



Inês Correia Gonçalves Marques

Licenciada em Ciências de Engenharia Física

Desenvolvimento de um sensor de triclosan em meio aquoso complexo

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Física

Orientadora: Professora Doutora Maria de Fátima Guerreiro da Silva Campos Raposo, Professora Auxiliar, FCT-UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Maria Isabel Simões Catarino

Arguente: Prof. Doutora Alexandra de Jesus Branco Ribeiro

Vogal: Prof. Doutora Maria de Fátima Guerreiro da Silva Campos Raposo

Desenvolvimento de um sensor de triclosan em meio aquoso complexo

Copyright © 2016 - Inês Correia Gonçalves Marques, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa, Universidade NOVA de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

"I'll leave tomorrow's problems to tomorrow's me" - Saitama

Agradecimentos

À minha orientadora, a Professora Doutora Maria de Fátima Raposo, pela oportunidade de realizar esta dissertação sob a sua orientação e pelo apoio e total disponibilidade que sempre teve.

À Professora Doutora Susana Sério, pela orientação científica transmitida e pela disponibilização do laboratório e do espectrofotómetro de UV-Vis.

À Fundação para a Ciência e a Tecnologia – FCT pelo projecto financiado PTDC/FIS-NAN/0909/2014.

Aos meus colegas de curso, Paulo Zagalo, Filipe Bernardo, Gonçalo Carvalho, Pedro Custódio, Pedro Silva, Catarina Fonseca, António Barroso, Guilherme Pereira, Miguel Baeta e Mário Xavier que me apoiaram ao longo dos estudos com o seu companheirismo e bons momentos.

Ao Gonçalo Barreto, cujo humor e cooperação no laboratório foram determinantes para realizar o meu trabalho.

Ao João Paulo Dinis pela inspiração, encorajamento e conhecimentos científicos que me transmitiu ao longo de vários anos.

Ao Adérito Santos pela ajuda com o dimensionamento do suporte no *SolidWorks*.

À minha família e namorado.

Resumo

Sendo a água um recurso essencial para a vida, é fundamental prevenir a sua contaminação. As estações de tratamento de águas residuais (ETAR) são pontos fulcrais na manutenção da qualidade da água, uma vez que permitem remover poluentes da água antes que esta seja descarregada. No entanto, alguns Produtos Farmacêuticos e de Cuidado Pessoal (PPCPs), abundantemente utilizados por todos nós, chegam às águas residuais e às ETAR, não sendo eliminados durante os processos de tratamento. O triclosan, inserido nesta classe de produtos, pode levar a resíduos de longa duração, dado ser um composto estável e lipofílico, promovendo efeitos adversos nos organismos. Deste modo, pretende-se desenvolver sistemas sensoriais que possam detectar este poluente em água a baixas concentrações. Neste trabalho, recorreu-se ao conceito de Língua Eletrónica através da técnica de Espectroscopia de impedância para desenvolver um protótipo que permita detectar em água pequenas quantidades de triclosan em concentrações de 10^{-6} M a 10^{-12} M. Para tal protótipo fizeram-se filmes finos pelas técnicas de Camada-sobre-Camada (*LbL*) e de *sputtering*, após selecção de moléculas que se adequem à detecção de triclosan, aumentando a afinidade e sensibilidade do sensor. Foram analisadas soluções com diferentes concentrações de triclosan e de cloreto de sódio, de modo a garantir que os eléctrodos, sem quaisquer revestimentos, são funcionais e indiciam a presença das moléculas-alvo. Para fazer a caracterização dos filmes recorreu-se a uma análise microscópica e a técnicas de espectrofotometria de ultravioleta-visível antes e após o contacto com triclosan. Os resultados dos espectros de impedância foram obtidos através do analisador *HAMEG Programmable LCR Bridge HM8118*, sendo posteriormente analisados estatisticamente através de Análise de Componentes Principais, permitindo a sua interpretação. Foi possível assim concluir que as propriedades eléctricas dos filmes fabricados têm uma dependência com a concentração de triclosan em água, na gama de concentrações utilizada.

Palavras-Chave: Triclosan; Língua Electrónica; Sensor; Espectroscopia de impedância; Filmes finos; Camada-sobre-camada.

Abstract

Because water is an essential resource for life, it is key to prevent its contamination. Waste water treatment plants (WWTP) remove pollutants from waste water, treating it before it is discharged. Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) are constantly used by ourselves, reaching WWTP, but are not efficiently treated by conventional treatment processes. Triclosan, inserted in this class of products, can lead to long-term problems since it is a stable lipophilic compound, promoting adverse effects in organisms. Thus, it is intended to develop sensory systems that can detect this pollutant in water at low concentrations. In this study, we used the concept of Electronic Tongue based on the Impedance Spectroscopy technique, to develop a prototype capable of detecting small amounts of triclosan in water with concentrations between 10^{-6} M and 10^{-12} M. For this prototype, thin films were manufactured by the Layer-by-Layer technique (*LbL*) and by sputtering, using a selection of suitable molecules for the detection of triclosan, increasing the affinity and sensibility of the sensor. Solutions with different concentrations of triclosan and sodium chloride were analyzed, to ensure that the electrodes without any coatings are functional and indicate the presence of target molecules. To make the characterization of the films, a microscopic and ultraviolet-visible spectrophotometry analysis were made before and after contact with triclosan. The results of impedance spectra were obtained through the analyzer HAMEG Programmable LCR Bridge HM8118 and subsequently analyzed statistically by Principal Component Analysis (PCA), allowing its interpretation. It was concluded that the electrical properties of the produced films have a dependency on the concentration of triclosan in water, in the studied range of concentrations.

Keywords: Triclosan; Electronic Tongue; Sensor; Impedance Spectroscopy; Thin films; Layer-by-layer.

Índice

1. Introdução	1
1.1 Objectivos e enquadramento.....	1
1.2 Estrutura.....	3
2. Conceitos teóricos	5
2.1 Língua Electrónica.....	5
2.1.1 Língua electrónica aplicada à espectroscopia de impedância	6
2.2 Conceito de impedância.....	6
2.2.1 Circuito equivalente para elementos em paralelo	10
2.2.2 Factor de dissipação.....	15
2.3 Análise de Componentes Principais.....	16
3. Materiais e Métodos Experimentais	19
3.1 Sensores	19
3.1.1 Características dos sensores interdigitados de ouro	19
3.1.2 Materiais para a produção de filmes finos.....	20
3.2 Preparação de filmes finos	24
3.2.1 Deposição de filmes finos pela técnica de Camada-sobre-Camada	24
3.2.2 Deposição de filmes finos de nanotubos de carbono por pulverização catódica DC	26
3.3 Soluções de análise de triclosan e cloreto de sódio.....	28
3.4 Caracterização eléctrica por espectroscopia de impedância	30
3.5 Caracterização de filmes por Espectrofotometria de absorvância Ultravioleta-Visível.....	31
3.6 Caracterização de filmes por microscopia óptica.....	36
4. Resultados e Discussão	39
4.1 Análise de soluções simples com eléctrodos interdigitados sem revestimentos sensoriais.....	39
4.1.1 Análise de Água Ultrapura.....	40
4.1.2 Análise de Água Ultrapura e de soluções aquosas de Cloreto de sódio	40
4.1.3 Análise de Água Ultrapura e de soluções aquosas de triclosan	42
4.2 Análise de soluções com eléctrodos interdigitados com revestimentos sensoriais	46
4.2.1 Análise de impedância de soluções de triclosan com filme de (PAH/PAZO) ₁₅	46
4.2.2 Análise de impedância de soluções de triclosan com filme de (PEI/OG) ₁₅	49
4.2.3 Análise de impedância de soluções de triclosan com filme de (Chi/OG) ₁₅	52
4.2.4 Análise de impedância de soluções de triclosan com filme de nanotubos de carbono.....	55
4.3 Análise de soluções complexas com eléctrodos interdigitados sem revestimentos sensoriais.....	57
4.4 Aplicação de PCA para diferenciação de concentrações de triclosan.....	59
5. Conclusão e Perspectivas futuras	65
5.1 Conclusão	65
5.2 Perspectivas futuras	66

5.3 Trabalhos no âmbito da tese	67
Referências.....	69
Apêndices	73

Índice de Figuras

Figura 2.1– Analogia entre a informação obtida por uma língua humana e a informação obtida por uma LE.....	5
Figura 2.2 - Fluxo da corrente i através de um circuito RLC.....	7
Figura 2.3 - Representação vectorial a) do desfasamento entre a queda de tensão de cada componente R, L e C do circuito e a corrente e b) da diferença de fase entre as tensões totais aplicadas ao circuito.....	8
Figura 2.4 - Relação entre resistência, impedância, reactância e diferença de fase ϕ entre a corrente e a tensão aplicadas.....	10
Figura 2.5 - Ilustração da configuração de dois eléctrodos interdigitados de ouro.....	11
Figura 2.6- a) Ilustração do princípio de funcionamento de um sensor interdigitado e da sua semelhança com o b) princípio de funcionamento de um condensador de placas paralelas.....	11
Figura 2.7- Circuito com uma resistência (R) e um condensador (C) em paralelo, alimentados por uma fonte de tensão $v_t = V \cos(\omega t)$	14
Figura 2.8 – a) Vista de corte de um sensor e b) respectivo circuito equivalente aproximado.....	15
Figura 3.1–a) Fotografia do sensor interdigitado usado e sua b) representação dimensional.....	19
Figura 3.2–Estrutura molecular do PAH.....	21
Figura 3.3–Estrutura molecular do PAZO.....	21
Figura 3.4–Estrutura molecular do PEI.....	22
Figura 3.5–Estrutura molecular do OG.....	22
Figura 3.6– Estrutura molecular da quitosana.....	23
Figura 3.7– Nanotubos de carbono de parede única (SWCNT) e nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT).....	24
Figura 3.8–Representação da técnica de automontagem e respectiva estrutura do filme.....	25
Figura 3.9– Ilustração da bancada de trabalho para a técnica de <i>LbL</i> por <i>spray</i>	26
Figura 3.10– Ilustração esquemática do processo de pulverização catódica.....	27
Figura 3.11– Técnica de diluições em série.....	28
Figura 3.12–Estrutura molecular do triclosan.....	29
Figura 3.13– Ilustração dos componentes que constituem o sistema experimental de impedância. O (1) suporte, (2) a sonda com o sensor, (3) o banho termostático e (4) o analisador de impedância.....	31
Figura 3.14– Ilustração do sistema de aquisição do espectrofotómetro <i>UV-2101PC</i> da <i>Shimadzu</i>	32
Figura 3.15– Comparação dos espectros de Absorvância dos filmes de $(PAH/PAZO)_{15}$, $(PEI/OG)_{15}$ e $(quitosana/OG)_{15}$ sobre os eléctrodos interdigitados e do sensor sem filme.....	34

Figura 3.16– Comparação dos espectros de absorvância dos filmes de a) (PAH/PAZO) ₁₅ , b) (PEI/OG) ₁₅ e c) (Chi/OG) ₁₅ sobre os eléctrodos interdigitados antes e após entrarem em contacto com as soluções aquosas de triclosan.....	35
Figura 4.1– a) Espectro de impedância e b) ângulo obtidos para água ultrapura em eléctrodos interdigitados sem camadas sensoriais	40
Figura 4.2– a) Espectro de impedância, b) factor de dissipação, c) capacitância, e d) resistência obtidos para água ultrapura e soluções aquosas de cloreto de sódio com concentrações entre 10 ⁻¹² M e 10 ⁻⁶ M, a 25°C, em eléctrodos interdigitados sem camadas sensoriais.....	41
Figura 4.3– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de cloreto de sódio em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz.....	42
Figura 4.4– a) Espectro de impedância, b) factor de dissipação, c) capacitância e d) obtidos para água ultrapura e soluções aquosas de triclosan com metanol com concentrações entre 10 ⁻¹² M e 10 ⁻⁶ M, a 25°C, em eléctrodos interdigitados sem camadas sensoriais.....	43
Figura 4.5 – Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de triclosan em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz.....	44
Figura 4.6– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de metanol em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz.....	45
Figura 4.7– a) Espectros de impedância, b) factor de dissipação, c) capacitância e d) resistência obtidos para água ultrapura e soluções aquosas de triclosan com metanol com concentrações entre 10 ⁻¹² M e 10 ⁻⁶ M, a 25°C, para um filme de (PAH/PAZO) ₁₅	47
Figura 4.8– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de triclosan em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um filme de (PAH/PAZO) ₁₅	48
Figura 4.9 - Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de metanol em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um filme de (PAH/PAZO) ₁₅	49
Figura 4.10– a) Espectros de impedância, b) factor de dissipação, c) capacitância e d) resistência obtidos para água ultrapura e soluções aquosas de triclosan com metanol com concentrações entre 10 ⁻¹² M e 10 ⁻⁶ M, a 25°C, para um filme de (PEI/OG) ₁₅	50
Figura 4.11– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de triclosan em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um filme de (PEI/OG) ₁₅	51
Figura 4.12 - Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de metanol em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um filme de (PEI/OG) ₁₅	52
Figura 4.13– a) Espectros de impedância, b) factor de dissipação, c) capacitância e d) resistência obtidos para água ultrapura e soluções aquosas de triclosan com metanol com concentrações entre 10 ⁻¹² M e 10 ⁻⁶ M, a 25°C, para um filme de (Chi/OG) ₁₅	53
Figura 4.14– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de triclosan em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um filme de (Chi/OG) ₁₅	54
Figura 4.15– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de metanol em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um filme de (Chi/OG) ₁₅	55
Figura 4.16– a) Espectros de impedância, b) factor de dissipação, c) capacitância e d) resistência obtidos para água ultrapura e soluções aquosas de triclosan com metanol com concentrações entre 10 ⁻¹² M e 10 ⁻⁶ M, a 25°C, para um filme de MWCNT.....	56

Figura 4.18– Espectros de a) impedância, b) factor de dissipação, c) capacitância e d) resistência para soluções aquosas de triclosan com concentrações entre 10^{-12} M e 10^{-6} M e uma concentração constante de 10^{-2} M de NaCl	58
Figura 4.19– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de triclosan em solução aquosa com NaCl, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um sensor sem filme.	59
Figura 4.20– Representação da relação entre a concentração de triclosan e as componentes principais F1 e F2, que em conjunto explica m a) 94,38% da variância total dos dados, para um sensor sem filme, b) 94,47% da variância total dos dados e c) (F2 e F3) 44,14% para um sensor com filme de (PAH/PAZO) ₁₅ , d) 98,90% da variância total dos dados, para um sensor com filme de (PEI/OG) ₁₅ , e) 96,32% da variância total dos dados, para um sensor com filme de (Chi/OG) ₁₅ , f) 93,28% da variância total dos dados, para um sensor com filme de MWCNT.	62
Figura 4.21– Representação da relação entre a concentração de triclosan e as componentes principais F1 e F2, que em conjunto explicam 92,31% da variância total dos dados, para todos os eléctrodos, para todos os filmes. 63	
Figura 6.1- Imagem do suporte projectado	75

Índice de Tabelas

Tabela 1.1- Algumas características de sensores de triclosan.	2
Tabela 3.1- Dimensões do sensor.....	19
Tabela 3.2- Algumas propriedades físico-químicas do triclosan	29
Tabela 3.3- Microscopia óptica de reflexão com microscópio ISM-PRO: a) sem filme, b) filme de (PAH/PAZO) ₁₅ , c) filme de (PAH/PAZO) ₁₅ usado, d) filme de (PEI/OG) ₁₅ , e) filme de (PEI/OG) ₁₅ usado, f) filme de (Chi/OG) ₁₅ e g) filme de (Chi/OG) ₁₅ usado.	36
Tabela 3.4- Microscopia óptica de reflexão, com microscópio Eclipse LV100, com ampliação total de 50x: a) sensor sem filme, b) sensor com filme de (PAH/PAZO) ₁₅ , c) sensor com filme de (PEI/OG) ₁₅ , d) sensor com filme de (Chi/OG) ₁₅ e e) sensor com filme de nanotubos de carbono (MWCNT).....	37
Tabela 4.1- Sistematização das medições de impedância efectuadas.	39
Tabela 4.2- Resumo dos resultados de PCA	63

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

Abs	Absorvância
AC	Corrente alternada (<i>Alternating Current</i>)
BK7	Vidro óptico de borosilicato
C	Capacitância/ condensador
c.d.o.	Comprimento de onda
Chi	Quitosana (<i>Chitosan</i>)
CEFITEC	Centro de Física e Investigação Tecnológica
DC	Corrente contínua (<i>Direct Current</i>)
ENR	Enzima enoil-ACP reductase (<i>Enoyl-acyl carrier protein reductase</i>)
FCT/UNL	Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa
G	Condutância eléctrica
GO	Óxido de grafeno (<i>Graphene oxide</i>)
Kow	Coefficiente de partição octanol-água
L	Bobina
LbL	Camada-sobre-camada (<i>Layer-by-Layer</i>)
LE	Língua Electrónica
M	Molar (mol/dm ³)
MWCNT	Nanotubos de Carbono de Múltiplas Paredes (<i>Multi-walled carbon nanotubes</i>)
NAD	Dinucleótido de nicotinamida e adenina (<i>Nicotinamide adenine dinucleotide</i>)
PAH	Poli(hidrocloroeto de alilamina)
(PAH/PAZO) ₁₅	Filme fino de quinze bicamadas de PAH e PAZO
PAZO	Poli(1-(4-(3-carboxi-4-hidroxifenilazo)-benzenesulfonamida)-1,2 etanodil), sal de sódio
PCA	Análise de Componentes Principais (<i>Principal Component Analysis</i>)
PEI	Poli(etilenoimina)
(PEI/OG) ₁₅	Filme fino de quinze bicamadas de PEI e OG

PPCPs	Produtos Farmacêuticos e de Cuidado Pessoal (Pharmaceuticals and Personal Care Products)
(Chi/OG) ₁₅	Filme fino de quinze bicamadas de Quitosana e OG
R	Resistência
RNA	Ácido ribonucleico (Ribonucleic acid)
SWCNT	Nanotubos de Carbono de Parede Única (<i>Single-Wall Carbon NanoTubes</i>)
TCS	Triclosan
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta-Visível
Vis	Visível



1. Introdução

1.1 Objectivos e enquadramento

Dada a importância da água, é essencial detectar e eliminar os contaminantes que afectam a sua qualidade, salvaguardando a saúde pública e o bem-estar social. As estações de tratamentos de águas residuais actuam no sentido de tratar a água de forma a que a mesma seja introduzida num curso de água sem restrições. Contudo, os tratamentos convencionais podem ser insuficientes e ineficazes para alguns compostos, potencialmente perigosos, com consequências nos organismos vivos e na cadeia trófica. Os Produtos Farmacêuticos e de Cuidado Pessoal (PPCPs) ^[1], cujo consumo se dá à escala global, requerem especial atenção pela sua introdução incessante e consequências no ambiente. Estes produtos têm a capacidade de persistir no ambiente e nos seres vivos com efeitos nocivos. Um dos exemplos mais comuns de PPCPs é o Triclosan.

O 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxy)-fenol ou triclosan (TCS), é utilizado como agente antibacteriano e como conservante em PPCPs como medicamentos, pastas dentífricas, sabonetes, cremes, entre outros. Este composto foi produzido pela primeira vez na década de 60, pela empresa de químicos *Ciba-Geigy*, tendo sido introduzido ao consumidor em 1972 na área da saúde ^[2,3] e posteriormente expandindo-se. O TCS é um composto aromático, com grupos funcionais fenóis (OH) e éteres (R-O-R'), com a aparência de um pó branco sólido, pouco solúvel em água mas solúvel em etanol e metanol. O TCS, ao atingir a membrana citoplasmática pode afectar a síntese de RNA, responsável pela síntese de proteínas da célula. A actividade antibacteriana do TCS deve-se à sua ligação com a enzima enoil-ACP reductase (ENR)^[4], responsável pela síntese de ácidos gordos, essenciais para manter os níveis saudáveis de lípidos no sangue. Quando o TCS se liga à ENR, aumenta a afinidade da ENR com dinucleótido de nicotinamida e adenina (NAD⁺), resultando na formação de ENR-(NAD⁺)-TCS. O NAD tem um papel fundamental na produção de energia das células. Assim as células deixam de conseguir sintetizar ácidos gordos, fundamentais para a renovação das membranas celulares e acabam por morrer^[5]. O TCS também sofre degradação, apresentando variados produtos. Durante o processo de tratamento de águas residuais, o triclosan é transformado em metiltriclosan, cuja lipofilicidade e resistência a processos de biodegradação e de fotólise fazem com que este metabolito exiba maior grau de persistência no meio ambiente do que o TCS. A fotodegradação do TCS em soluções aquosas pode produzir dioxinas e clorofenóis e, em água ou em vários produtos de consumo, também pode reagir com cloro ou cloramina livres para produzir clorofórmio e outros derivados ^[6].

A hifrofobicidade de um composto permite caracterizar o seu comportamento no ambiente, ao permitir prever a migração de compostos orgânicos dissolvidos no solo e em água, bem como a sua

toxicidade para os seres vivos. Assim considerou-se esta propriedade para caracterizar o TCS. O Coeficiente de Partição Octanol-Água, K_{ow} , definido pela razão das concentrações de um soluto em octanol e em água, permite medir a lipofilicidade de um composto, já que é uma medida da diferença na solubilidade do composto nestas duas fases^[7]. No caso particular do TCS, o valor de $\log K_{ow}$ é 4.76, o que significa que apesar de ser pouco solúvel em água, apresenta afinidade com gorduras. A sua solubilidade aumenta à medida que o pH se torna mais alcalino e tem elevada mobilidade em meio aquoso.

A introdução contínua de TCS no ambiente pode levar a resíduos de longa duração, dado ser um composto estável e lipofílico, promovendo efeitos adversos nos organismos. Esta preocupação motivou vários estudos que têm vindo a permitir verificar os efeitos biológicos causados pelo TCS, como por exemplo, a diminuição dos níveis de estrogénio da placenta durante a gravidez^[8], alteração dos níveis de testosterona causando uma diminuição da produção de esperma^[9], alterações do sistema endócrino^[10], diminuição da viabilidade e sobrevivência de células estaminais neurais^[11] e aumento do índice de massa corporal^[12]. Tendo em conta estes resultados e sabendo que, no ambiente, o TCS foi encontrado em mais de 50% das amostras de águas residuais analisadas^[13], é urgente desenvolver sistemas que o possam detectar nestas matrizes em baixas concentrações.

Têm sido desenvolvidas técnicas para a detecção de TCS, como por exemplo, através de métodos electroquímicos^[14,15,16,17], cromatografia líquida^[18,19] ou gasosa^[20] e métodos de luminescência^[21]. No entanto, alguns dos materiais utilizados são dispendiosos e ainda não se superou a dificuldade de produzir um sensor eficaz, económico e descartável, para que possa ser utilizado a larga escala. Na tabela seguinte encontram-se resumidas as informações relativas aos sensores já desenvolvidos, descritos acima.

Tabela 1.1 – Algumas características de sensores de triclosan.

Tipo de sensor	Técnica	Materiais utilizados	Limite de detecção	Referências
Electroquímico/MIPs	Voltametria cíclica	poli-o-fenilenediamina	80 nM	[14]
Electroquímico	Voltametria cíclica	Nanotubos de carbono	57nM	[15]
Electroquímico	Voltametria cíclica e espectroscopia de impedância	Nanodots e quitosana	9,2 nM	[16]
Electroquímico/SPR/MIP	FTIR,AFM e ângulo de contacto	<i>poly(2-hydroxyethylmethacrylate-methacryloylamidoglutamic acid) [p(HEMAGA)]</i>	0.017 ng/ml	[17]
Electroquímico	Cromatografia líquida	Fibras de carbono	1ng ml ⁻¹	[18]
Microextração líquida	Cromatografia líquida	Sal	0.09 ng ml ⁻¹	[19]
Fotoionização	Cromatografia gasosa	<i>2,2,4-trimetilpentano 2 4 8-trichlorodibenzofuran</i>	0.5 µg/g	[20]
Transformação fotoquímica	Luminescência química	1-chloro-dibenzo-p-dioxin (1-DCDD) 2,8-dichloro-benzo-p-dioxin (2,8-DCDD)	5.0 x 10 ⁻⁸ M	[21]

Pretende-se com este projecto desenvolver um sistema de sensores que permita a detecção de baixas concentrações de TCS (da ordem dos pico-molar) em soluções aquosas simples e que possa posteriormente ser aplicado em matrizes complexas. Para tal, utilizou-se a abordagem de Língua Electrónica (LE) aplicada à técnica de Espectroscopia de impedância para recolher e analisar os resultados obtidos. Através da caracterização eléctrica de impedância em função da frequência, pretende-se distinguir diferentes concentrações de triclosan em soluções aquosas de um modo não destrutivo e relativamente rápido. Se se mostrar viável, esta alternativa para a detecção de TCS poderá ser desenvolvida para utilização a larga escala e, em conjunto com métodos adequados de tratamento de águas, contribuir para a remoção deste poluente do ambiente. Este tipo de sensor já foi abordado em trabalhos semelhantes ^[22,23,24,25], realizados na FCT/UNL, com bons resultados.

1.2 Estrutura

Esta dissertação foi estruturada em cinco capítulos. O **Capítulo 1** consiste na introdução, onde são abordados os objectivos do projecto e o enquadramento do problema. No **Capítulo 2** são descritos os conceitos teóricos que fundamentam o conceito de Língua Electrónica aplicada à Espectroscopia de impedância. O **Capítulo 3** descreve os procedimentos e métodos experimentais assim como os materiais e reagentes utilizados, bem como as metodologias de produção de filmes finos e de análise de resultados. Também descreve a caracterização dos filmes finos por Microscopia Óptica e Espectrofotometria UV-Vis de modo a verificar a adsorção do TCS ao sensor. Através da técnica de Espectroscopia de impedância foram analisadas as propriedades eléctricas de soluções aquosas com diferentes concentrações de TCS no **Capítulo 4** e por fim apresentam-se os resultados da PCA. No **Capítulo 5** são apresentadas as conclusões gerais do estudo e algumas perspectivas futuras.

2. Conceitos teóricos



2.1 Língua Electrónica

Quando um dispositivo sofre uma alteração do seu comportamento devido à acção de uma grandeza física e fornece directa ou indirectamente um sinal que o indica, este denomina-se de sensor. Se os sensores convertem o estímulo recebido noutra grandeza, então denominam-se por transdutores. A resposta do dispositivo, *output*, pode ser de natureza eléctrica, óptica ou mecânica. Neste trabalho o princípio de detecção baseia-se na medição da impedância das amostras ^[26], ou seja, na oposição que estas fazem à passagem de corrente.

O conceito de Língua Eletrónica (LE), desenvolvida em 1990 por Kiyoski Toko, vai de encontro com a necessidade do desenvolvimento de técnicas de detecção para determinados compostos em matrizes aquosas complexas. A LE é um sistema constituído por vários sensores não específicos com grande sensibilidade e baixa selectividade, capazes de medir a resposta eléctrica de um líquido simples ou complexo a um determinado estímulo, com o objectivo de identificar as amostras e classificá-las quantitativa e qualitativamente através de métodos estatísticos ^[27]. A LE funciona de modo semelhante a uma língua humana dado que na língua existe uma conversão do paladar em sinais eléctricos que são analisados e identificados pelo cérebro, como representado na Figura 2.1.

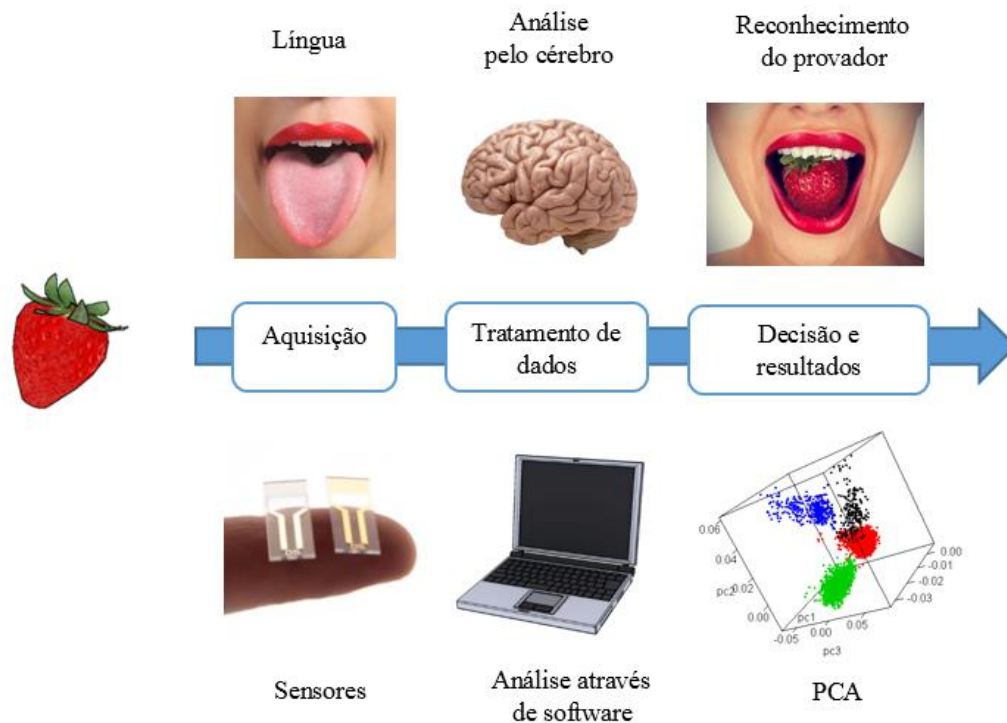


Figura 2.1– Analogia entre a informação obtida por uma língua humana e a informação obtida por uma LE ^[28].

A resposta dos sensores é uma resposta colectiva dos vários componentes da amostra, ou seja, não é específica de cada um dos seus constituintes particulares, pelo que para cada amostra diferente é esperada uma resposta diferente.

2.1.1 Língua electrónica aplicada à espectroscopia de impedância

Os métodos mais utilizados para LE baseiam-se em medições eletroquímicas, principalmente a potenciometria, a amperometria e a voltametria cíclica. Este tipo de medições é versátil e apresenta instrumentação simples e de alta sensibilidade. Existem também Línguas Electrónicas de Fluorescência, para a deteção de proteínas, e de Análise de Fluxo, para medições em líquidos não estáticos [29].

Outros tipos de LE baseiam-se na Espectroscopia de impedância, vantajosa por não necessitar de um eléctrodo de referência, ao contrário dos métodos eletroquímicos, e os materiais de medição não terem de ser necessariamente electroactivos. O sensor, dois eléctrodos interdigitados em substrato de vidro, revestidos de filmes finos para aumentar a sua sensibilidade e selectividade [29,30], fica em contacto com a solução aquosa a analisar e esta análise é feita através de um analisador de impedância. A impedância pode ser medida no domínio do tempo ou no domínio da frequência.

Para o caso do domínio no tempo, o sinal de excitação resulta da sobreposição de vários sinais de diferentes frequências, permitindo a representação dos valores de tensão e corrente no domínio da frequência. Deste modo, obtém-se a impedância associada a cada frequência dos sinais aplicados. Como todas as frequências são aplicadas simultaneamente ao sistema, este tipo de medição é mais rápido do que a medição no domínio da frequência, sendo mais adequada a sistemas eletroquímicos, pois são dinâmicos e sofrem continuamente alterações das suas propriedades [31].

Aplicando este método no domínio da frequência, a impedância do sistema é medida para cada frequência discreta do sinal aplicado aos eléctrodos interdigitados. Para o conjunto das várias frequências dos sinais de excitação aplicados, obtém-se o espectro de impedância.

2.2 Conceito de impedância

Tanto num circuito eléctrico em corrente contínua (DC) como em corrente alternada (AC) existem elementos que oferecem entraves à passagem de uma corrente. O conceito de “resistência” está associado à dissipação de energia sob a forma de calor por uma resistência mas pode ser estendido às bobinas e aos condensadores em que a energia é armazenada em campos magnéticos e eléctricos, respectivamente. Para o caso das bobinas e dos condensadores, ao aplicar uma tensão a carga é

armazenada e na ausência dessa tensão a carga armazenada é novamente fornecida ao circuito. Este tipo de resistência é designado por Reactância.

A impedância é a grandeza que engloba os conceitos de resistência e Reactância e pode ser melhor compreendida através da análise de um circuito em série dos elementos resistência (R), bobina (L) e condensador (C), representado na Figura 2.2.

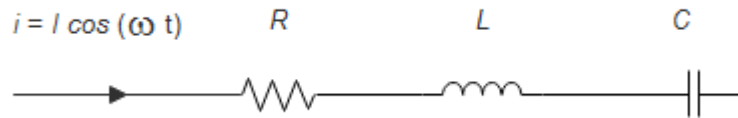


Figura 2.2 - Fluxo da corrente i através de um circuito RLC.

A corrente que flui através destes elementos é da forma $i = I \cos(\omega t)$ em que i representa o valor instantâneo da corrente no instante t .

Em cada componente R , L e C ocorrem quedas de tensão, num dado instante t , descritas respectivamente pelas relações [32]:

$$v_R(t) = R \cdot i(t) = R \cdot I \cdot \cos(\omega t) \quad (2.1)$$

$$v_L(t) = L \frac{di(t)}{dt} = -\omega \cdot L \cdot I \cdot \text{sen}(\omega t) = \omega \cdot L \cdot I \cdot \cos\left(\omega t + \frac{\pi}{2}\right) \quad (2.2)$$

$$v_C(t) = \frac{q}{C} = \left(\frac{1}{\omega \cdot C}\right) \cdot I \cdot \text{sen}(\omega t) = \left(\frac{1}{\omega \cdot C}\right) \cdot I \cdot \cos\left(\omega t - \frac{\pi}{2}\right) \quad (2.3)$$

Na equação 2.3, considerou-se $q = \int i dt$.

Na resistência, a corrente e a tensão estão em fase mas na bobina a tensão está adiantada $\frac{\pi}{2}$ em relação à corrente enquanto que no condensador está atrasada $\frac{\pi}{2}$.

A amplitude da fonte de tensão através de todos os componentes num circuito RLC em série é composta pelas três tensões individuais de cada componente. As amplitudes dessas tensões individuais, Figura 2.3 a), são dadas por:

$$V_R = R.I \quad (2.4)$$

$$V_L = \omega.L.I \quad (2.5)$$

$$V_C = \left(\frac{1}{\omega.C}\right).I \quad (2.6)$$

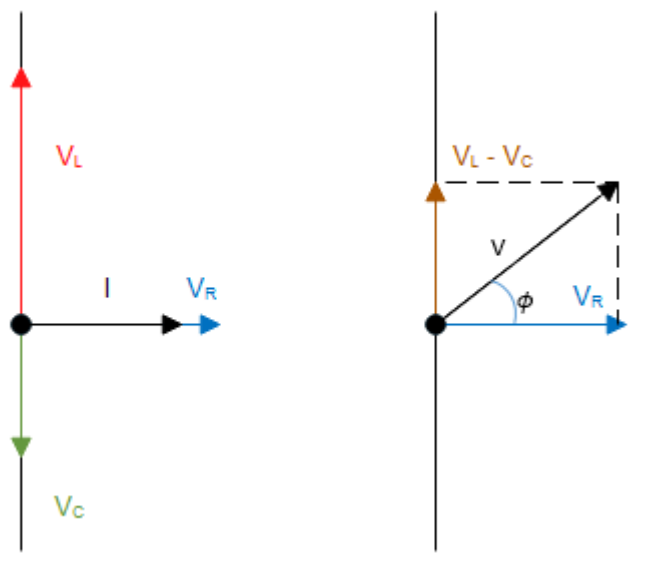


Figura 2.3 - Representação vectorial **a)** do desfasamento entre a queda de tensão de cada componente R, L e C do circuito e a corrente e **b)** da diferença de fase entre as tensões totais aplicadas ao circuito.

Aplicando a Lei de Ohm às equações 2.5 e 2.6 e substituindo $\omega.L = X_L$ e $\left(\frac{1}{\omega.C}\right) = X_C$ tem-se:

$$V_L = X_L.I \quad (2.7)$$

$$V_C = X_C.I \quad (2.8)$$

em que X_L e X_C representam as reactâncias indutiva e capacitiva, respectivamente. A reactância é expressa em ohm e representa a parte imaginária da impedância, ou seja, a oposição de uma bobina ou de um condensador à corrente num circuito AC.

Em qualquer instante a soma algébrica das quedas de tensão individuais $v_R(t)$, $v_L(t)$ e $v_C(t)$ é igual à tensão instantânea total $v(t)$ aplicada ao circuito.

$$v(t) = v_R(t) + v_L(t) + v_C(t) \quad (2.9)$$

$$v(t) = R.I.\cos(\omega t) - \omega.L.I.\text{sen}(\omega t) + \left(\frac{1}{\omega.C}\right).I.\text{sen}(\omega t) \quad (2.10)$$

$$v(t) = R.I.\cos(\omega t) + \left(\left(\frac{1}{\omega.C}\right) - \omega.L\right).I.\text{sen}(\omega t) \quad (2.11)$$

Sabendo que uma função trigonométrica do tipo $a \cos(x) + b \text{sen}(x)$ é equivalente a $A \cos(x + \phi)$ em que $A = \sqrt{a^2 + b^2}$ e $\text{tg } \phi = -\frac{b}{a}$, então a equação 2.11 fica

$$v(t) = V \cos(\omega t + \phi) \quad (2.12)$$

em que

$$V = I \sqrt{R^2 + \left(\omega.L - \left(\frac{1}{\omega.C}\right)\right)^2} = I \sqrt{R^2 + (X_L - X_C)^2} \quad (2.13)$$

$$\phi = \text{arctg} \frac{\omega.L - \left(\frac{1}{\omega.C}\right)}{R} = \text{arctg} \frac{X_L - X_C}{R} \quad (2.14)$$

Pode-se expressar a impedância de um circuito eléctrico como

$$Z = \sqrt{R^2 + (X_L - X_C)^2} \quad (2.15)$$

que corresponde ao radical da equação 2.13. Deste modo é possível escrever essa mesma expressão de forma idêntica à lei de Ohm, ou seja,

$$V = Z I \quad (2.16)$$

Assim, verifica-se que existe uma relação de proporcionalidade entre o valor máximo da tensão total e o valor máximo da corrente ^[32].

É de notar que tanto a impedância como a reactância são expressas em ohm. As grandezas R, X, Z e ϕ estão relacionadas de acordo com a Figura 2.4.

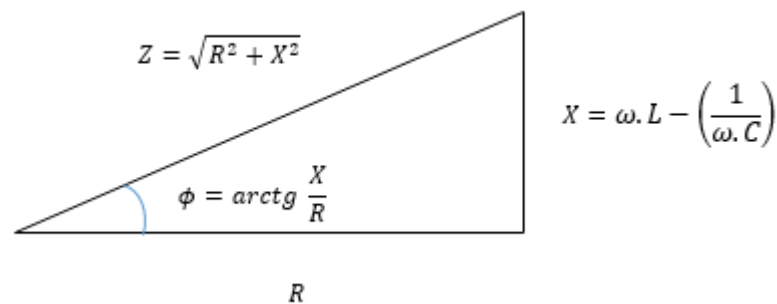


Figura 2.4 - Relação entre resistência, impedância, reactância e diferença de fase ϕ entre a corrente e a tensão aplicadas.

2.2.1 Circuito equivalente para elementos em paralelo

O sensor utilizado no sistema de impedância é constituído por um substrato dieléctrico, de vidro, sobre o qual se encontram depositadas duas bandas condutoras ou eléctrodos de ouro. Cada eléctrodo é constituído por vários “dedos” paralelos entre si e perpendiculares às bandas, sem contacto uns com os outros, de acordo com a Figura 2.5. Na análise de uma amostra, esta preenche espaçamento entre os dedos do sensor e são medidas as alterações das propriedades eléctricas à superfície dos eléctrodos.

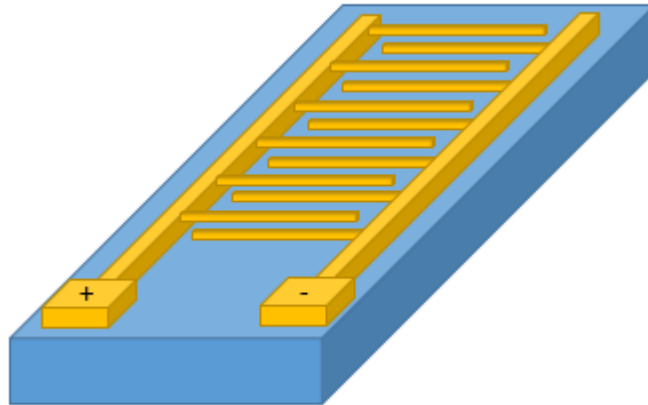


Figura 2.5 - Ilustração da configuração de dois eléctrodos interdigitados de ouro.

Dada a estrutura do sensor interdigitado, verifica-se que o seu funcionamento será semelhante ao de um condensador de placas paralelas. A relação entre estes dois dispositivos está ilustrada na Figura 2.6. Ao aplicar uma diferença de potencial entre os eléctrodos, são formados campos eléctricos no sentido do maior (positivo) para o menor (negativo) potencial.

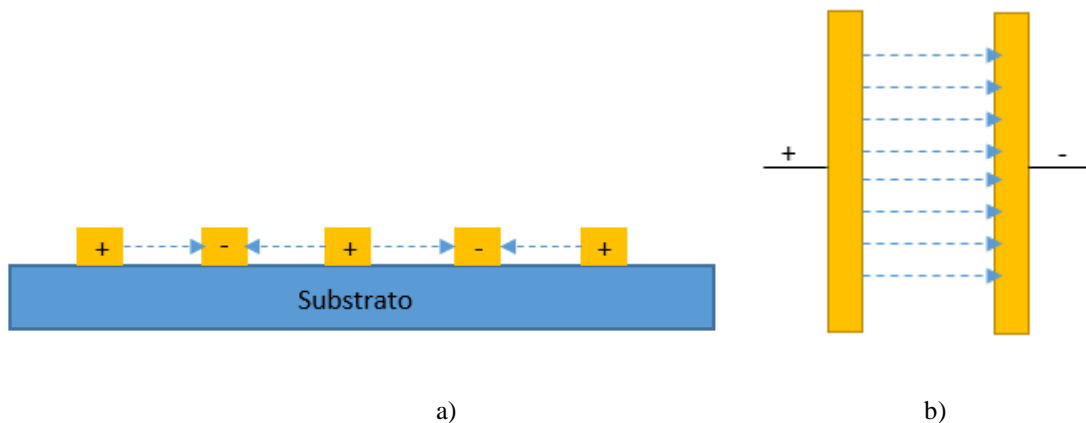


Figura 2.6- a) Ilustração do princípio de funcionamento de um sensor interdigitado e da sua semelhança com o b) princípio de funcionamento de um condensador de placas paralelas.

Para analisar um sistema com elementos em paralelo, considerou-se o caso particular de uma resistência e um condensador em paralelo. Considere-se a tensão aplicada AC do tipo $v = V \cos(\omega t)$. Em cada elemento, as correntes instantâneas são dadas por:

$$i_R = \frac{v}{R} = \frac{V \cos(\omega t)}{R} = I_R \cos(\omega t) \quad (2.17)$$

para a resistência e

$$i_C = \frac{dq}{dt} = C \frac{dv}{dt} = -\omega C V \text{sen}(\omega t) = -\frac{V}{X_C} \text{sen}(\omega t) = I_C \cos(\omega t + \frac{\pi}{2}) \quad (2.18)$$

para a capacitância, de onde resulta a corrente instantânea $i = i_R + i_C = I_R \cos(\omega t) + I_C \text{sen}(\omega t)$, ou seja,

$$i = I \cos(\omega t + \phi) \quad (2.19)$$

com

$$I = \sqrt{i_R^2 + i_C^2} \quad (2.20)$$

$$\phi = \text{arctg} \frac{I_C}{I_R} \quad (2.21)$$

Considerando dois vectores perpendiculares entre si e de módulo I_R e I_C , a corrente total corresponderá ao vector resultante. O desfasamento entre a corrente i e a tensão v é dada pelo ângulo ϕ entre I_R e I e está em fase com i_R de acordo com a equação 2.17.

Substituindo as funções seno e cosseno por funções exponenciais complexas através da relação de Euler $e^{j\omega t} = \cos(\omega t) + j \text{sen}(\omega t)$, com $j = -1$, a corrente $i = I \cos(\omega t)$ considerada no circuito RLC , pode ser substituída por $i^* = I e^{j\omega t}$. Assim sendo, $\frac{di}{dt}$ passará a ser $\frac{di^*}{dt} = j\omega I e^{j\omega t}$ e a quantidade $q = \int i dt$ será transformada em $q^* = \frac{1}{j\omega} I e^{j\omega t}$. A tensão aplicada aos três elementos do circuito RLC , $v = Ri + L \frac{di}{dt} + \frac{q}{C}$ será substituída por:

$$v^* = \left(R + j\omega L + \frac{1}{j\omega C} \right) I e^{j\omega t} \quad (2.22)$$

Considerando $i^* = I e^{j\omega t}$, simplifica-se a equação 2.22 em

$$v^* = \left(R + j\omega L + \frac{1}{j\omega C} \right) i^* \quad (2.23)$$

Deste modo obtém-se uma representação das reactâncias capacitiva e indutiva por quantidades complexas. A impedância complexa Z^* definida por um vector de módulo Z e com ângulo de fase ϕ , corresponde à primeira parcela da equação 2.22, ou seja,

$$Z^* = \left(R + j\omega L + \frac{1}{j\omega C} \right) = R + j \left(\omega L - \frac{1}{\omega C} \right) = R + j(X_L - X_C) = Z e^{j\phi} \quad (2.24)$$

Com $Z = |Z| = \sqrt{R^2 + (X_L - X_C)^2}$ e $\text{tg } \phi = \frac{X_L - X_C}{R}$ tal como se obteve nas equações 2.14 e 2.15.

Substituindo a equação 2.24 na equação 2.22

$$v^* = Z^* i^* = Z e^{j\phi} I e^{j\omega t} = Z I e^{j(\omega t + \phi)} \quad (2.25)$$

cuja parte real é $v(t) = Z I \cos(\omega t + \phi) = V \cos(\omega t + \phi)$ como a equação 2.12.

Associando várias impedâncias em série $Z_1^*, Z_2^* \dots Z_n^*$ num circuito, a impedância resultante Z^* é dada por:

$$Z^* = Z_1^* + Z_2^* + \dots + Z_n^* \quad (2.26)$$

Considerando a associação de uma resistência e de um condensador em paralelo, alimentados por uma tensão do tipo $v(t) = V \cos(\omega t)$, como se mostra na Figura 2.7, a impedância complexa Z^* do circuito será calculada através da equação 2.26. A técnica de espectroscopia de impedância considera que a amostra pode ser substituída por um circuito equivalente composto apenas por resistências e condensadores, daí desprezar-se a bobina.

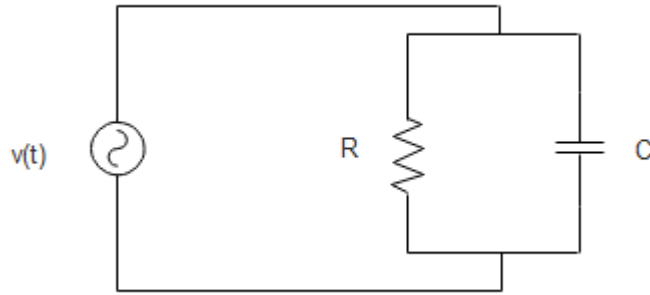


Figura 2.7- Circuito com uma resistência (R) e um condensador (C) em paralelo, alimentados por uma fonte de tensão $v(t) = V \cos(\omega t)$.

Ao ligar directamente uma resistência ou um condensador a uma fonte AC, tem-se que $Z_1^* = R$ e que $Z_2^* = \frac{1}{j\omega C}$, portanto, aplicando a equação 2.26 obtém-se que $\frac{1}{Z^*} = \frac{1}{R} + j\omega C$ ou $Z^* = \frac{R}{1+j\omega RC}$.

Multiplicando o numerador e o denominador desta fracção por $1 - j\omega RC$, obtém-se

$$Z^* = \frac{R(1-j\omega RC)}{1+(\omega RC)^2} = \frac{R}{1+(\omega RC)^2} - \frac{\omega R^2 C}{1+(\omega RC)^2} j \quad (2.27)$$

De onde se conclui que

$$|Z^*| = Z = \frac{R\sqrt{1+(\omega RC)^2}}{1+(\omega RC)^2} \quad (2.28)$$

O espectro de impedância é obtido representando no mesmo gráfico as partes real (resistência) e imaginária (capacidade) de Z^* em função da frequência^[32].

O circuito equivalente mais aproximado da realidade é o da Figura 2.8 b), em que se representa o sensor imerso numa solução electrolítica. Cada componente do circuito representa os processos que contribuem para a impedância do sistema. C_g representa a capacitância geométrica do espaçamento entre os dedos do eléctrodo, preenchido pela solução electrolítica e G_t simboliza a condutância associada à transferência de carga através da interface filme/electrólito. A resposta iónica da dupla camada é representada pela capacitância de dupla camada C_d , que é carregada através da condutância electrolítica G_d . A condutância total do electrolito é dada por (G_d+G_t) mas pode ser aproximada a G_d dado que $G_t \ll G_d$. A camada sensorial é contabilizada pela combinação de G_b e C_b em paralelo uma com a outra e em série com a

impedância da solução electrolítica. A altas frequências, a capacitância total é aproximadamente a capacitância geométrica, $C_T \approx C_g$ (C), e a condutância total é a condutância electrolítica, $G_T \approx G_d$ (R). Assim o circuito da Figura 2.8 - b) passa a ser simplificado pela Figura 2.7.

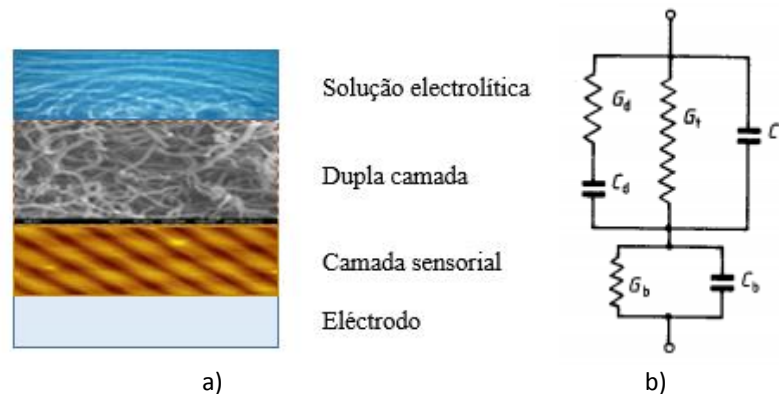


Figura 2.8 – a) Vista de corte de um sensor e b) respectivo circuito equivalente aproximado [33].

2.2.2 Factor de dissipação

Como se observou anteriormente, o material do sensor utilizado neste estudo para separar os dois eléctrodos é o vidro, um material dieléctrico, apresentando um comportamento semelhante a um condensador de placas paralelas. Num condensador ideal há armazenamento mas não há dissipação de energia. No entanto, um condensador apresenta sempre perdas já que o material dieléctrico que o constitui tem imperfeições, as placas do condensador apresentam resistência e há também resistências nos contactos nas ligações eléctricas. Ao submeter o condensador a uma tensão DC ocorrem correntes de fugas, pequenas correntes que circulam pelo condensador, devido a alguns portadores de carga livres. Numa tensão AC a altas frequências, o condensador é carregado e descarregado a ritmos elevados, o que origina a circulação de corrente nas resistências referidas anteriormente, aumentando a dissipação de energia. Então, por acumulação, as perdas são mais significativas em AC do que em DC. Esta dissipação de energia manifesta-se sob a forma de calor.

Num condensador ideal em regime AC, a tensão está atrasada $\phi = \frac{\pi}{2}$ em relação à corrente mas num condensador real este desfasamento não é exactamente $\phi = \frac{\pi}{2}$. A diferença para $\phi = \frac{\pi}{2}$ é o chamado ângulo de perdas δ , ou seja, o ângulo de diferença de fase será $(\frac{\pi}{2} - \delta)$. Quanto maior este ângulo de perdas, menor é a qualidade do condensador. A tangente deste ângulo $tg \delta$ é designada por factor de dissipação.

Para um modelo em paralelo de um condensador e de uma resistência, o factor de dissipação é dado por

$$tg \delta = \frac{1}{\omega R_p C_p} \quad (2.29)$$

e num modelo em série tem-se

$$tg \delta = \omega R_s C_s \quad (2.30)$$

O factor de dissipação permite relacionar a resistência com a reactância de um condensador pela expressão seguinte

$$tg \delta = \frac{R_s}{X_s} = \frac{X_p}{R_p} \quad (2.31)$$

Um condensador é tanto melhor quanto menor for o factor de dissipação, ou seja, quanto menor for R_s relativamente à reactância em série X_s ou quanto maior for R_p em relação à reactância em paralelo X_p . Considera-se que um condensador apresenta perdas baixas quando $tg \delta < 0.1$ [34].

2.3 Análise de Componentes Principais

Através de métodos de análise multivariada é possível analisar estatisticamente e simultaneamente um grande número de variáveis. Deste modo estabelecem-se relações entre as variáveis que são relevantes para a compreensão do fenómeno analisado.

A Análise de Componentes Principais (PCA), desenvolvida por Pearson (1901) e Hotelling (1933), foi o método utilizado para analisar os dados resultantes das medições experimentais neste trabalho. Esta técnica estatística de análise multivariada permite analisar um grande número de dados sem perdas significativas de informação, ao transformar um conjunto original de variáveis correlacionadas num conjunto menor de novas variáveis não correlacionadas - as Componentes Principais. Com esta transformação eliminam-se também algumas variáveis originais que possam possuir pouca informação. Cada componente principal resulta da combinação linear de todas as variáveis iniciais, sendo as componentes principais independentes entre si. A selecção das componentes principais é de acordo com a informação estatística que apresentam, ou seja, a primeira componente principal será a que apresenta maior informação estatística e maior variância, estando cada componente seguinte por ordem decrescente de variância, respeitando a condição de ser ortogonal com as componentes anteriores. Esta técnica permite agrupar observações semelhantes pela interpretação de gráficos bidimensionais [35,23].

Seja S ($p \times p$) a matriz de covariância, quadrada e simétrica. S pode ser reduzida a uma matriz diagonal L através da operação

$$U'SU = L \quad (2.32)$$

onde U é uma matriz ortogonal, cujas colunas u_1, u_2, \dots, u_p são os vectores característicos de S , e U^{-1} é a sua inversa. Os elementos diagonais de L designados por valores próprios ou raízes características de S , l_1, l_2, \dots, l_p , são obtidos pela equação característica

$$|S - lI| = 0 \quad (2.33)$$

onde I representa a matriz identidade. Os vectores característicos de U , u_i , obtêm-se pela solução de

$$[S - lI]t_i = 0 \quad (2.34)$$

em que $u_i = \frac{t_i}{\sqrt{t_i' t_i}}$

Deste modo, será possível transformar p variáveis correlacionadas x_1, x_2, \dots, x_p em novas variáveis não correlacionadas z_1, z_2, \dots, z_p , as componentes principais. Os eixos das novas coordenadas passam a ser descritos pelos vectores característicos u_i , da matriz U , da seguinte transformação:

$$Z = U'[X - \bar{X}] \quad (2.35)$$

Nesta equação, X representa a matriz das observações das variáveis originais e \bar{X} representa a matriz das suas médias, ambas de ordem ($p \times 1$). As variáveis transformadas são agora as componentes principais de X . As observações individuais transformadas, coordenadas da i -ésima componente principal z_i , designam-se por z-scores. A i -ésima componente principal z_i , de média zero e variância l_i , é dada por:

$$z_i = u_i' [X - \bar{X}] \quad (2.36)$$

Está-se agora em condições de fazer uma representação gráfica das componentes principais, proporcionando uma interpretação mais simples dos resultados, mantendo a informação estatística dos dados originais.

3. Materiais e Métodos Experimentais



3.1 Sensores

3.1.1 Características dos sensores interdigitados de ouro

Os sensores interdigitados utilizados, adquiridos à *DropSens*, são constituídos por um substrato sólido isolante de vidro BK7 com dois eléctrodos de ouro compostos por 250 “dedos” cada um. O substrato tem dimensões 22.8 x 7.6 x 0.7 mm e cada “dedo” apresenta uma espessura e um espaçamento ao “dedo” seguinte de 5 μm . A configuração interdigitada do sensor permite um aumento da sensibilidade e dos limites de detecção, sendo apropriados para o desenvolvimento de biossensores específicos e outros estudos electroquímicos. Uma das principais vantagens destes eléctrodos é permitirem trabalhar com baixos volumes de amostra [36]. A Figura 3.1 a) mostra uma fotografia do sensor e em b) tem-se a representação esquemática do sensor com as respectivas dimensões.

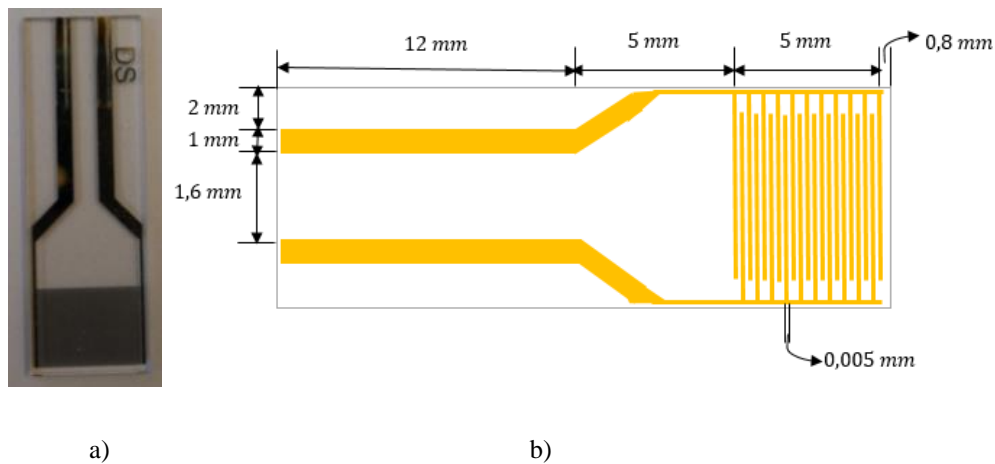


Figura 3.1—a) Fotografia do sensor interdigitado usado e sua b) representação dimensional

Tabela 3.1 – Dimensões do sensor.

Comprimento de cada dedo	6760 μm
Distância entre dedos	5 μm
Largura de cada dedo	5 μm
Área de cada dedo	0.338 mm^2

A capacitância do sensor interdigitado só muda se existirem alterações na espessura da camada sensorial ou na distância entre dedos. A capacitância depende da metalização, um parâmetro adimensional que pode ser calculado através da fórmula

$$\eta = \frac{W}{W+G} \quad (3.1)$$

Em que W corresponde à largura de cada dedo e G corresponde à distância entre dedos e neste caso tem o valor de $\eta = 0.5$, que significa que há 50 % de metalização, ou seja, metade da área sensorial está metalizada^[37]. Este parâmetro influencia a resposta em frequência do eléctrodo interdigitado^[38].

3.1.2 Materiais para a produção de filmes finos

De modo a melhorar a sensibilidade do sensor interdigitado, foram depositados variados filmes finos sobre o sensor. Produziram-se três tipos de filmes finos pela técnica de Camada-sobre-Camada (*LbL*) e um filme pela técnica de pulverização catódica (*sputtering*).

Os materiais escolhidos para a produção de filmes finos pela técnica de *LbL* foram seleccionados devido a serem polímeros bem conhecidos e estudados pelo grupo de Sistemas Moleculares Funcionais do CEFITEC^[39,40,41,42] e cuja eficiência em aplicações semelhantes à deste estudo foi comprovada:

- PAH e PAZO

Os dois polielectrólitos poli(cloreto de alilamina) (PAH) e poli(1-(4-(3-carboxi-4-hidroxifenilazo)-benzenesulfonamida)-1,2-etanodiol) (PAZO) foram preparados em soluções com água ultrapura, fornecida por um sistema Milli-Q da Millipore que apresentava uma Resistividade de 18.2 M Ω .cm a 25 °C, de modo a apresentarem uma concentração de $10^{-3}M$. Os compostos foram adquiridos à Sigma-Aldrich.

O (PAH) é um polielectrólito catiónico com um peso molecular médio $M_w = 93,56 \text{ g mol}^{-1}$, em que a sua cadeia de monómeros possui um grupo catiónico NH^{3+} ligado a um anião Cl^- . A sua estrutura molecular está representada na Figura 3.2.

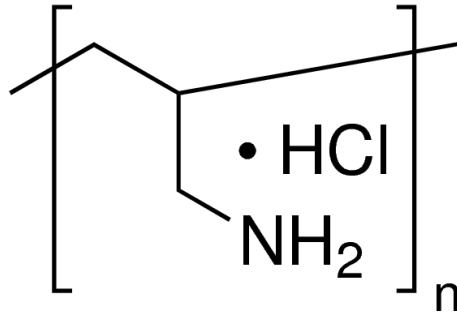


Figura 3.2– Estrutura molecular do PAH.

O PAZO é um polielectrólito aniónico, com peso molecular médio $M_w = 369,33 \text{ g mol}^{-1}$, consiste numa cadeia polimérica com grupos cromóforos em que cada um dos seus monómeros tem ramificações laterais constituídas por dois anéis aromáticos ligados a átomos de azoto em ligação dupla $N=N$. Esta ligação confere ao PAZO a sua coloração alaranjada. Ligado a um dos anéis da ramificação lateral do monómero, encontra-se um grupo COO^- , neutralizado pelos respectivos contra-íões de sódio, Na^+ . Em meio aquoso ocorre dissociação do contra-íão, o que confere a solubilidade deste polímero em meios aquosos e a sua classificação como polielectrólito. Ligado ao outro anel encontra-se um grupo sulfonamida. A estrutura descrita pode ser visualizada na Figura 3.3.

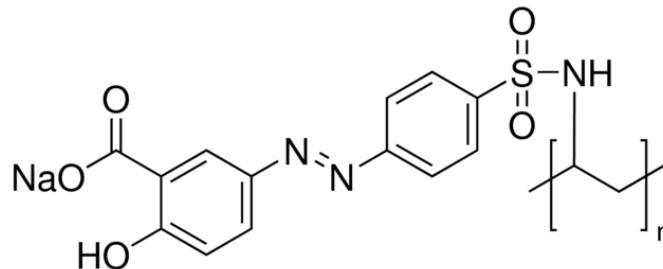


Figura 3.3–Estrutura molecular do PAZO.

- PEI e OG

Seleccionou-se também para a produção de filmes o polímero poli(etilenoimina) (PEI), com carga catiónica, e o óxido de grafeno (OG) para a monocamada aniónica. Estes produtos foram também adquiridos à Sigma-Aldrich.

O PEI utilizado, em estado líquido e com peso molecular médio $M_w = 750 \text{ g mol}^{-1}$, apresenta uma diluição de 50% em água e evidencia uma estrutura em cadeia ramificada. Este tipo de estrutura possui grupos aminas primários ($R-NH_2$), secundários (R_1R_2NH) e terciários ($R_1R_2R_3N$), de acordo com a Figura 3.4 a). O PEI tem sido utilizado como um precipitante de proteínas

de ácidos nucleicos e é utilizado no pré-tratamento de filtros para aumentar a ligação de proteínas. A solução de PEI foi preparada com água ultrapura de modo a perfazer uma concentração de $10^{-3}M$.

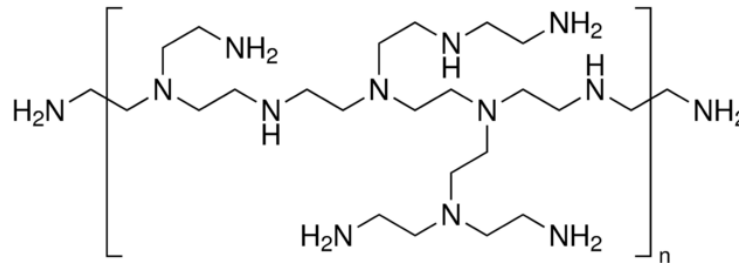


Figura 3.4—Estrutura molecular do PEI.

O OG utilizado nas soluções preparadas, representado na Figura 3.5, encontra-se disperso em água com uma concentração de 2 mg/ml. A solução utilizada no fabrico de filmes foi obtida dissolvendo 2 ml de OG em 23 ml de água ultrapura. O grafeno é organizado numa estrutura cristalina hexagonal de átomos de carbono bidimensional, com a espessura de um átomo. Algumas das suas propriedades são uma elevada área superficial, elevada condutividade térmica e eléctrica, alta flexibilidade e transparência., traduzindo-se num material com muito boas qualidades mecânicas, eléctricas e térmicas^[43]. O OG é formado através da oxidação do grafeno quimicamente modificado, produzindo uma monocamada e tornando-o mais compatível com polímeros orgânicos e com capacidade de fácil dispersão em água. O modelo estrutural actualmente aceite, a configuração de *Lerf-Klinowski*, consiste numa rede de estruturas hexagonais de carbonos, com grupos carboxilos (-COOH) em baixa quantidade, hidróxilos (OH) e epóxidos (-O-) nas extremidades^[44].

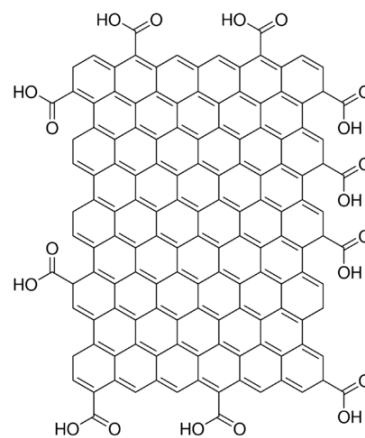


Figura 3.5—Estrutura molecular do OG.

- Quitosana e OG

Preparou-se uma solução de quitosana, adquirida à *Cognis*, com peso molecular médio de $M_w = 500\,000\text{ g mol}^{-1}$, dissolvendo-a em ácido acético e adicionando posteriormente água ultrapura até perfazer um volume de 100 mL . A concentração da solução foi de 10^{-5} M , para a monocamada catiónica do filme. A solução de OG utilizada foi a mesma descrita para o filme de PEI e OG.

A quitosana é um biopolímero não tóxico, biodegradável e biocompatível extraído da quitina, que é um dos principais constituintes dos exoesqueletos de crustáceos [45]. Este material é insolúvel em água mas dissolve-se em soluções aquosas ácidas. Quanto maior a quantidade de grupos amina protonados ($-NH_3^+$) na cadeia polimérica, maior é a dissolução em água [46]. Na sua constituição apresenta também grupos funcionais hidróxilos (OH^-), de acordo com a Figura 3.6.

Este filme foi adaptado de [16] tendo-se substituído os *nanodots* de carbono pela solução de óxido de grafeno e, em vez de se preparar uma única solução de quitosana com óxido de grafeno, as soluções foram preparadas individualmente e utilizadas na técnica de *LbL*.

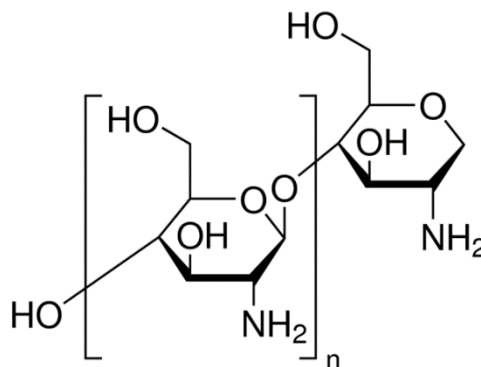


Figura 3.6– Estrutura molecular da quitosana.

Foi ainda produzido um filme de nanotubos de carbono pela técnica de *sputtering*.

- Nanotubos de carbono

Os nanotubos de carbono podem ser classificados de duas formas, de acordo com o número de camadas que os constituem: Nanotubos de Carbono de Parede Única (SWCNT) e Nanotubos de Carbono de Múltiplas Paredes (MWCNT). Enquanto que os SWCNT correspondem ao enrolamento de uma única camada de grafeno, os MWCNT resultam de várias camadas concêntricas. A Figura 3.7 ilustra as diferenças entre estes dois tipos de nanotubos de carbono.

Os nanotubos de carbono têm excelentes propriedades mecânicas, eléctricas e térmicas, apresentando uma grande resistência e flexibilidade mecânica. O seu comportamento eléctrico é semelhante ao dos condutores e semicondutores [47].

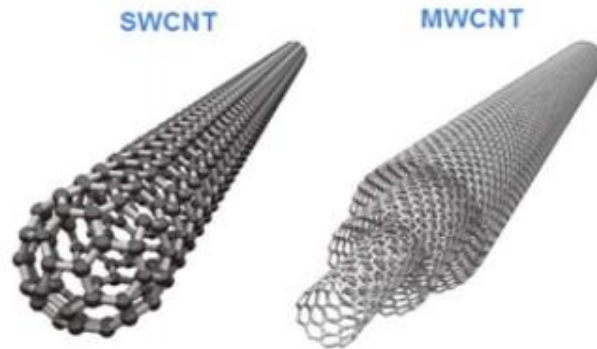


Figura 3.7– Nanotubos de carbono de parede única (SWCNT) e nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNT)^[48].

Neste estudo utilizaram-se MWCNT, adquiridos à Timesnano, com uma pureza superior a 95% e um diâmetro exterior compreendido entre 8 nm e 15 nm e comprimento entre 30 μm e 50 μm .

3.2 Preparação de filmes finos

Todas as soluções produzidas foram armazenadas em frascos de vidro graduados ou em balões volumétricos com tampa, que foram previamente limpos com uma solução piranha. A solução piranha é extremamente corrosiva e eficiente já que resulta da mistura entre ácido sulfúrico (H_2SO_4) e peróxido de hidrogénio (H_2O_2). A produção desta solução consiste em verter uma proporção de 7 partes de ácido sobre 3 partes de base, deixando actuar durante cerca de 15 minutos para garantir a remoção de resíduos e impurezas do material. Em seguida, o material foi lavado abundantemente com água ultrapura Milli-Q e deixado a secar.

3.2.1 Deposição de filmes finos pela técnica de Camada-sobre-Camada

Ao revestir o suporte com eléctrodos interdigitados, isto é, a região sensorial da língua electrónica, com filmes finos, é possível aumentar a sua sensibilidade se essas heteroestruturas sensoriais tiverem a capacidade de aumentar a interacção com a molécula-alvo. Diferentes filmes conferem diferentes propriedades físicas ao sensor. Neste trabalho, utilizou-se a técnica de fabrico de filmes de Camada-sobre-Camada (*LbL*) para obter heteroestruturas sensoriais que detectam TCS.

A técnica de filmes automontados ou de *LbL*, apresentada por Decher et al.^[49], consiste na deposição alternada de soluções aniónicas e catiónicas num substrato sólido, com lavagem com água entre cada deposição e secagem a cada bicamada. O substrato é submerso numa solução aquosa durante um determinado período de tempo e as moléculas carregadas adsorvem-se na sua superfície por interação electrostática. Através da lavagem removem-se as moléculas que não foram adsorvidas satisfatoriamente. O substrato está então carregado electrostaticamente, permitindo adsorção de uma nova camada carregada, de carga oposta, de acordo com a figura Figura 3.8, secando-se em seguida. O período de imersão pode variar desde que se garanta a adsorção do filme ao substrato, bem como o número de bicamadas consoante a espessura de filme que se pretenda ^[50].

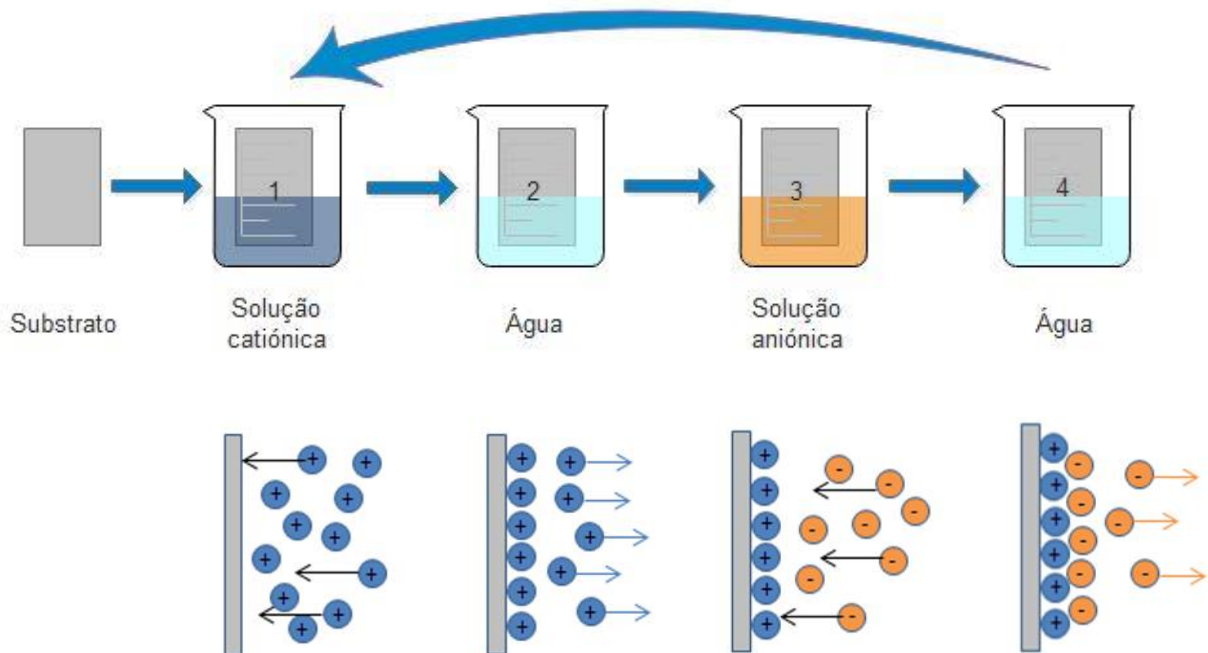


Figura 3.8—Representação da técnica de automontagem e respectiva estrutura do filme.

Apesar de esta técnica não permitir uma construção tão rigorosa na organização estrutural do filme como outras técnicas, apresenta simplicidade na produção de filmes e os custos reduzidos, permitindo o controlo da espessura do filme e das suas propriedades, podendo ser utilizada em substratos com diferentes formatos e dimensões. Esta técnica apresenta vantagens tais como ser mais viável para um método de detecção económico e sobretudo devido à baixa exigência de material laboratorial.

Neste trabalho, o processo de produção de filmes finos pela técnica de *LbL*, apesar de obedecer aos mesmos princípios da técnica “tradicional”, foi alterado de modo a ser realizado com *spray*. As soluções catiónicas e aniónicas foram colocadas em frascos de *spray*, bem como a água

ultrapura, e foram ordenadas na bancada de trabalho pela ordem: solução catiónica, água ultrapura, solução aniónica e água ultrapura. O sensor interdigitado foi colocado a uma distância de 6 cm dos dispensadores ^[51] e foi alternadamente borrifado pelas soluções pela ordem da bancada, sendo que cada dispensador foi pressionado duas vezes de modo a garantir uma quantidade satisfatória de solução ejectada para os eléctrodos. Após o substrato adsorver a solução catiónica, ficando carregado positivamente, foi lavado com água. Seguidamente utilizou-se a solução aniónica, lavou-se novamente com água e, finalmente, secou-se com azoto. Assim, formou-se a primeira bicamada do filme e, repetindo as etapas anteriormente descritas, é possível obter tantas bicamadas de filme quantas se desejem. O tempo de espera entre cada solução foi de 10 s e todos os filmes foram produzidos com 15 bicamadas: (PAH/PAZO)₁₅, (PEI/OG)₁₅ e (Chi/OG)₁₅. Este procedimento experimental está ilustrado na Figura 3.9.

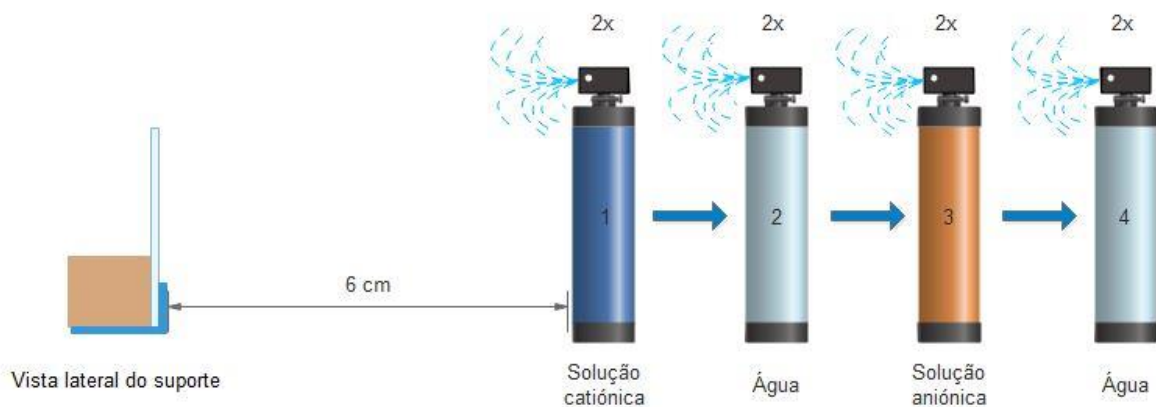


Figura 3.9– Ilustração da bancada de trabalho para a técnica de *LbL* por *spray*.

3.2.2 Deposição de filmes finos de nanotubos de carbono por pulverização catódica DC

Outra técnica utilizada para a produção de filmes finos foi a pulverização catódica, ou sputtering, que consiste numa técnica de deposição física a partir da fase de vapor (Physical Vapor Deposition - PVD). Esta técnica consiste, essencialmente, na pulverização de átomos ou agregados atómicos de um alvo, através do bombardeamento de iões altamente energéticos, formando um plasma gasoso eletrizado. Os átomos da superfície do alvo são ejectados em todas as direcções, devido a colisões entre os átomos do alvo e os iões energéticos. As espécies pulverizadas condensam na superfície do substrato, por acção de um campo eléctrico, formando um filme fino.

A pulverização catódica ocorre numa câmara de deposição a baixa pressão (10^{-1} mbar – 10^{-3} mbar), constituída por dois eléctrodos, o cátodo e o ânodo. No cátodo coloca-se o alvo (material a depositar) e o substrato é colocado no ânodo, onde se irá formar o filme fino. A câmara é cheia com um gás inerte, normalmente árgon. Aplica-se uma diferença de potencial entre os eléctrodos, formando um plasma.

Ao ionizar o gás da câmara de vácuo, este fica carregado positivamente e é acelerado para o cátodo. Esta colisão de iões com o cátodo provoca uma ejeção de átomos do cátodo em todas as direcções devido à transferência de momento linear, iniciando um processo de produção de electrões, sendo que estes átomos se depositam em qualquer obstáculo incluindo o substrato. Os electrões sofrem aceleração para o ânodo e, no seu percurso, colidem com os átomos do gás, ionizando-o. Deste modo são libertados mais electrões e garante-se a criação e autossustentação do plasma.

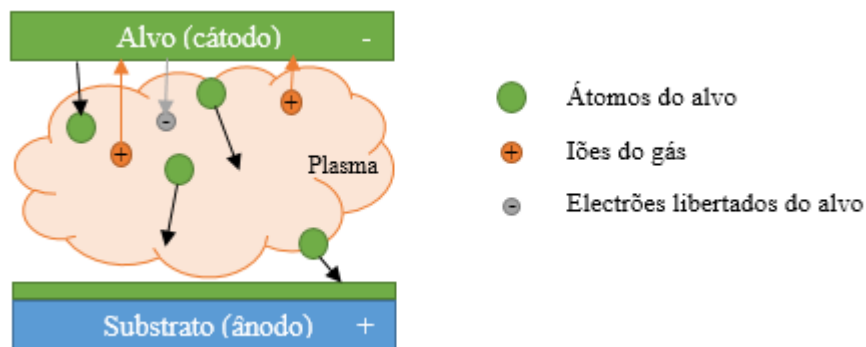


Figura 3.10– Ilustração esquemática do processo de pulverização catódica.

Como o plasma passa a possuir portadores de carga, então torna-se susceptível a campos magnéticos. Então utilizou-se pulverização catódica assistida por magnetrão, em que há a introdução de magnetos atrás do alvo, para confinar o plasma e contribuir para o aumento de colisões entre electrões e átomos do gás. Deste modo consegue-se um aumento da eficiência da descarga.

O sistema de deposição utilizado encontra-se no laboratório de Plasmas e Aplicações do CEFITEC e é constituído por uma câmara de vácuo com um cátodo cilíndrico e um porta substratos, uma fonte de tensão RF, Eni Power Systems Plasmaloc 2-HF, que fornece tensão ao cátodo, e o restante sistema de vácuo e de arrefecimento.

A preparação do alvo de *sputtering*, com um diâmetro de 25 mm, consistiu na mistura de acetona e o pó de MWCNT, que é colocada no cátodo, sendo prensada e compactada até a acetona evaporar. O cátodo magnetrão com sistema de arrefecimento interno está instalado numa câmara de vácuo cilíndrica, à qual estão ligadas uma bomba rotatória e uma turbomolecular. As deposições foram realizadas em atmosfera de árgon com pureza de 99,999%, a uma pressão de 0,08 Pa e com um tempo de deposição de 10 min. Durante as deposições aplicou-se uma potência de 30 W, uma frequência de 100 Hz e uma impedância de 600 Ω . Os filmes foram depositados em substratos interdigitados (22,8 mm \times 7,6 mm e 0,7 mm de espessura), colocados em paralelo e com uma distância de 20 mm ao alvo. Antes da deposição, os substratos foram limpos com acetona, isopropanol e água desionizada e foram secos com azoto comprimido para remover qualquer contaminação orgânica.

3.3 Soluções de análise de triclosan e cloreto de sódio

Um dos primeiros passos deste projecto passa pela preparação de soluções com diferentes concentrações de cloreto de sódio e de triclosan em água ultrapura. Através de um processo de diluições em série, ilustrado na Figura 3.11, obtiveram-se soluções com concentrações entre 10^{-6}M e 10^{-12}M , tanto para o cloreto de sódio, como para o triclosan.

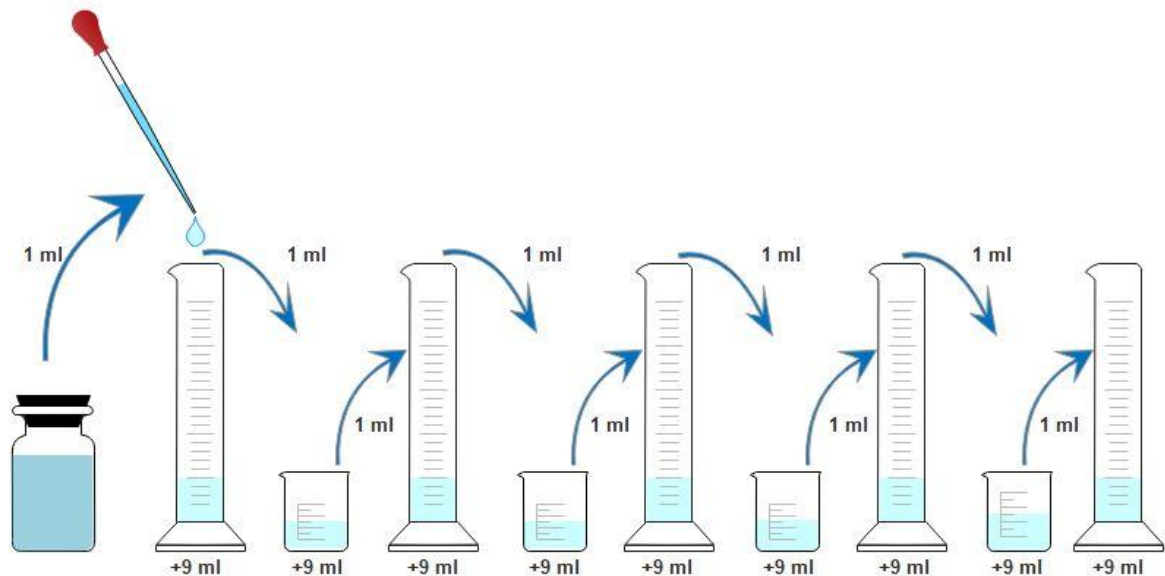


Figura 3.11– Técnica de diluições em série.

O triclosan utilizado foi adquirido à *Sigma-Aldrich*, Figura 3.12, e tem peso molecular médio $M_w = 289,5 \text{ g mol}^{-1}$. Algumas das propriedades deste composto estão listadas na tabela 3.2. O cloreto de sódio foi adquirido à *Electran*, com peso molecular médio $M_w = 58,44 \text{ g mol}^{-1}$.

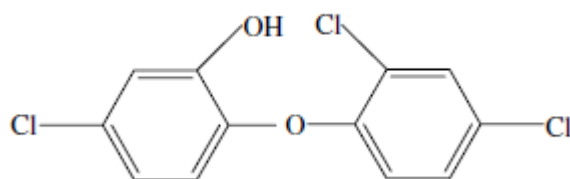


Figura 3.12–Estrutura molecular do triclosan.

Tabela 3.2- Algumas propriedades físico-químicas do triclosan ^[52]

Propriedades	
Massa molar	289.54178 g/mol
Densidade	1.49 g/cm ³
Fórmula molecular	C ₁₂ H ₇ Cl ₃ O ₂
Ponto de ebulição	280 – 290 °C
Ponto de fusão	54 – 57.3 °C
Solubilidade em água (20°C)	10 mg/L
Log <i>K_{ow}</i>	4.76
Constante de acidez pKa	7.9

O interesse da análise de impedâncias das soluções de cloreto de sódio advém da composição da água na Natureza que, não se encontrando no seu estado puro, apresenta salinidade com diferentes concentrações. Deste modo obtém-se informação relevante sobre a influência deste produto na impedância da água ou até em soluções aquosas complexas.

Preparou-se uma solução piranha para a limpeza do material utilizado na preparação das soluções. Foi preparado 1 litro de solução inicial de cloreto de sódio num balão volumétrico, com concentração de 10⁻⁴ M, que corresponde a uma massa de 5.844 mg do composto. A partir dessa solução fizeram-se diluições em série em factores de 10, até se atingir uma concentração de 10⁻¹²M, recorrendo sempre a uma pipeta graduada e a vários gobelés de 250 ml. Utilizaram-se 9 ml de água ultrapura para diluir 1 ml da solução original, sendo pois a solução original diluída num factor de 10. O processo foi repetido utilizando sempre 9 ml de água ultrapura e 1ml da última solução diluída, até perfazer uma concentração de 10⁻¹² M. Durante todo o processo utilizou-se bata e luvas, de acordo com as regras de segurança em laboratório.

Dado que o triclosan é muito pouco solúvel em água, teve de ser previamente dissolvido em metanol, criando-se a solução base de trabalho com uma concentração de 10⁻³ M, que se armazenou no frigorífico

ao longo de todo o projecto. Através do método de diluições em série, a solução de trabalho foi diluída com água ultrapura para obter as concentrações pretendidas.

3.4 Caracterização eléctrica por espectroscopia de impedância

As principais medições deste estudo foram obtidas através da técnica de espectroscopia de impedância, através da qual se obtiveram valores de impedância, ângulo de fase, capacitância e de resistência das soluções analisadas, utilizando o analisador de impedância *Programmable LCR Bridge HM8118*, da HAMEG®. Este aparelho possui um intervalo de frequências entre os 20 Hz e os 200 kHz de medição e é constituído por duas pontas de prova ligadas a uma sonda à qual está anexado o sensor interdigitado. A tensão aplicada aos terminais dos eléctrodos, através das pontas de prova, foi sob a forma de uma onda sinusoidal com amplitude de 1 V.

O primeiro passo da utilização deste instrumento passa pela sua calibração em curto-circuito e em circuito aberto para minimizar a incerteza associada às medições, devida à capacitância, indutância e resistência inerentes aos cabos e adaptadores do próprio aparelho. Na calibração em curto-circuito, as pontas de prova deverão estar ligadas uma à outra, enquanto que na calibração em circuito aberto deverão estar afastadas uma da outra.

Introduziu-se a sonda com o sensor numa proveta de modo a que a parte sensorial dos eléctrodos interdigitados permanecesse imersa na solução a analisar. Para manter a posição do sensor utilizou-se um suporte e para manter uma temperatura constante de 25 °C em todas as medições, utilizou-se um banho termostático para a proveta. Para garantir a temperatura igual das amostras, aguardou-se um período de 15 minutos dentro do banho antes de se começarem as medições, para cada amostra.

De acordo com o tipo de sensor ligado ao sistema, em modo automático, o analisador de impedância determina se o tipo de circuito equivalente mais adequado à medição é em série (SER) ou em paralelo (PAR). Os circuitos equivalentes abrangidos são Resistência-Condensador (RC) ou resistência-Bobina (RL). No caso concreto do sensor interdigitado em que o circuito equivalente é do tipo RC, o analisador devolve a função PAR em modo automático assim que é imerso nas amostras, o que está de acordo com o princípio de funcionamento dos sensores interdigitados.

A Figura 3.13 ilustra os principais elementos da LE utilizada neste estudo.

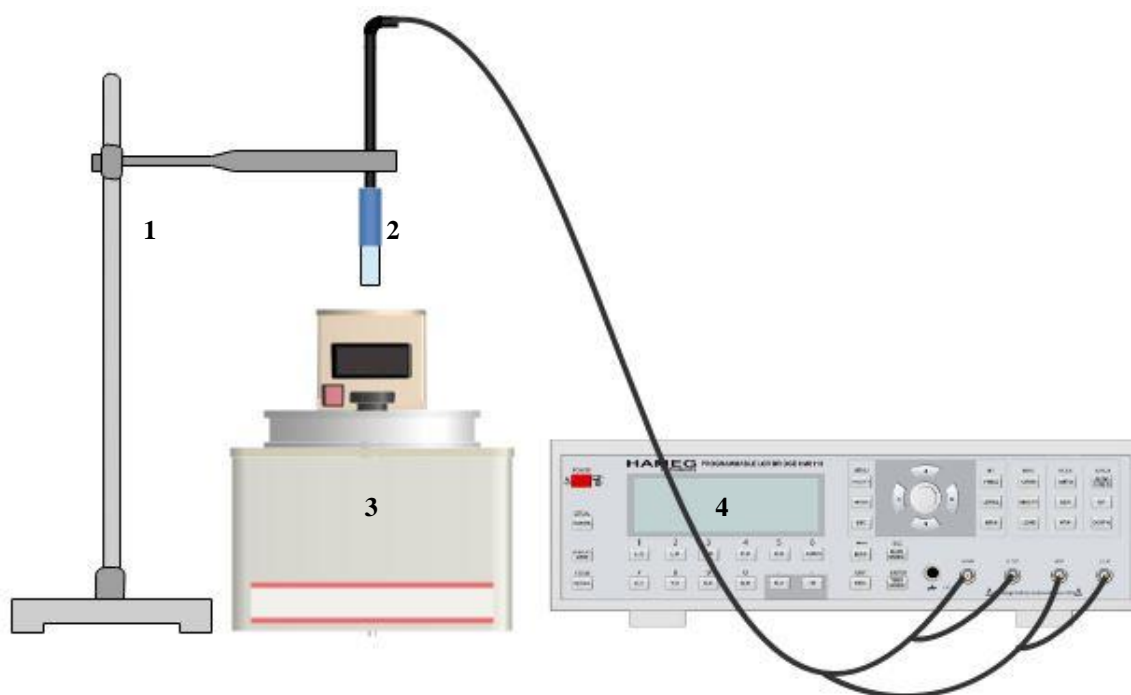


Figura 3.13– Ilustração dos componentes que constituem o sistema experimental de impedância. (1) O suporte, (2) a sonda com o sensor, (3) o banho termostático e (4) o analisador de impedância.

3.5 Caracterização de filmes por Espectrofotometria de absorvância Ultravioleta-Visível

Recorreu-se à técnica de Espectrofotometria de Ultravioleta-Visível para verificar a adsorção dos diferentes filmes produzidos por *LbL* aos eléctrodos, bem como verificar a adsorção do triclosan após a utilização dos sensores em solução. Para tal, obtiveram-se os espectros de absorvância das amostras, para comprimentos de onda compreendidos entre os 200 nm e os 900 nm, utilizando o espectrofotómetro de duplo feixe *UV-2101PC* da *Shimadzu* e o respectivo *software* de análise (Figura 3.14), com resolução de 0,5 nm. Cada amostra apresenta um espectro diferente de absorvância, dado que cada uma delas apresenta um comportamento característico de absorção de radiação electromagnética para cada comprimento de onda. Ao absorver radiação, as moléculas aumentam as suas energias, resultando uma mudança dos seus estados energéticos, de um estado fundamental para um estado excitado. A forma como a luz interage com a matéria depende da estrutura química dos seus componentes, pelo que um espectro de absorvância é um método de caracterização que informa sobre a capacidade de um composto em absorver a luz com vários comprimentos de onda.

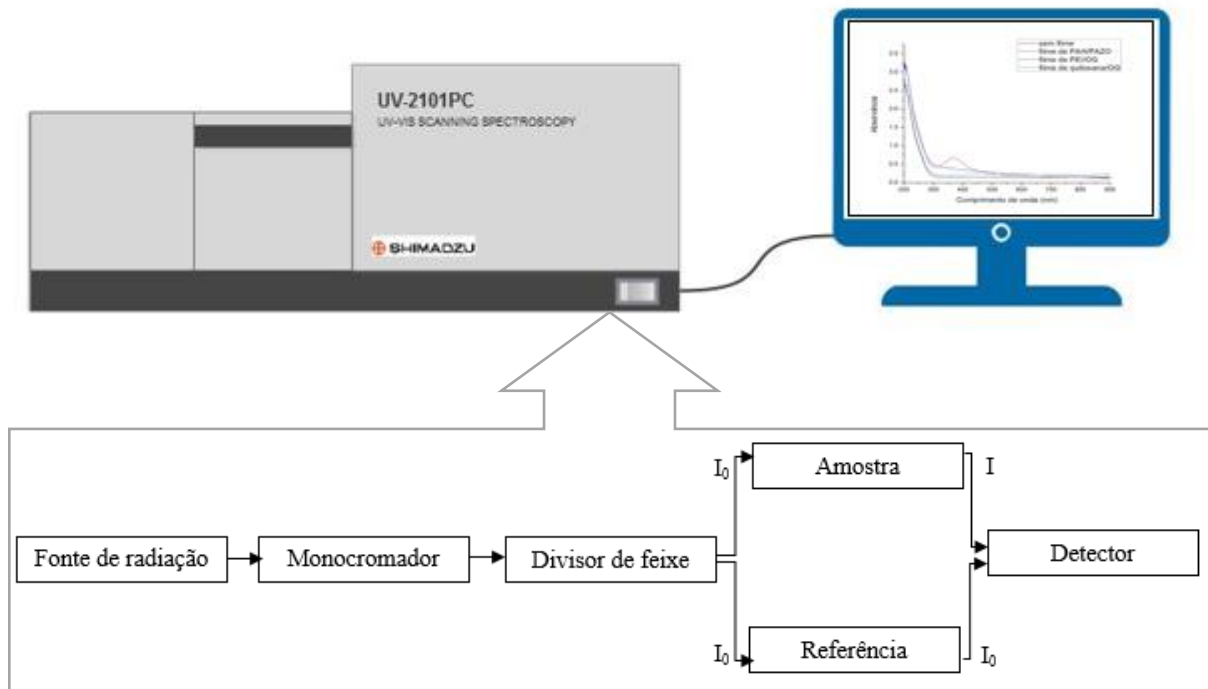


Figura 3.14– Ilustração do sistema de aquisição do espectrofotômetro *UV-2101PC* da *Shimadzu*.

O espectrofotômetro de UV-Vis é constituído essencialmente por uma fonte de radiação, um monocromador, um compartimento para as amostras e um detector. A fonte de radiação é composta por uma lâmpada de tungsténio-halógeno para o feixe de luz visível e infravermelho próximo (400 nm – 900 nm) e uma lâmpada de deutério para o feixe de radiação UV (190 nm – 400 nm). A radiação emitida pela fonte é seleccionada através do monocromador, onde ocorre a sua separação nos diferentes comprimentos de onda que a constituem e que se pretendem analisar. O comprimento de onda é seleccionado, com intensidade I_0 , é dividido em dois percursos diferentes através do divisor de feixe, de modo a fazer a análise simultânea da amostra e da referência. Ao incidirem no detector, os sinais da amostra (I) e da referência (I_0) são comparados e analisados pelo *software* e apresentados sob a forma de espectros de absorvância, transmitância ou reflectância.

Ao atravessar uma amostra com moléculas absorventes (cromóforos), parte de um feixe de luz monocromática é absorvida e parte dele é transmitida. A fracção de radiação que atravessa a amostra é designada por transmitância (T) e relaciona-se pelas intensidades de radiação transmitida pela amostra (I) e a radiação incidente (I_0) por ^[53]:

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (3.2)$$

A transmitância é um fenómeno relacionado com a absorvância, a “quantidade” de luz que é absorvida pela amostra, e pode ser expressa através de :

$$A = \log \frac{1}{T} = \log \frac{I_0}{I} = -\log T \quad (3.3)$$

A lei de *Lambert-Beer* está na base deste método de análise quantitativa e relaciona ainda a absorção de luz com as propriedades do material analisado. A absorvância de um material pode então ser relacionada através de:

$$A = \varepsilon b C \quad (3.4)$$

Em que ε é o coeficiente de absorção da amostra, b é a distância que a luz percorre na amostra e C é a concentração da substância absorvente no meio.

De modo a verificar que os filmes produzidos foram adsorvidos nos eléctrodos interdigitados, fez-se uma comparação entre os diversos filmes depositados no eléctrodo e o próprio eléctrodo sem qualquer revestimento.

O espectro de absorvância da Figura 3.15 permite verificar que os três eléctrodos nos quais se depositaram cada um dos filmes apresentam valores de absorvância superiores aos do mesmo substrato sem filme. Esta informação permite-nos apurar que ocorreu de facto adsorção dos compostos utilizados ao substrato do eléctrodo na gama de comprimentos de onda considerada, sendo particularmente perceptível entre os comprimentos de onda de 300 nm e de 600 nm. O sensor sem filme, por ser constituído por um substrato de vidro, apresenta maior absorvância para comprimentos de onda mais baixos, a partir dos 300 nm, ou seja, na gama dos ultravioleta. Já para um comprimento de onda ligeiramente maior e mais próximo do visível, o sensor com filme de (PAH/PAZO)₁₅ apresenta um pico característico do polímero PAZO^[30]. Relativamente aos filmes de (PEI/OG)₁₅ e de (quitosana/OG)₁₅, dá-se um aumento da intensidade da linha de base.

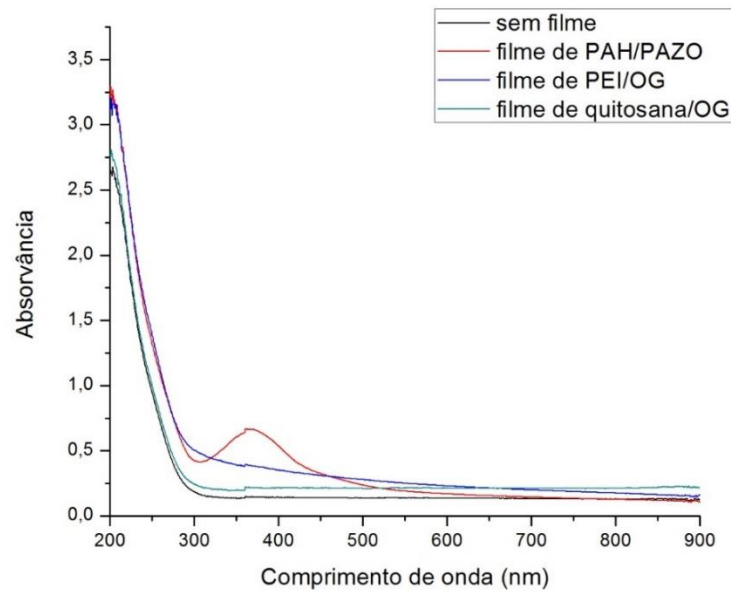


Figura 3.15– Comparação dos espectros de Absorvância dos filmes de (PAH/PAZO)₁₅, (PEI/OG)₁₅ e (quitosana/OG)₁₅ sobre os eléctrodos interdigitados e do sensor sem filme.

Esta técnica também permitiu a verificação da presença de triclosan no sensor, tendo sido analisados os espectros dos eléctrodos com as camadas sensoriais antes e após terem entrado em contacto com as soluções aquosas de triclosan, na Figura 3.16. Tanto para o filme de (PAH/PAZO)₁₅ como para o filme de (Chi/OG)₁₅ ocorreu um aumento da intensidade da linha de base após serem submersos em soluções de triclosan e, em particular para o filme de (PAH/PAZO)₁₅, houve um aumento da intensidade do pico do PAZO. Para o filme de (PEI/OG)₁₅ verificou-se um comportamento diferente, já que a intensidade da linha de base diminuiu após a utilização do sensor. Esta informação relativa aos filmes de (PAH/PAZO)₁₅ e de (PEI/OG)₁₅ pode ser corroborada pela observação microscópica da Tabela 3.3 em que, de facto, se observam alterações do tamanho e quantidade dos aglomerados nos filmes com a sua utilização. A adsorção das moléculas de triclosan ao filme de (PAH/PAZO)₁₅ causa um aumento das suas absorvâncias mas se essa adsorção não se verificar e ainda ocorrer dessorção das moléculas do próprio filme, como ocorre para o de (PEI/OG)₁₅, então os valores de adsorvância diminuem.

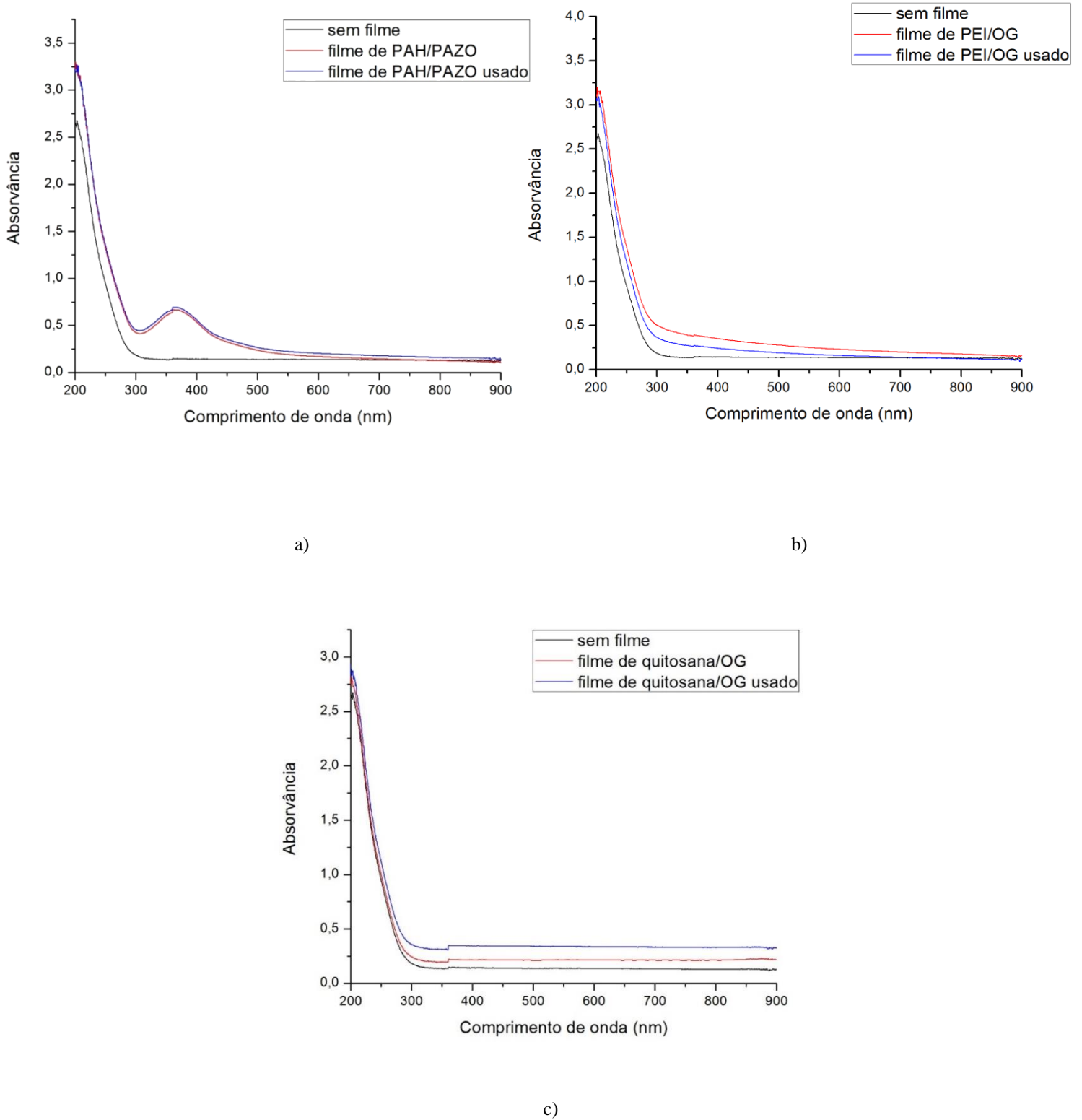
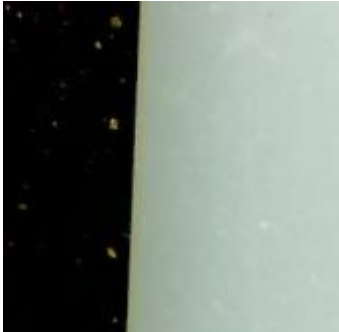


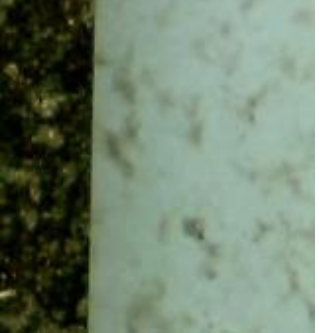
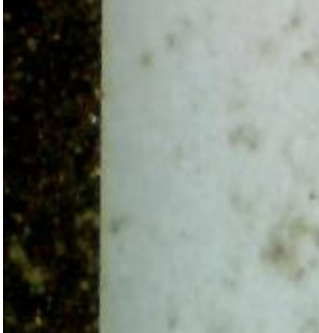




Figura 3.16– Comparação dos espectros de absorvância dos filmes de a) (PAH/PAZO)₁₅, b) (PEI/OG)₁₅ e c) (Chi/OG)₁₅ sobre os eléctrodos interdigitados antes e após entrarem em contacto com as soluções aquosas de triclosan.

3.6 Caracterização de filmes por microscopia óptica

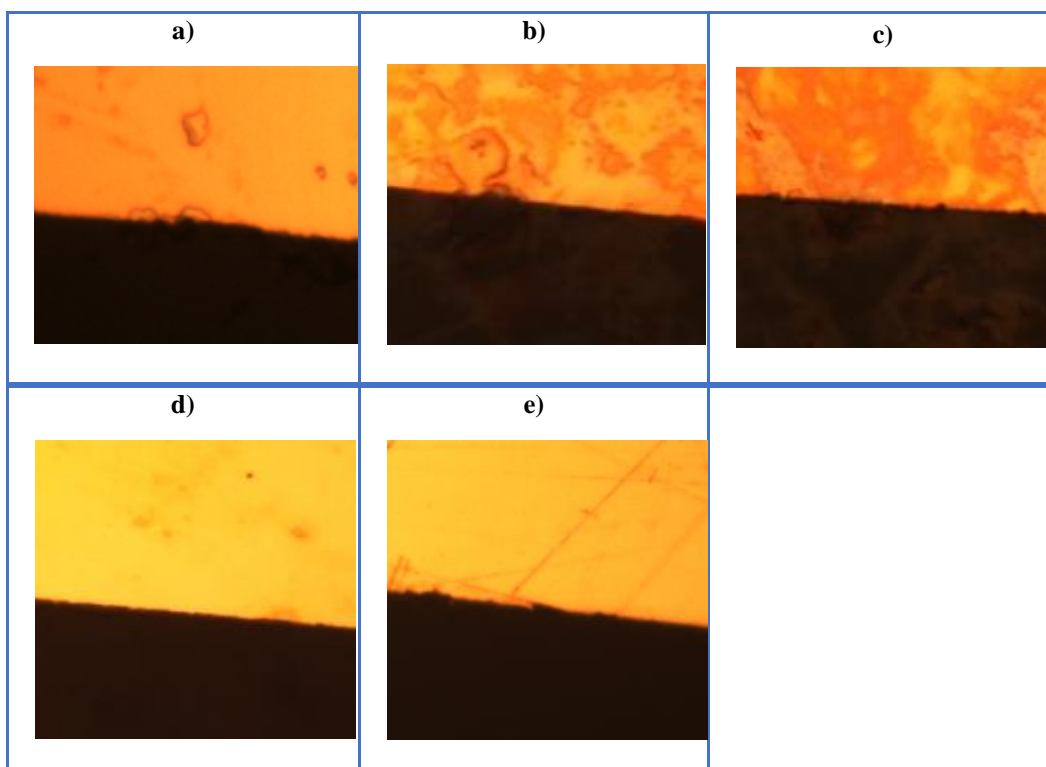
Foram também utilizados os microscópios ópticos ISM-PRO da *INSIZE* e *Eclipse LV100* da *Nikon*, do Departamento de Física, também para caracterizar a superfície dos filmes produzidos pela técnica de *LbL* nos eléctrodos. Cada imagem foi obtida através da reflexão de luz visível, de modo a caracterizar a superfície das amostras e averiguar as diferenças visuais entre estas e o eléctrodo sem revestimentos sensoriais.

Tabela 3.3—Microscopia óptica de reflexão com microscópio ISM-PRO: a) sem filme, b) filme de (PAH/PAZO)₁₅, c) filme de (PAH/PAZO)₁₅ usado, d) filme de (PEI/OG)₁₅, e) filme de (PEI/OG)₁₅ usado, f) filme de (Chi/OG)₁₅ e g) filme de (Chi/OG)₁₅ usado.

Sensor sem filme	Sensor com filme	Sensor com filme usado
	PAH/PAZO	
<i>a)</i> 	<i>b)</i> 	<i>c)</i> 
	PEI/OG	
	<i>d)</i> 	<i>e)</i> 
	Chi/OG	
	<i>f)</i> 	<i>g)</i> 

Observou-se o corpo do sensor sem camada sensorial e sem ter sido imerso em nenhuma solução, bem como os eléctrodos já revestidos com filmes de $(PEI/OG)_{15}$, $(PAH/PAZO)_{15}$ e $(Chi/OG)_{15}$, produzidos pela técnica de *LbL*. Na Tabela 3.3 verificam-se as diferenças entre os filmes, antes e após a sua utilização. Verifica-se que o filme de $(PAH/PAZO)_{15}$ apresenta uma maior quantidade de aglomerados e com dimensões maiores após a sua utilização, ao contrário do filme de $(PEI/OG)_{15}$ cuja quantidade de aglomerado diminui após a utilização. Esta diferença de comportamento pode dever-se a que o filme de $(PAH/PAZO)_{15}$ tenha adsorvido moléculas da solução, enquanto que o filme de $(PEI/OG)_{15}$ tenha perdido moléculas. Relativamente ao filme de $(Chi/OG)_{15}$ não foi possível chegar a nenhuma conclusão dada a sua semelhança com o sensor sem filme, tanto antes como após a sua utilização. Estas imagens foram obtidas através de um microscópio ISM-PRO da *INSIZE*.

Tabela 3.4—Microscopia óptica de reflexão, com microscópio Eclipse LV100, com ampliação total de 50x: a) sensor sem filme, b) sensor com filme de $(PAH/PAZO)_{15}$, c) sensor com filme de $(PEI/OG)_{15}$, d) sensor com filme de $(Chi/OG)_{15}$ e e) sensor com filme de nanotubos de carbono (MWCNT).



Através de análise microscópica de reflexão com ampliação total de 50x, observou-se com maior detalhe as diferenças entre os eléctrodos após o contacto com soluções de triclosan na Tabela 3.4. Com excepção do filme de $(Chi/OG)_{15}$, existe uma diferença nítida entre o eléctrodo sem revestimento sensorial e sem

nenhuma utilização e os eléctrodos com filmes após terem contacto com soluções de triclosan. Para esta análise, utilizou-se um microscópio de modelo Eclipse LV100 da marca *Nikon*. Apesar de a qualidade de imagem obtida com este aparelho ser superior àquele da tabela anterior, o microscópio da *Nikon* não esteve disponível durante um longo período, o que condicionou esta análise. Assim sendo, só se teve oportunidade de analisar todos os filmes já após a sua utilização em soluções com triclosan.

4. Resultados e Discussão



De modo a garantir que tanto os eléctrodos como o analisador de impedância são funcionais, efectuou-se a análise espectral de impedância em água ultrapura e em soluções de cloreto de sódio com diferentes concentrações, utilizando eléctrodos sem quaisquer revestimentos sensoriais. Posteriormente, testaram-se soluções com diferentes concentrações de triclosan, tanto com eléctrodos sem heteroestruturas sensoriais, como com eléctrodos revestidos por variados filmes finos. Por fim analisaram-se soluções com diferentes concentrações de triclosan mas com uma concentração constante de NaCl de modo a aferir quanto às capacidades do sistema de detectar as moléculas-alvo num meio aquoso mais complexo. A tabela seguinte sistematiza todas as medições efectuadas.

Tabela 4.1-Sistematização das medições de impedância efectuadas.

Capítulo	Soluções	Sensores
4.1	Água ultrapura	Sem filmes finos
	Cloreto de sódio	
	Metanol	
	Triclosan+Metanol	
4.2	Água ultrapura	Filmes de (PAH/PAZO) ₁₅ , (PEI/OG) ₁₅ , (Chi/OG) ₁₅ e MWCNT
	Metanol	
	Triclosan+Metanol	
4.3	Água ultrapura+Triclosan+Metanol+ Cloreto de sódio	Sem filmes finos

4.1 Análise de soluções simples com eléctrodos interdigitados sem revestimentos sensoriais

Obtiveram-se espectros de impedância para água ultrapura, soluções aquosas de cloreto de sódio e soluções aquosas de triclosan, utilizando um único eléctrodo interdigitado com lavagem entre cada ensaio, de modo a garantir a sua reutilização.

4.1.1 Análise de Água Ultrapura

Realizou-se um primeiro ensaio para se analisar a impedância e respectivo ângulo em água ultrapura. A análise de água ultrapura efectuou-se para três amostras, retiradas do equipamento da Millipore imediatamente antes de cada medição, de modo a garantir a reprodutibilidade do sistema, a uma temperatura constante de 25 °C no sistema sensor-amostra. O intervalo de frequências analisado está compreendido entre os 20 Hz e os 200 kHz. Os espectros obtidos podem ser observados na Figura 4.1 a) e b), onde se verifica que existe reprodutibilidade dos dados, ainda que haja ligeiras variações, justificadas pelo facto de o sistema utilizado não estar em isolamento e ser muito susceptível a perturbações exteriores, tais como ligeiras alterações de temperatura.

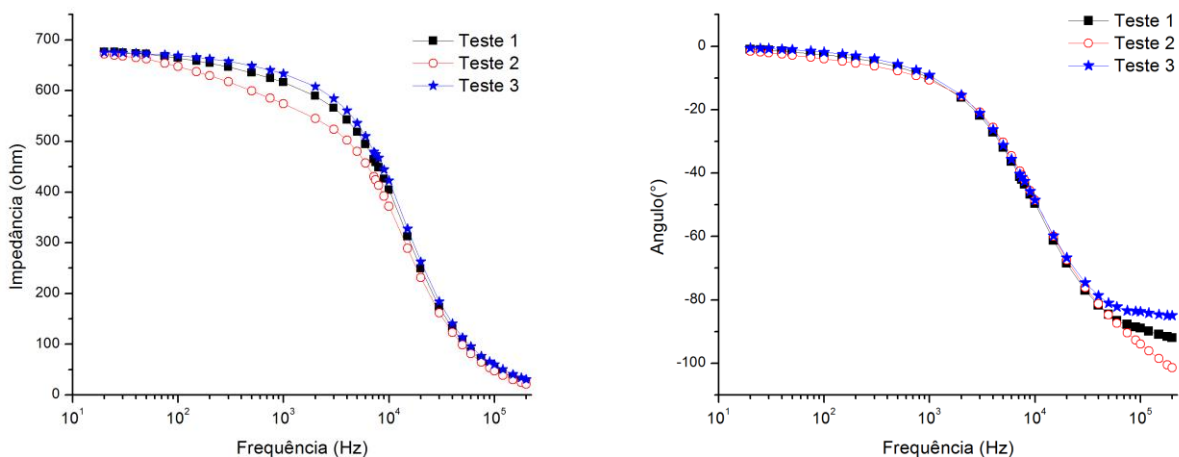


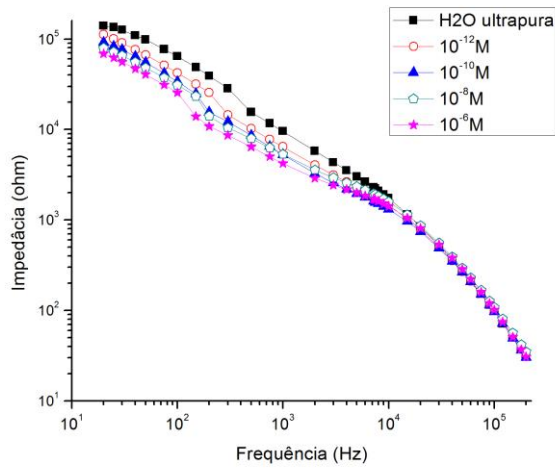
Figura 4.1– a) Espectro de impedância e b) ângulo obtidos para água ultrapura em eléctrodos interdigitados sem camadas sensoriais¹

4.1.2 Análise de Água Ultrapura e de soluções aquosas de Cloreto de sódio

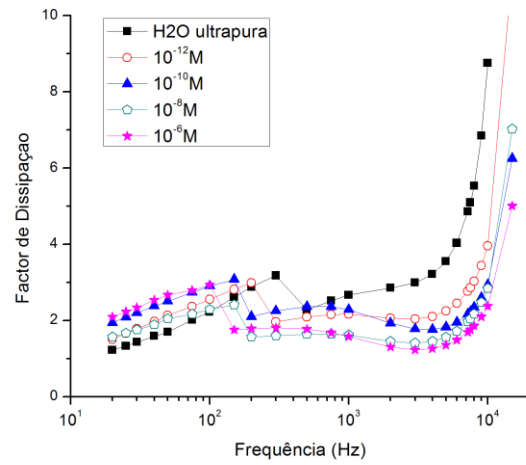
A análise espectral das soluções de cloreto de sódio foi efectuada por ordem crescente de concentrações, ou seja, começou-se por analisar a água ultrapura que corresponde a uma concentração de 0 M. Deste modo previne-se que uma medição anterior perturbe os resultados da medição seguinte, dado que a quantidade de molécula-alvo que poderá ficar adsorvida no sensor é pelo menos duas ordens de grandeza inferior à quantidade medida em seguida. Obtiveram-se os espectros de impedância, capacitância e resistência a uma temperatura de 25 °C, que podem ser observados, respectivamente, na Figura 4.2 a) a d). Assim verificou-se que a presença de cloreto de sódio na água aumenta a sua capacitância eléctrica, tendo o efeito oposto para a impedância e para a resistência. Até cerca de 100 Hz, o factor de dissipação é tanto maior quanto maior for a concentração de NaCl. A partir dessa frequência esta tendência inverte-se,

¹ Em todas as figuras dos capítulos 4.1 a 4.3 inclusive, cada ponto representa um valor medido do analisador de impedância ou calculado através de valores medidos, mas as linhas dos gráficos são meramente “guias de olho”.

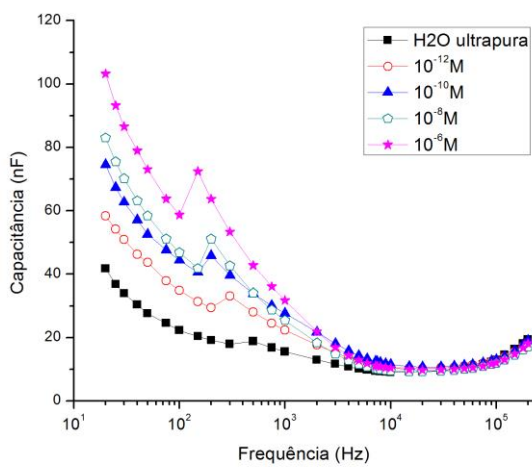
torando-se mais evidente a partir dos 2000 Hz, em que um aumento da concentração de NaCl origina um menor factor de dissipação.



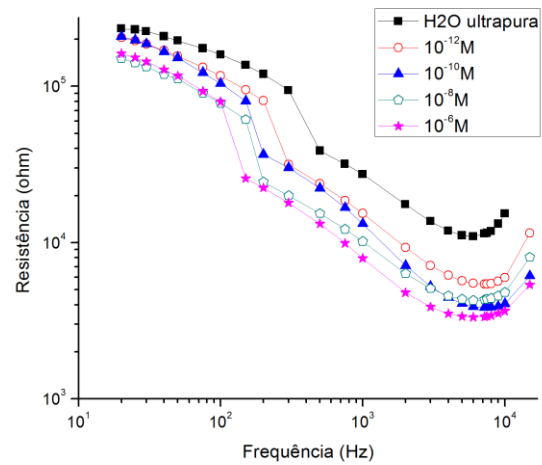
a)



b)



c)



d)

Figura 4.2– a) Espectro de impedância, b) factor de dissipação, c) capacitância, e d) resistência obtidos para água ultrapura e soluções aquosas de cloreto de sódio com concentrações entre 10^{-12} M e 10^{-6} M, a 25 °C, em eléctrodos interdigitados sem camadas sensoriais.

Confirmou-se assim, a capacidade do analisador de distinguir diferentes concentrações de NaCl em solução aquosa.

Verificou-se para todos os espectros que, à frequência de 100 Hz e sua vizinhança, há um comportamento semelhante para todas as concentrações, pelo que se fez uma análise mais aprofundada a esta frequência. Também foram consideradas as frequências de 1000 Hz, como frequência “intermédia” de comportamento, e de 10000 Hz, onde se verifica uma nova alteração mais evidente. Considerando a frequência de 100 Hz, os valores obtidos para a capacitância da água ultrapura e das soluções de cloreto de sódio indiciam uma dependência da capacitância com a concentração, sendo que quanto mais se dilui a solução, menor é a capacitância. Esta informação está de acordo com a Figura 4.3 a). Em relação ao comportamento da resistência, concretamente para a frequência de 100 Hz identificada na Figura 4.3 b), verifica-se o contrário, ou seja, quanto menor é a concentração, maior é a resistência. Tanto na análise da capacitância como da resistência, o seu comportamento é mais acentuado para concentrações entre os 0 M e os 10^{-10} M e tem diferenças menos significativas entre os 10^{-10} M e os 10^{-6} M. No caso das outras frequências analisadas, este comportamento não é tão evidente, o que se poderá dever ao facto de ambos os valores de capacitância e de resistência serem adquiridos em simultâneo e directamente pelo utilizador, condicionando assim alguns resultados.

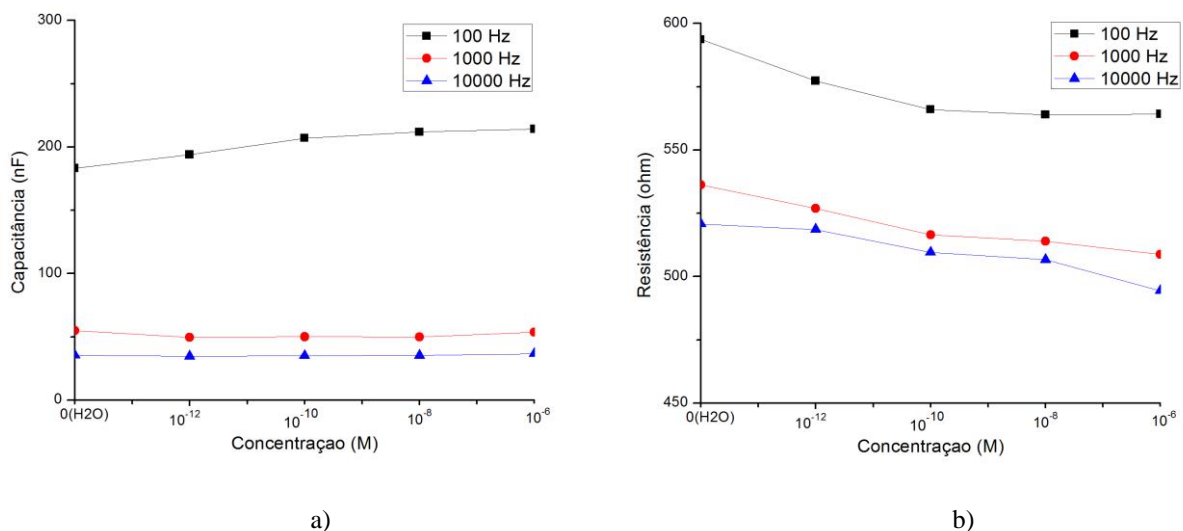
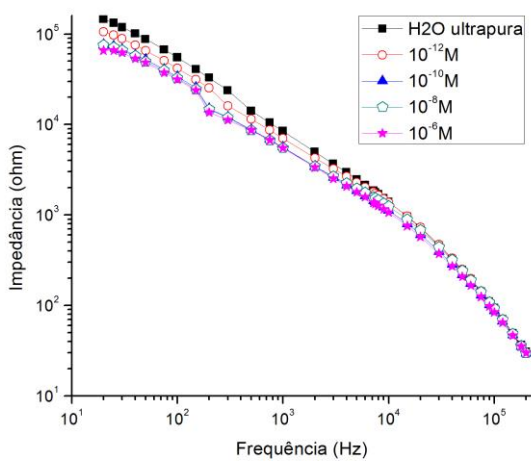


Figura 4.3– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de cloreto de sódio em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz.

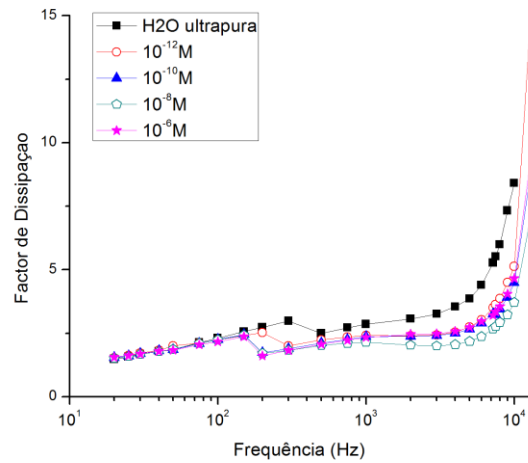
4.1.3 Análise de Água Ultrapura e de soluções aquosas de triclosan

Seguindo o mesmo procedimento utilizado no ensaio de cloreto de sódio, analisaram-se as soluções aquosas de triclosan com metanol. As concentrações estudadas estiveram novamente compreendidas

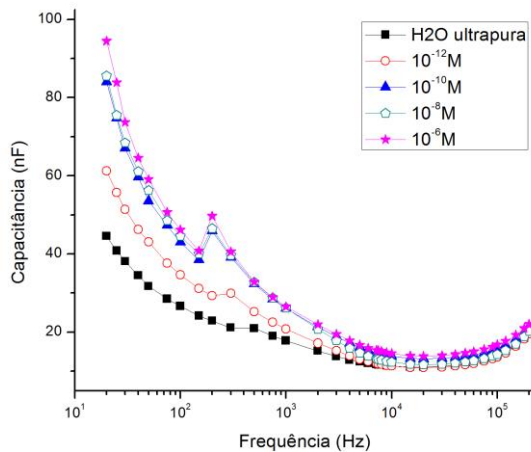
entre 0 M e 10^{-12} M, variando de duas em duas décadas. Nos espectros obtidos, a 25 °C, verifica-se que a presença de triclosan em água aumenta as suas propriedades capacitivas e reduz as suas propriedades resistivas. Este comportamento é bastante evidenciado entre os 20 Hz e os 1000 Hz, na Figura 4.4 c) e d). O factor de dissipação é tanto maior quanto menor for a concentração de triclosan em solução e este comportamento é mais nítido a partir de uma frequência de 2000 Hz, com excepção da concentração de 10^{-6} M, pela Figura 4.4 b).



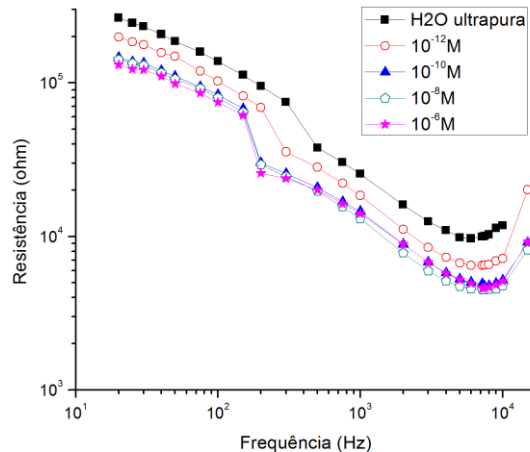
a)



b)



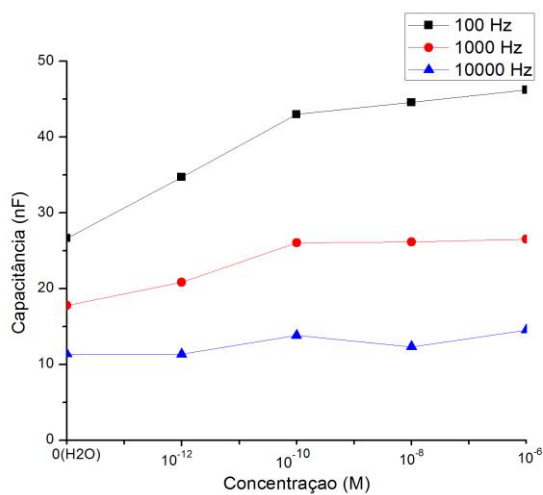
c)



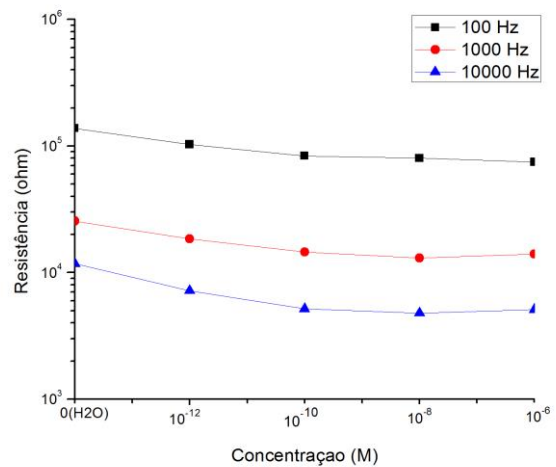
d)

Figura 4.4— a) Espectro de impedância, b) factor de dissipação, c) capacitância e d) obtidos para água ultrapura e soluções aquosas de triclosan com metanol com concentrações entre 10^{-12} M e 10^{-6} M, a 25 °C, em eléctrodos interdigtados sem camadas sensoriais.

Tal como se verificou nos ensaios com cloreto de sódio, o sensor apresenta uma resposta eléctrica semelhante para as diferentes concentrações tanto a uma frequência de 100 Hz como a uma frequência de 10000 Hz e respectivas vizinhanças. Novamente considerou-se a frequência de 1000 Hz por ser uma frequência em que as propriedades eléctricas apresentam uma tendência constante, sem alterações significativas. Independentemente da molécula-alvo que se deseja detectar, pretende-se que o sensor, sendo constituído apenas por um único eléctrodo interdigitado e descartável, opere a uma única frequência em que seja evidente a presença da molécula numa solução. À medida que se diminui a concentração de triclosan em factores de 100, verifica-se uma diminuição da capacitância e um aumento da resistência, sendo que este comportamento se manifesta com mais clareza para concentrações entre 0 M e 10^{-10} M, como se constata pela Figura 4.5 a) e b).



a)



b)

Figura 4.5 – Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de triclosan em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz.

De modo a garantir que o comportamento do sensor se deve ao metanol e não ao triclosan da solução de trabalho, fez-se uma análise isolada da dependência da capacitância e da resistência com a concentração de metanol, já que a concentração de metanol nas soluções varia do mesmo modo que a concentração de triclosan. Foram preparadas quatro soluções aquosas de metanol e água ultrapura, seguindo o mesmo método de diluições em série utilizado para a solução com triclosan.

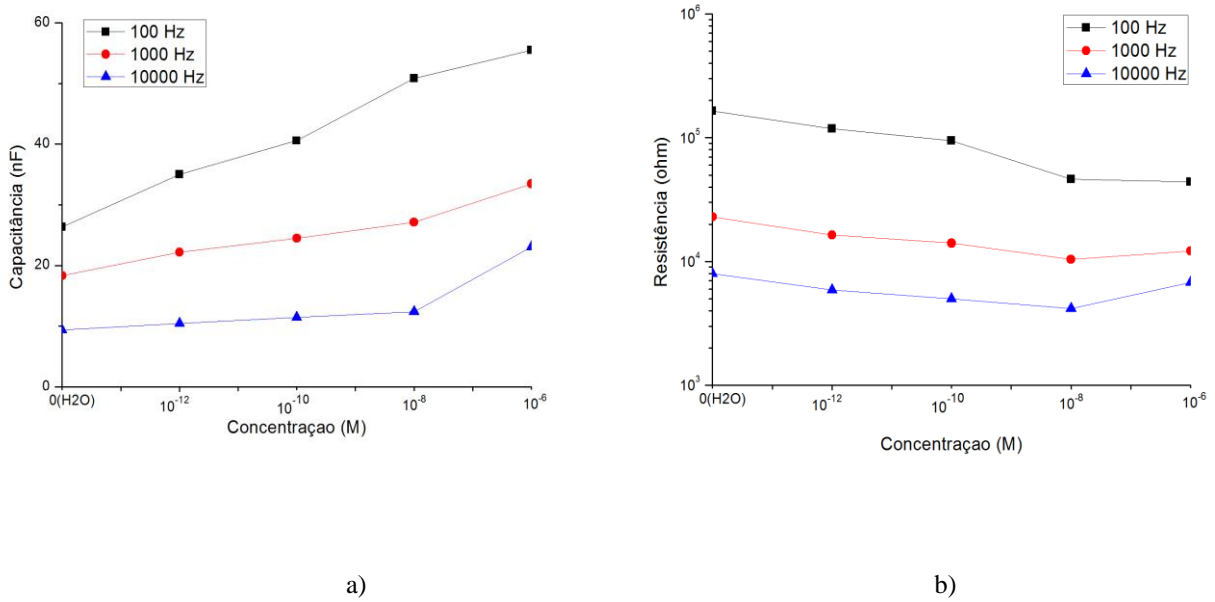


Figura 4.6– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de metanol em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz.

Como se pode verificar através da Figura 4.6, a capacitância das soluções de metanol diminui com a diminuição de concentração e este comportamento é mais acentuado entre 10⁻⁸ M e 10⁻⁶ M. Já para a resistência, há um aumento desta grandeza com a diminuição da concentração entre 0 M e 10⁻⁸ M. Apesar de, a uma frequência de 100 Hz o valor da resistência se manter constante entre 10⁻⁸ M e 10⁻⁶ M, para as restantes frequências há uma diminuição da resistência neste intervalo de concentrações. Este comportamento é claramente distinto quando se considera uma solução de água com metanol e quando se considera uma solução de água, metanol e triclosan, comparando esta figura com a Figura 4.5.

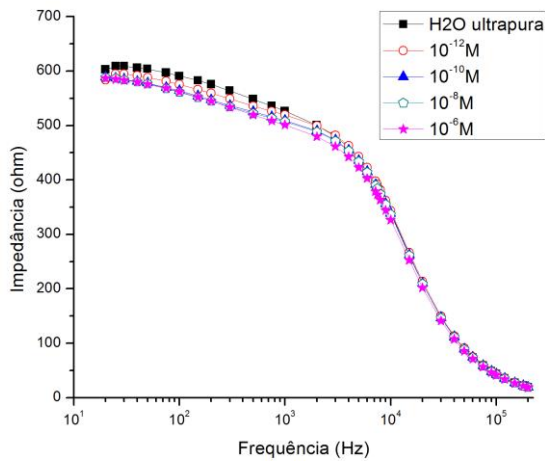
Ao fazer os testes de espectroscopia de impedância, fazendo uso de um sensor interdigitado sem qualquer revestimento sensorial, em soluções de cloreto de sódio e de triclosan, verificou-se a funcionalidade do sistema. Ao indiciar a presença das moléculas analisadas para as diferentes concentrações referidas, conclui-se que o desenvolvimento de uma língua electrónica por espectroscopia de impedância é viável. De modo a refinar a sensibilidade do sensor para as concentrações mais baixas estudadas, produziram-se vários filmes finos, utilizando diversas estruturas potencialmente sensoriais.

4.2 Análise de soluções com eléctrodos interdigitados com revestimentos sensoriais

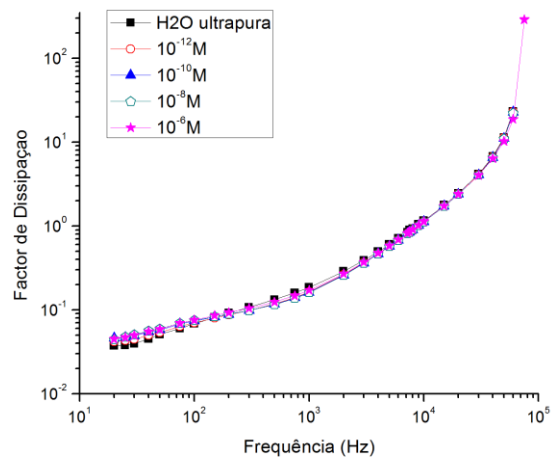
Tendo sido verificada a funcionalidade dos eléctrodos interdigitados, pretende-se agora que as propriedades eléctricas do sensor sejam alteradas com a finalidade de melhorar a sua sensibilidade. Para tal, recorreu-se à técnica de *LbL* para produzir filmes finos sobre os eléctrodos. Foram produzidos filmes finos de (PEI/OG)₁₅, (PAH/PAZO)₁₅ e (Chi/OG)₁₅. O primeiro termo entre parêntesis refere-se à camada catiónica e o segundo à camada aniónica de cada bicamada. O valor no índice dos parêntesis indica o número de bicamadas produzidas sobre o eléctrodo. Nos subcapítulos 3.5 e 3.6 assegurou-se não só que estes filmes foram eficazmente adsorvidos aos eléctrodos, como também que após a sua utilização em solução de triclosan, ocorreram alterações nas respectivas absorvâncias. Foram ainda utilizados filmes de nanotubos de carbono (MWCNT) preparados pela técnica de *sputtering*.

4.2.1 Análise de impedância de soluções de triclosan com filme de (PAH/PAZO)₁₅

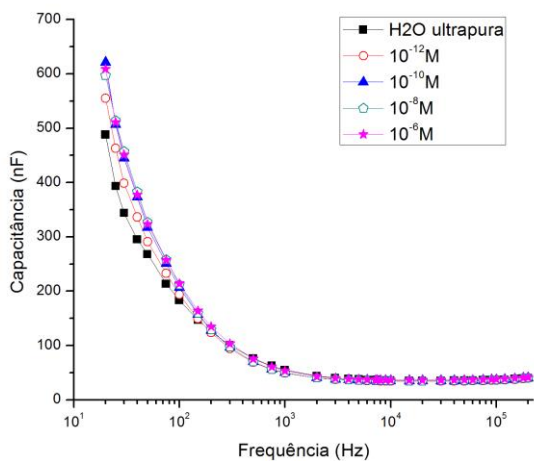
Seguindo o mesmo procedimento experimental e condições de temperatura (25° C) para os ensaios sem filme, analisaram-se soluções aquosas de triclosan com concentrações entre 10^{-12} M e 10^{-6} M, utilizando um sensor com filme constituído por quinze bicamadas de PAH e PAZO. As medições realizaram-se de forma crescente de concentrações, começando pela água ultrapura e terminando na solução de 10^{-6} M. No gráfico da Figura 4.7 a), verifica-se que os valores de impedância diminuem proporcionalmente com o aumento da concentração e que estes valores são cerca de três ordens de grandeza inferiores aos registados para um sensor sem filme. Em b) verifica-se novamente uma dependência entre o factor de dissipação e a concentração de triclosan, em que quanto maior a concentração maior o factor até uma frequência de 200 Hz. A partir dessa frequência, quanto maior a concentração, menor o factor de dissipação. Há dificuldade em distinguir a concentração de 10^{-6} M das restantes. Na Figura 4.7 c) e d) estão representadas as componentes imaginária e real da impedância da solução em análise para as diferentes concentrações, verificando-se que a capacitância aumenta com a concentração de triclosan e a resistência diminui com a concentração de modo aproximadamente proporcional. Comparativamente à análise das mesmas soluções mas com um sensor sem filme, os valores de capacitância aumentaram e os de resistência diminuíram cerca de uma ordem de grandeza.



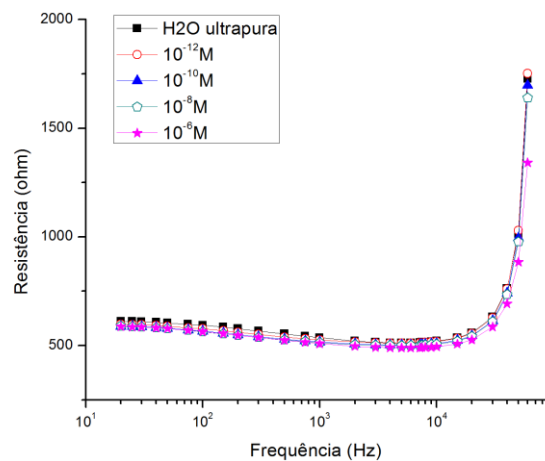
a)



b)



c)



d)

Figura 4.7– a) Espectros de impedância, b) fator de dissipação, c) capacitância e d) resistência obtidos para água ultrapura e soluções aquosas de triclosan com metanol com concentrações entre 10^{-12} M e 10^{-6} M, a 25°C , para um filme de (PAH/PAZO)₁₅.

A uma frequência de 100 Hz os espectros de capacitância e resistência manifestam uma boa separação dos valores das diferentes concentrações pelo que se fez uma análise mais detalhada a essa frequência. Pela observação da Figura 4.8 a) verifica-se que a capacitância se mantém aproximadamente constante

para valores de concentração entre 10^{-10} M e 10^{-6} M mas decresce ligeiramente para valores de concentração inferiores a 10^{-10} M. Em comparação com os mesmos dados para as frequências de 1000 Hz e 10000 Hz, verifica-se que a camada sensorial não permite a quantificação da concentração de triclosan para as concentrações analisadas nestas frequências, mantendo-se sempre aproximadamente constante. Já para o caso da resistência, Figura 4.8 b), a uma frequência de 100 Hz a resistência também se mantém aproximadamente constante para valores de concentração entre 10^{-10} M e 10^{-6} M e aumenta para valores de concentração inferiores a 10^{-10} M. Este comportamento verifica-se também a uma frequência de 1000 Hz mas não tanto a 10000 Hz. A resolução do sensor com filme de $(PAH/PAZO)_{15}$ é melhor para uma frequência de 100 Hz, ao ser capaz de detectar com melhor distinção concentrações mais baixas de triclosan.

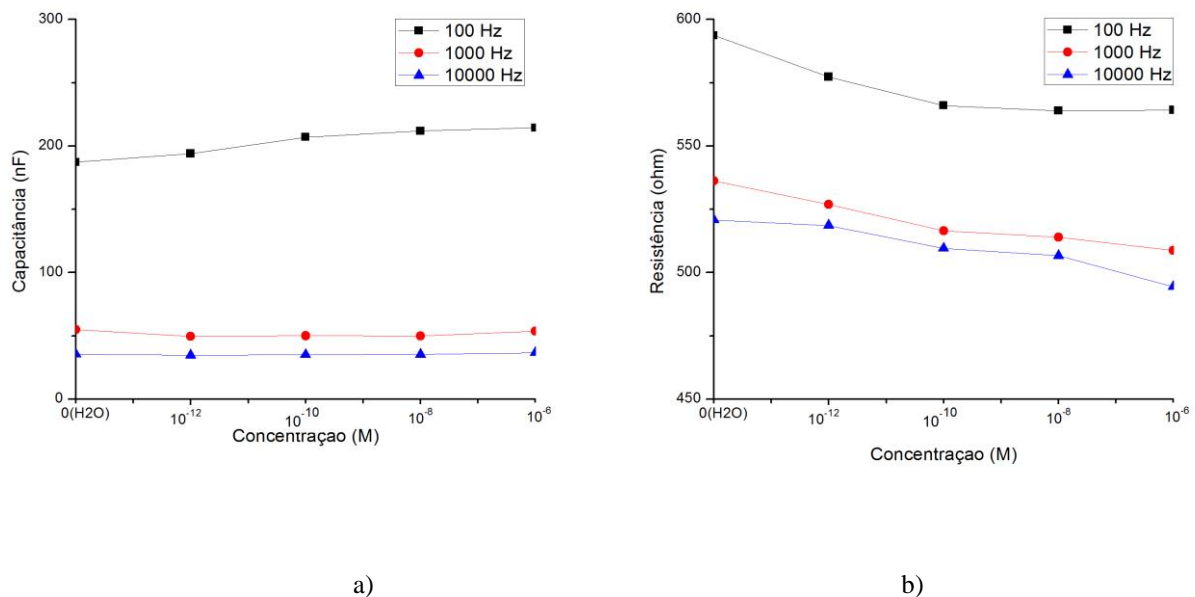


Figura 4.8– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de triclosan em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um filme de $(PAH/PAZO)_{15}$.

Testou-se ainda um sensor com filme de $(PAH/PAZO)_{15}$ para soluções de metanol, sem triclosan, com as mesmas concentrações de metanol, correspondentes às soluções com triclosan com concentrações entre 10^{-12} M e 10^{-6} M. Os resultados obtidos encontram-se na Figura 4.9.

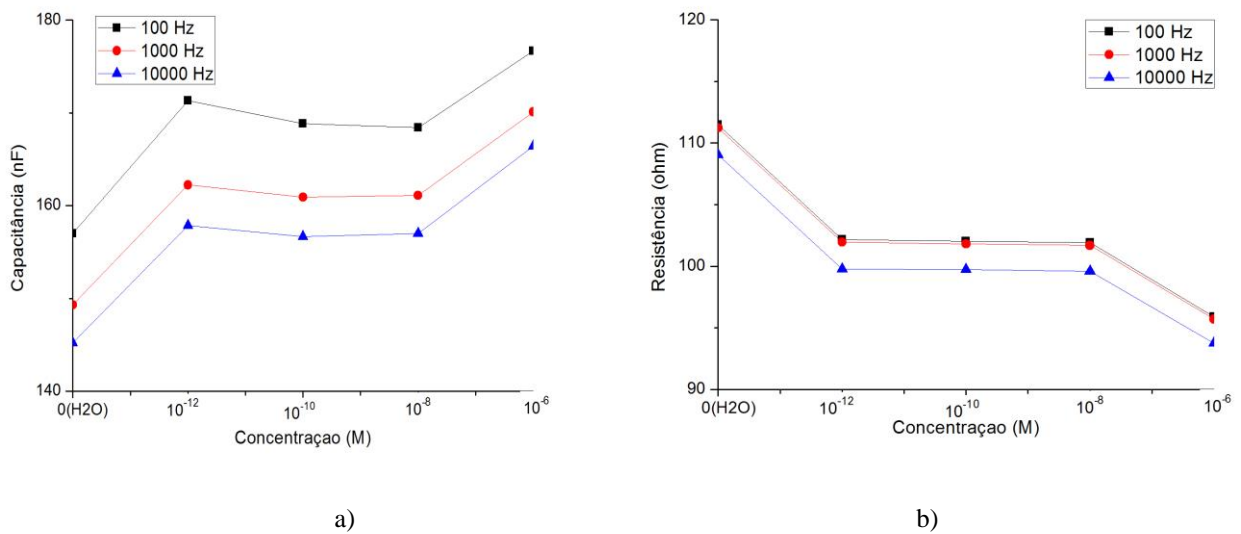


Figura 4.9 - Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de metanol em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um filme de (PAH/PAZO)₁₅.

Comparando as Figuras 4.8 e 4.9, torna-se bastante evidente a influência do triclosan nas propriedades capacitivas e resistivas de soluções aquosas com metanol. Na Figura 4.9 verifica-se que a presença de metanol numa solução aquosa mantém os valores de resistência aproximadamente constantes para concentrações entre 10⁻¹² M e 10⁻⁸ M. A capacitância também se mantém aproximadamente constante entre 10⁻¹⁰ M e 10⁻⁸ M mas diminui com o aumento da concentração entre 10⁻¹² M e 10⁻¹⁰ M. Entre a concentração de 0 M e a concentração de 10⁻¹² M, a capacitância da solução aumenta e a resistência diminui com o aumento de concentração, para todas as frequências. Este comportamento repete-se entre 10⁻⁸ M e 10⁻⁶ M.

4.2.2 Análise de impedância de soluções de triclosan com filme de (PEI/OG)₁₅

Mantendo as mesmas condições experimentais e seguindo o mesmo procedimento para os ensaios anteriores, fez-se a análise de soluções aquosas de triclosan com concentrações entre 10⁻¹² M e 10⁻⁶ M, utilizando um sensor com filme constituído por quinze bicamadas de PEI e OG. Pela Figura 4.10 a) é possível verificar que existe uma evolução coerente da impedância com o aumento da frequência, visto que a impedância diminui com o aumento da concentração. Comparativamente com os valores para o eléctrodo sem camadas sensoriais, os valores de impedância diminuíram cerca de uma ordem de grandeza, diminuíram duas ordens de grandeza para a resistência em d) e aumentaram uma ordem de grandeza para a capacitância em c), para o filme de (PEI/OG)₁₅. Ao longo de toda a gama de frequências, o factor de dissipação aumenta com a diminuição de concentração, apresentando um valor máximo para todas as concentrações à frequência de 100000 Hz.

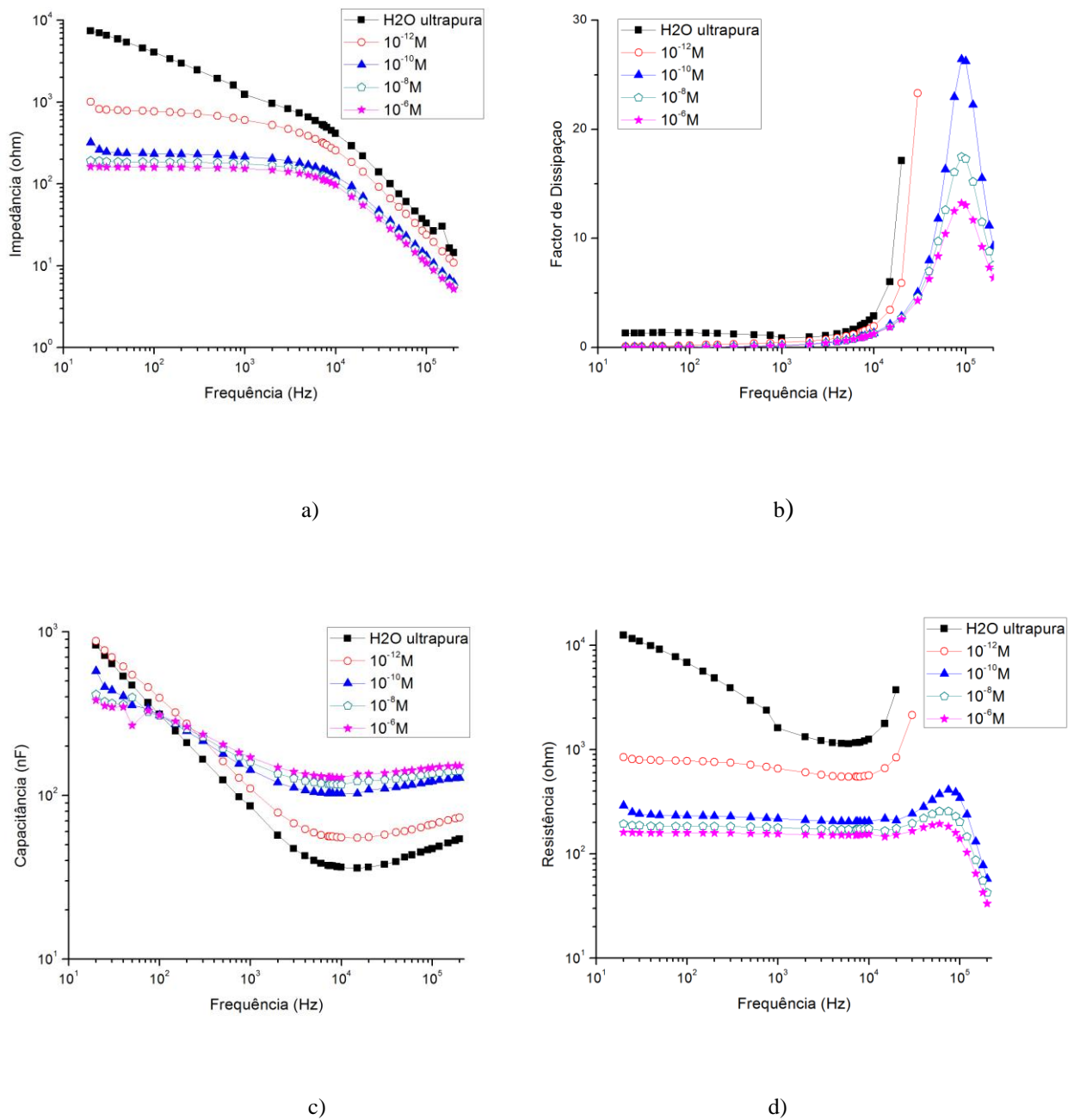


Figura 4.10– a) Espectros de impedância, b) factor de dissipação, c) capacitância e d) resistência obtidos para água ultrapura e soluções aquosas de triclosan com metanol com concentrações entre 10^{-12} M e 10^{-6} M, a 25°C , para um filme de $(\text{PEI}/\text{OG})_{15}$.

Pela análise dos espectros da Figura 4.10, verifica-se que tanto para a capacitância como para a resistência, às frequências de 1000 Hz e 10000 Hz os valores apresentam uma boa separação em concentração. Para a resistência o mesmo acontece a uma frequência de 100 Hz. Por esse motivo considerou-se relevante uma análise mais detalhada destas frequências. Na Figura 4.11 a) a capacitância aumenta com o aumento da concentração para as frequências de 1000 Hz e 10000 Hz. Para uma

frequência de 100 Hz esse comportamento não se verifica já que é evidente pela Figura 4.10 c) que a separação entre os valores de capacitância está perturbada. Numa análise dos valores de resistência, verifica-se um comportamento idêntico para as três frequências analisadas, na Figura 4.11 b), sendo que a resistência diminui com o aumento da concentração de triclosan nas soluções. Essa relação é mais evidente para concentrações inferiores a 10^{-10} M. Tendo em conta esta análise, então seria mais sensato que este sensor trabalhasse a uma frequência de 1000 Hz.

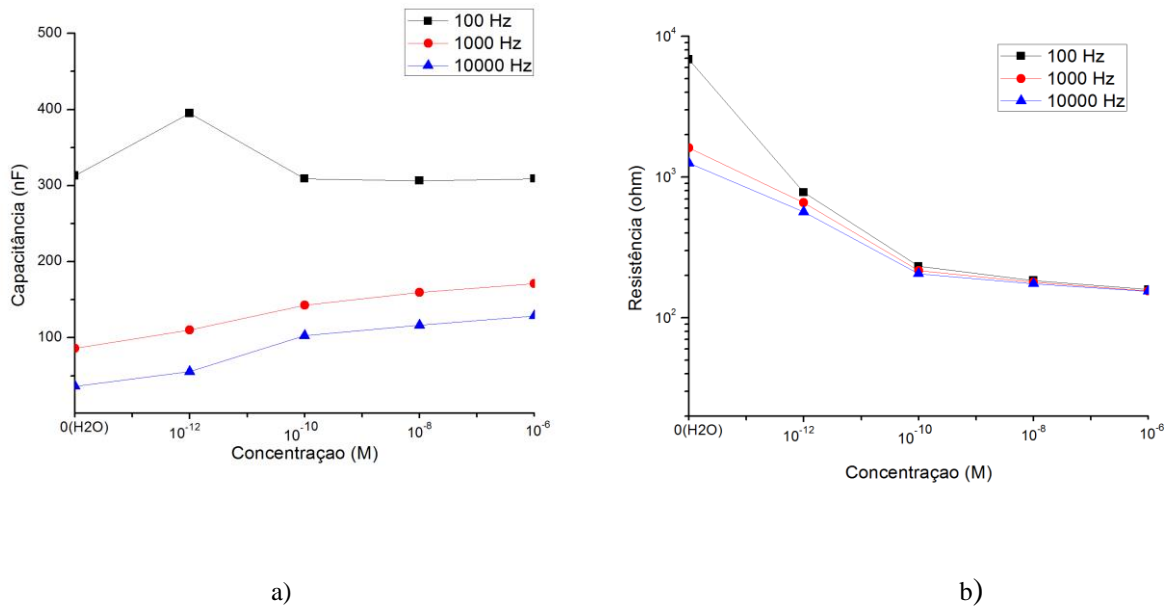


Figura 4.11– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de triclosan em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um filme de (PEI/OG)₁₅

Um segundo sensor com filme de (PEI/OG)₁₅ foi fabricado e testado em soluções de água e metanol, sem triclosan, para verificar a influência do triclosan nas propriedades das soluções aquosas, como resposta a este filme. Na Figura 4.12 ilustra-se essa dependência da concentração de metanol com a capacitância e resistência das soluções aquosas.

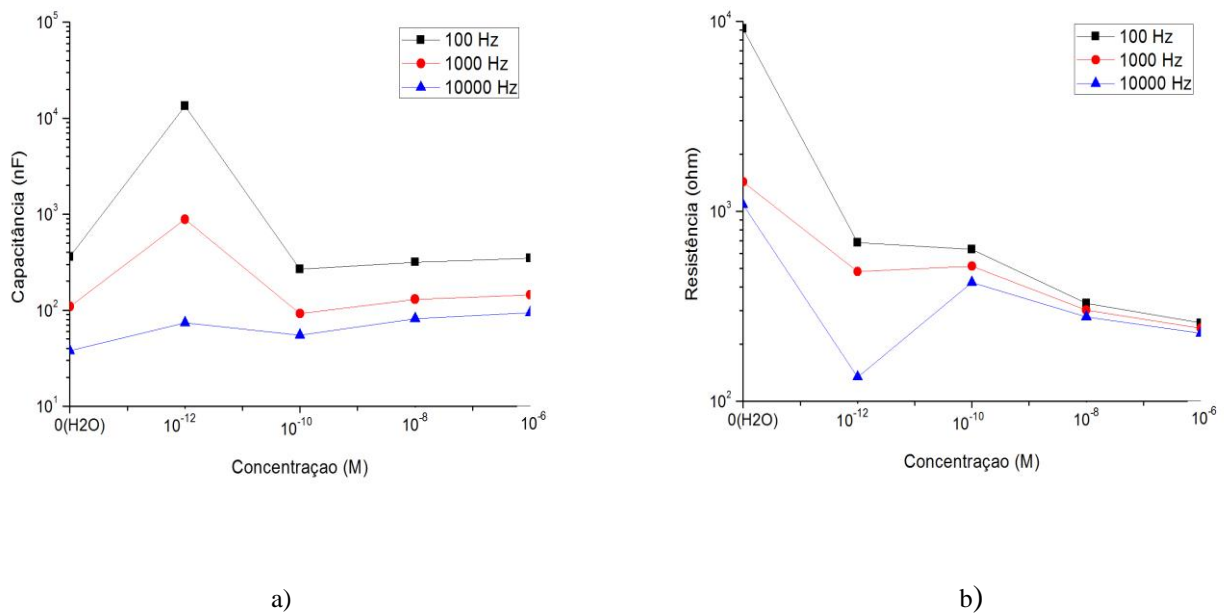


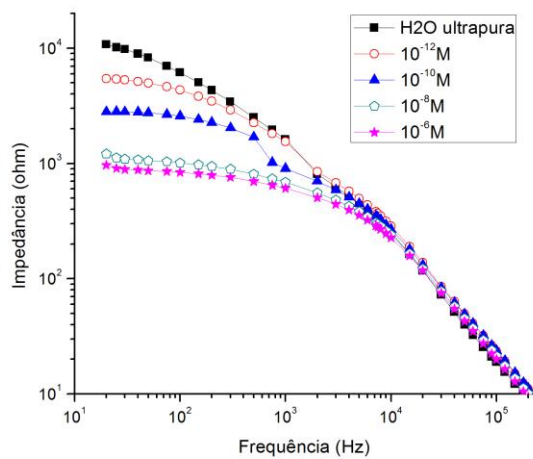
Figura 4.12 - Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de metanol em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um filme de (PEI/OG)₁₅.

Através das Figuras 4.11 a) e 4.12 a), conclui-se que a adição de triclosan a uma solução aquosa com metanol, causa uma diminuição da sua capacitância. Para o caso concreto da frequência de 100 Hz, essa diminuição traduz-se em cerca de duas ordens de grandeza para o pico correspondente à concentração de 10^{-12} M. Ao contrário da solução com triclosan, a solução só com metanol e água apresenta um pico na concentração de 10^{-12} M para todas as frequências. Do mesmo modo que em 4.11 a), a capacitância também aumenta com o aumento da concentração de metanol a partir de 10^{-10} M e entre 0 M e 10^{-12} M. Em 4.12 b) há uma diminuição da resistência com o aumento da concentração entre 0 M e 10^{-12} M, com um aumento entre 10^{-12} M e 10^{-10} M, e nova diminuição entre 10^{-10} M e 10^{-6} M. Este comportamento é semelhante ao da Figura 4.11 b), com exceção do pico na concentração de 10^{-12} M.

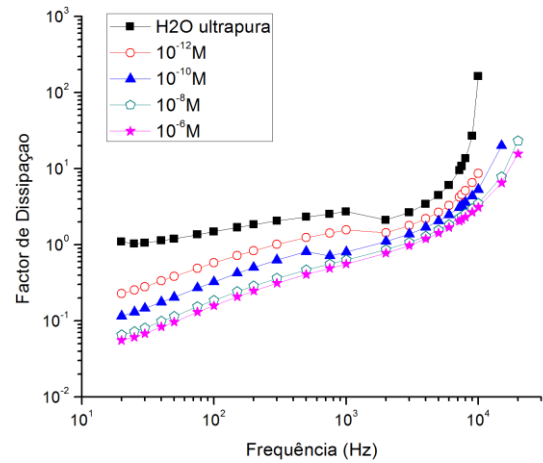
4.2.3 Análise de impedância de soluções de triclosan com filme de (Chi/OG)₁₅

Na Figura 4.13 encontram-se representados os espectros do filme com quinze bicamadas de quitosana e óxido de grafeno, produzido pela técnica de *LbL* com *spray*. Repetiu-se o mesmo procedimento dos filmes anteriores para a análise de soluções com triclosan. Neste caso foi possível obter espectros de impedância, Figura 4.13 a), e de resistência, Figura 4.13 d), com uma boa separação em concentração e comportamento coerente. No espectro de capacitância Figura 4.13 c) há uma irregularidade perceptível ao longo de toda a gama de frequências analisada visto que era esperado que, para a água ultrapura (0 M), os valores de capacitância fossem inferiores aos valores da solução com concentração de 10^{-12} M. Apesar

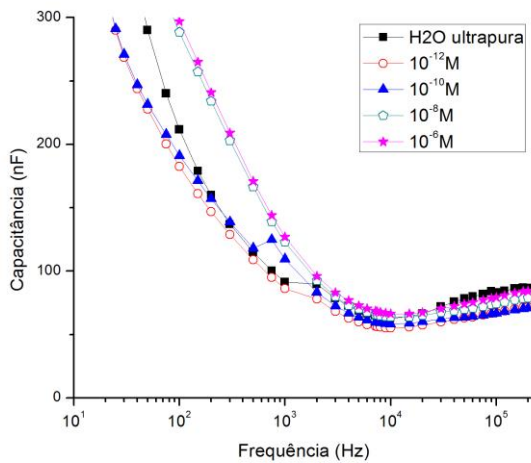
de esta anomalia ser suficiente para que os resultados não sejam satisfatórios, o sistema sensorial apresenta boa sensibilidade na distinção das restantes concentrações analisadas. Relativamente ao factor de dissipação em b), este aumenta com a diminuição de concentração de soluto na água, tendendo para um máximo a uma frequência de 10000 Hz.



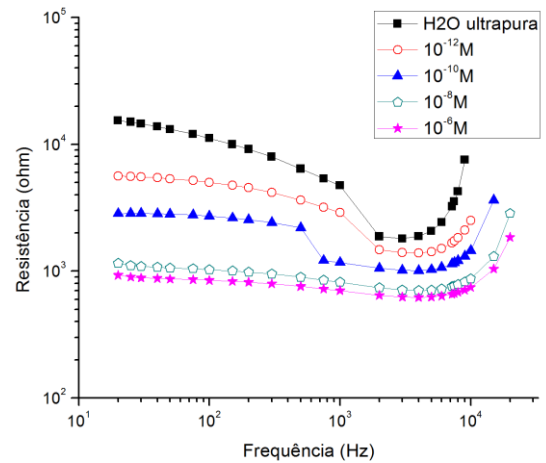
a)



b)



c)



d)

Figura 4.13– a) Espectros de impedância, b) factor de dissipação, c) capacitância e d) resistência obtidos para água ultrapura e soluções aquosas de triclosan com metanol com concentrações entre 10^{-12} M e 10^{-6} M, a 25°C , para um filme de $(\text{Chi}/\text{OG})_{15}$.

De acordo com os gráficos da Figura 4.14, tanto a dependência da capacitância como da resistência com a concentração é mais perceptível para uma frequência de 100 Hz. Os valores de resistência a uma frequência de 10000 Hz não estão de acordo com a tendência verificada para 100 Hz e 1000 Hz, portanto esta frequência seria excluída das possibilidades de frequência fixa de funcionamento do sensor.

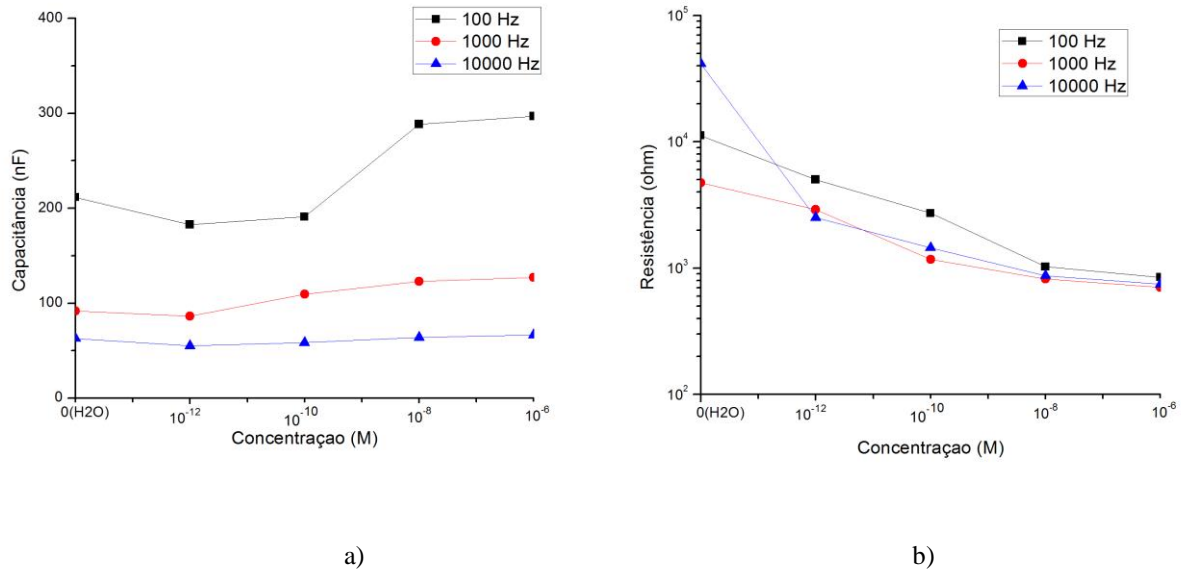


Figura 4.14– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de triclosan em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um filme de (Chi/OG)₁₅.

Verificou-se também a resposta de soluções com metanol e água, sem triclosan, a este filme. Pode-se de facto afirmar que a presença de triclosan nas soluções altera as suas propriedades capacitivas e resistivas, de forma característica, sem que estas modificações se devam exclusivamente ao metanol em solução. Em 4.14 b) e 4.15 b) é de notar uma alteração da ordem de grandeza dos valores de resistência medidos. Analisando a Figura 4.15 a), à frequência de 100 Hz, observa-se que a capacitância diminui com o aumento da concentração, para concentrações entre 0 M e 10⁻⁸ M, aumentando entre 10⁻⁸ M e 10⁻⁶ M. Comparando com a Figura 4.14 à mesma frequência, esse aumento ocorre a partir da concentração de 10⁻¹⁰ M. Já a resistência, diminui com a concentração, ao longo de todas as concentrações analisadas, em 4.15 b) mas de forma mais acentuada entre 0 M a 10⁻¹² M e 10⁻⁸ M a 10⁻⁶ M. Tal como em 4.14 b), a uma frequência de 10000 Hz este sensor tem uma resposta em resistência bastante diferente da resposta às outras duas frequências analisadas.

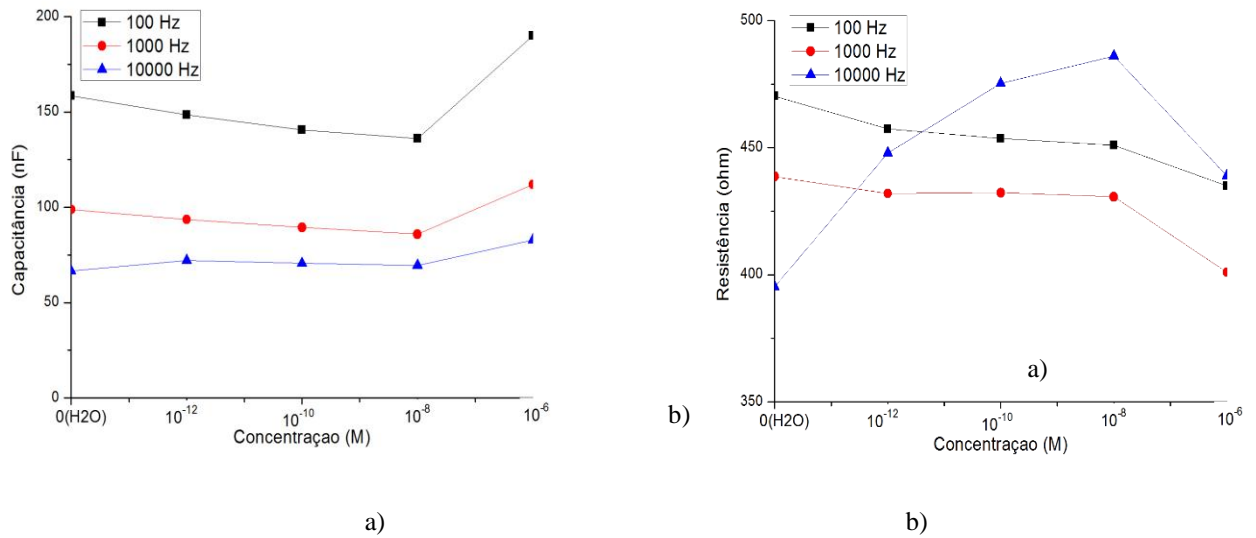
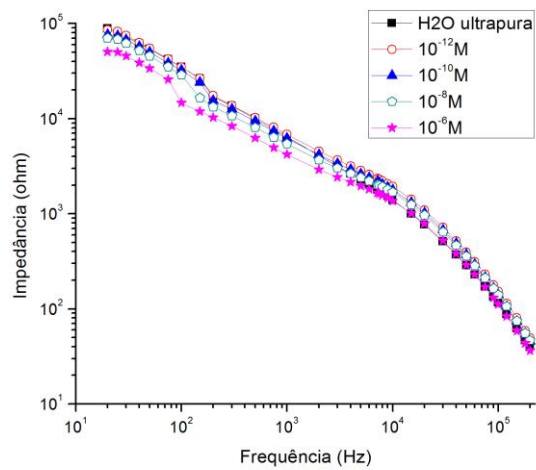


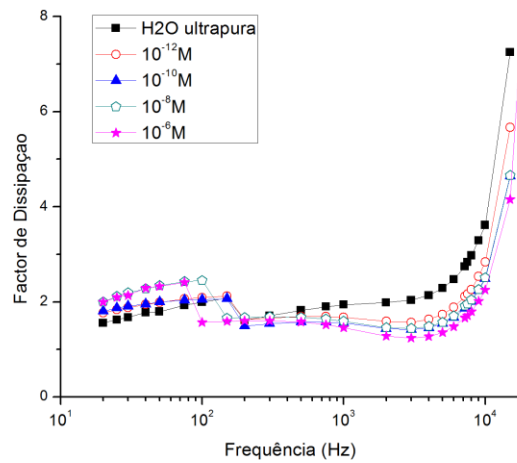
Figura 4.15– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de metanol em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um filme de (Chi/OG)₁₅.

4.2.4 Análise de impedância de soluções de triclosan com filme de nanotubos de carbono

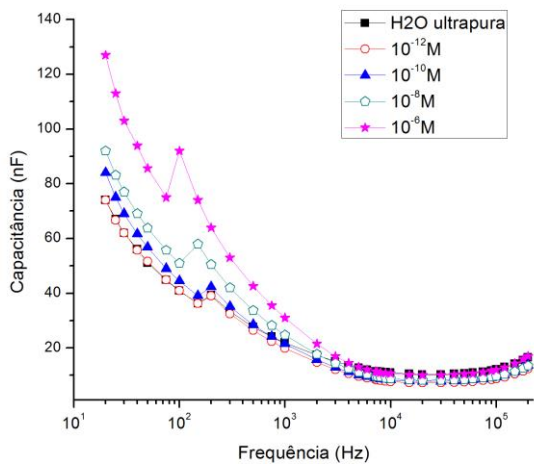
Na Figura 4.16 encontra-se a caracterização de impedância em filmes de nanotubos de carbono, produzidos pela técnica de pulverização catódica. Para tal utilizaram-se as soluções de triclosan com diferentes concentrações por ordem crescente de concentração, começando pela água ultrapura, de acordo com o procedimento e condições experimentais das medições anteriores. Nos espectros de impedância, capacitância e resistência da Figura 4.16, não há uma boa distinção entre a concentração da água ultrapura (0 M) e as concentrações restantes, principalmente com a concentração de 10⁻¹² M. Fora isso, há uma boa diferenciação entre as concentrações 10⁻¹² M e 10⁻⁶ M. Mais uma vez, este resultado não é ideal tendo em conta que se pretendem detectar concentrações muito baixas de triclosan em meios aquosos. Em b) verifica-se que o factor de dissipação aumenta com o aumento da concentração, até uma frequência de cerca de 100 Hz, apesar da dificuldade em distinguir a concentração de 10⁻⁶ M da concentração de 10⁻⁸ M. A partir da frequência de 1000 Hz, a dependência do factor de dissipação com a concentração inverte-se, com dificuldade em distinguir as concentrações de 10⁻⁸ M e 10⁻¹⁰ M.



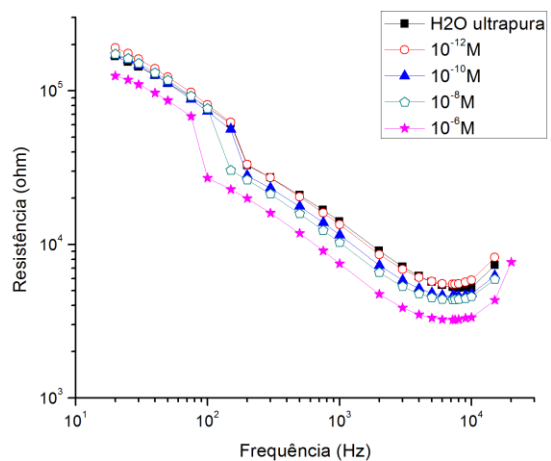
a)



b)



c)



d)

Figura 4.16– a) Espectros de impedância, b) factor de dissipação, c) capacitância e d) resistência obtidos para água ultrapura e soluções aquosas de triclosan com metanol com concentrações entre 10^{-12} M e 10^{-6} M, a 25°C , para um filme de MWCNT.

Para as três frequências analisadas, verificou-se um comportamento semelhante da dependência da capacitância e da resistência com a concentração, sendo mais acentuado para a frequência de 100 Hz. De acordo com a Figura 4.17, a capacitância aumenta e a resistência diminui com o aumento da

concentração. Esse comportamento destaca-se para concentrações maiores, entre 10^{-8} M e 10^{-6} M, e é menos significativo para concentrações inferiores a 10^{-8} M.

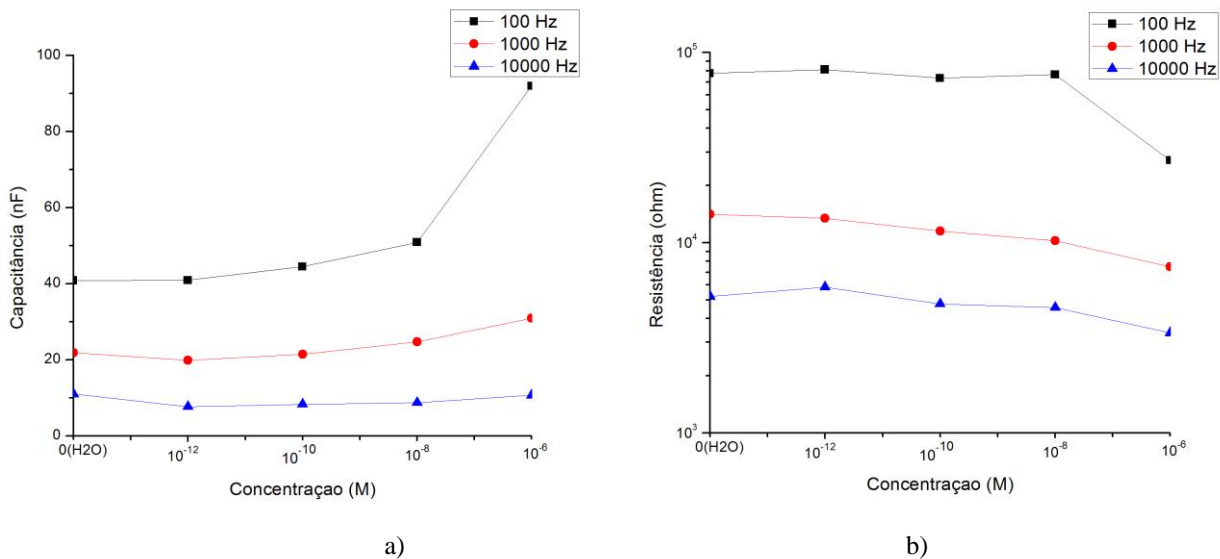


Figura 4.17– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de triclosan em solução aquosa, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um filme de MWCNT.

Para este material, como apenas foi produzido um sensor com filme de MWCNT, não se teve a oportunidade de fazer os testes em soluções aquosas com metanol, sem triclosan.

De acordo com as observações anteriores, conclui-se que a frequência de funcionamento mais adequada ao sensor de (PEI/OG)₁₅ será de 1000 Hz, enquanto que para os restantes sensores será de 100 Hz. Todos os sensores testados apresentam bons resultados, na medida em que existe uma dependência clara entre a concentração de soluto na solução e as propriedades capacitivas e resistivas da água, com uma boa separação de concentração.

4.3 Análise de soluções complexas com eléctrodos interdigitados sem revestimentos sensoriais

Foram ainda preparadas soluções aquosas mais complexas, constituídas por triclosan com NaCl, em que foi mantida a concentração de NaCl de 10⁻² M, e se variou a concentração de triclosan entre os 10⁻⁶ M e os 10⁻¹² M.

A análise das soluções realizou-se do mesmo modo que as experiências anteriores, ou seja, da menor concentração de triclosan (10⁻¹² M) para a maior (10⁻⁶ M), considerando que a concentração de NaCl de

10^{-2} M se manteve constante em todas as soluções. Neste caso, o eléctrodo utilizado não possuiu quaisquer revestimentos sensoriais. Obtiveram-se os espectros de impedância, factor de dissipação, capacitância e resistência, a uma temperatura de 25 °C. Verificou-se um aumento da capacitância com o aumento da concentração de triclosan, com uma boa separação em concentração entre os 1000 Hz e os 10000 Hz. Contrariamente, um aumento da concentração de triclosan traduz-se numa diminuição da resistência, impedância e factor de dissipação. Para o factor de dissipação, a separação em concentração é mais evidente entre os 1000 Hz e os 100000 Hz, para a capacitância a partir dos 100 Hz e para a resistência a partir dos 1000 Hz.

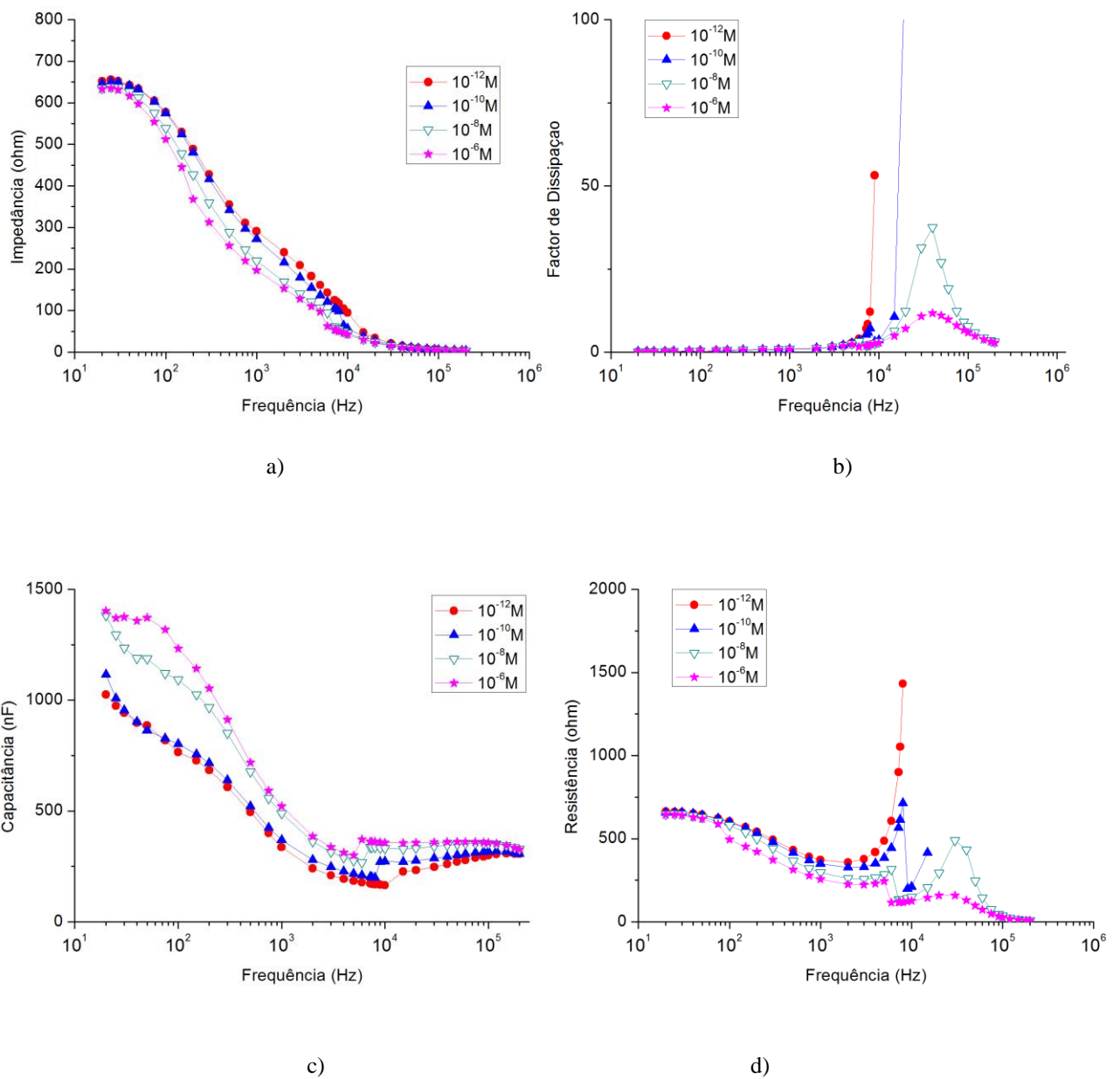


Figura 4.18– Espectros de a) impedância, b) factor de dissipação, c) capacitância e d) resistência para soluções aquosas de triclosan com concentrações entre 10^{-12} M e 10^{-6} M e uma concentração constante de 10^{-2} M de NaCl.

De modo a estabelecer uma relação mais clara entre a concentração de triclosan na solução com NaCl com a capacitância e resistência, analisaram-se estas grandezas a três frequências fixas de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz. Para a capacitância, a uma frequência de 100 Hz, verifica-se que há um pico máximo na concentração de 10^{-8} M, com o menor valor de capacitância para a concentração de 10^{-6} M. Este comportamento é semelhante para as frequências de 1000 Hz e 10000 Hz. Já para a resistência verifica-se que um aumento da concentração corresponde à sua diminuição. A 100 Hz esta diminuição é mais evidente entre as concentrações de 10^{-8} M e 10^{-6} M e para as frequências de 1000 Hz e 10000 Hz a diminuição de resistência é mais acentuada entre as concentrações 10^{-10} M e 10^{-8} M.

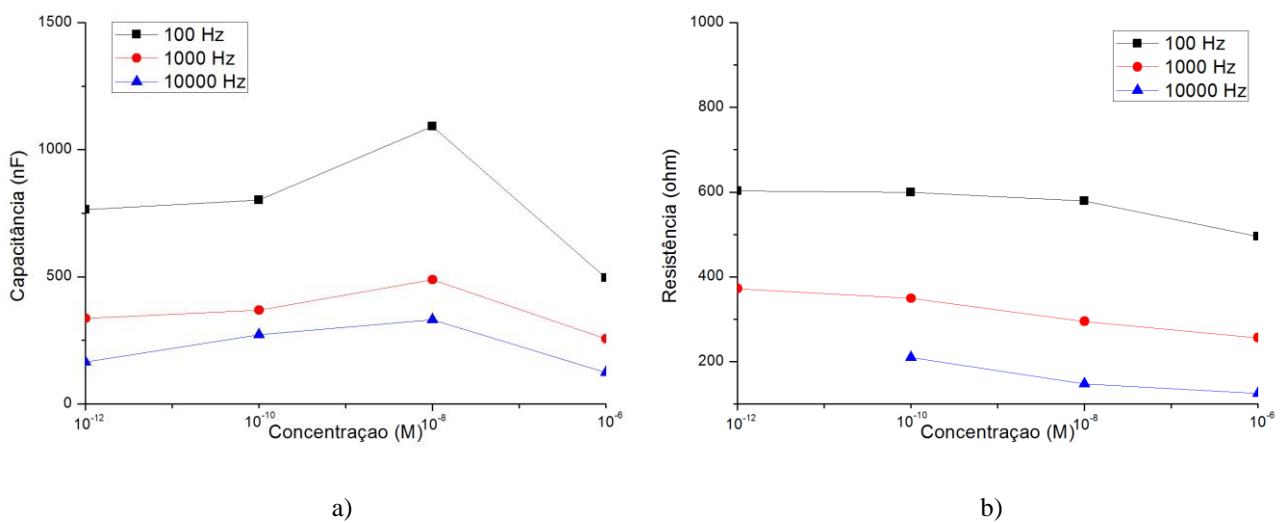


Figura 4.19– Dependência da a) capacitância e da b) resistência com a concentração (M) de triclosan em solução aquosa com NaCl, para as frequências de 100 Hz, 1000 Hz e 10000 Hz, para um sensor sem filme.

Mais uma vez, os resultados obtidos foram positivos na medida em que há uma boa separação das concentrações de triclosan. Um aumento de concentração traduz-se num aumento de capacitância e numa diminuição da resistência da água.

4.4 Aplicação de PCA para diferenciação de concentrações de triclosan

Para poder aplicar o método de Análise de Componentes Principais (PCA), foram seleccionadas as variáveis impedância, Ângulo, capacitância e resistência. De modo a extrair mais informações sobre a resposta eléctrica das soluções com diferentes concentrações, aplicou-se a função logaritmo a estas variáveis e seleccionaram-se intervalos de frequências para cada filme, para que os espectros pudessem ser descritos, aproximadamente, por três funções lineares do tipo $y = mx + b$. Os valores das constantes m e b foram adicionados à tabela de observações (ver Apêndice A). Cada concentração denomina uma

Observação, pelo que 0 M a 10^{-6} M designam as Observações e impedância, ângulo, capacitância, resistência, m e b correspondem aos valores dessas Observações. Deste modo pretende-se verificar se as informações contidas nos espectros de cada filme continham informações relevantes sobre as características eléctricas de cada solução analisada. As tabelas construídas para a análise de PCA de cada filme encontram-se no apêndice.

- Sem filme

No primeiro ensaio, sem filme, verifica-se que a primeira componente F1 explica 83,74% da variância total dos dados, o que é suficiente para desconsiderar as restantes componentes sem perdas de informação significativas. Na Figura 4.20 a) identifica-se uma relação evidente de aumento de concentração com o aumento de F1. A segunda componente F2 apresenta variância de 10,64%, ou seja, traduz pouca expressividade dos dados.

- Filme de (PAH/PAZO)₁₅

Para o caso do sensor com filme de PAH/PAZO, a primeira componente F1 explica 54,55% da variabilidade dos dados, enquanto que a segunda componente F2 explica 39,92%, portanto também contém informações que não podem ser desprezadas. Apesar de as duas componentes explicarem em conjunto 94,47% da variância total dos dados, não se identifica nenhum padrão que as relacione com a concentração de triclosan e não há qualquer relação com a concentração de 10^{-12} M. Estes dados estão ilustrados na Figura 4.20 b).

Assim sendo, foi necessário recorrer a uma terceira componente F3, com uma expressividade de apenas 4,22 %, mas que consegue relacionar em conjunto com a componente F2 (39,92) uma variabilidade total dos dados de 44,14%. Na Figura 4.20 c) torna-se mais evidente uma relação de aumento de concentração com o aumento de F2, com excepção da concentração de 0 M correspondente à água ultrapura.

- Filme de (PEI/OG)₁₅

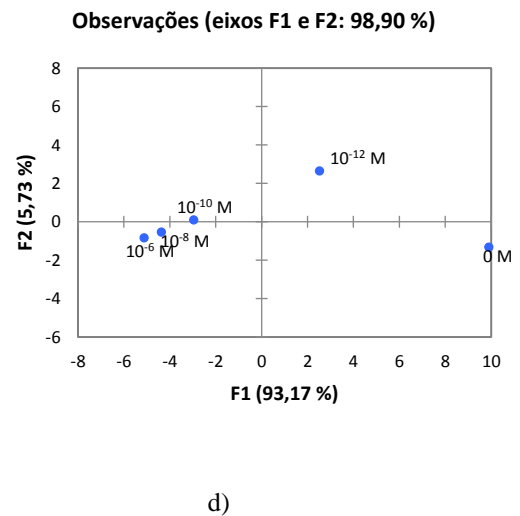
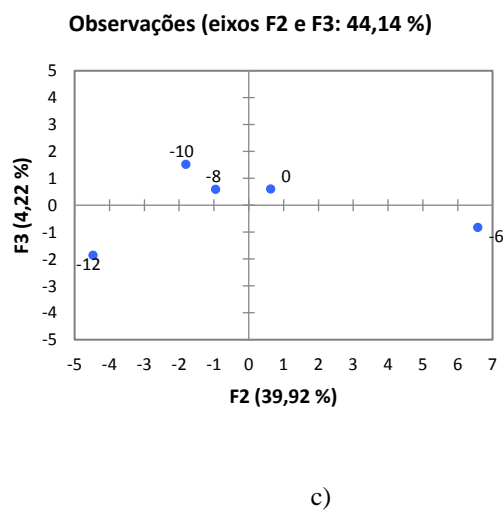
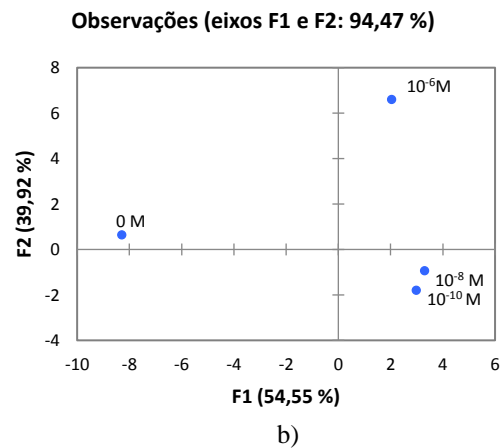
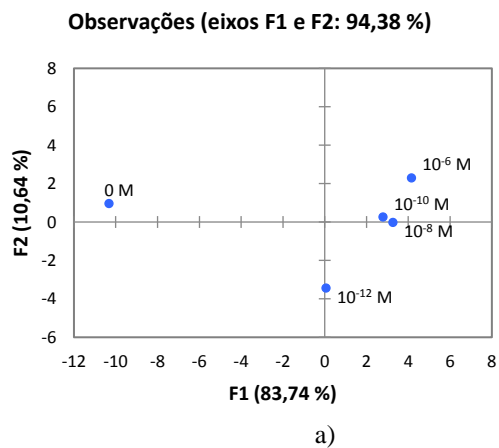
A resposta do sensor com filme fino de PEI/OG é descrita por duas componentes principais, Figura 4.20 d), em que a primeira descreve 93,17% da variabilidade dos dados, sendo que a concentração de triclosan diminui com o aumento de F1. Apesar de a componente F2 apresentar uma percentagem de apenas 5,73%, a concentração das soluções também diminui com o seu aumento, com excepção da água ultrapura (0 M).

- Filme de $(\text{Chi}/\text{OG})_{15}$

Analisando a Figura 4.20 e), verifica-se que a expressividade da componente F1 é suficiente para estabelecer uma relação decrescente de concentração com o aumento da componente, para o sensor de Chi/OG. Já para a segunda componente esta relação é crescente, com exceção da concentração 0 M.

- Filme de MWCNT

Os filmes de nanotubos de carbono, o único a ser produzido pela técnica de *sputtering*, teve uma representação das suas propriedades eléctricas através da PCA (Figura 4.20 f)), em que a componente F1 expressa 73,09% da variabilidade dos dados. Nesta componente, a concentração de triclosan aumenta com o aumento de F1. A segunda componente principal mostra uma relação decrescente de concentração de triclosan com o seu aumento, com exceção da água ultrapura (0 M).



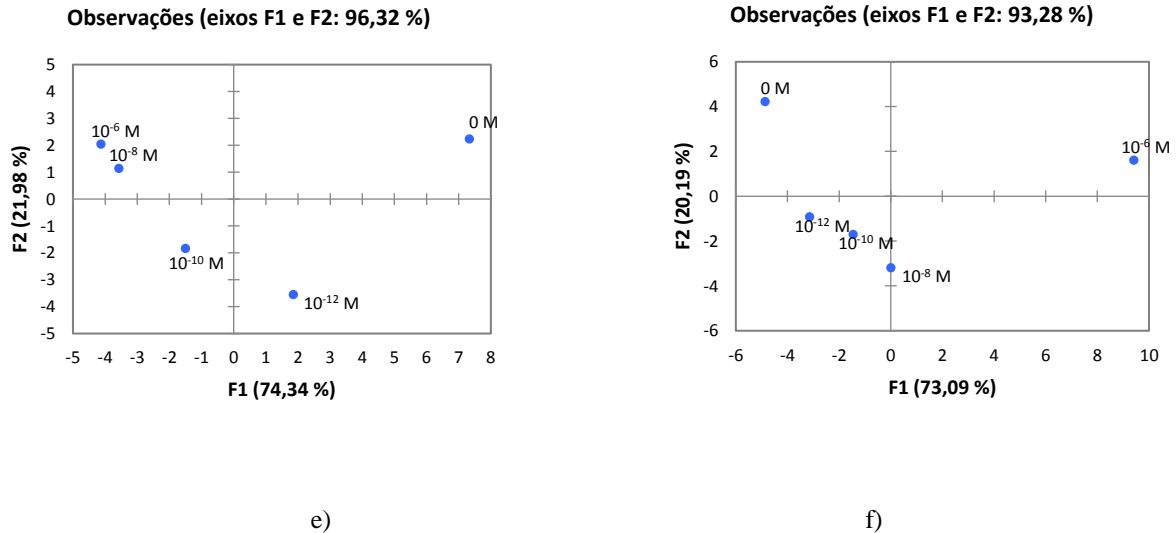


Figura 4.20– Representação da relação entre a concentração de triclosan e as componentes principais F1 e F2, que em conjunto explica m a) 94,38% da variância total dos dados, para um sensor sem filme, b) 94,47% da variância total dos dados e c) (F2 e F3) 44,14% para um sensor com filme de (PAH/PAZO)₁₅, d) 98,90% da variância total dos dados, para um sensor com filme de (PEI/OG)₁₅, e) 96,32% da variância total dos dados, para um sensor com filme de (Chi/OG)₁₅, f) 93,28% da variância total dos dados, para um sensor com filme de MWCNT.

- Todos os filmes

Finalmente, para aumentar o número de observações da análise de PCA, recorreu-se a todas as variáveis para todas as Observações, para todos os filmes anteriores. Juntando toda esta informação, foi obtida a Figura 4.21, em que a componente F1 explica 70,09% da variância total dos dados, enquanto que a componente F2 explica apenas 22,22%. Relativamente à primeira componente, a tendência das concentrações é serem sucessivamente mais elevadas para valores crescentes de F1. Já para F2 e novamente com exceção da concentração de 0 M, há uma tendência decrescente de concentrações com o seu aumento.

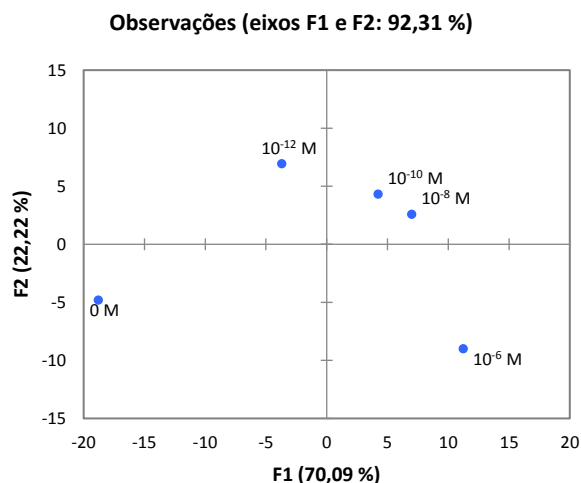


Figura 4.21– Representação da relação entre a concentração de triclosan e as componentes principais F1 e F2, que em conjunto explicam 92,31% da variância total dos dados, para todos os eléctrodos, para todos os filmes.

A tabela 4.1 resume as análises anteriores.

Tabela 4.2- Resumo dos resultados de PCA

Filme	F1 %	F2 %	F1+F2 %	F2%	F3%	F2+F3%
Sem filme	83,74	10,64	94,38			
PAH/PAZO	54,55	39,92	94,47	39,92	4,22	44,14
PEI/OG	93,17	5,73	98,90			
Chi/OG	74,34	21,98	96,32			
MWCNT	73,09	20,19	93,28			
Todos os filmes	70,09	22,22	92,31			

Todos os sensores, tanto individualmente como em conjunto, têm a capacidade de distinguir diferentes concentrações de triclosan em meio aquoso, o que se traduz numa dependência das propriedades eléctricas dos filmes com a concentração de triclosan. As componentes principais F1 e F2 explicam, para todos os filmes, uma variância total dos dados superior a 90 % e demonstram uma relação entre a concentração de soluto e a primeira componente tal que F1 aumenta com o aumento de concentração para o sensor sem filme e para o filme de MWCNT. Já para os filmes de (PEI/OG)₁₅ e (Chi/OG)₁₅, a componente F1 aumenta com a diminuição da concentração. No caso do filme de (PAH/PAZO)₁₅ não existe nenhuma relação explícita entre a primeira componente e a concentração, apesar de esta ter uma expressividade de 54,55 %.

A primeira componente do filme de $(PEI/OG)_{15}$ é a única que tem maior expressividade do que a do sensor sem filme. Para os filmes restantes, a componente F1 foi sempre inferior, o que indicia que o filme de $(PEI/OG)_{15}$ é aquele que garante a maior afinidade entre o sensor e a molécula-alvo. No entanto, como se observou nos subcapítulos 3.5 e 3.6, este filme sofre perda de material em solução e, portanto, não será o sensor mais adequado.



5. Conclusão e Perspectivas futuras

5.1 Conclusão

O objectivo desta dissertação consistiu no desenvolvimento de um sensor de triclosan, capaz de detectar baixas concentrações deste soluto em soluções aquosas, da ordem dos micro a pico molar. Para tal, averiguou-se a potencialidade de uma LE baseada no método de espectroscopia de impedância. Foram produzidos diversos sensores, compostos por suportes com eléctrodos interdigitados e filmes finos de (PAH/PAZO)₁₅, (PEI/OG)₁₅, (Chi/OG)₁₅ ou MWCNT, em que os primeiros três foram produzidos pela técnica de Camada-sobre-Camada (*LbL*) e o último pela técnica de pulverização catódica. Fez-se uma primeira análise de soluções de NaCl e de triclosan, com concentrações compreendidas entre os 0 M e os 10⁻¹² M, com os eléctrodos sem heteroestruturas sensoriais de modo a garantir a capacidade do analisador em distinguir diferentes concentrações de um soluto.

Os filmes produzidos pela técnica de *LbL* foram caracterizados pela técnica de espectrofotometria de UV-Vis e através de microscopia óptica, antes e após a sua utilização em soluções com triclosan. Pretendeu-se deste modo garantir a adsorção dos filmes aos eléctrodos e também a adsorção de triclosan aos filmes ou a dessorção do próprio filme para a solução após a sua utilização

Através do analisador de impedância, verificou-se que um aumento da concentração de triclosan em água aumenta as suas propriedades capacitivas e diminui as suas propriedades resistivas. Todos os filmes analisados apresentam uma boa separação em concentração, apesar de essa separação ser mais acentuada e mais fiável a determinadas frequências de trabalho. Com excepção do filme de (PEI/OG)₁₅, a frequência de funcionamento recomendada de cada sensor será de 100 Hz. No caso do filme de (PEI/OG)₁₅ a frequência mais indicada será de 1000 Hz.

Através do método de Análise de Componentes Principais (PCA), fez-se uma análise estatística conjunta dos resultados experimentais, permitindo extrair mais informações sobre a resposta eléctrica das soluções aos diferentes filmes produzidos. Como resultado, a primeira componente principal F1 explica uma variabilidade dos dados experimentais de 83,74%, 54,55 %, 93,17 %, 74,34% e 73,09 % para o sensor sem filme, com filmes de (PAH/PAZO)₁₅, de (PEI/OG)₁₅, de (Chi/OG)₁₅ e de MWCNT, respectivamente. Com excepção dos filmes de (PAH/PAZO)₁₅, verifica-se uma relação de aumento de F1 com o aumento ou diminuição de concentração de triclosan nas soluções.

Considerando os resultados obtidos e apresentados ao longo desta dissertação, conclui-se que os objectivos propostos foram atingidos, uma vez que as metodologias desenvolvidas permitem a detecção

de triclosan em meio aquoso simples e ligeiramente mais complexo (com a adição de NaCl). Deste modo, evidenciou-se o potencial do método de LE por espectroscopia de impedância para o estudo de soluções aquosas com triclosan ainda mais complexas e até para outro tipo de solventes que se pretenda detectar.

5.2 Perspectivas futuras

Dada a dificuldade em testar a reprodutibilidade dos resultados e até a incapacidade de produzir novos resultados a partir do mês de Junho (devido à dificuldade em manter o banho termostático à temperatura constante de 25 °C), seria interessante construir uma caixa isolante para conter todos os elementos da LE desenvolvida. Deste modo seria possível garantir com mais segurança a temperatura constante do sistema e também reduzir quaisquer instabilidades entre os contactos do sensor e do analisador de impedância. Esta caixa deveria, no entanto, continuar a permitir um fácil acesso aos principais elementos do sistema. Uma sugestão seria uma *Glovebox*, dado que permite manter uma atmosfera controlada sem contaminar o sistema a cada tarefa, e também porque o material transparente que a constitui (vidro ou acrílico) permite testes de fotossensibilidade por poder ser coberto ou iluminado por uma fonte externa.

Seria ainda oportuno testar sensores com outros materiais para revestir os eléctrodos, tanto pela técnica de *LbL* e de pulverização catódica, como por outras técnicas. A complexidade das soluções aquosas testadas também deverá aumentar, variando apenas a concentração de triclosan e mantendo constantes as concentrações de todos os outros aditivos da solução. Estes aditivos deverão ser contaminantes comuns da água no ambiente, como por exemplo metais pesados e fertilizantes.

O *software* desenvolvido por Pimentel (2014) ^[23] para automatizar o controlo de medições do analisador de impedância deveria ser complementado com funções como o cálculo automático da média de valores para cada frequência, bem como os respectivos gráficos. Poderia ainda ter a opção de, seleccionando manualmente os intervalos de frequências e compilando todas as medições em gráficos sob a forma *log-log*, calcular todos os parâmetros necessários para a PCA e apresentá-la graficamente.

Foi ainda projectado em *SolidWorks* um suporte ajustável, através de parafusos (Apêndice B), ao recipiente com as amostras aquosas, a ser colocado no banho termostático. A projecção deste suporte prende-se com a necessidade de ampliar o leque de recipientes de vidro a serem utilizados na espectroscopia de impedância, dado que o material laboratorial é partilhado e nem sempre está disponível a quantidade necessária com o mesmo formato. Assim, pode-se expandir os recipientes a provetas, gobelés ou até tubos de ensaio, entre outros. Este suporte poderá ser construído em latão ou alumínio.

5.3 Trabalhos no âmbito da tese

- **Comunicação oral:** G. Magalhães-Mota, I. Marques, S. Sério, P. A. Ribeiro, M. Raposo, 2016, *Detection of Traces of Triclosan in water*, NANOSMAT-2016 – 11th International Conference on Surface Coatings and Nanostructured Materials, Aveiro, Portugal, 6-9 Setembro, 2016
- **Artigo em preparação:** “*Detection of Traces of Triclosan in water*”, G. Magalhães-Mota, I. Marques, S. Sério, P. A. Ribeiro, M. Raposo, submetido à revista *Applied Surface Science* a 15 de Outubro de 2016.

O *Abstract*, já submetido, encontra-se em apêndice (Apêndice C).

Referências

- [1] Daughton, C. G., & Ternes, T. A. (1999). Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change?. *Environmental health perspectives*, 107(Suppl 6), 907-938.
- [2] Jones, R. D., Jampani, H. B., Newman, J. L., & Lee, A. S. (2000). Triclosan: a review of effectiveness and safety in health care settings. *American journal of infection control*, 28(2), 184-196.
- [3] Williams, R. M. (2006). Triclosan-A Controversial Antibacterial. *Townsend Letter: The Examiner of Alternative Medicine*, (274), 35-38.
- [4] Boyce, J., Chartier, Y., Chraïti, M., & Cookson, B. (2006). WHO Guidelines on hand hygiene in health care (Advanced Draft). *Geneva: World Health Organization*.
- [5] Qiu, X., Abdel-Meguid, S. S., Janson, C. A., Court, R. I., Smyth, M. G., & Payne, D. J. (1999). Molecular basis for triclosan activity involves a flipping loop in the active site. *Protein Science*, 8(11), 2529-2532.
- [6] Dann, A. B., & Hontela, A. (2011). triclosan: environmental exposure, toxicity and mechanisms of action. *Journal of Applied Toxicology*, 31(4), 285-311.
- [7] Golmohammadi, H. (2009). Prediction of octanol–water partition coefficients of organic compounds by multiple linear regression, partial least squares, and artificial neural network. *Journal of computational chemistry*, 30(15), 2455-2465.
- [8] Jung, E. M., An, B. S., Choi, K. C., & Jeung, E. B. (2012). Potential estrogenic activity of triclosan in the uterus of immature rats and rat pituitary GH3 cells. *Toxicology letters*, 208(2), 142-148.
- [9] Kumar, V., Chakraborty, A., Kural, M. R., & Roy, P. (2009). Alteration of testicular steroidogenesis and histopathology of reproductive system in male rats treated with triclosan. *Reproductive Toxicology*, 27(2), 177-185.
- [10] Sankoda, K., Matsuo, H., Ito, M., Nomiyama, K., Arizono, K., & Shinohara, R. (2011). Identification of triclosan intermediates produced by oxidative degradation using TiO₂ in pure water and their endocrine disrupting activities. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 86(5), 470-475.
- [11] Park, B. K., Gonzales, E. L. T., Yang, S. M., Bang, M., Choi, C. S., & Shin, C. Y. (2016). Effects of Triclosan on Neural Stem Cell Viability and Survival. *Biomolecules & therapeutics*, 24(1), 99-107.
- [12] Lankester, J., Patel, C., Cullen, M. R., Ley, C., & Parsonnet, J. (2013). Urinary triclosan is associated with elevated body mass index in NHANES. *PloS one*, 8(11), e80057.
- [13] Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B., & Buxton, H. T. (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: A national reconnaissance. *Environmental science & technology*, 36(6), 1202-1211.
- [14] Liu, Y., Song, Q. J., & Wang, L. (2009). Development and characterization of an amperometric sensor for triclosan detection based on electropolymerized molecularly imprinted polymer. *Microchemical Journal*, 91(2), 222-226.
- [15] Yang, J., Wang, P., Zhang, X., & Wu, K. (2009). Electrochemical sensor for rapid detection of triclosan using a multiwall carbon nanotube film. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(20), 9403-9407.
- [16] Dai, H., Xu, G., Gong, L., Yang, C., Lin, Y., Tong, Y., Chen, G. (2012). Electrochemical detection of triclosan at a glassy carbon electrode modifies with carbon nanodots and chitosan. *Electrochimica Acta*, 80, 362–367.

- [17] Atar, N., Eren, T., Yola, M. L., & Wang, S. (2015). A sensitive molecular imprinted surface plasmon resonance nanosensor for selective determination of trace triclosan in wastewater. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 216, 638-644.
- [18] Wang, L. H., & Chu, S. C. (2004). Voltammetric detector for liquid chromatography: Determination of triclosan in rabbit urine and serum. *Chromatographia*, 60(7-8), 385-390.
- [19] Chen, M., Liu, Y., Lin, C., Kumar, V., & Jen, J. (2013). Rapid determination of triclosan in personal care products using new in-tube based ultrasound-assisted salt-induced liquid – liquid microextraction coupled with high performance liquid chromatography-ultraviolet detection. *Analytica Chimica Acta*, 767, 81–87.
- [20] Rasmussen, H. T., McDonough, R., Gargiullo, R. J., & McPherson, B. P. (1996). Determination of triclosan in human dental plaque by gas chromatography with atomic emission detection. *Journal of High Resolution Chromatography*, 19(6), 359-361.
- [21] Song, S., Song, Q. J., & Chen, Z. (2007). Online phototransformation–flow injection chemiluminescence determination of triclosan. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 387(8), 2917-2922.
- [22] Pires, C. Desenvolvimento de uma Língua Eletrônica para avaliar a qualidade de azeite. 2016. 106. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, 2016.
- [23] Pimentel, R. Desenvolvimento de um Sensor de Ibuprofeno em meio aquoso. 2014. 83. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, 2014.
- [24] Abegão, L. M. G., Ribeiro, J. H. F., Ribeiro, P. A., & Raposo, M. (2013). Nano-Molar Deltamethrin Sensor Based on Electrical Impedance of PAH/PAZO Layer-by-Layer Sensing Films. *Sensors*, 13(8), 10167-10176.
- [25] Abegão, L. Desenvolvimento de um sensor para detecção de nano e micro concentrações de deltametrina. 2012. 88. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, 2012.
- [26] Harsányi, G., *Sensors in Biomedical Applications: Fundamentals, Technology and Applications*. 2000, Boca Raton, Florida: CRC PRESS.
- [27] Toko, K. (1998). Electronic tongue. *Biosensors and Bioelectronics*, 13(6), 701-709.
- [28] Marques, I. Desenvolvimento de um sensor de triclosan em meio aquoso complexo. 2016. 16. Preparação de Dissertação – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, 2016.
- [29] Riul Jr, A., Dantas, C. A., Miyazaki, C. M., & Oliveira Jr, O. N. (2010). Recent advances in electronic tongues. *Analyst*, 135(10), 2481-2495.
- [30] Abegão, L. Desenvolvimento de um sensor para detecção de nano e micro concentrações de deltametrina. 2012. 88. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, 2012.
- [31] Tatiane, C. C., Fernandes, Alexandre, T. G., Carvalho, 2010 DESENVOLVIMENTO DE UM ANALISADOR DE ESPECTRO DE IMPEDÂNCIAS, Laboratório de Ciências dos Materiais e Instrumentação Eletrônica, Departamento da Física, Universidade Federal de Viçosa
- [32] Chinaglia, D. L., Gozzi, G., Alfaro, R. A. M., & Hessel, R. (2008). Espectroscopia de impedância no laboratório de ensino. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, 30(4), 4504-1.
- [33] Taylor, D. M., & MacDonald, A. G. (1987). AC admittance of the metal/insulator/electrolyte interface. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 20(10), 1277.
- [34] Campilho, A. (2000). *Instrumentação electrónica. Métodos e técnicas de medição*. FEUP edições.
- [35] [PCA] J. Edward Jackson, *A User's Guide to Principal Components*, 1991, Wiley

- [36] http://www.dropsens.com/en/pdfs_productos/new_brochures/g-ideau5_g-iduau10.pdf (consultado a 8 de Agosto de 2016)
- [37] Rui Igreja, C.J. Dias. Analytical evaluation of the interdigital electrodes capacitance for a multi-layered structure. *Sensors and Actuators A* . 112, 2004 (291-301).
- [38] Danicki, E., & Kawalec, A. (1996, November). Metallization-ratio dependent higher overtone operation of IDTs. In *Ultrasonics Symposium, 1996. Proceedings., 1996 IEEE* (Vol. 1, pp. 309-312). IEEE.
- [39] Timóteo, A. R. M., Ribeiro, J. H., Ribeiro, P. A., & Raposo, M. (2016). Dynamics of creation photoinduced birefringence on (PAH/PAZO) n layer-by-layer films: Analysis of consecutive cycles. *Optical Materials*, 51, 18-23.
- [40] Ferreira, Q., Gomes, P. J., Ribeiro, P. A., Jones, N. C., Hoffmann, S. V., Mason, N. J., Raposo, M. (2012). Determination of degree of ionization of poly (allylamine hydrochloride)(PAH) and Poly [1-[4-(3-carboxy-4-hydroxyphenylazo) benzene sulfonamido]-1, 2-ethanediyl, sodium salt](PAZO) in layer-by-layer films using vacuum photoabsorption spectroscopy. *Langmuir*, 29(1), 448-455.
- [41] Assunção I., Ribeiro P., Ferreira Q., Raposo M. and Sérgio S. (2016). Preparation of PAH/Graphene Oxide Layer-by-Layer Films for Application on Solar Cells. In *Proceedings of the 4th International Conference on Photonics, Optics and Laser Technology* ISBN 978-989-758-174-8, pages 375-378. DOI: 10.5220/0005843203750378
- [42] Ribeiro, M. P., Espiga, A., Silva, D., Baptista, P., Henriques, J., Ferreira, C., Correia, I. J. (2009). Development of a new chitosan hydrogel for wound dressing. *Wound repair and regeneration*, 17(6), 817-824.
- [43] Kuilla, T., Bhadra, S., Yao, D., Kim, N. H., Bose, S., & Lee, J. H. (2010). Recent advances in graphene based polymer composites. *Progress in polymer science*, 35(11), 1350-1375.
- [44] Dreyer, D. R., Park, S., Bielawski, C. W., & Ruoff, R. S. (2010). The chemistry of graphene oxide. *Chemical Society Reviews*, 39(1), 228-240.
- [45] Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: properties and applications. *Progress in polymer science*, 31(7), 603-632.
- [46] Dos Santos, J. E., da PSoares, J., Dockal, E. R., Filho, S. P. C., & Cavalheiro, É. T. (2003). Caracterização de quitosanas comerciais de diferentes origens. *Polímeros Ciencia e Tecnologia*, 13(4), 242-249.
- [47] de Souza Filho, A. G., & Fagan, S. B. (2007). Funcionalização de nanotubos de carbono. *Química nova*, 30(7), 1695.
- [48] Cividanes, L. S., Simonetti, E. A., Moraes, M. B., Fernandes, F. W., & Thim, G. P. (2014). Influence of carbon nanotubes on epoxy resin cure reaction using different techniques: a comprehensive review. *Polymer Engineering & Science*, 54(11), 2461-2469.
- [49] Decher, G., & Schmitt, J. (1992). Fine-tuning of the film thickness of ultrathin multilayer films composed of consecutively alternating layers of anionic and cationic polyelectrolytes. In *Trends in Colloid and Interface Science VI* (pp. 160-164). Steinkopff.
- [50] Oliveira Jr, O. N., Raposo, M., & Dhanabalan, A. (2001). Langmuir–blodgett and self-assembled polymeric films. *Handbook of surfaces and interfaces of materials*, 4, 1-63.
- [51] Custódio, P. Desenvolvimento de heterojunções híbridas nanoestruturadas para aplicação em células solares. 2016. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Caparica, 2016.
- [52] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/triclosan#section=Top> (consultado a 18 de Julho de 2016)
- [53] Rouessac, F., & Rouessac, A. (2013). *Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques*. John Wiley & Sons.

Apêndices

Apêndice A

- Sem filme

concentra	20 Hz				100 Hz				1000				10000				20-100 Hz				100-1000 Hz				1000-10000 Hz									
	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência		
0	146700	-55,8	44,557	265000	54978	-66,665	26,641	138000	8436,6	-70,688	17,807	25545	1389	-83,257	11,382	11758	7,474997	-1,77441	2,39034	-0,56987	7,314269	-1,45348	5,493098	-0,78347	1,639335	-0,19437	5,081251	-0,33697	3,142702	0	1,056219	0	4,070333	0
-12	106000	-56,6	61,194	199000	41870	-65,891	34,699	102720	7051	-67,496	20,86	18472	1377	-78,974	11,348	7188	5,776181	-0,57714	2,245331	-0,35251	5,83343	-0,41089	6,169207	-0,77365	1,982322	-0,221	6,501937	-0,74514	5,976201	-0,70932	2,112499	-0,26439	5,496231	-0,40991
-10	76000	-56,6	84	146000	33677	-65,992	43,008	83444	5608	-66,962	26,071	14507	1124	-77,45	13,821	5170	5,538765	-0,50572	2,465431	-0,41594	5,616583	-0,34759	6,084384	-0,77853	2,068332	-0,21739	6,44103	-0,75982	5,842933	-0,69804	2,243012	-0,27562	5,505839	-0,44809
-8	75332	-56,15	85,55	141700	32517	-65,918	44,571	80147	5499	-64,903	26,181	13037	1245	-74,911	12,346	4782	5,55613	-0,52201	2,459295	-0,40512	5,612022	-0,35407	6,055764	-0,77183	2,111185	-0,23107	6,481306	-0,78871	5,675627	-0,64511	2,397366	-0,32646	5,421882	-0,43557
-6	65923	-56,517	94,49	131220	31381	-65,32	46,223	74687	5502	-66,758	26,528	14055	1070	-77,873	14,54	5096	5,419082	-0,46121	2,553388	-0,44426	5,573576	-0,35017	6,008959	-0,75615	2,147165	-0,24115	6,324073	-0,72541	5,873931	-0,71114	2,207125	-0,26114	5,469635	-0,4406

- (PAH/PAZO)₁₅

concentra	20 Hz				1000 Hz				10000				60000				20-1000 Hz				1000-10000 Hz				10000-60000 Hz									
	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência		
0	603	-2,22	488	611	526,8	-10,5	55	536,3	340,27	-49,17	35,37	520,83	73,99	-87,53	35,773	1727	2,825247	-0,03453	3,414419	-0,55802	2,82941	-0,03333	1086,39	-186,53	113,89	-19,63	582,71	-15,47	5,938106	-0,85157	1,523343	0,006323	0,040628	0,669017
-12	584	-2,5	555	598	519,52	-9,31	49,576	526,88	343,79	-48,47	34,657	518,62	75,258	-87,532	35,181	1752	2,805322	-0,02991	3,547608	-0,61745	2,818811	-0,03237	1046,71	-175,73	94,333	-14,919	551,66	-8,26	5,927616	-0,84783	1,50629	0,008375	-0,0028	0,679411
-10	589	-2,71	621	589	509,6	-9,21	50,021	516,56	338,4	-48,375	35,151	509,55	74,34	-87,481	35,633	1697	2,818272	-0,03701	3,630804	-0,64388	2,81376	-0,03355	1023,2	-171,2	94,631	-14,87	537,59	-7,01	5,912874	-0,84586	1,515534	0,007601	0,021359	0,671457
-8	588	-2,59	597	590	507,1	-9,13	49,809	513,92	336,76	-48,326	35,294	506,6	73,905	-87,416	35,851	1640	2,818604	-0,03784	3,601991	-0,63489	2,816765	-0,03529	1018,12	-170,34	93,354	-14,515	535,88	-7,32	5,913021	-0,84643	1,512744	0,008739	0,082148	0,655629
-6	587	-2,61	609	588	501,22	-9,7277	53,644	508,81	326,46	-48,672	36,61	494,39	71,328	-86,956	37,136	1341	2,821178	-0,04038	3,592584	-0,62102	2,817485	-0,03698	1025,5	-174,76	104,746	-17,034	552,07	-14,42	5,909416	-0,8489	1,531753	0,007962	0,466435	0,556909

- (PEI/OG)₁₅

concentra	20 Hz				1000 Hz				10000				20000				20-10000 Hz				1000-10000 Hz				10000-20000 Hz									
	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência		
0	7398	-52,2	826	12513	1237	-41,2	86	1612	413	-70,8	36,38	1257	218	-86,665	36,43	3743	4,463927	-0,45719	3,669341	-0,57828	4,778899	-0,52384	4,521628644	-0,476419648	3,055405721	-0,373635757	3,531454317	-0,10802976	6,303204638	-0,921813647	1,55293689	0,001981	-3,19751	1,5742104
-12	1003	-5,67	877	849	604	-24,6	110,11	660	256	-63,137	55,439	565,4	140,86	-80,418	55,73	843	3,169974	-0,12965	3,633096	-0,53042	3,012656	-0,06437	3,899427859	-0,372796973	2,935860887	-0,298011375	3,02110833	-0,067188131	5,855767255	-0,861881822	1,71360371	0,007553	0,447313	0,57626075
-10	320	-1,266	575	290	214	-11,137	143	217	123,93	-53,008	102,67	205,7	69,381	-70,644	108,31	209,29	2,638959	-0,10285	3,22245	-0,3557	2,558838	-0,07413	3,042125744	-0,237237324	2,587013464	-0,143892475	2,40613606	-0,023225442	5,440828155	-0,836912926	1,70283652	0,077152	2,213388	0,02496159
-8	192	-0,6	414	194	176,09	-10,151	159,44	178,54	107,64	-52,038	116,59	174,94	60,73	-69,713	122,94	175	2,312069	-0,02211	2,93434	-0,24391	2,31542	-0,02123	2,887017707	-0,213761004	2,610405236	-0,135935983	2,278274755	-0,008846408	5,334905776	-0,825733022	1,76061995	0,07651	2,24091	0,00049472
-6	162	-0,457	382	161	153,52	-9,49	171	155,56	96,432	-51,214	128,64	153,96	54,781	-68,88	135,53	152,02	2,227396	-0,01374	2,849371	-0,20546	2,218257	-0,00879	2,791996325	-0,201943788	2,603856347	-0,123620079	2,205368031	-0,004490032	5,247566646	-0,815836368	1,80828435	0,075273	2,260586	-0,0182944

Desenvolvimento de um sensor de triclosan em meio aquoso complexo

• (Chi/OG)₁₅

concentra	20 Hz				1000 Hz				10000				20-1000 Hz				1000 - 10000 Hz							
	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	b impedância	m impedância	b capacitância	m capacitância	b resistência	m resistência	b impedância	m impedância	b capacitância	m capacitância	b resistência	m resistência
0	10800	-45	566	15399	1620	-69,76	91,56	4737	252,4	-89,68	62,88	41450	4,664353	-0,48495	3,35863	-0,46564	4,579561	-0,30135	5,631792	-0,80743	2,451286	-0,16319	0,84944	0,942021
-12	5446	-13,1	323,44	5610	1553	-57,53	86,24	2906	286,61	-83,41	55,109	2506	4,153354	-0,32073	2,949414	-0,3379	3,96772	-0,16814	5,392812	-0,73388	2,519167	-0,19449	3,656239	-0,06431
-10	2798	-6,63	322	2845	904	-38,839	109,6	1170	268,03	-79,32	58,3	1449	3,822598	-0,28881	2,866274	-0,27549	3,749592	-0,22714	4,540124	-0,52799	2,862237	-0,27414	2,789538	0,092883
-8	1211	-3,9	451	1154	688	-32,319	123,01	819	239,6	-73,988	63,79	870	3,271185	-0,14453	3,086255	-0,3321	3,176247	-0,08765	4,211893	-0,4581	2,945504	-0,28519	2,834578	0,026235
-6	966	-3,31	476	930	610	-29,3	127	703	227	-72,18	66,44	746	3,137862	-0,11751	3,117012	-0,33774	3,061546	-0,07153	4,073242	-0,4293	2,947926	-0,28137	2,769605	0,025784

• MWCNT

concentra	20 Hz				100 Hz				1000				10000				20-1000 Hz				100 - 1000 Hz				1000 - 10000 Hz									
	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	impedância	ângulo	capacitância	resistência	b impedância	m impedância	b capacitância	m capacitância	b resistência	m resistência	b impedância	m impedância	b capacitância	m capacitância	b resistência	m resistência						
0	88900	-57,32	74	167000	34855	-63,37	40,85	77699	6439	-62,7	21,9	14095	1391	-74,5	11,02	5216	5,260294	-0,23934	2,349535	-0,36917	5,841246	-0,47542	6,009158	-0,73345	2,152688	-0,27075	6,373116	-0,74135	5,805292	-0,66549	2,235232	-0,29826	5,444248	-0,43173
-12	86000	-60	74	190000	34980	-64,46	40,9	81350	6851	-59,15	19,85	13433	1939	-70,6	7,73	5850	5,233671	-0,22995	2,348546	-0,36841	5,964469	-0,52706	5,959951	-0,70807	2,239649	-0,31396	6,474727	-0,78218	5,480282	-0,54818	2,526504	-0,40958	5,211224	-0,36102
-10	76000	-60,7	84	171000	32119	-64	44,5	73300	6219	-57,19	21,5	11500	1775	-68,18	8,3	4772	5,167253	-0,22016	2,437862	-0,39475	5,917773	-0,52633	5,932845	-0,71304	2,280203	-0,31592	6,473916	-0,80441	5,427287	-0,54452	2,57252	-0,41336	5,20669	-0,382
-8	70000	-63,2	92	173000	28800	-67,8	50,9	76600	5419	-57,9	24,7	10270	1687	-68,3	8,756	4561	5,140462	-0,22702	2,442286	-0,36778	5,896625	-0,5062	5,910339	-0,72547	2,334759	-0,31402	6,629545	-0,87266	5,254331	-0,5068	2,743871	-0,45039	5,069102	-0,35251
-6	50600	-63,1	127	125000	14700	-57	92	27100	4218	-55,5	31	7480	1361	-66	10,69	3351	5,115244	-0,31598	2,364423	-0,20032	6,332738	-0,94988	5,251739	-0,54221	2,90864	-0,47243	5,551105	-0,55907	5,098852	-0,49125	2,878514	-0,46238	4,920083	-0,34873

Apêndice B

O suporte projectado, descrito no sub-capítulo 5.2, foi idealizado como na Figura 6.1. Cada um dos seus componentes foi dimensionado em *SolidWorks* e encontram-se também em apêndice:

B1 - base

B2 - anel móvel

B3 - a) os varões,

b) pinos de ajuste ao recipiente

c) pinos de ajuste da altura do anel móvel e d) as capas de borracha dos pinos.

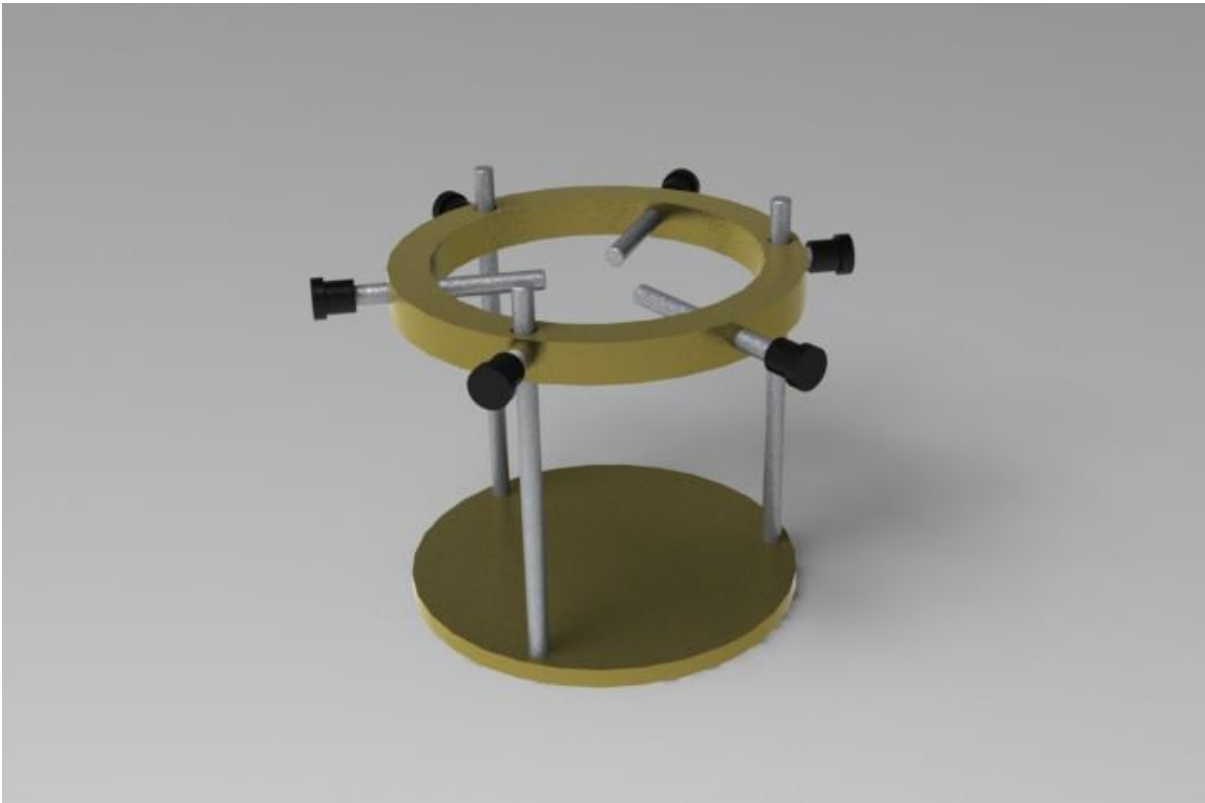
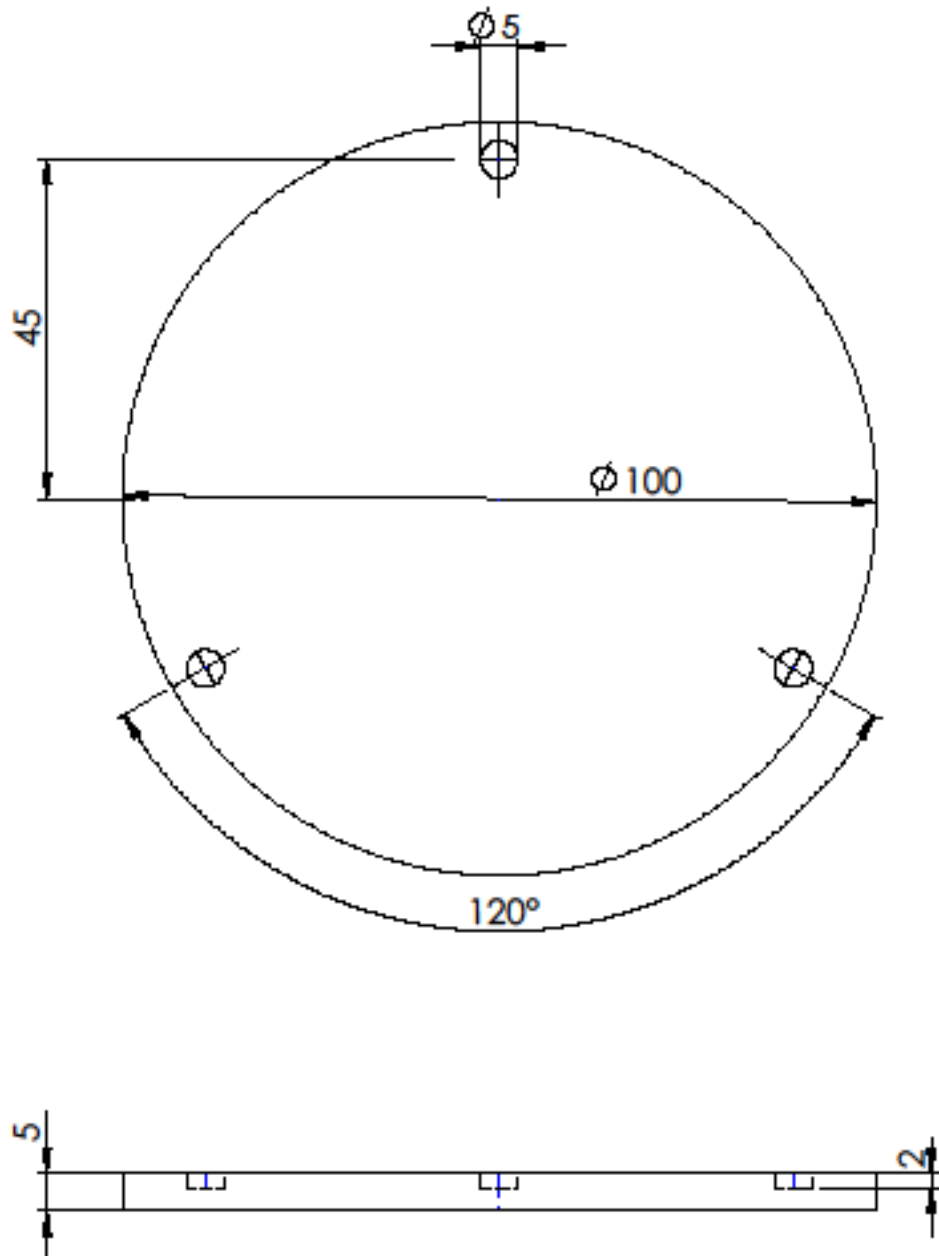
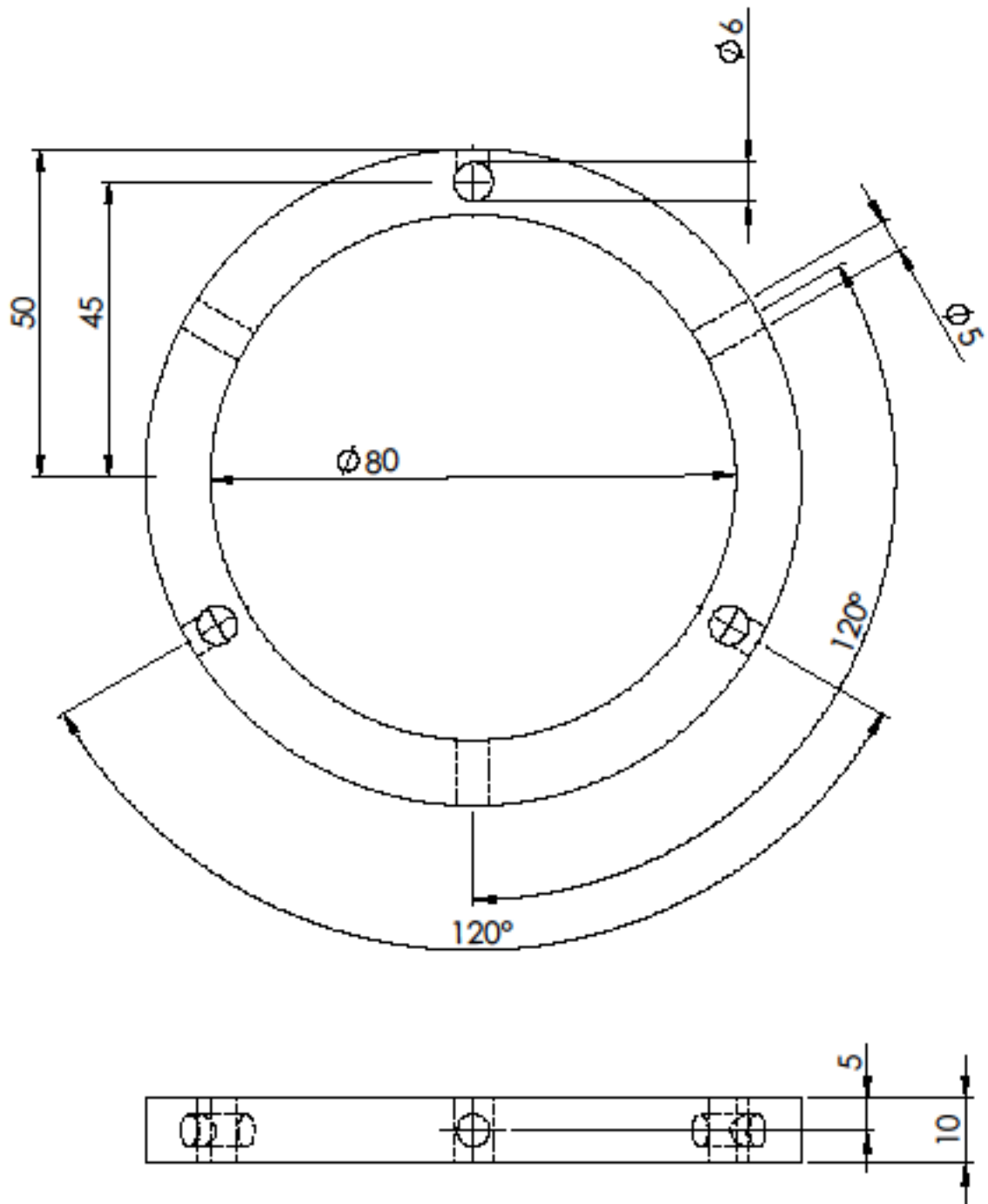


Figura 6.1- Imagem do suporte projectado

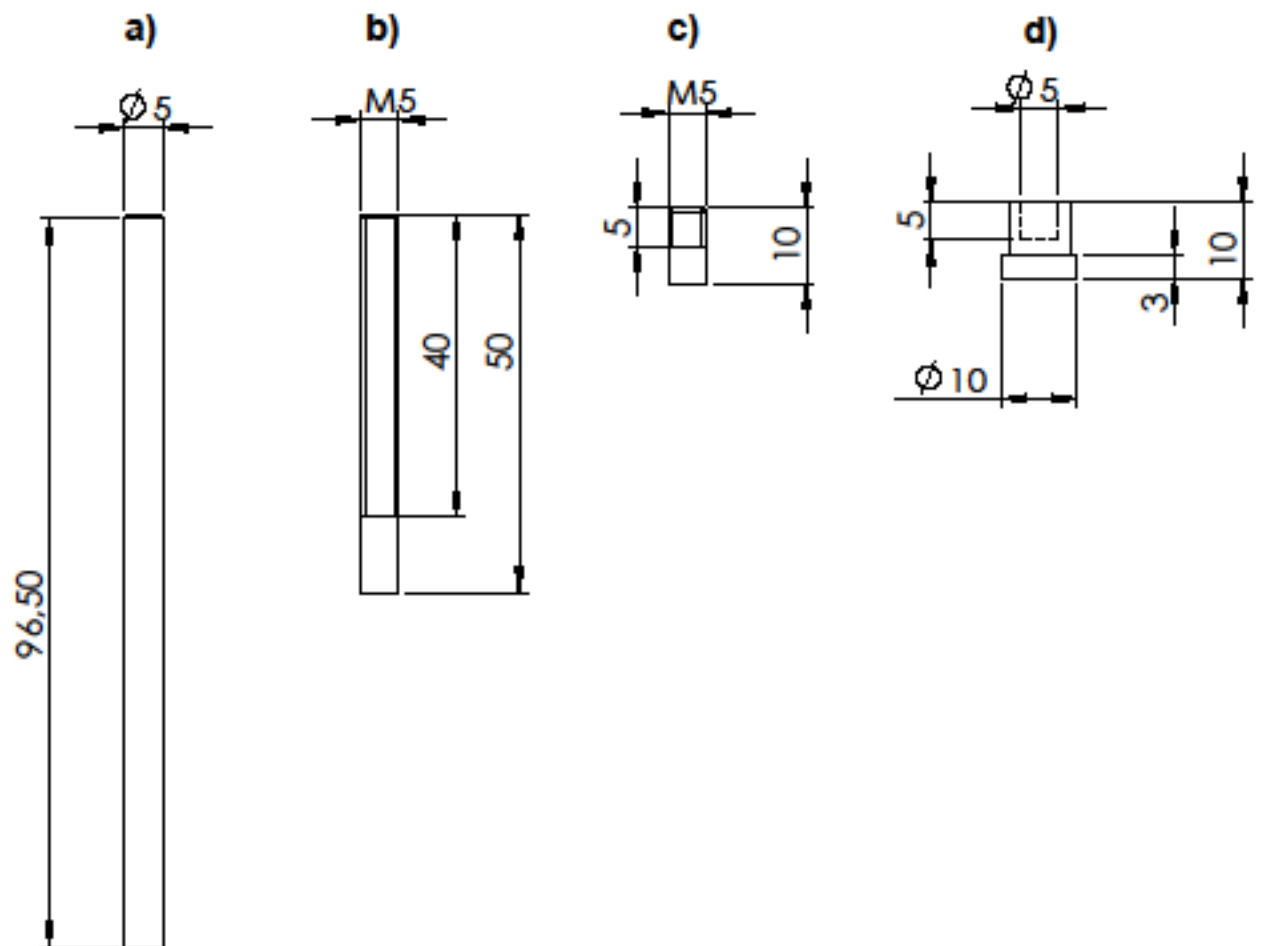
B1



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED: DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS SURFACE FINISH: TOLERANCES: LINEAR: ANGULAR:				FINISH:		DEBUR AND BREAK SHARP EDGES		DO NOT SCALE DRAWING		REVISION	
NAME				SIGNATURE		DATE		TITLE:			
DRAWN											
CHK'D											
APP'VD											
MFG											
G.A.						MATERIAL:		DWG NO.		Base	
										A4	
						WEIGHT:		SCALE:1:2		SHEET 1 OF 1	



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED: DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS SURFACE FINISH: TOLERANCES: LINEAR: ANGULAR:				FINISH:		DEBUR AND BREAK SHARP EDGES		DO NOT SCALE DRAWING		REVISION	
DRAWN				SIGNATURE		DATE		TITLE:			
CHK'D											
APP'VD											
MFG											
Q.A.						MATERIAL:		DWG NO.		A4	
						WEIGHT:		SCALE:1:1		SHEET 1 OF 1	
								Anel Móvel			



UNLESS OTHERWISE SPECIFIED:
DIMENSIONS ARE IN MILLIMETERS
SURFACE FINISH:
TOLERANCES:
LINEAR:
ANGULAR:

FINISH:

DEBUR AND
BREAK SHARP
EDGES

DO NOT SCALE DRAWING

REVISION

	NAME	SIGNATURE	DATE		
DRAWN					
CHK'D					
APP'VD					
MFG					
Q.A.					
				MATERIAL:	
				WEIGHT:	

TITLE:

DWG NO.

Varão e Pinos

A4

SCALE:1:1

SHEET 1 OF 1

Apêndice C

NANO 204

Detection of Traces of Triclosan in Water

G. Magalhães-Mota, I. Marques, S. Sérgio, P. A. Ribeiro, M. Raposo
CEFITEC, Departamento de Física, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2829-516 Caparica, Portugal

Triclosan, [5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol], is a broad-spectrum antimicrobial agent and bactericide, and, consequently, is widely used in personal health and skin care products, such as soaps, detergents, hand cleansers, cosmetics and toothpastes. Due to this large number of applications is constantly introduced into the environment on large-scale. However, triclosan has been considered to disrupt the endocrine system, for instance, thyroid hormone homeostasis and possibly have negative influence on the reproductive system^[1-2]. Although in low concentrations there is no prove that triclosan is harmful to humans, it is known to accumulate in the human body, leading to health damage. The widespread use of triclosan has raised concerns about the environmental impact of triclosan residues as well as food safety problems caused by its presence in food. Therefore, the detection of this contaminant in water and soil is apropos. In this work, we develop a sensor array system, following the electronic tongue concept based on impedance spectroscopy^[3] to detect very low concentrations of triclosan on water. The array of sensors was obtained by adsorbing layer-by-layer (*LbL*) films of common polyelectrolytes, oxide graphene and nanotubes onto solid supports with interdigitated electrodes. The real and imaginary impedance spectra of these sensors was than measured in different triclosan aqueous solutions with concentrations between 10^{-6} and 10^{-12} M. The PCA analysis of the preliminary obtained spectra is shown in Figure 1 which reveals that very low concentrations of triclosan can be easily distinguished by the developed sensor array.

1 K.M. Crofton, K.B. Paul, M.J. Devito, and J.M. Hedge. Short-term in vivo exposure to the water contaminant triclosan: Evidence for disruption of thyroxine. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 24(2):194 (2007). 2 J.A. Franklyn, Hypothyroidism, *Medicine*, 37(8):426-429 (2009). 3 L.M.G. Abegão, J.H.F. Ribeiro, P.A. Ribeiro and M. Raposo. Nano-molar deltamethrin sensor based on electrical impedance of PAH/PAZO layer-by-layer sensing films. *Sensors* 13(8):10167-76 (2013).

