8, Tabela 9 e Tabela 11) para que ocorresse um bom ajuste entre as curvas experimentais e teóricas. Este fato pode ser relacionado com os resultados da técnica de projeções (tópico 5.3) onde as soluções mais concentradas com caráter eletrolítico dominaram as respostas elétricas. Também pode ser relacionado com as curvas de capacitância (tópico 5.2), onde tais curvas apresentaram variações mais expressivas em seus valores quando comparadas com as demais. Corroborando, as soluções de sacarose não apresentaram diferentes regimes nas respostas elétricas por técnicas de projeção e nem apresentaram grandes variações nas curvas de capacitância, assim como a capacitância geométrica  $CPE_g-T$  e seu expoente  $CPE_g-P$  não precisaram ser alterados para que ocorresse o ajuste das curvas. Estes resultados mostram que o modelo de Taylor e Macdonald, com algumas adaptações, é bastante útil na análise de aspectos físicos e químicos relacionados a *língua eletrônica*, abrindo perspectivas para um estudo mais aprofundado de cada um dos elementos e suas contribuições.

### **5.6 Efeitos de interface - mapeamentos micro-Raman**

A potencialidade da técnica de espalhamento micro-Raman foi usada para verificar se a exposição das unidades sensoriais aos analitos causou mudanças nas propriedades dos filmes ou se moléculas permaneceram adsorvidas no filme após as medidas elétricas. Tais eventos, se existirem, podem fornecer subsídios para entender a habilidade de detecção das unidades sensoriais. As unidades sensoriais foram caracterizadas pela espectroscopia micro-Raman coletando espectros a cada 3  $\mu m$  sobre uma área de 60  $\mu m \times 60 \mu m$  na superfície da unidade recoberta pelo filme. Os mapeamentos micro-Raman foram formados mapeando sobre a área analisada a intensidade de bandas vibracionais utilizando uma escala de cores.

A unidade sensorial EID sem filme não foi caracterizada por estes mapeamentos micro-Raman, uma vez que ela é ausente de um filme orgânico. A Figura 48a apresenta

espectros Raman coletados sobre a unidade sensorial PAH/DPPG antes e após as medidas elétricas, além de um espectro do azul de metileno em pó. A Figura 48b mostra o mapeamento micro-Raman sobre a unidade baseado na intensidade da banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno realizado após as medidas elétricas.

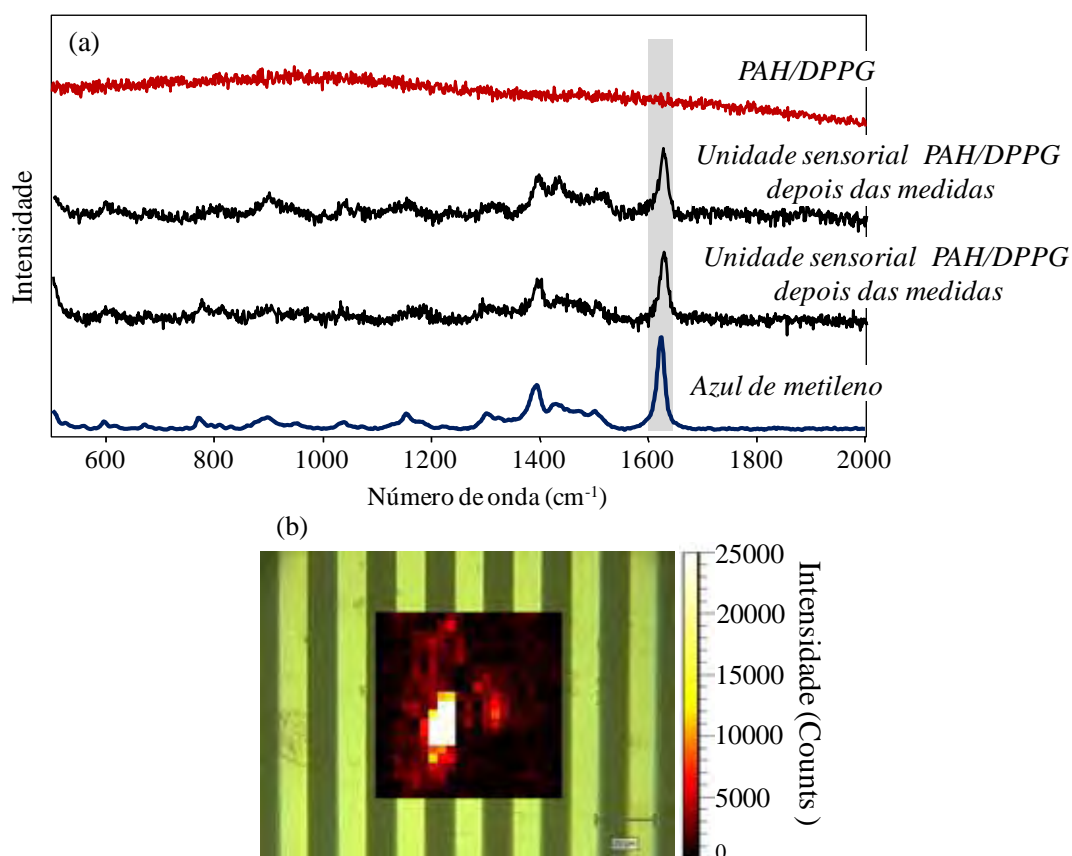


Figura 48. (a) Espectros do filme de PAH/DPPG (vermelho) antes das medidas elétricas e do azul de metileno em pó (azul) usados como referências. Os espectros em preto foram escolhidos das regiões claras do mapeamento micro-Raman. (b) Mapeamento micro-Raman realizado sobre a unidade sensorial baseado na banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno (faixa cinza nos espectros) após as medidas elétricas. Imagem ótica da unidade sensorial está sobreposta pelo mapeamento, e os pontos mais claros se referem às maiores intensidades da banda do azul de metileno.

O filme de PAH/DPPG não apresentou espectro Raman para a linha de laser utilizada neste trabalho (Figura 48a). O azul de metileno apresentou espectro Raman intenso e característico (espectro azul) utilizando o laser  $633\text{ nm}$ . A completa atribuição das bandas vibracionais do azul de metileno pode se encontrada na literatura no trabalho de Aoki e coautores [123]. O mapeamento micro-Raman baseado na intensidade da banda em  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno (Figura 48b) mostrou que foram encontradas moléculas em quase toda a área analisada. A diferença entre as regiões claras e escuras significa que o azul de metileno não adsorveu de



forma homogênea. Os espectros em preto mostrados na Figura 48a confirmaram que é o azul de metileno adsorvido ao filme pela similaridade com o espectro em pó usado como referência.

A Figura 49a apresenta espectros Raman coletados sobre a unidade sensorial DODAB/NiTsPc antes e após as medidas elétricas, além do espectro do azul de metileno em pó utilizado como referência. Na Figura 49b é mostrado o mapeamento micro-Raman feito sobre a unidade sensorial baseado na intensidade da banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno após as medidas.

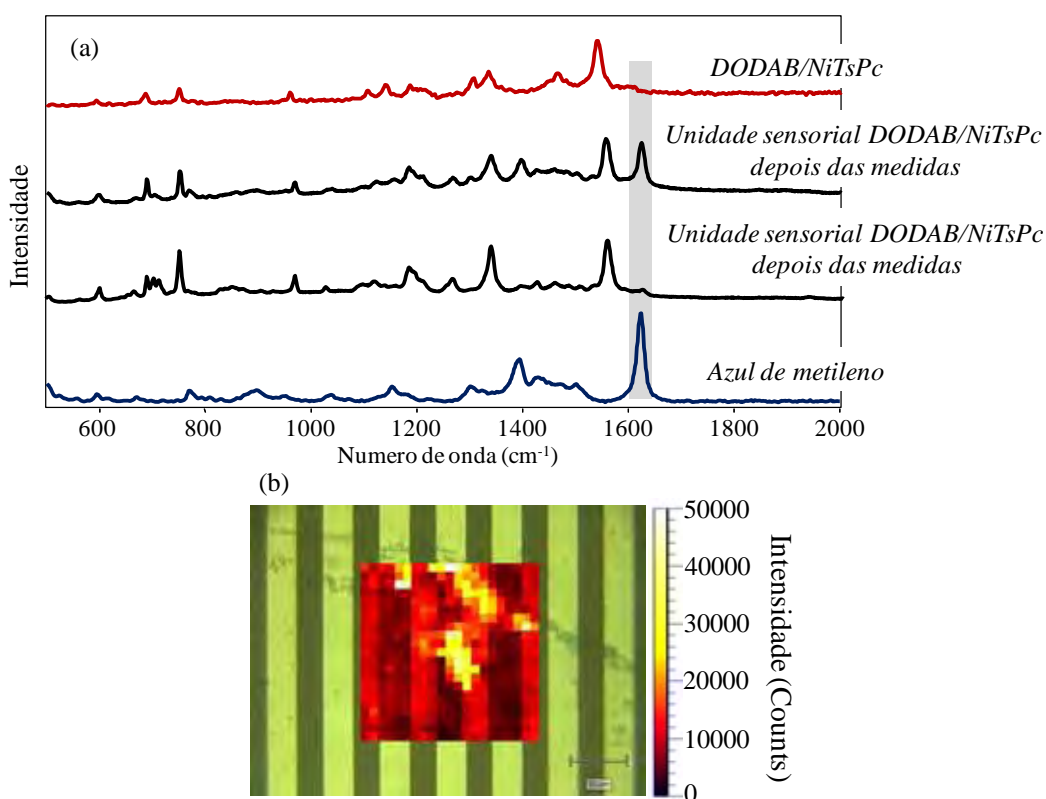


Figura 49. (a) Espectros do filme de DODAB/NiTsPc (vermelho) antes das medidas elétricas e do azul de metileno em pó (azul) usados como referências. Os espectros em preto foram escolhidos das regiões claras do mapeamento micro-Raman. (b) Mapeamento micro-Raman realizado sobre a unidade sensorial após as medidas elétricas baseado na intensidade banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno (faixa cinza nos espectros). Nos mapeamentos, a imagem ótica da unidade sensorial está sobreposta pelo mapeamento, e os pontos mais claros se referem às maiores intensidades da banda do azul de metileno.

O filme de DODAB/NiTsPc apresentou espectro Raman intenso devido à ressonância da NiTsPc com a linha de laser utilizada, como pode ser verificado na Figura 49a. Todas as bandas foram atribuídas exclusivamente à ftalocianina metálica, uma vez que não foram encontradas bandas do DODAB nesta região do espectro com a linha de laser utilizada. A

completa atribuição das bandas da NiTsPc pode ser encontrada na dissertação de *Kitagawa* [134]. O mapeamento micro-Raman realizado sobre a unidade sensorial após a realização das medidas elétricas (Figura 49b) mostrou que moléculas do azul de metileno foram adsorvidas sobre quase toda a região analisada, com uma distribuição não homogênea destas moléculas sobre o filme. Dois espectros coletados no mapeamento micro-Raman mostrados na Figura 49a em preto confirmaram a presença das moléculas de azul de metileno pela similaridade com o espectro de referência (pó).

A Figura 50a apresenta espectros Raman coletados sobre a unidade sensorial ZnPc antes (espectro vermelho) e após (espectros pretos) as medidas elétricas, além do espectro do azul de metileno em pó. Na Figura 50b é mostrado o mapeamento micro-Raman feito sobre a unidade sensorial após as medidas elétricas baseado na intensidade da banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno.

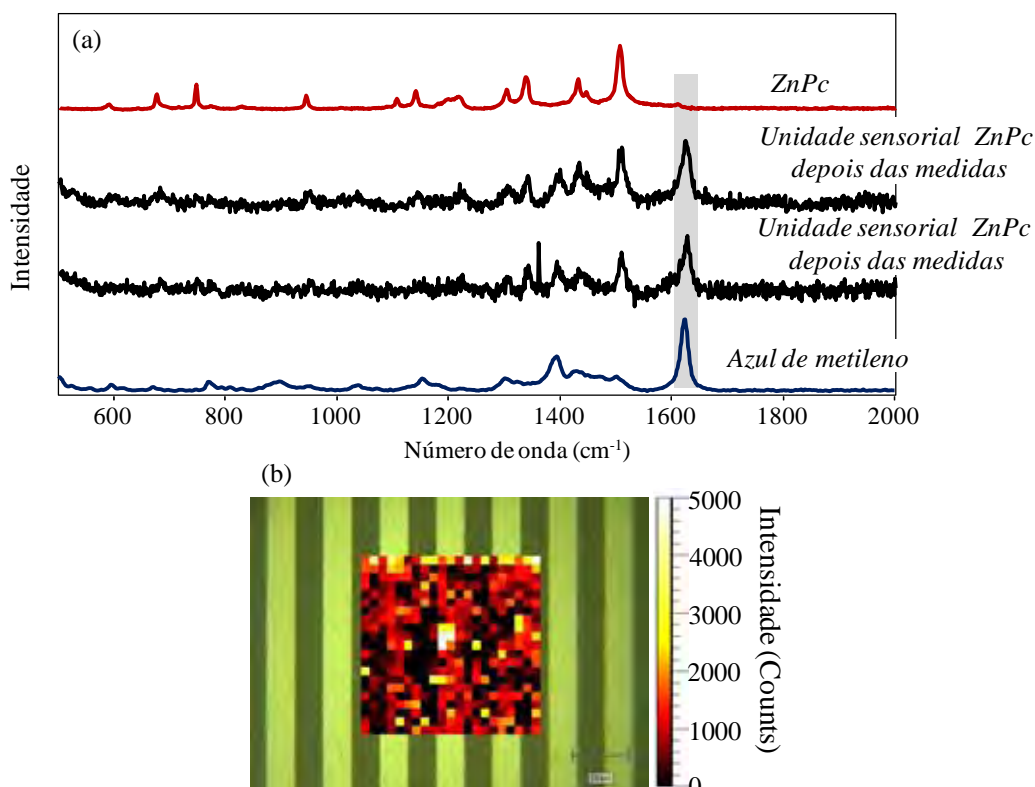


Figura 50. (a) Espectros do filme de ZnPc (vermelho) antes das medidas elétricas e do azul de metileno em pó (azul) usados como referências. Os espectros em preto foram escolhidos das regiões claras do mapeamento micro-Raman. (b) Mapeamento micro-Raman realizado sobre a unidade sensorial após as medidas elétricas baseado na intensidade banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno (faixa cinza nos espectros). Nos mapeamentos, a imagem ótica da unidade sensorial está sobreposta pelo mapeamento, e os pontos mais claros se referem às maiores intensidades da banda do azul de metileno.

O espectro Raman da ZnPc (Figura 50a) foi favorecido pelo fato da absorção eletrônica do filme de ZnPc estar em ressonância com a linha de laser de excitação. Para maiores detalhes, a atribuição de todas as bandas observadas pode ser encontrada na literatura [55, 130]. A Figura 50b revelou que moléculas do analito estavam adsorvidas em toda a região analisada, como verificado pela quantidade de pontos claros no mapeamento. Dois espectros escolhidos aleatoriamente das regiões claras do mapeamento (Figura 50b) mostrados em preto na Figura 50a apresentaram na sua composição a soma de bandas do azul de metileno e da ZnPc, confirmando a presença de moléculas do analito sobre a superfície investigada do filme.

A Figura 51 apresenta espectros Raman coletados sobre a unidade sensorial AzoPTCD antes e após as medidas elétricas, além do espectro do azul de metileno de referência. Também é mostrado na Figura 51b o mapeamento micro-Raman feito sobre a unidade sensorial baseado na intensidade da banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno após as medidas elétricas.

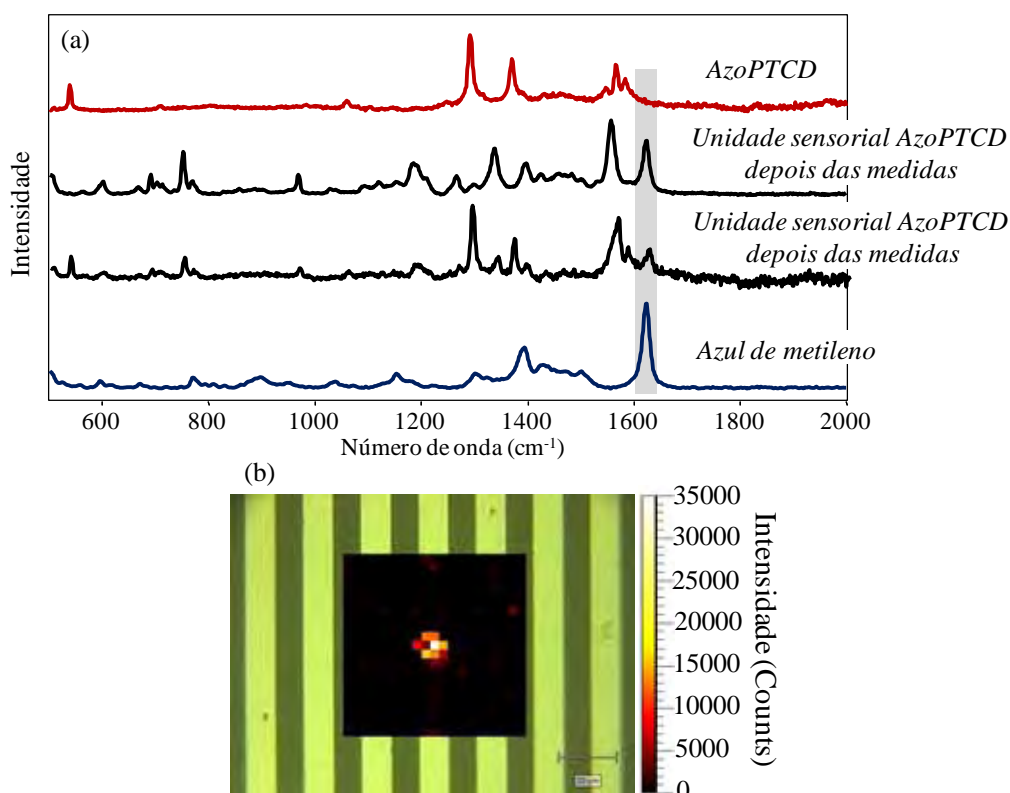


Figura 51. (a) Espectros do filme AzoPTCD (vermelho) antes das medidas elétricas e do azul de metileno em pó (azul) usados como referências. Os espectros em preto foram escolhidos das regiões claras do mapeamento. (b) Mapeamento micro-Raman realizado sobre a unidade sensorial após as medidas elétricas baseado na intensidade banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno (faixa cinza nos espectros). Nos mapeamentos a imagem ótica da unidade sensorial está sobreposta pelo mapeamento. Os pontos mais claros se referem às maiores intensidades da banda do azul de metileno.

O mapeamento micro-Raman (Figura 51b) mostra que, diferentemente dos resultados apresentados no capítulo 4, poucas moléculas de azul de metileno foram encontradas na região analisada. Entretanto, as medidas realizadas neste capítulo atingiram menores valores de concentração do analito azul de metileno. No capítulo 4, a maior concentração medida foi 1 mM, enquanto que neste capítulo a maior concentração medida foi de 100  $\mu\text{M}$ , o que pode ter favorecido à diminuição de moléculas adsorvidas ao filme. Espectros escolhidos aleatoriamente do mapeamento micro-Raman (Figura 51a) mostraram em sua composição bandas do azul de metileno e do AzoPTCD, confirmando novamente a adsorção de moléculas sobre a superfície dos filmes que compõem as unidades sensoriais.

A Figura 52a apresenta espectros Raman coletados sobre a unidade sensorial lignina antes e após as medidas elétricas, além do espectro de referência do azul de metileno. Na Figura 52b é ilustrado um mapeamento micro-Raman feito sobre a unidade sensorial baseado na intensidade da banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno.

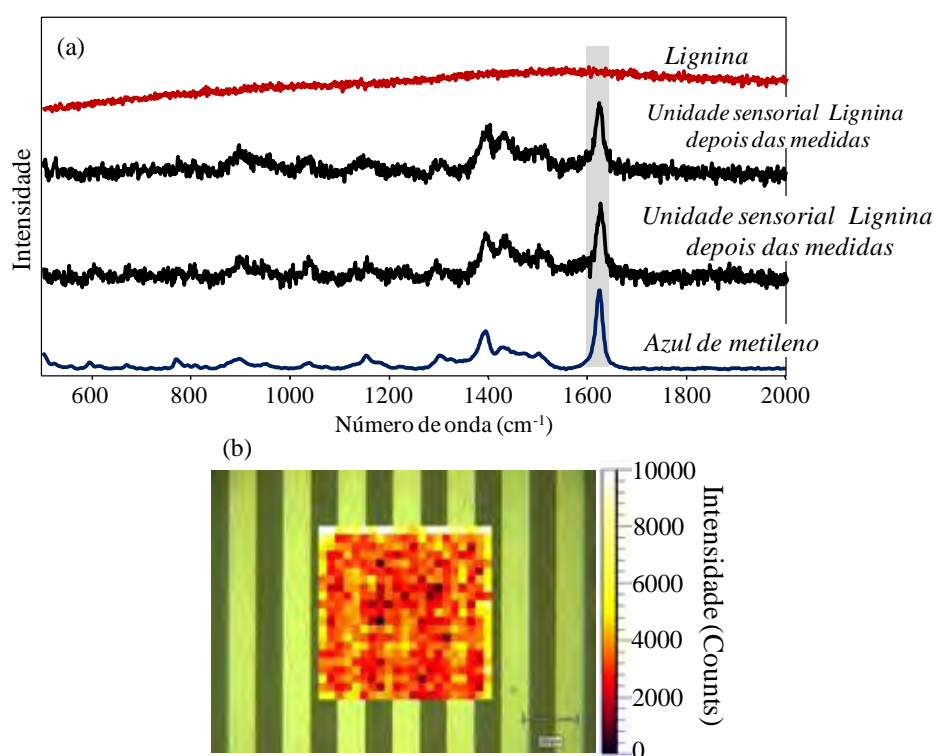


Figura 52. (a) Espectro do filme de lignina (vermelho) antes das medidas elétricas e do azul de metileno em pó (azul) usados como referências. Os espectros em preto foram escolhidos das regiões claras do mapeamento. (b) Mapeamento micro-Raman realizado sobre a unidade sensorial lignina baseado na banda  $1623\text{ cm}^{-1}$  do azul de metileno (faixa cinza nos espectros) após as medidas elétricas. Imagem óptica da unidade sensorial está sobreposta pelo mapeamento, e os pontos mais claros se referem às maiores intensidades da banda do azul de metileno.

O filme de lignina não apresentou bandas no espectro Raman para a linha de laser utilizada neste trabalho (Figura 52a), e o mapeamento (Figura 52b) revelou que moléculas do azul de metileno foram encontradas em praticamente toda a área analisada. Os dois espectros em preto na Figura 52a confirmaram que as bandas observadas são de moléculas de azul de metileno adsorvidas ao filme.

Como foram encontradas moléculas do analito em todas as unidades sensoriais, a simples adsorção de analito aos filmes pode não ser o único fator importante para detecção da *língua eletrônica*. As diferenças encontradas entre as unidades sensoriais nos resultados de projeções e análises estatísticas mostraram que as respostas das unidades sensoriais são diferentes, mesmo com moléculas de analitos adsorvidas em todas as unidades. Portanto, é razoável supor que a alteração causada na estrutura da unidade sensorial (filme fino) pela presença do analito seria um fator chave para o desempenho das unidades sensoriais. Esta alteração pode ser o fator que determina se um filme fino seria melhor ou pior para ser aplicado como elemento transdutor em unidades sensoriais.

# CAPÍTULO 6

## Conclusões e perspectivas

A combinação de métodos computacionais, análises estatísticas e técnicas de caracterização de superfície mostrou-se eficiente na abordagem de temas relacionados à otimização do desempenho de sensores do tipo *língua eletrônica*.

### **Espessura do filme**

#### *Técnica de projeções e análises estatísticas*

Com uma direta comparação entre as unidades sensoriais formadas pelo mesmo material (AzoPTCD), porém com diferentes espessuras, foi mostrado que a espessura do filme domina a resposta elétrica das unidades sensoriais das *línguas eletrônicas* para concentrações de analitos com caráter eletrolítico abaixo de 1  $\mu\text{M}$ , ou ainda para analitos sem caráter eletrolítico. A boa distinção foi obtida principalmente com os filmes finos de AzoPTCD produzidos tanto pela técnica Langmuir-Blodgett (monocamada LB) quanto pela evaporação física a vácuo (filmes PVD 10 nm), especialmente nos casos em que o analito tinha caráter eletrolítico ( $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno). Além disto, como já vinha sendo aplicado de modo empírico pelo nosso grupo onde este trabalho foi desenvolvido e por outros grupos de pesquisa, os filmes mais finos apresentaram melhor desempenho na distinção de amostras pela *língua eletrônica* do que os mais espessos. Estas conclusões puderam ser obtidas pelo processamento das respostas elétricas

(capacitância vs. frequência) com técnica de projeção e as análises de PCA com correlação de Pearson, além das microscopias micro-Raman e AFM.

### *Mapeamentos micro-Raman e AFM*

As razões para o melhor desempenho dos filmes finos puderam ser estudadas em detalhes com o auxílio dos mapeamentos micro-Raman e das imagens AFM. As morfologias das unidades sensoriais, no caso dos filmes mais finos que recobriram o EID (monocamadas LB e 10 nm PVD), não foram afetadas de forma significativa durante as medidas elétricas. Já o filme de 120 nm PVD sofreram degradações importantes em sua nanoestrutura, principalmente relacionadas à perda de material. Houve adsorção de azul de metileno em todas as unidades sensoriais, como verificado pelas medidas de espalhamento micro-Raman, o que pode ser uma das razões da alta sensibilidade destes sensores do tipo *língua eletrônica*. De fato, as respostas elétricas foram muito sensíveis a qualquer mudança no filme, seja de caráter estrutural ou químico, ou no líquido sob análise, considerando a espessura dos filmes investigada.

### **Filmes com diferentes materiais e nanoestruturas**

#### *Técnica de projeção*

As análises por técnica de projeção discriminaram os tipos de analitos ( $\text{Cu}^{2+}$ , azul de metileno e sacarose) e suas concentrações (de 100  $\mu\text{M}$  a 10 nM), e diferentes regimes de domínio das respostas elétricas foram apontados. No caso do  $\text{Cu}^{2+}$  e azul de metileno, o filme que compõe a unidade sensorial dominou as respostas elétricas para concentrações inferiores a 10  $\mu\text{M}$ , enquanto que a concentração foi o fator determinante nas respostas elétricas a partir desta concentração. Para a sacarose somente o tipo do filme dominou as respostas elétricas dentro da faixa de concentração analisada.

#### *PCA e análises de Pearson*

Nos resultados de PCA as soluções apresentaram discriminação satisfatória das concentrações usando os dois conjuntos de dados, frequência variada (tan delta) e frequência fixa

( $10^3$  Hz). As análises de Pearson exibiram resultados mais expressivos para o conjunto de dados frequência variada do que para o conjunto frequência fixa, onde algumas unidades sensoriais foram sugeridas para serem descartadas da *língua eletrônica* baseado nos resultados do p-valor. Verificando as implicações de serem removidas as unidades sugeridas pelo p-valor, foi notado que a distribuição das concentrações no PCA apresentou pequenas alterações quando a unidade menos correlacionada (sugerida ao descarte) foi removida, e exibiu grandes variações quando as unidades mais correlacionadas foram removidas. Isto confirma o que vinha sendo feito de forma empírica em no grupo com a retirada, uma a uma, das unidades sensoriais e a verificação de como isto impactava na distribuição das concentrações no PCA.

### *Ajustes por circuito elétrico equivalente*

Os resultados dos ajustes das curvas pelo circuito elétrico equivalente puderam ser relacionados aos resultados das análises de Pearson para o conjunto de dados frequência variada. Em geral, foram encontrados padrões de variações em determinados elementos do circuito equivalente para os filmes mais correlacionados com os analitos, conforme determinado pelas análises de Pearson. Por outro lado, não foram encontrados padrões nos elementos para as unidades sensoriais rejeitadas nas análises estatísticas. Mais ainda, os resultados dos ajustes apontaram se as interações filme-analito foram somente de origem interfacial ou se também causaram mudanças na estrutura do filme (volume).

### *Micro-Raman*

Os mapeamentos micro-Raman mostraram que moléculas de azul de metileno estavam adsorvidas em todas as unidades sensoriais. Porém, pelas diferenças entre as unidades sensoriais verificadas nos resultados de projeções, análises estatísticas e ajustes por circuito elétrico equivalente, pode-se supor que a simples adsorção do analito no filme não tenha sido o único fator responsável pela alta sensibilidade atingida por este tipo de *língua eletrônica*. A alteração causada na estrutura molecular da unidade sensorial (filme fino) pela presença do analito deve ser o fator chave para desempenho das unidades sensoriais.



Relacionando os resultados apresentados, é possível afirmar que as características dos analitos detectados influenciam nas respostas elétricas obtidas tanto quanto a escolha dos filmes que compõem as unidades sensoriais. Assim, um acoplamento entre o analito alvo e o tipo do filme com elevada sensibilidade ao analito devem melhorar o desempenho da *língua eletrônica*. Esse fato pode evitar o emprego de unidades sensoriais que não apresentem bom desempenho nos resultados discriminativos ou que possuam respostas elétricas similares.

### **Perspectivas**

Os resultados apresentados nesta tese forneceram informações gerais sobre o desempenho de *línguas eletrônicas* de acordo com a espessura e o tipo do filme na unidade sensorial, tipo do analito e concentração das soluções. Todavia, o trabalho abre lacunas de informações que deverão ser supridas com novos projetos e experimentos complementares aos apresentados aqui. Alguns trabalhos sugeridos são:

i) Analisar as medidas elétricas por outros instrumentos como capacitância imaginária, módulo da capacitância, resistência, admitância ou as impedâncias reais e imaginárias, os quais podem carregar mais informações do que a capacitância real;

ii) Estudos envolvendo as contribuições de cada elemento do circuito elétrico equivalente neste tema de *língua eletrônica* e possíveis adaptações ao modelo para melhorar os ajustes;

iii) Buscar através das ferramentas computacionais (como a técnica de projeções) meios de calibração das respostas elétricas. Este ponto é importante visando aplicações práticas destes dispositivos onde as unidades sensoriais precisam ser trocadas, exigindo respostas padronizadas independente das flutuações intrínsecas das unidades fabricadas rigorosamente sobre as mesmas condições.

# Anexo 1

*Exemplo da tabela de dados utilizada na técnica de projeções para a discriminação por filmes*

DY

20

61

1;1.25893;1.58489;1.99526;2.51189;3.16228;3.98107;5.01187;6.30957;7.94328;10;12.58925;15.84893;19.95262;25.11886;31.62278;39.81072;50.11872;63.09573;79.43282;100;125.8925;158.4893;199.5262;251.1886;316.2278;398.1072;501.1872;630.9573;794.3282;1000;1258.925;1584.893;1995.262;2511.886;3162.278;3981.072;5011.873;6309.573;7943.282;10000;12589.25;15848.93;19952.62;25118.87;31622.78;39810.72;50118.72;63095.73;79432.82;100000;125892.5;158489.3;199526.2;251188.6;316227.8;398107.2;501187.2;630957.4;794328.3;1000000

EID sem filme-

água\_inicial;0.000000507000;0.000000461000;0.000000418000;0.000000371000;0.000000326000;0.000000283000;0.000000240000;0.000000200000;0.000000164000;0.000000133000;0.000000107000;0.000000086000;0.000000067500;0.000000053100;0.000000041200;0.000000032100;0.000000024500;0.000000018200;0.000000012500;0.000000010400;0.000000007670;0.000000005680;0.000000004210;0.000000003110;0.000000002300;0.000000001700;0.000000001270;0.000000000960;0.000000000732;0.000000000565;0.000000000444;0.000000000355;0.000000000294;0.000000000249;0.000000000220;0.000000000194;0.000000000177;0.000000000165;0.000000000157;0.000000000151;0.000000000146;0.000000000143;0.000000000140;0.000000000139;0.000000000138;0.000000000137;0.000000000136;0.000000000135;0.000000000134;0.000000000133;0.000000000132;0.000000000132;0.000000000131;0.000000000130;0.000000000130;0.000000000129;0.000000000129;0.000000000128;0.000000000128;0.000000000127;0.000000000125;1

EID sem filme -

10nM;0.000000495000;0.000000456000;0.000000424000;0.000000388000;0.000000357000;0.000000325000;0.000000295000;0.000000265000;0.000000238000;0.000000211000;0.000000188000;0.000000166000;0.000000145000;0.000000127000;0.000000109000;0.000000093200;0.000000078000;0.000000064400;0.000000053500;0.000000041700;0.000000032600;0.000000025200;0.000000019200;0.000000014400;0.000000010800;0.000000008020;0.000000005930;0.000000004390;0.000000003250;0.000000002420;0.000000001800;0.000000001350;0.000000001020;0.000000000782;0.000000000605;0.000000000477;0.000000000383;0.000000000314;0.000000000264;0.000000000225;0.000000000200;0.000000000181;0.000000000166;0.000000000156;0.000000000148;0.000000000143;0.000000000139;0.000000000137;0.000000000135;0.000000000133;0.000000000132;0.000000000131;0.000000000130;0.000000000130;0.000000000129;0.000000000128;0.000000000128;0.000000000127;0.000000000126;0.000000000125;0.000000000123;1

EID sem filme -

1µM;0.000000424000;0.000000383000;0.000000348000;0.000000316000;0.000000287000;0.000000258000;0.000000234000;0.000000208000;0.000000187000;0.000000167000;0.000000149000;0.000000132000;0.000000117000;0.000000103000;0.000000089300;0.000000076800;0.000000066100;0.000000055800;0.000000047000;0.000000037600;0.000000030200;0.000000023900;0.000000018600;0.000000014300;0.000000010900;0.000000008260;0.000000006180;0.000000004620;0.000000003450;0.000000002580;0.000000001930;0.000000001450;0.000000001090;0.000000000835;0.000000000642;0.000000000501;0.000000000399;0.000000000324;0.000000000269;0.000000000230;0.000000000201;0.000000000181;0.000000000166;0.000000000155;0.000000000147;0.000000000142;0.000000000138;0.000000000136;0.000000000134;0.000000000132;0.000000000131;0.000000000131;0.000000000130;0.000000000129;0.000000000129;0.000000000128;0.000000000128;0.000000000127;0.000000000126;0.000000000126;0.000000000124;1

EID sem filme -

1mM;0.000002830000;0.000002590000;0.000002340000;0.000002120000;0.000001920000;0.000001720000;0.000001540000;0.000001370000;0.000001210000;0.000001060000;0.000000924000;0.000000800000;0.000000688000;0.000000589000;0.000000501000;0.000000425000;0.000000360000;0.000000306000;0.000000259000;0.000000223000;0.000000192000;0.000000166000;0.000000146000;0.000000128000;0.000000114000;0.000000102000;0.000000091700;0.000000082800;0.000000074900;0.000000067700;0.000000061200;0.000000055100;0.000000049200;0.000000043500;0.000000038000;0.000000032700;0.000000027600;0.000000022700;0.000000018300;0.000000014300;0.000000011000;0.000000008210;0.000000006010;0.000000004330;0.000000003080;0.000000002160;0.000000001510;0.000000001050;0.000000000727;0.000000000501;0.000000000353;0.000000000251;0.000000000184;0.000000000136;0.000000000103;0.000000000080;0.000000000064;0.000000000053;0.000000000045;0.000000000040;0.000000000037;1

# Anexo 1 – Técnica de projeções de dados

EID sem filme -

água\_final;0.000000531000;0.000000471000;0.000000415000;0.000000360000;0.000000306000;0.000000256000;  
0.000000211000;0.000000172000;0.000000139000;0.000000112000;0.000000088800;0.000000071000;0.000000  
55700;0.000000043500;0.000000033900;0.000000025900;0.000000019800;0.000000015100;0.000000010800;0.00  
00000008420;0.000000006250;0.000000004630;0.000000003430;0.000000002540;0.000000001890;0.00000000142  
0;0.000000001060;0.000000000807;0.000000000623;0.000000000487;0.000000000391;0.000000000320;0.000000  
000270;0.000000000232;0.000000000203;0.000000000187;0.000000000172;0.000000000162;0.000000000155;0.0  
00000000149;0.00000000146;0.00000000143;0.00000000141;0.00000000139;0.00000000138;0.000000001  
37;0.00000000136;0.00000000135;0.00000000134;0.00000000133;0.00000000133;0.00000000132;0.00000  
000131;0.00000000131;0.00000000130;0.00000000130;0.00000000130;0.00000000129;0.00000000128;0.  
00000000128;0.00000000127;1

LB-

água\_inicial;0.000000352000;0.000000315000;0.000000281000;0.000000245000;0.000000213000;0.00000018100  
0;0.000000154000;0.000000128000;0.000000106000;0.000000088200;0.000000072400;0.000000058800;0.000000  
048000;0.000000039300;0.000000031600;0.000000025100;0.000000019800;0.000000015400;0.000000013300;0.0  
00000009390;0.000000007120;0.000000005410;0.000000004080;0.000000003090;0.000000002330;0.0000000017  
40;0.000000001330;0.000000001010;0.000000000775;0.000000000600;0.000000000470;0.000000000377;0.00000  
000305;0.000000000253;0.000000000215;0.000000000190;0.000000000171;0.000000000157;0.000000000148;0.  
000000000141;0.000000000136;0.000000000133;0.000000000131;0.000000000129;0.000000000128;0.000000000  
127;0.000000000126;0.000000000125;0.000000000125;0.000000000124;0.000000000123;0.000000000123;0.0000  
0000122;0.000000000122;0.000000000122;0.000000000122;0.000000000122;0.000000000121;0.000000000121;  
0.000000000120;0.000000000120;2

LB-

10nM;0.000000237000;0.000000211000;0.000000190000;0.000000169000;0.000000150000;0.000000136000;0.00  
0000121000;0.000000109000;0.000000097500;0.000000088100;0.000000078600;0.000000070000;0.00000006370  
0;0.000000057000;0.000000051100;0.000000045700;0.000000040800;0.000000035800;0.000000033100;0.000000  
027400;0.000000023300;0.000000019600;0.000000016200;0.000000013100;0.000000010400;0.000000008160;0.0  
00000006260;0.00000004760;0.00000003580;0.00000002670;0.00000001990;0.00000001480;0.000000011  
10;0.00000000830;0.00000000630;0.00000000485;0.00000000381;0.00000000305;0.00000000251;0.00000  
000212;0.00000000185;0.00000000166;0.00000000152;0.00000000143;0.00000000136;0.00000000132;0.  
00000000129;0.00000000127;0.00000000125;0.00000000124;0.00000000123;0.00000000123;0.000000000  
122;0.00000000121;0.00000000121;0.00000000121;0.00000000121;0.00000000120;0.00000000120;0.0000  
0000119;0.00000000118;2

LB-

1µM;0.000000236000;0.000000200000;0.000000174000;0.000000154000;0.000000132000;0.000000117000;0.000  
000104000;0.000000092000;0.000000082200;0.000000073100;0.000000066500;0.000000060100;0.000000053800  
;0.000000048800;0.000000044000;0.000000039200;0.000000035300;0.000000031500;0.000000026500;0.0000000  
24200;0.000000021000;0.000000017900;0.000000015100;0.000000012600;0.000000010300;0.000000008250;0.00  
00000006520;0.00000005080;0.00000003910;0.00000002970;0.00000002240;0.00000001680;0.0000000126  
0;0.00000000943;0.00000000713;0.00000000541;0.00000000418;0.00000000330;0.00000000267;0.000000  
000222;0.00000000191;0.00000000169;0.00000000154;0.00000000143;0.00000000136;0.00000000131;0.0  
0000000128;0.0000000126;0.0000000124;0.0000000123;0.0000000122;0.0000000122;0.000000001  
21;0.0000000121;0.0000000120;0.0000000120;0.0000000120;0.0000000120;0.0000000119;0.0000  
0000119;0.0000000118;2

LB-

1mM;0.000001200000;0.000001100000;0.000001010000;0.000000927000;0.000000844000;0.000000769000;0.00  
0000699000;0.000000632000;0.000000570000;0.000000512000;0.000000458000;0.000000408000;0.00000036100  
0;0.000000317000;0.000000277000;0.000000241000;0.000000209000;0.000000180000;0.000000154000;0.000000  
133000;0.000000114000;0.000000098200;0.000000084800;0.000000073700;0.000000064400;0.000000056700;0.0  
00000050300;0.00000044900;0.00000040500;0.00000036700;0.00000033500;0.00000030600;0.0000000282  
00;0.00000025900;0.00000023800;0.00000021800;0.00000019800;0.00000017900;0.00000015900;0.00000  
0013800;0.00000011800;0.00000009780;0.00000007860;0.00000006120;0.00000004620;0.00000003390;0.  
00000002430;0.00000001710;0.00000001180;0.00000000813;0.00000000562;0.00000000390;0.000000000  
277;0.00000000198;0.00000000144;0.00000000107;0.00000000082;0.00000000065;0.00000000053;0.0000  
0000045;0.00000000040;2

# Anexo 1 – Técnica de projeções de dados

LB-

água\_final;0.000000259000;0.000000224000;0.000000194000;0.000000168000;0.000000143000;0.000000122000;0.000000105000;0.000000089100;0.000000075600;0.000000064200;0.000000055100;0.000000047700;0.000000040600;0.000000035400;0.000000030500;0.000000026400;0.000000022400;0.000000019000;0.000000017100;0.000000013200;0.000000010900;0.000000008810;0.000000007030;0.000000005540;0.000000004320;0.000000003300;0.000000002530;0.000000001920;0.000000001460;0.000000001110;0.000000000845;0.000000000648;0.000000000503;0.000000000398;0.000000000320;0.000000000265;0.000000000224;0.000000000195;0.000000000175;0.000000000161;0.000000000151;0.000000000143;0.000000000139;0.000000000135;0.000000000133;0.000000000131;0.000000000130;0.000000000129;0.000000000128;0.000000000127;0.000000000126;0.000000000126;0.000000000125;0.000000000125;0.000000000124;0.000000000123;0.000000000123;0.000000000122;0.000000000122;0.000000000121;0.000000000119;2

PVD10nm-

água\_inicial;0.000000422000;0.000000377000;0.000000332000;0.000000285000;0.000000244000;0.000000205000;0.000000169000;0.000000140000;0.000000116000;0.000000095100;0.000000076900;0.000000062800;0.000000051300;0.000000041100;0.000000032900;0.000000026500;0.000000020700;0.000000015800;0.000000013500;0.000000009350;0.000000007060;0.000000005330;0.000000004010;0.000000003010;0.000000002260;0.000000001690;0.000000001290;0.000000000978;0.000000000750;0.000000000579;0.000000000454;0.000000000362;0.000000000294;0.000000000247;0.000000000210;0.000000000185;0.000000000166;0.000000000154;0.000000000144;0.000000000137;0.000000000133;0.000000000130;0.000000000127;0.000000000126;0.000000000124;0.000000000123;0.000000000123;0.000000000122;0.000000000121;0.000000000120;0.000000000120;0.000000000119;0.000000000119;0.000000000118;0.000000000118;0.000000000118;0.000000000118;0.000000000117;0.000000000117;0.000000000116;0.000000000116;3

PVD10nm-

10nM;0.000000269000;0.000000241000;0.000000218000;0.000000195000;0.000000175000;0.000000159000;0.000000142000;0.000000126000;0.000000113000;0.000000101000;0.000000090100;0.000000080300;0.000000072800;0.000000064900;0.000000057900;0.000000051300;0.000000045700;0.000000039800;0.000000035600;0.000000029100;0.000000024400;0.000000020100;0.000000016200;0.000000012800;0.000000009960;0.000000007610;0.000000005770;0.000000004330;0.000000003220;0.000000002390;0.000000001770;0.000000001320;0.000000000982;0.000000000739;0.000000000561;0.000000000435;0.000000000343;0.000000000277;0.000000000230;0.000000000196;0.000000000173;0.000000000156;0.000000000144;0.000000000136;0.000000000130;0.000000000126;0.000000000124;0.000000000122;0.000000000121;0.000000000120;0.000000000119;0.000000000118;0.000000000118;0.000000000117;0.000000000117;0.000000000116;0.000000000116;0.000000000115;0.000000000115;3

PVD10nm-

1μM;0.000000243000;0.000000206000;0.000000177000;0.000000154000;0.000000137000;0.000000121000;0.000000107000;0.000000096800;0.000000086500;0.000000077200;0.000000070100;0.000000062700;0.000000057600;0.000000051600;0.000000046400;0.000000041300;0.000000037200;0.000000032600;0.000000030100;0.000000025000;0.000000021300;0.000000017900;0.000000014800;0.000000012100;0.000000009710;0.000000007680;0.000000005960;0.000000004580;0.000000003480;0.000000002620;0.000000001960;0.000000001470;0.000000001090;0.000000000822;0.000000000622;0.000000000477;0.000000000372;0.000000000297;0.000000000243;0.000000000205;0.000000000178;0.000000000159;0.000000000146;0.000000000137;0.000000000130;0.000000000126;0.000000000123;0.000000000121;0.000000000120;0.000000000119;0.000000000118;0.000000000118;0.000000000117;0.000000000117;0.000000000116;0.000000000116;0.000000000116;0.000000000116;0.000000000115;0.000000000114;3

PVD10nm-

1mM;0.000001500000;0.000001390000;0.000001290000;0.000001200000;0.000001100000;0.000001010000;0.000000920000;0.000000835000;0.000000753000;0.000000673000;0.000000598000;0.000000526000;0.000000458000;0.000000396000;0.000000340000;0.000000289000;0.000000245000;0.000000207000;0.000000177000;0.000000149000;0.000000126000;0.000000108000;0.000000093300;0.000000081100;0.000000071100;0.000000062800;0.000000056000;0.000000050300;0.000000045500;0.000000041400;0.000000037900;0.000000034700;0.000000031800;0.000000029200;0.000000026700;0.000000024300;0.000000021800;0.000000019400;0.000000016900;0.000000014400;0.000000012000;0.000000009620;0.000000007490;0.000000005660;0.000000004160;0.000000002990;0.000000002110;0.000000001470;0.000000001020;0.000000000697;0.000000000484;0.000000000339;0.000000000242;0.000000000174;0.000000000128;0.000000000096;0.000000000074;0.000000000059;0.000000000048;0.000000000042;0.000000000037;3

PVD10nm-

água\_final;0.000000238000;0.000000209000;0.000000180000;0.000000156000;0.000000135000;0.000000114000;

## Anexo 1 – Técnica de projeções de dados

0.000000096200;0.000000081900;0.000000068400;0.000000058100;0.000000047900;0.000000040600;0.000000033700;0.000000027700;0.000000023000;0.000000018500;0.000000015300;0.000000012300;0.000000008650;0.000000007900;0.000000006240;0.000000004900;0.000000003840;0.000000002990;0.000000002320;0.000000001810;0.000000001390;0.000000001080;0.000000000841;0.000000000658;0.000000000520;0.000000000415;0.000000000336;0.000000000277;0.000000000234;0.000000000201;0.000000000177;0.000000000160;0.000000000148;0.000000000139;0.000000000132;0.000000000128;0.000000000124;0.000000000122;0.000000000120;0.000000000119;0.000000000118;0.000000000118;0.000000000117;0.000000000116;0.000000000116;0.000000000115;0.000000000115;0.000000000115;0.000000000114;0.000000000114;0.000000000114;0.000000000114;0.000000000113;0.000000000113;0.000000000112;3

PVD120nm-

água\_inicial;0.000000028200;0.000000024600;0.000000020400;0.000000020400;0.000000018600;0.000000015000;0.000000014500;0.000000012400;0.000000012000;0.000000011600;0.000000009910;0.000000008400;0.000000008600;0.000000007710;0.000000006980;0.000000006740;0.000000005700;0.000000005120;0.000000005630;0.000000004440;0.000000004000;0.000000003600;0.000000003230;0.000000002870;0.000000002530;0.000000002200;0.000000001910;0.000000001630;0.000000001370;0.000000001140;0.000000000939;0.000000000761;0.000000000610;0.000000000484;0.000000000383;0.000000000305;0.000000000247;0.000000000204;0.000000000174;0.000000000153;0.000000000139;0.000000000130;0.000000000124;0.000000000119;0.000000000116;0.000000000114;0.000000000113;0.000000000112;0.000000000111;0.000000000111;0.000000000110;0.000000000110;0.000000000109;0.000000000109;0.000000000109;0.000000000108;0.000000000108;0.000000000108;0.000000000108;0.000000000107;0.000000000107;4

PVD120nm-

10nM;0.000000051200;0.000000041600;0.000000035000;0.000000028800;0.000000025600;0.000000021800;0.000000019300;0.000000016800;0.000000015500;0.000000013400;0.000000012800;0.000000011700;0.000000010300;0.000000009960;0.000000009120;0.000000008260;0.000000007630;0.000000006860;0.000000006010;0.000000005980;0.000000005470;0.000000005020;0.000000004600;0.000000004220;0.000000003850;0.000000003530;0.000000003190;0.000000002880;0.000000002580;0.000000002300;0.000000002030;0.000000001770;0.000000001520;0.000000001290;0.000000001080;0.000000000884;0.000000000716;0.000000000571;0.000000000452;0.000000000357;0.000000000284;0.000000000230;0.000000000191;0.000000000164;0.000000000146;0.000000000133;0.000000000125;0.000000000120;0.000000000116;0.000000000113;0.000000000112;0.000000000111;0.000000000110;0.000000000109;0.000000000109;0.000000000109;0.000000000108;0.000000000108;0.000000000108;0.000000000107;0.000000000107;4

PVD120nm-

1μM;0.000000048200;0.000000040100;0.000000032800;0.000000029400;0.000000025400;0.000000020900;0.000000018800;0.000000016500;0.000000014400;0.000000012500;0.000000012100;0.000000010700;0.000000010600;0.000000009420;0.000000008630;0.000000008130;0.000000007160;0.000000006750;0.000000006450;0.000000005470;0.000000005020;0.000000004570;0.000000004160;0.000000003800;0.000000003450;0.000000003150;0.000000002840;0.000000002560;0.000000002310;0.000000002060;0.000000001840;0.000000001620;0.000000001420;0.000000001230;0.000000001050;0.000000000878;0.000000000724;0.000000000588;0.000000000471;0.000000000374;0.000000000298;0.000000000240;0.000000000197;0.000000000168;0.000000000148;0.000000000135;0.000000000126;0.000000000120;0.000000000116;0.000000000113;0.000000000111;0.000000000110;0.000000000109;0.000000000109;0.000000000108;0.000000000108;0.000000000108;0.000000000107;0.000000000107;0.000000000106;4

PVD120nm-

1mM;0.000000722000;0.000000677000;0.000000635000;0.000000593000;0.000000551000;0.000000507000;0.000000466000;0.000000423000;0.000000381000;0.000000341000;0.000000300000;0.000000262000;0.000000226000;0.000000191000;0.000000160000;0.000000133000;0.000000108000;0.000000087800;0.000000069400;0.000000055800;0.000000044100;0.000000034800;0.000000027600;0.000000022000;0.000000017800;0.000000014600;0.000000012100;0.000000010300;0.000000008920;0.000000007870;0.000000007050;0.000000006390;0.000000005840;0.000000005370;0.000000004940;0.000000004520;0.000000004120;0.000000003750;0.000000003390;0.000000003080;0.000000002800;0.000000002560;0.000000002360;0.000000002180;0.000000002020;0.000000001870;0.000000001730;0.000000001580;0.000000001420;0.000000001260;0.000000001100;0.000000000943;0.000000000787;0.000000000639;0.000000000505;0.000000000389;0.000000000292;0.000000000216;0.000000000159;0.000000000117;0.000000000088;4

PVD120nm-

água\_final;0.000000019100;0.000000015400;0.000000013900;0.000000012600;0.000000009830;0.000000009810;0.000000009910;0.000000008070;0.000000007160;0.000000006160;0.000000006070;0.000000005570;0.000000004440;0.000000004520;0.000000004040;0.000000003940;0.000000003440;0.000000003330;0.000000003120;0.000000000000

## Anexo 1 – Técnica de projeções de dados

0000002690;0.000000002380;0.000000002200;0.000000002030;0.000000001870;0.000000001720;0.000000001580;0.000000001450;0.000000001320;0.000000001190;0.000000001060;0.000000000930;0.000000000798;0.000000000670;0.000000000550;0.000000000445;0.000000000354;0.000000000283;0.000000000230;0.000000000192;0.00000000165;0.00000000147;0.00000000134;0.00000000126;0.00000000120;0.00000000116;0.00000000114;0.00000000112;0.00000000111;0.00000000110;0.00000000109;0.00000000108;0.00000000108;0.00000000108;0.00000000107;0.00000000107;0.00000000107;0.00000000107;0.00000000107;0.00000000106;0.00000000106;0.00000000106;4











## Anexo 2

*Algoritmo utilizado nas análises de PCA realizadas no programa MatLab®*

```

% enter your data in a matrix format
% EID sem filme LB PVD10nm PVD120nm
x=[1.9357 1.8966 1.8520 3.0530; %água inicial
4.7723 4.8522 4.3497 8.8407; % 10 nM
5.0150 5.4054 4.7652 8.7752; % 1 µM
326.89 217.88 242.80 45.200; % 1 mM
1.8671 2.6458 2.0086 3.5447] %água final

%pre-treatment of the data
[m,n]=size(x);
xa=mean(x);
centerx=(x-xa(ones(m,1),:));%matrix centrada na media

%standard deviation of the matrix centerx
stdr=std(centerx);

%new matrix = original data divided by the standard deviation
sr=centerx./stdr(ones(m,1),:);

%transforming the data in Principal components
[pcs,newdata,variances,TSQUARE]=princomp(sr);

%transforming the data in Principal components
% [scores,loads,ssq,res,q,tsq] = pca(sr);
% pltloads(loads)
% pltscrs(scores)

% first output of Principal components
pc=pcs(:,1:3)
I=pc'*pc

%plot(newdata(:,1), newdata(:,3),'bp')
plot(newdata(1:1,1), newdata(1:1,2),'k.',newdata(2:2,1), newdata(2:2,2),'ks', newdata(3:3,1),
newdata(3:3,2),'k^', newdata(4:4,1), newdata(4:4,2),'ko', newdata(5:5,1), newdata(5:5,2),'kx')
grid
xlabel('1st Principal Component')
ylabel('2nd Principal Component')
zlabel('3th Principal Component')

%Third output of PC (component variances)
variances
percent_explained=100*variances/sum(variances)

```

## Anexo 2 - PCA

*Exemplo de resultado obtido nas análises de PCA realizadas no programa MatLab®*

```
x =  
 1.9357  1.8966  1.8520  3.0530  
 4.7723  4.8522  4.3497  8.8407  
 5.0150  5.4054  4.7652  8.7752  
326.8900 217.8800 242.8000 45.2000  
 1.8671  2.6458  2.0086  3.5447
```

```
pc =  
 0.5006  0.3053  
 0.5007  0.2674  
 0.5006  0.2897  
 0.4980 -0.8668
```

```
I =  
 1.0000  0.0000  
 0.0000  1.0000
```

```
variances =  
 3.9845  
 0.0155  
 0.0000  
 0.0000
```

```
percent_explained =  
99.6128  
 0.3871  
 0.0001  
 0.0000
```

## Anexo 3

*Algoritmo utilizado nas análises de correlação de Pearson realizadas no programa SAS®*

```
data exemplo1;
input EID sem filme LB PVD10nm PVD120nm;
cards;
1.9357 1.8966 1.8520 3.0530
4.7723 4.8522 4.3497 8.8407
5.0150 5.4054 4.7652 8.7752
326.89 217.88 242.80 45.200
1.8671 2.6458 2.0086 3.5447
;
proc princomp out=res;
run;
proc print;
run;
proc corr data=res;
var EID sem filme LB PVD10nm PVD120nm;
with prin1-prin4;
run;
proc print;
run;
```

*Exemplo de resultado obtido nas análises de correlação de Pearson pelo programa SAS®*

The SAS System 15:16 Sunday, August 1, 1993 13  
The PRINCOMP Procedure

Observations 5  
Variables 4

Simple Statistics

	LB	PVD10nm	PVD120nm	EID sem filme
Mean	7.80900000	8.52080000	0.935800000	13.15300000
StD	14.38106585	16.43807206	1.379019289	26.86888476

Correlation Matrix

	LB	PVD10nm	PVD120nm	EID sem filme
LB	1.0000	0.9999	0.9987	0.9997
PVD10nm	0.9999	1.0000	0.9982	0.9999
PVD120nm	0.9987	0.9982	1.0000	0.9972
EID sem filme	0.9997	0.9999	0.9972	1.0000

Eigenvalues of the Correlation Matrix

	Eigenvalue	Difference	Proportion	Cumulative
1	3.99682888	3.99371146	0.9992	0.9992
2	0.00311742	0.00306469	0.0008	1.0000
3	0.00005274	0.00005178	0.0000	1.0000
4	0.00000096		0.0000	1.0000

Eigenvectors

	Prin1	Prin2	Prin3	Prin4
LB	0.500185	-.073178	-.850410	0.145820
PVD10nm	0.500153	-.238938	0.175216	-.813668
PVD120nm	0.499669	0.822952	0.243285	0.117866
EID sem filme	0.499993	-.510199	0.432337	0.550263

The SAS System 15:16 Sunday, August 1, 1993 14

Obs	LB	PVD10nm	PVD120nm	EID sem filme	Prin1	Prin2	Prin3	Prin4
1	0.470	0.454	0.174	0.444	-1.01323	-0.058692	0.009108	-.000503667
2	1.990	1.770	0.452	1.800	-0.79435	0.054598	0.004115	0.001299316
3	2.240	1.960	0.471	1.930	-0.77057	0.059434	-0.003200	-.001284267
4	33.500	37.900	3.390	61.200	3.57079	-0.005529	0.000018	0.000003766
5	0.845	0.520	0.192	0.391	-0.99264	-0.049811	-0.010041	0.000484852

The SAS System 15:16 Sunday, August 1, 1993 15

The CORR Procedure

4 With Variables: Prin1 Prin2 Prin3 Prin4  
 4 Variables: LB PVD10nm PVD120nm EID sem filme

Simple Statistics

Variable	N	Mean	Std Dev	Sum	Minimum	Maximum
Prin1	5	0	1.99921	0	-1.01323	3.57079
Prin2	5	0	0.05583	0	-0.05869	0.05943
Prin3	5	0	0.00726	0	-0.01004	0.00911
Prin4	5	0	0.0009781	0	-0.00128	0.00130
LB	5	7.80900	14.38107	39.04500	0.47000	33.50000
PVD10nm	5	8.52080	16.43807	42.60400	0.45400	37.90000
PVD120nm	5	0.93580	1.37902	4.67900	0.17400	3.39000
EID sem filme	5	13.15300	26.86888	65.76500	0.39100	61.20000

Pearson Correlation Coefficients, N = 5  
 Prob > |r| under H0: Rho=0

LB	PVD10nm	PVD120nm	EID sem filme
Prin1	0.99997 <.0001	0.99991 <.0001	0.99894 <.0001
Prin2	-0.00409 0.9948	-0.01334 0.9830	0.04595 0.9415
Prin3	-0.00618 0.9921	0.00127 0.9984	0.00177 0.9978
Prin4	0.00014 0.9998	-0.00080 0.9990	0.00012 0.9999

The SAS System 15:16 Sunday, August 1, 1993 16

Obs	LB	PVD10nm	PVD120nm	EID sem filme	Prin1	Prin2	Prin3	Prin4
1	0.470	0.454	0.174	0.444	-1.01323	-0.058692	0.009108	-.000503667
2	1.990	1.770	0.452	1.800	-0.79435	0.054598	0.004115	0.001299316
3	2.240	1.960	0.471	1.930	-0.77057	0.059434	-0.003200	-.001284267
4	33.500	37.900	3.390	61.200	3.57079	-0.005529	0.000018	0.000003766
5	0.845	0.520	0.192	0.391	-0.99264	-0.049811	-0.010041	0.000484852

## Anexo 4



### *Comprovante de estágio no exterior*

*Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior  
Setor Bancário Norte, Quadra 2, Bloco L, Lote 06  
70040-020 - Brasília, DF  
Brasil*

### A QUEM INTERESSAR POSSA

Declaramos, para os devidos fins, que o(a) interessado(a) abaixo, foi bolsista da Capes e realizou Estágio de doutorando no Exterior, por meio do Programa Institucional de Bolsas de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE).

**BOLSISTA:** DIOGO VOLPATI

**PERÍODO DA BOLSA:** 01/2012 a 05/2012

**INSTITUIÇÃO:** WINDSOR UNIVERSITY

**PAÍS:** CANADA

**ÁREA:** FÍSICA DA MATÉRIA CONDENSADA.

Brasília, 18 de Junho de 2012

GERALDO NUNES SOBRINHO  
Coordenador-Geral de Bolsas no Exterior



## Referências

1. Volpati, D., *Fabricação e caracterização de filmes finos de perileno: arquitetura molecular e aplicações sensoriais*, in *Departamento de Física, Química e Biologia*. 2008, Universidade Estadual de São Paulo: Presidente Prudente-SP.
2. Arrieta, A., M.L. Rodriguez-Mendez, and J.A. de Saja, *Langmuir-Blodgett film and carbon paste electrodes based on phthalocyanines as sensing units for taste*. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2003. **95**(1-3): p. 357-365.
3. Parra, V., et al., *E-tongue based on a hybrid array of voltammetric sensors based on phthalocyanines, perylene derivatives and conducting polymers: Discrimination capability towards red wines elaborated with different varieties of grapes*. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2006. **115**(1): p. 54-61.
4. Winqvist, F., C. Krantz-Rulcker, and I. Lundstrom, *Electronic tongues*. *Mrs Bulletin*, 2004. **29**(10): p. 726-731.
5. del Valle, M., *Electronic tongues employing electrochemical sensors*. *Electroanalysis*, 2010. **22**(14): p. 1539-1555.
6. Vlasov, Y.G., et al., *Chemical sensors and their systems*. *Journal of Analytical Chemistry*, 2010. **65**(9): p. 880-898.
7. Riul, A., et al., *Artificial taste sensor: Efficient combination of sensors made from Langmuir-Blodgett films of conducting polymers and a ruthenium complex and self-assembled films of an azobenzene-containing polymer*. *Langmuir*, 2002. **18**(1): p. 239-245.
8. Riul, A., et al., *An artificial taste sensor based on conducting polymers*. *Biosensors & Bioelectronics*, 2003. **18**(11): p. 1365-1369.
9. Cortina-Puig, M., et al., *EIS multianalyte sensing with an automated SIA system - An electronic tongue employing the impedimetric signal*. *Talanta*, 2007. **72**(2): p. 774-779.
10. Collins, B.E. and E.V. Anslyn, *Pattern-based peptide recognition*. *Chemistry-a European Journal*, 2007. **13**(17): p. 4700-4708.
11. Ball, P. *Electronic tongue has good taste*. *Nature* 2002; Available from: <http://www.nature.com/news/2002/020109/full/news020107-3.html>.
12. Ferreira, M., et al., *High-performance taste sensor made from Langmuir-Blodgett films of conducting polymers and a ruthenium complex*. *Analytical Chemistry*, 2003. **75**: p. 953-955.
13. Oliveira, O.N., A. Riul, and V.B.P. Leite, *Water at interfaces and its influence on the electrical properties of adsorbed films*. *Brazilian Journal of Physics*, 2004. **34**(1): p. 73-83.
14. Riul, A., et al., *Wine classification by taste sensors made from ultra-thin films and using neural networks*. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2004. **98**(1): p. 77-82.
15. Aoki, P.H.B., et al., *Sensor Array Made with Nanostructured Films to Detect a Phenothiazine Compound*. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2008. **8**(9): p. 4341-4348.
16. Martins, G.F., et al., *Ultrathin films of lignins as a potential transducer in sensing applications involving heavy metal ions*. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2008. **129**(2): p. 525-530.
17. Volpati, D., et al., *Exploiting distinct molecular architectures of ultrathin films made with iron phthalocyanine for sensing*. *Journal of Physical Chemistry B*, 2008. **112**(48): p. 15275-15282.
18. Aoki, P.H.B., et al., *Layer-by-Layer Technique as a New Approach to Produce Nanostructured Films Containing Phospholipids as Transducers in Sensing Applications*. *Langmuir*, 2009. **25**(4): p. 2331-2338.

19. Toko, K., *A taste sensor*. Measurement Science & Technology, 1998. **9**(12): p. 1919-1936.
20. Toko, K., *Electronic tongue*. Biosensors & Bioelectronics, 1998. **13**(6): p. 701-709.
21. Zucolotto, V., et al., *Catechol biosensing using a nanostructured layer-by-layer film containing Cl-catechol 1,2-dioxygenase*. Biosensors & Bioelectronics, 2006. **21**(7): p. 1320-1326.
22. Perinotto, A.C., et al., *Dendrimer-assisted immobilization of alcohol dehydrogenase in nanostructured films for biosensing: Ethanol detection using electrical capacitance measurements*. Thin Solid Films, 2008. **516**(24): p. 9002-9005.
23. Moraes, M.L., et al., *Immobilization of liposomes in nanostructured layer-by-layer films containing dendrimers*. Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems, 2008. **28**(4): p. 467-471.
24. Perinoto, A.C., et al., *Biosensors for Efficient Diagnosis of Leishmaniasis: Innovations in Bioanalytics for a Neglected Disease*. Analytical Chemistry, 2010. **82**(23): p. 9763-9768.
25. Blodgett, K.B., *Films built by depositing successive monomolecular layers on a solid surface*. Journal of the American Chemical Society, 1935. **57**(1): p. 1007-1022.
26. Decher, G., J.D. Hong, and J. Schmitt, *Buildup of ultrathin multilayer films by a self-assembly process .3. Consecutively alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces*. Thin Solid Films, 1992. **210**(1-2): p. 831-835.
27. Aoki, P.H.B., et al., *Taking advantage of electrostatic interactions to grow Langmuir-Blodgett films containing multilayers of the phospholipid dipalmitoylphosphatidylglycerol*. Langmuir, 2009. **25**(22): p. 13062-13070.
28. Taylor, D.M. and A.G. Macdonald, *AC admittance of the metal-insulator-electrolyte interface*. Journal of Physics D-Applied Physics, 1987. **20**(10): p. 1277-1283.
29. Leite, F.L., et al., *Sensor arrays to detect humic substances and Cu(II) in waters*. Synthetic Metals, 2009. **159**(21-22): p. 2333-2337.
30. Moraes, M.L., et al., *Strategies to optimize biosensors based on impedance spectroscopy to detect phytic acid using layer-by-layer films*. Analytical Chemistry, 2010. **82**(8): p. 3239-3246.
31. Siqueira, J.R., Jr., et al., *Use of information visualization methods eliminating cross talk in multiple sensing units investigated for a light-addressable potentiometric sensor*. Analytical Chemistry, 2010. **82**(1): p. 61-65.
32. Oliveira JR, O.N. and D.M. Taylor, *Filmes Langmuir-Blodgett*. Ciencia Hoje, 1990. **12**: p. 6.
33. Petty, M.C., *Langmuir-Blodgett films - An introduction*. 1996, Cambridge: Cambridge University Press.
34. Constantino, C.J.L., et al., *Langmuir-Blodgett films from lignins*. Thin Solid Films, 1996. **284**: p. 191-194.
35. Dhanabalan, A., et al., *Mixed Langmuir and Langmuir-Blodgett films of disperse red-13 dye-derivatized methacrylic homopolymer and cadmium stearate*. Langmuir, 1998. **14**(13): p. 3614-3619.
36. Ramos, A.P., et al., *Porphyrin-phospholipid interaction and ring metallation depending on the phospholipid polar head type*. Journal of Colloid and Interface Science, 2010. **350**(1): p. 148-154.
37. Antunes, P.A., et al., *Langmuir and Langmuir-Blodgett films of perylene tetracarboxylic derivatives with varying alkyl chain length: Film packing and surface-enhanced fluorescence studies*. Langmuir, 2001. **17**(10): p. 2958-2964.
38. Peng, J.B., G.T. Barnes, and I.R. Gentle, *The structures of Langmuir-Blodgett films of fatty acids and their salts*. Advances in Colloid and Interface Science, 2001. **91**(2): p. 163-219.

39. Iler, R.K., *Multilayers of colloidal particles*. Journal of Colloid and Interface Science, 1966. **21**(6): p. 569-&.
40. Sagiv, J., *Organized monolayers by adsorption .1. Formation and structure of oleophobic mixed monolayers on solid-surfaces*. Journal of the American Chemical Society, 1980. **102**(1): p. 92-98.
41. Maoz, R., et al., *Self-assembling monolayers in the construction of planned supramolecular structures and as modifiers of surface-properties*. Journal De Chimie Physique Et De Physico-Chimie Biologique, 1988. **85**(11-12): p. 1059-1065.
42. Decher, G., *Fuzzy nanoassemblies: Toward layered polymeric multicomposites*. Science, 1997. **277**(5330): p. 1232-1237.
43. Ferreira, M., J.H. Cheung, and M.F. Rubner, *Molecular self-assembly of conjugated polyions: a new process for fabricating multilayer thin film heterostructures*. Thin Solid Films, 1994. **244**(1-2): p. 806-809.
44. Cheng, J.H., A.F. Fou, and M.F. Rubner, *Molecular self-assembly of conducting polymers*. Thin Solid Films, 1994. **244**(1-2): p. 985-989.
45. Paterno, L.G., H.L.C. Mattoso, and O.N. de Oliveira, *Ultrathin polymer films produced by the self-assembly technique: Preparation, properties and applications*. Quimica Nova, 2001. **24**(2): p. 228-235.
46. Alessio, P., et al., *Iron phthalocyanine in non-aqueous medium forming layer-by-layer films: growth mechanism, molecular architecture and applications*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2010. **12**(16): p. 3972-3983.
47. Izquierdo, A., et al., *Dipping versus spraying: Exploring the deposition conditions for speeding up layer-by-layer assembly*. Langmuir, 2005. **21**(16): p. 7558-7567.
48. Popa, G., et al., *Nanoscale precipitation coating: The deposition of inorganic films through step-by-step spray-assembly*. Acs Nano, 2010. **4**(8): p. 4792-4798.
49. Aoki, P.H.B., et al., *Spray layer-by-layer films based on phospholipid vesicles aiming sensing application via e-tongue system*. Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications, 2012. **32**(4): p. 862-871.
50. Mattox, D.M., *Handbook of physical vapor deposition (PVD) processing*. 2010: Elsevier.
51. Martin, P.M., *Handbook of deposition technologies for films and coatings* 2009: Elsevier.
52. Jaeger, J.C., *Film Deposition: Introduction to microelectronic Fabrication*. 2002, New Jersey: Prentice Hall.
53. Antunes, P.A., et al., *Reflection absorption infrared spectra of thin solid films. Molecular orientation and film structure*. Applied Spectroscopy, 2001. **55**(10): p. 1341-1346.
54. Volpati, D., et al., *Molecular and morphological characterization of bis benzimidazo perylene films and surface-enhanced phenomena*. Journal of Physical Chemistry B, 2008. **112**(13): p. 3894-3902.
55. Zanolim, A.A., et al., *Structural and electric-optical properties of zinc phthalocyanine evaporated thin films: Temperature and thickness effects*. Journal of Physical Chemistry C, 2010. **114**(28): p. 12290-12299.
56. Volpati, D., et al., *Physical vapor deposited thin films of lignins extracted from sugar cane bagasse: Morphology, electrical properties, and sensing applications*. Biomacromolecules, 2011. **12**(9): p. 3223-3231.
57. Alessio, P., et al., *Metal-organic semiconductor nanostructures for surface-enhanced Raman scattering*. Applied Spectroscopy, 2011. **65**(2): p. 152-158.
58. Mansfeld, F., *Use of electrochemical impedance spectroscopy for the study of corrosion protection by polymer-coatings*. Journal of Applied Electrochemistry, 1995. **25**(3): p. 187-202.
59. Katz, E. and I. Willner, *Probing biomolecular interactions at conductive and semiconductive surfaces by impedance spectroscopy: Routes to impedimetric*

- immunosensors, DNA-Sensors, and enzyme biosensors*. *Electroanalysis*, 2003. **15**(11): p. 913-947.
60. Pejčić, B. and R. De Marco, *Impedance spectroscopy: Over 35 years of electrochemical sensor optimization*. *Electrochimica Acta*, 2006. **51**(28): p. 6217-6229.
61. Lisdat, F. and D. Schaefer, *The use of electrochemical impedance spectroscopy for biosensing*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2008. **391**(5): p. 1555-1567.
62. Basoukov, E. and J.R. Macdonald, *Impedance Spectroscopy - Theory, Experiment and Applications*. second ed. 2005, New Jersey: John Wiley & Sons. .
63. Coster, H.G.L., T.C. Chilcott, and A.C.F. Coster, *Impedance spectroscopy of interfaces, membranes and ultrastructures*. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, 1996. **40**(2): p. 79-98.
64. Borato, C.E., et al., *Exploiting the versatility of taste sensors based on impedance spectroscopy*. *Instrumentation Science & Technology*, 2004. **32**(1): p. 21-30.
65. Jolliffe, I.T., *Principal Component Analysis*. 2nd edition ed. 2002: Springer.
66. Hotelling, H., *Analysis of a complex of statistical variables into principal components*. *Journal of Educational Psychology*, 1933. **24**: p. 417-441.
67. Lvova, L., et al., *All-solid-state electronic tongue and its application for beverage analysis*. *Analytica Chimica Acta*, 2002. **468**(2): p. 303-314.
68. Toko, K., *Taste sensor with global selectivity*. *Materials Science & Engineering C-Biomimetic Materials Sensors and Systems*, 1996. **4**(2): p. 69-82.
69. Di Natale, C., et al., *Multicomponent analysis on polluted waters by means of an electronic tongue*. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 1997. **44**(1-3): p. 423-428.
70. Legin, A., et al., *Tasting of beverages using an electronic tongue*. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 1997. **44**(1-3): p. 291-296.
71. Winquist, F., P. Wide, and I. Lundstrom, *An electronic tongue based on voltammetry*. *Analytica Chimica Acta*, 1997. **357**(1-2): p. 21-31.
72. Winquist, F., et al., *A hybrid electronic tongue*. *Analytica Chimica Acta*, 2000. **406**(2): p. 147-157.
73. Winquist, F., J. Olsson, and M. Eriksson, *Multicomponent analysis of drinking water by a voltammetric electronic tongue*. *Analytica Chimica Acta*, 2011. **683**(2): p. 192-197.
74. Holmin, S., et al., *Compression of electronic tongue data based on voltammetry - a comparative study*. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2001. **76**(1-3): p. 455-464.
75. Legin, A., et al., *Evaluation of Italian wine by the electronic tongue: recognition, quantitative analysis and correlation with human sensory perception*. *Analytica Chimica Acta*, 2003. **484**(1): p. 33-44.
76. Eklov, T., et al., *Monitoring sausage fermentation using an electronic nose*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1998. **76**(4): p. 525-532.
77. Winquist, F., et al., *Monitoring of freshness of milk by an electronic tongue on the basis of voltammetry*. *Measurement Science & Technology*, 1998. **9**(12): p. 1937-1946.
78. Ciosek, P., Z. Brzozka, and W. Wroblewski, *Classification of beverages using a reduced sensor array*. *Sensors and Actuators B-Chemical*, 2004. **103**(1-2): p. 76-83.
79. Hair, J.F., et al., *Análise multivariada de dados*. 1998, São Paulo: Editora Bookman.
80. Brase, C.H. and C.P. Brase, *Understanding Basic Statistics*. Vol. 5th edition. 2008: Brooks Cole.
81. Hunt, R.J., *Percent agreement, pearson correlation, and kappa as measures of inter-examiner reliability*. *Journal of Dental Research*, 1986. **65**(2): p. 128-130.
82. Ahlgren, P., B. Jarneving, and R. Rousseau, *Requirements for a cocitation similarity measure, with special reference to Pearson's correlation coefficient*. *Journal of the American Society for Information Science and Technology*, 2003. **54**(6): p. 550-560.

83. Mansson, R., et al., *Pearson correlation analysis of microarray data allows for the identification of genetic targets for early B-cell factor*. Journal of Biological Chemistry, 2004. **279**(17): p. 17905-17913.
84. Paulovich, F.V. and R. Minghim, *HiPP: A novel hierarchical point placement strategy and its application to the exploration of document collections*. IEE Transactions on Visualization and Computer Graphics, 2008. **14**(6): p. 1229-1236.
85. Paulovich, F.V., C.T. Silva, and L.G. Nonato, *Two-phase mapping for projecting massive data sets*. IEEE Transactions on Visualization and Computer Graphics, 2010. **16**(6): p. 1281-1290.
86. Paulovich, F.V., et al., *Using multidimensional projection techniques for reaching a high distinguishing ability in biosensing*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011. **400**(4): p. 1153-1159.
87. Paulovich, F.V., et al., *Information visualization techniques for sensing and biosensing*. Analyst, 2011. **136**(7): p. 1344-1350.
88. Volpati, D., et al., *Toward the Optimization of an e-Tongue System Using Information Visualization: A Case Study with Perylene Tetracarboxylic Derivative Films in the Sensing Units*. Langmuir, 2012. **28**(1): p. 1029-1040.
89. Moraes, M.L., et al., *Detection of glucose and triglycerides using information visualization methods to process impedance spectroscopy data*. Sensors and Actuators, B: Chemical, 2012. **166-167**: p. 231-238.
90. Paulovich, F.V., *Mapeamento de dados multi-dimensionais - integrando mineração e visualização*, in *Instituto de Matemática e Ciências da Computação*. 2008, USP: São Carlos.
91. Tejada, E., R. Minghim, and L.G. Nonato, *On improved projection techniques to support visual exploration of multi-dimensional data sets*. Information Visualization Journal, 2003. **2**: p. 218-231.
92. Skoog, D., J. Holler, and S. Crouch, *Principles of instrumental analysis*. 2006: Brooks Cole.
93. Sala, O., *Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho*. 1996, São Paulo: Editora Unesp.
94. Laserna, J.J., *Modern techniques in raman spectroscopy*. 1996, Toronto: John Wiley & Sons.
95. Rubim, J.C. and R.F. Aroca, *The observation of high order overtones and combinations in the SERRS spectra of a perylene dye spin coated onto silver island films*. Physical Chemistry Chemical Physics, 2008. **10**(35): p. 5412-5418.
96. Goulet, P.J.G., N.P.W. Pieczonka, and R.F. Aroca, *Overtones and combinations in single-molecule surface enhanced resonance Raman scattering spectra*. Analytical Chemistry, 2003. **75**(8): p. 1918-1923.
97. Atkins, P. and J. Paula, *Physical chemistry*. 2008: Oxford University press.
98. Giessibl, F.J., *Advances in atomic force microscopy*. Reviews of Modern Physics, 2003. **75**(3): p. 949-983.
99. Withers, J.R. and D.E. Aston, *Nanomechanical measurements with AFM in the elastic limit*. Advances in Colloid and Interface Science, 2006. **120**(1-3): p. 57-67.
100. Binnig, G., C.F. Quate, and C. Gerber, *Atomic force microscope*. Physical Review Letters, 1986. **56**(9): p. 930-933.
101. Shao, Z.F., et al., *Biological atomic force microscopy: What is achieved and what is needed*. Advances in Physics, 1996. **45**(1): p. 1-86.
102. Lal, R. and S.A. John, *Biological applications of atomic-force microscopy*. American Journal of Physiology, 1994. **266**(1): p. C1-&.

103. Pasquini, D., et al., *Extraction of lignin from sugar cane bagasse and Pinus taeda wood chips using ethanol-water mixtures and carbon dioxide at high pressures*. Journal of Supercritical Fluids, 2005. **36**(1): p. 31-39.
104. Pereira, A.A., et al., *Lignin from sugar cane bagasse: Extraction, fabrication of nanostructured films, and application*. Langmuir, 2007. **23**(12): p. 6652-6659.
105. Glazer, A.N. and H. Nikaido, *Microbial biotechnology : fundamentals of applied microbiology* 2007, Cambridge; New York: Cambridge University Press.
106. Feitosa, E., G. Karlsson, and K. Edwards, *Unilamellar vesicles obtained by simply mixing dioctadecyldimethylammonium chloride and bromide with water*. Chemistry and Physics of Lipids, 2006. **140**(1-2): p. 66-74.
107. da Silva, B.A., et al., *Nanostructured films employed as sensing units in an "electronic tongue" system*. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2007. **7**(2): p. 510-514.
108. Constantino, C.J.L., et al., *Nanostructured films of perylene derivatives: High performance materials for taste sensor applications*. Sensor Letters, 2004. **2**(2): p. 95-101.
109. Paulovich, F.V., et al., *Information visualization techniques for sensing and biosensing*. Analyst, 2011 (in press).
110. Minghim, R., F.V. Paulovich, and A.d. Andrade Lopes, *Content-based text mapping using multi-dimensional projections for exploration of document collections*, in *Visualization and Data Analysis 2006*, R.F.R.J.C.G.M.T.B.K. Erbacher, Editor. 2006.
111. Constantino, C.J.L. and R.F. Aroca, *Surface-enhanced resonance Raman scattering imaging of Langmuir-Blodgett monolayers of bis(benzimidazo)perylene on silver island films*. Journal of Raman Spectroscopy, 2000. **31**(10): p. 887-U3.
112. Constantino, C.J.L., et al., *Surface pressure-area isotherms for Langmuir monolayers and a docking molecular orientation of perylene tetracarboxylic derivatives on a water surface*. Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy, 2004. **49**: p. 64-72.
113. Adachi, M., Y. Murata, and S. Nakamura, *Spectral similarity and difference of naphthalenetetracarboxylic dianhydride, perylenetetracarboxylic dianhydride, and their derivatives*. Journal of Physical Chemistry, 1995. **99**(39): p. 14240-14246.
114. Mercadante, R., et al., *Molecular orbital calculations of perylenetetracarboxylic monoimide and bisimide. Alkyl derivatives and heteroatom analogs*. Theochem-Journal of Molecular Structure, 1997. **394**(2-3): p. 215-226.
115. Aroca, R.F. and C.J.L. Constantino, *Surface-enhanced Raman scattering: Imaging and mapping of Langmuir-Blodgett monolayers physically adsorbed onto silver island films*. Langmuir, 2000. **16**(12): p. 5425-5429.
116. Ramamurthy, V., *Photochemistry in organized and constrained media*. 1991, New York: VCH.
117. Aroca, R.F., C.J.L. Constantino, and J. Duff, *Surface-enhanced Raman scattering and imaging of Langmuir-Blodgett monolayers of bis(phenethylimido)perylene on silver island films*. Applied Spectroscopy, 2000. **54**(8): p. 1120-1125.
118. Constantino, C.J.L., J. Duff, and R. Aroca, *Surface enhanced resonance Raman scattering imaging of Langmuir-Blodgett monolayers of bis (benzimidazo) thioperylene*. Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2001. **57**(6): p. 1249-1259.
119. Paulovich, F., et al., *Using multidimensional projection techniques for reaching a high distinguishing ability in biosensing*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011. **400**(4): p. 1153-1159.
120. Wiziack, N.K.L., et al., *Effect of film thickness and different electrode geometries on the performance of chemical sensors made of nanostructured conducting polymer films*. Sensors and Actuators B-Chemical, 2007. **122**(2): p. 484-492.

121. Gift, A.D. and L.S. Taylor, *Hyphenation of Raman spectroscopy with gravimetric analysis to interrogate water-solid interactions in pharmaceutical systems*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007. **43**(1): p. 14-23.
122. Kaminskii, A.A., *Stimulated Raman scattering by C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub> sugar (Sucrose)*. Crystallography Reports, 2003. **48**(2): p. 295-299.
123. Aoki, P.H.B., et al., *Study of the interaction between cardiolipin bilayers and methylene blue in polymer-based Layer-by-Layer and Langmuir films applied as membrane mimetic systems* Vibrational Spectroscopy, 2010. **54**: p. 93-102.
124. Leznoff, C.C. and A.B.P. Lever, *Phthalocyanines: Properties and applications*. 1993, New York: VCH.
125. Camp, P.J., et al., *Aggregation of copper(II) tetrasulfonated phthalocyanine in aqueous salt solutions*. Journal of Physical Chemistry A, 2002. **106**(44): p. 10725-10732.
126. Zampa, M.F., et al., *Natural gum-assisted phthalocyanine immobilization in electroactive nanocomposites: Physicochemical characterization and sensing applications*. Biomacromolecules, 2007. **8**(11): p. 3408-3413.
127. Silva, J.R., N.C. de Souza, and O.N. Oliveira, *Adsorption kinetics and charge inversion in layer-by-layer films from nickel tetrasulfonated phthalocyanine and poly(allylamine hydrochloride)*. Journal of Non-Crystalline Solids, 2010. **356**(18-19): p. 937-940.
128. Lin, S.Y. and C.W. Dence, *Methods in Lignin Chemistry*. 1992, Berlin: Springer-Verlag.
129. Lambert, J.B., et al., *Organic Structural Spectroscopy*. 1998, New Jersey: Prentice-Hall: Upper Saddle River.
130. Zanolim, A.A., *Fabricação e caracterização estrutural de filmes evaporados de ftalocianinas*, in *Departamento de Física, Química e Biologia*. 2009, UNESP: Presidente Prudente.
131. Pasquini, D., et al., *Surface morphology and molecular organization of lignins in Langmuir-Blodgett films*. Langmuir, 2002. **18**(17): p. 6593-6596.
132. Riul, A., et al., *An electronic tongue using polypyrrole and polyaniline*. Synthetic Metals, 2003. **132**(2): p. 109-116.
133. Aoki, P.H.B., et al., *Coupling surface-enhanced resonance Raman scattering and electronic tongue as characterization tools to investigate biological membrane mimetic systems*. Analytical Chemistry, 2010. **82**(9): p. 3537-3546.
134. Kitagawa, I.L., *Caracterização por espectroscopia vibracional de filmes "layer-by-layer" contendo ftalocianina, polímeros condutores e gomas naturais*, in *Departamento de Física, Química e Biologia*. 2009, UNESP: Presidente Prudente.