GUILHERME DE SOUZA BRAGA

**SISTEMA AUTOMATIZADO BASEADO EM LÍNGUA ELETRÔNICA
PARA MONITORAÇÃO DE ÁGUA PARA ABASTECIMENTO
URBANO**

Tese apresentada à Escola Politécnica da
Universidade de São Paulo para a obtenção do
título de Doutor em Engenharia Elétrica.

São Paulo
2012

GUILHERME DE SOUZA BRAGA

**SISTEMA AUTOMATIZADO BASEADO EM LÍNGUA ELETRÔNICA
PARA MONITORAÇÃO DE ÁGUA PARA ABASTECIMENTO
URBANO**

Tese apresentada à Escola Politécnica da
Universidade de São Paulo para a obtenção do
título de Doutor em Engenharia Elétrica.

Área de Concentração:
Engenharia Elétrica

Orientador:
Prof. Dr. Fernando Josepetti Fonseca

Co-orientador:
Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno

São Paulo
2012

Este exemplar foi revisado e alterado em relação à versão original, sob responsabilidade única do autor e com a anuência de seu orientador.

São Paulo, de fevereiro de 2012.

Assinatura do autor _____

Assinatura do orientador _____

FICHA CATALOGRÁFICA

Braga, Guilherme de Souza

**Sistema automatizado baseado em língua eletrônica para
monitoração de água para abastecimento urbano / G.S. Braga. –
ed.rev. -- São Paulo, 2012.
122 p.**

**Tese (Doutorado) - Escola Politécnica da Universidade de
São Paulo. Departamento de Engenharia de Sistemas Eletrô-
nicos.**

**1. Água potável 2. Eutrofização 3. 2-metilisoborneol 4. Geos-
mina 5. Sensores químicos 6. Língua eletrônica 7. Lógica fuzzy
I. Universidade de São Paulo. Escola Politécnica. Departamento
de Engenharia de Sistemas Eletrônicos II. t.**

Dedico este trabalho aos meus queridos pais, Carlos e Sandra e ao meu querido irmão, Eduardo.

AGRADECIMENTOS

A minha família por todo apoio, incentivo e ajuda durante a realização deste trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fernando Josepetti Fonseca pela oportunidade, discussões, confiança, transmissão de conhecimento, cooperação e constante estímulo transmitido durante todo o trabalho.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno pela confiança, discussões, transmissão de conhecimento, ajuda e constante estímulo transmitido durante todo o trabalho.

Ao Prof. Manel del Valle pelos ensinamentos, disponibilização de materiais e equipamentos, contribuição ao trabalho e oportunidade de desenvolvimento de parte da pesquisa no Grupo de Sensores e Biosensores da Universidade Autònoma de Barcelona.

Aos amigos do grupo GEM: Gerson, Nájda, John Paul, Camila, Sérgio, Roberto, Vinícius e Emerson pelo incentivo e ajuda.

Aos professores do GEM Adnei M. de Andrade e Ely Antônio Dirani.

À EMBRAPA Instrumentação Agropecuária de São Carlos pelo suporte ao trabalho.

À FAPESP pelo apoio financeiro (processo 2008/00631-2).

RESUMO

A presente tese trata do desenvolvimento de uma língua eletrônica (LE) e da avaliação de seu uso na detecção de 2-metilisoborneol (MIB), geosmina (GEO) e isoborneol (ISO) em amostras de água. A água abastecida à região metropolitana de São Paulo provém de mananciais, os quais estão sujeitos à ploriferação de algas (eutrofização). Muitas delas podem ser tóxicas e ainda produzir compostos, como MIB e GEO, substâncias reconhecidas por provocar gosto e odor desagradáveis na água que consumimos. De fato, a presença de MIB e GEO na água é uma das maiores fontes de reclamação por parte dos consumidores junto à companhia de saneamento e abastecimento de São Paulo (SABESP). Apesar disso, ainda não existem tecnologias que possam ser aplicadas para a detecção *in locu* dessas substâncias. A LE usada nesta tese foi baseada em um arranjo de sensores químicos não-específicos, formados por microeletrodos interdigitados de ouro recobertos com filmes poliméricos nanoestruturados depositados pela técnica de automontagem e interrogados sob regime de corrente alternada. A calibração da LE foi realizada com soluções de concentração determinada de GEO, MIB e ISO preparadas em água destilada, mineral e de torneira. Foram avaliadas tanto soluções individuais contendo um único contaminante, quanto misturas contendo MIB e GEO. A resposta elétrica dos sensores (medidas de capacitância), foram interpretadas por análise das componentes principais (PCA) e por lógica *Fuzzy*, com as quais a LE consegue discriminar as diversas amostras com relativa facilidade e confiabilidade. Dentre as principais observações dessa investigação, notou-se que a LE desenvolvida consegue detectar MIB e GEO em amostras de água “reais” em concentrações tão baixas quanto 20 ng L^{-1} . Os gráficos de PCA mostram a separação das amostras em *clusters* relativamente pequenos, bem separados e sem sobreposição. A LE é capaz de identificar de forma direta, a partir de variações na primeira componente principal, variações na razão molar $n_{\text{GEO}}/n_{\text{MIB}}$ em misturas de MIB e GEO. Em um caso mais próximo da realidade, a LE consegue discriminar com relativa facilidade, amostras de água fornecidas pela SABESP, coletadas do sistema Guarapiranga antes e após a estação de tratamento. As taxas de acerto da LE usando os controladores *Fuzzy* desenvolvidos são próximas de 100% para a maioria das amostras. A menor taxa de acerto (93,33%) ocorreu com as amostras preparadas em água de torneira. Adicionalmente, nenhuma amostra de água pura foi classificada como contendo algum contaminante, ou seja, não houve falsos positivos. Conclui-se, portanto que a LE desenvolvida, tanto em termos de sensores quanto de análise de dados, apresenta potencial

para monitoramento de MIB e GEO nos reservatórios de água, fornecendo em tempo real e *in loco* informações sobre a qualidade da água provinda da estação de tratamento. A tese também apresenta alguns resultados da preparação de filmes poliméricos com impressão molecular para aplicação em sensores específicos, obtidos durante o estágio na Universidade Autônoma de Barcelona.

Palavras-chave: água potável, eutrofização, 2-metilisoborneol, geosmina, sensores químicos, língua eletrônica, lógica *Fuzzy*.

ABSTRACT

The present thesis work has focused on the development of an electronic tongue system (ET) and evaluates its performance on detecting 2-methylisoborneol (MIB), geosmin (GEO) and isoborneol (ISO) in water samples. Water from São Paulo metropolitan area comes from water reservoirs, which are prone to algae bloom (eutrophication). These algae can be toxic and produce compounds, such as MIB and GEO that give unpleasant taste and odour to the water supplied to consumers. In fact, their presence in water is one of the major complains of consumers to São Paulo's water company (SABESP). Despite that, technologies that can be applied for monitoring these substances in real time and in locu are still not available. The ET used in this thesis is based on an array of non-specific chemical sensors, which are made of gold interdigitated microelectrodes covered with nanostructured polymeric films deposited via the layer-by-layer technique and interrogated in alternate current regime. The ET calibration was conducted by analyzing distilled, mineral and tap water samples tainted with known concentrations of MIB, GEO and ISO. Samples solutions with a single tainting compound and with MIB and GEO mixed together were evaluated. The sensors' electrical response (capacitance measurements) was interpreted by principal component analysis (PCA) and *Fuzzy* logic, enabling the ET to discriminate with great easiness and confiability individual and mixture samples. Among the main features of this work, the present ET can detect MIB and GEO in real water samples in concentrations as low as 20 ng L⁻¹. PCA plots show that samples are grouped into relatively small and well-separeted clusters (no overlapping). The ET is also capable of detect, based on changes on the first principal component, changes in the $n_{\text{GEO}}/n_{\text{MIB}}$ molar ratio of mixed samples. Also, the ET can discriminate with great easiness, water samples supplied by SABESP, collected at Guarapiranga's reservoir, before and after the water treatment plant. The hit ratios of the ET using the developed *Fuzzy* controllers are about 100% for most of the samples. The lowest hit raio (93,33%) was found for tap water samples. Also, not a single pure water sample was classified as being tainted, i.e., there were no false positives. Finally, it can be concluded that the ET developed herein, when considering sensor and data analysis, shows a great potential for monitoring MIB and GEO in water reservoirs, providing in real time and in locu information about water quality in treatment stations. This thesis also presents the study on the assembly of molecularly imprinted polymeric films to be used in specif chemical sensors, carried out during the internship at the Universidade Autonomia de Barcelona.

Key-words: potable water, eutrophication, 2-methylisoborneol, geosmin, chemical sensors, electronic tongue system, Fuzzy logic.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural dos compostos geosmina (GEO) e 2-metilisoborneol (MIB).	21
Figura 2. Função de pertinência (μ) de um ar-condicionado em função da temperatura (T).....	29
Figura 3. Ilustração do procedimento de fabricação de filmes ultrafinos automontados via atração eletrostática. A) esquema utilizando béqueres, sendo as etapas 1 e 3 correspondentes a adsorção das soluções poliméricas de poliânion e polication, respectivamente, e etapas 2 e 4 correspondentes a limpeza do substrato nas soluções de lavagem; B) Ilustração molecular simplificada das duas etapas de adsorção a partir de um substrato polarizado positivamente.....	32
Figura 4. Equipamento dedicado para deposição dos filmes nanoestruturados pela técnica de automontagem.	33
Figura 5. Estrutura química dos materiais utilizados como polications.	36
Figura 6. Estrutura química dos materiais utilizados como poliânions.	36
Figura 7. Ilustração esquemática simplificada dos microeletrodos interdigitados usados na fabricação dos sensores.	38
Figura 8. Estrutura química do composto isoborneol (ISO).....	39
Figura 9. Funcionalização do eletrodo de ouro com ácido 3-mercaptopropiônico (3-MPA).....	40
Figura 10. Sistema de medidas usado na análise das amostras (acima) e seu respectivo diagrama de blocos (abaixo).....	42
Figura 11. Equipamento automatizado para realizar as medidas das amostras.	44
Figura 12. Vista frontal do equipamento mostrando o braço para fixação da língua eletrônica.	44
Figura 13. Função de pertinência (μ) do sensor 2 em função da capacitância (F) para soluções diluídas de GEO.....	48
Figura 14. Circuito elétrico equivalente para um sistema representando um eletrodo metálico coberto por um filme semicondutor imerso em uma solução eletrolítica ¹⁶	51
Figura 15. Resposta elétrica dos sensores (eletrodos de 02 dígitos) com e sem filmes poliméricos em soluções aquosas de GEO e MIB em uma concentração fixa de 100 ng.L ⁻¹ em função da frequência.	52
Figura 16. Resposta elétrica dos sensores (eletrodos de 50 dígitos) com e sem filmes poliméricos em soluções aquosas de GEO e MIB em uma concentração fixa de 100 ng.L ⁻¹ em função da frequência.	53
Figura 17. Diagramas de Nyquist obtido com os sensores com eletrodos de 02 dígitos imersos em soluções de MIB e GEO em uma concentração fixa de 100 ng.L ⁻¹	56
Figura 18. Diagramas de Nyquist obtido com os sensores com eletrodos de 50 dígitos imersos em soluções de MIB e GEO em uma concentração fixa de 100 ng.L ⁻¹	57
Figura 19. Resposta elétrica (capacitância) dos sensores com microeletrodos de 50 e 2 dígitos, como indicado, em termos de sua sensibilidade (ΔC) à 2-Metilisoborneol e geosmina medidos em 1 kHz. Intervalo da concentração de MIB: 50 a 1000 ng.L ⁻¹ . Obs: BRANCO 1 – sensores 01 e 02; BRANCO 2 – sensores 13 e 14; PAH/PPI 1 – sensores 03 e 04; PAH/PPI 2 – sensores 06 e 07.	59
Figura 20. Resposta elétrica (resistência) dos sensores com microeletrodos de 50 e 2 dígitos, como indicado, em termos de sua sensibilidade (ΔR) à 2-Metilisoborneol e geosmina medidos em 1 kHz. Intervalo	

da concentração de MIB: 50 a 1000 ng.L ⁻¹ . Obs: BRANCO 1 – sensores 01 e 02; BRANCO 2 – sensores 13 e 14; PAH/PPI 1 – sensores 03 e 04; PAH/PPI 2 – sensores 06 e 07.	60
Figura 21. Resposta elétrica normalizada (capacitância), obtida dividindo-se o valor medido em solução pelo valor de referência (água destilada), dos sensores em soluções de diferentes concentrações de 2-metilisoborneol e geosmina. Medidas obtidas em 1 kHz à 25°C com os microeletrodos de 50 dígitos.	63
Figura 22. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de MIB (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	66
Figura 23. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de MIB (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	66
Figura 24. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de GEO (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	67
Figura 25. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de GEO (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	68
Figura 26. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de MIB (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	69
Figura 27. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de MIB (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	69
Figura 28. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de GEO (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	70
Figura 29. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de GEO (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	70
Figura 30. Gráfico PCA de amostras com diferentes proporções de MIB e GEO preparadas em água destilada, obtidas com os microeletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância). Proporções das amostras indicadas na Tabela 2.	72
Figura 31. Gráfico PCA de amostras com diferentes proporções de MIB e GEO preparadas em água destilada, obtidas com os microeletrodos de 02 dígitos (medidas de resistência). Proporções das amostras indicadas na Tabela 2.	72
Figura 32. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de ISO (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	73
Figura 33. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de ISO (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	74
Figura 34. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de MIB (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	75
Figura 35. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de MIB (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	76
Figura 36. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de GEO (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	76
Figura 37. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de GEO (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	77

Figura 38. Gráfico PCA de amostras com diferentes proporções de MIB e GEO preparadas em água mineral, obtidas com os microeletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância). Proporções das amostras indicadas na Tabela 2.	78
Figura 39. Gráfico PCA de amostras com diferentes proporções de MIB e GEO preparadas em água mineral, obtidas com os microeletrodos de 02 dígitos (medidas de resistência). Proporções das amostras indicadas na Tabela 2.	78
Figura 40. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de ISO (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.....	79
Figura 41. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de ISO (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.....	80
Figura 42. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de MIB (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.....	81
Figura 43. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de MIB (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	81
Figura 44. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de GEO (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.....	82
Figura 45. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de GEO (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.	83
Figura 46. Gráfico PCA de amostras com diferentes proporções de MIB e GEO preparadas em água de torneira, obtidas com os microeletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância). Proporções das amostras indicadas na Tabela 2.	84
Figura 47. Gráfico PCA de amostras com diferentes proporções de MIB e GEO preparadas em água de torneira, obtidas com os microeletrodos de 02 dígitos (medidas de resistência). Proporções das amostras indicadas na Tabela 2.	84
Figura 48. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de ISO (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.....	85
Figura 49. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de ISO (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.....	86
Figura 50. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância) em amostras em água destilada de MIB, GEO e ISO em diferentes concentrações, conforme indicado na figura. Valores das amostras de GEO e ISO normalizados usando as medidas em água destilada pura (amostras de MIB) como referência.	88
Figura 51. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância) em amostras em água mineral de MIB, GEO e ISO em diferentes concentrações, conforme indicado na figura. Valores das amostras de GEO e ISO normalizados usando o valor das medidas em água mineral pura (amostras de MIB) como referência.....	89
Figura 52. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância) em amostras em água de torneira de MIB, GEO e ISO em diferentes concentrações, conforme indicado na figura. Valores das amostras de GEO e ISO normalizados usando o valor médio das medidas em água de torneira pura (amostras de MIB) como referência.	90

Figura 53. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância) em amostras de MIB preparadas usando água destilada, mineral e de torneira em diferentes concentrações, conforme indicado na figura. No destaque são apresentadas as amostras com aumento, facilitando sua visualização. As setas indicam a tendência de deslocamento dos pontos com o aumento da concentração.	92
Figura 54. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância) em amostras de GEO preparadas usando água destilada, mineral e de torneira em diferentes concentrações, conforme indicado na figura. No destaque são apresentadas as amostras com aumento, facilitando sua visualização. As setas indicam a tendência de deslocamento dos pontos com o aumento da concentração.	93
Figura 55. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância) em amostras de ISO preparadas usando água destilada, mineral e de torneira em diferentes concentrações, conforme indicado na figura. No destaque são apresentadas as amostras com aumento, facilitando sua visualização. As setas indicam a tendência de deslocamento dos pontos com o aumento da concentração.	94
Figura 56. PCA das amostras brutas e finais analisados com a LE. Amostras bruta 1 e final 1: <i>in natura</i> , amostra bruta 2: adição de padrões MIB (60 ng.L ⁻¹) e GEO (50 ng.L ⁻¹); amostra final 2: adição de padrões MIB (30 ng.L ⁻¹) e GEO (20 ng.L ⁻¹).	100

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição das dimensões dos microeletrodos ilustrados na Figura 7.....	38
Tabela 2. Composição das amostras em água baseada na razão entre o número de mols de GEO por MIB. Amostras foram preparadas misturando diferentes proporções de soluções padrão de GEO e MIB à 100 ng.L ⁻¹	40
Tabela 3. Descrição dos vinte sensores usados inicialmente para detecção de GEO e MIB, com os quais foram montadas duas LEs. Entre parênteses estão indicadas as geometrias dos microeletrodos, que podem ter 02 ou 50 dígitos.	41
Tabela 4. Valores estimados da frequência de relaxação (F), resistência de transferência de cargas na interface filme/solução (R _{tc}) e da capacitância da dupla camada (C _d) dos sensores quando imersos em soluções de 2-metilisoborneol e geosmina de concentração fixa de 100 ng.L ⁻¹	58
Tabela 5. Descrição dos 10 sensores usados para detecção de GEO, MIB e ISO. Entre parênteses estão as geometrias dos microeletrodos, que podem ter 02 ou 50 dígitos.	64
Tabela 6. Desempenho do controlador <i>Fuzzy</i> na análise das amostras de água com diferentes contaminantes. ...	95
Tabela 7. Desempenho do controlador <i>Fuzzy</i> na análise das amostras de água contendo os compostos MIB e GEO em diferentes proporções.	96
Tabela 8. Desempenho do controlador <i>Fuzzy</i> na análise simultânea das amostras preparadas com diferentes contaminantes em diferentes tipos de água (destilada, mineral e de torneira).	96
Tabela 9. Resultado da análise por cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa das amostras bruta e final coletas do sistema Guarapiranga.	98
Tabela 10. Dados das análises de gosto e odor nas amostras brutas 1 e 2 e finais 1 e 2 pelos painelistas da SABESP.	99

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CG/EM – Cromatografia Gasosa associada à Espectrometria de Massa

CSA – ácido 10-canforsulfônico

DMAc – dimetil acetamida

ETA – Estação de Tratamento de Água

GEO – Geosmina

HCl – ácido clorídrico

IME – microeletrodo interdigitado (*interdigitated microelectrode*)

ISO - isoborneol

LB – Langmuir-Blodgett

LbL – automontagem (*Layer by Layer*)

LS – Lignina sulfonada

LE – Língua Eletrônica

MIB – 2-metilisoborneol

MIP – polímeros com impressão molecular (*molecularly imprinted polymers*)

NE – Nariz Eletrônico

NIP – polímero sem impressão molecular (*non imprinted polymer*)

PAH – hidrocloreto de polialilamina

PANI – polianilina

PC – Componente Principal (*Principal Component*)

PCA – Análise das Componentes Principais (*Principal Component Analysis*)

POEA – poli(*o*-etoxianilina)

POMA – poli(*o*-metoxianilina)

PPI – polipirrol

PSS – poli(estireno-sulfonato de sódio)

RMSP – Região Metropolitana de São Paulo

SABESP – Cia de Saneamento Básico do estado de São Paulo

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 GEOSMINA E 2-METILISOBORNEOL.....	21
2.2 SENSORES PARA GEOSMINA E 2-METILISOBORNEOL	22
2.3 LÍNGUA ELETRÔNICA	24
2.4 MÉTODOS DE ANÁLISE DO BANCO DE DADOS	27
2.4.1 <i>Análise das Componentes Principais (PCA)</i>	27
2.4.2 <i>Lógica Fuzzy</i>	28
2.5 FILMES NANOESTRUTURADOS	30
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
3.1 MATERIAIS	35
3.1.1 <i>Materiais para a preparação dos sensores</i>	35
3.1.2 <i>Soluções para deposição dos sensores</i>	37
3.1.3 <i>Substratos</i>	37
3.1.4 <i>Microeletrodos interdigitados</i>	38
3.1.5 <i>Amostras de água</i>	39
3.2 MÉTODOS.....	40
3.2.1 <i>Sistema sensor (língua eletrônica)</i>	40
3.2.2 <i>Sistema de medidas</i>	41
3.2.3 <i>Análise do banco de dados</i>	45
3.2.3.1 <i>Análise das Componentes Principais (PCA)</i>	45
3.2.3.2 <i>Lógica Fuzzy</i>	46
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
4.1 ANÁLISE DA RESPOSTA ELÉTRICA DOS SENSORES	50
4.2 ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS	64
4.2.1 <i>Água destilada</i>	65
4.2.2 <i>Água mineral</i>	74
4.2.3 <i>Água de torneira</i>	80
4.2.4 <i>Análises simultâneas</i>	86
4.2.4.1 <i>Água destilada</i>	86
4.2.4.2 <i>Água mineral</i>	88
4.2.4.3 <i>Água de torneira</i>	89
4.2.4.4 <i>2-metilisoborneol, geosmina e isoborneol</i>	91
4.3 CONTROLADOR FUZZY	95
4.4 ÁGUA “REAL”	98
5. CONCLUSÕES	101
6. TRABALHOS FUTUROS.....	103
REFERÊNCIAS	104
APÊNDICE A - POLÍMEROS COM IMPRESSÃO MOLECULAR	110
APÊNDICE B – PUBLICAÇÕES E PARTICIPAÇÕES EM CONGRESSOS CIENTÍFICOS	121

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVO

A água distribuída à população do município de São Paulo é captada de mananciais superficiais (rios, lagos e represas) ou profundos (poços), e pode conter resíduos de diferentes naturezas, tais como sais dissolvidos, partículas em suspensão e microorganismos¹. Uma vez captada, a água é levada às estações de tratamento de água (ETA) onde se reduz as impurezas até os níveis em que seja considerada potável¹. Dentre os diversos aspectos que comprometem a qualidade da água é de interesse nesse estudo a eutrofização. Esta pode ser definida como um aumento excessivo de nutrientes (nitrogênio, fósforo e potássio) dentro de um reservatório, propiciando a proliferação de algas, dentre elas as algas azuis (cianobactérias) que são tóxicas e produzem compostos que dão gosto e odor desagradáveis à água².

Por meio da análise sensorial, em que pessoas treinadas, denominadas painelistas, qualificam as águas tratadas e *in natura*, quanto ao seu odor, aparência e gosto (este último apenas para as águas tratadas), os odores de terra e mofo foram percebidos na maioria das amostras provenientes dos mananciais da região metropolitana de São Paulo (RMSP)². Os técnicos da SABESP (Cia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo) identificaram os compostos 2-metilisoborneol (MIB) e geosmina (GEO) como sendo os responsáveis pelo gosto e odor de terra e mofo, respectivamente. Esses compostos são produtos metabólicos das cianobactérias², e em baixa concentração não são tóxicos, apenas dão gosto e odor desagradáveis, principalmente quando há predominância da GEO, podendo ser detectados pelo nariz humano em concentrações tão pequenas quanto 6 ng.L⁻¹ para MIB e 1 ng.L⁻¹ para GEO^{2,3}. Porém, se essa água “contaminada” chega aos consumidores é motivo de reclamação junto à SABESP. Para evitar esse tipo de problema, a SABESP inicia a aplicação dos algicidas peróxido de hidrogênio e sulfato de cobre assim que essas algas começam a aparecer nos reservatórios de água⁴. Em 2010 a quantidade desses materiais usada na represa Guarapiranga foi de, aproximadamente, 350 toneladas (sulfato de cobre) e 820 toneladas (peróxido de hidrogênio) – ação preventiva⁵. Porém quando esses compostos são notados na água (gosto e odor ruim), aplica-se carvão ativado durante o processo de tratamento de água, usualmente após a etapa de filtração. Em 2010 usou-se aproximadamente 8 toneladas desse material nas águas provenientes da represa Guarapiranga⁵. Contudo nos últimos quatro anos, a média anual de carvão usada foi de 300 toneladas. Todos esses procedimentos acarretam em custos maiores no tratamento da água, demonstrando a importância em monitorar,

constantemente, a qualidade das águas antes e após o tratamento². Além da análise sensorial, as águas tratadas são submetidas à análise química, via cromatografia gasosa associada à espectrometria de massas (CG/EM). Contudo, as análises não são realizadas *in locu*, devido à necessidade de encaminhamento das amostras a um laboratório e os resultados não são obtidos imediatamente.

Muitas técnicas analíticas podem ser empregadas para uma avaliação segura da composição da água, incluindo-se os métodos eletroanalíticos, cromatografia, espectroscopias, entre outros. No entanto, essas técnicas são baseadas em instrumentos de bancada, localizados em laboratórios especializados. Obviamente, devido à localização geográfica das fontes naturais de água, existe um intervalo de tempo entre a amostragem e o resultado da análise, o qual pode ser grande o suficiente para que as características da água no local de coleta possam ter mudado. Esse pode ser o caso quando uma indústria descarta, ilegalmente ou por acidente, resíduos de determinado processo em um manancial próximo de sua planta. Muitas vezes, a poluição só é percebida quando os resíduos se espalham por grandes extensões do curso de água. Uma ação imediata por parte dos órgãos de fiscalização só seria possível se houvesse informação sobre a qualidade da água em determinado local em tempo real.

Alternativamente, sensores químicos não-específicos têm sido desenvolvidos e empregados no monitoramento da qualidade de água. Eles oferecem vantagens importantes sobre outras formas tradicionais de análise instrumental, incluindo custo menor, resposta mais rápida e capacidade de analisar mais amostras em menor tempo. Além disso, arranjo de sensores químicos possibilitam a monitoração *in loco* e em tempo real já que são baseados em componentes mais robustos, baratos e miniaturizados.

Um pequeno número de contribuições foi dado entre 2000 e 2010 ao desenvolvimento e aplicação de sensores de gás, individuais ou na forma de arranjo como nos narizes eletrônicos (NE), na detecção de MIB e GEO em amostras de água. Por exemplo, Ji e colaboradores desenvolveram polímeros com impressão molecular (MIP, do inglês *Molecularly Imprinted Polymer*), visando conferir aos eletrodos de uma microbalança de cristal de quartzo (QCM, do inglês *Quartz Crystal Microbalance*) especificidade à MIB e GEO^{6,7}. Os melhores sensores desse estudo apresentaram elevada especificidade por MIB e limite de detecção de 10 ppb. Contudo, usando as mesmas condições não conseguiram observar qualquer aumento da especificidade por GEO⁷. Em outra investigação, Stuetz e colaboradores avaliaram o desempenho de um NE comercial na detecção de diferentes compostos, dentre eles MIB e GEO, com limites de detecção de 1 pg.L⁻¹(⁸). A principal característica desta técnica de análise

é a possibilidade de integrar o sinal de um meio complexo em uma única resposta. Contudo algumas limitações também devem ser consideradas, como por exemplo, a influência das condições ambientais na resposta elétrica dos sensores (umidade e temperatura) e a dificuldade em estabelecer procedimentos de calibração.

Parte dessas dificuldades pode ser minimizada com o emprego de sensores químicos operados em fase líquida. Nessa condição, a umidade passa a ter um papel secundário e a interface entre o sensor e a amostra é bem estabelecida, o que aumenta a sua sensibilidade. Além disso, a calibração dos sensores pode ser conduzida com um universo muito mais amplo de amostras e, portanto, de maior confiabilidade, uma vez que preparar soluções de diferentes composições é relativamente mais simples.

A avaliação da qualidade de água com sensores químicos tem enfocado diferentes aspectos, tais como detecção e quantificação de íons^{9,10}, discriminação de águas minerais pela marca do fabricante^{11, 12}, detecção de poluentes¹³, monitoramento da qualidade da água¹⁴ e da produção de água de abastecimento¹⁵ e aplicações voltadas para o meio ambiente¹⁶. Entretanto, nenhum desses estudos envolveu a detecção de MIB ou GEO. Dentro desse campo de atuação, o Grupo de Eletônica Molecular da Escola Politécnica da USP (GEM/POLI-USP) vem desenvolvendo sensores químicos baseados em materiais poliméricos e inorgânicos nanoestruturados, e investigando a sua utilização nos sistemas multisensoriais como língua eletrônica (LE)^{17,18} e nariz eletrônico (NE)¹⁹. Os sistemas multisensoriais utilizam a propriedade conhecida como sensibilidade global, em que seus sensores são sensíveis em maior ou menor intensidade aos diversos componentes da amostra, sem qualquer especificidade por algum deles. Portanto, quando uma análise é realizada obtêm-se uma “impressão digital” que é única para cada amostra. Caso o líquido sofra qualquer mudança em alguma de suas propriedades físico-químicas, seja natural ou forçada, resultará em uma “impressão digital” diferente da obtida anteriormente (amostra padrão), indicando que a amostra sofreu alguma alteração.

A experiência adquirida pelo GEM nos últimos anos, particularmente em LE, tem mostrado que estes sistemas podem ser empregados na análise de diferentes tipos de bebidas, como café, chá, vinho, sucos e água. A aplicação da LE na análise de combustíveis também tem sido realizada com relativo sucesso²⁰. Basicamente, esses sistemas são concebidos de forma a mimetizar os sistemas gustativo/olfativo humano, em que o arranjo de sensores não-específicos faz o papel dos receptores biológicos, enquanto as ferramentas de análise multivariada fazem o papel do cérebro em decodificar as respostas elétricas dos sensores em informações relevantes que caracterizem a amostra analisada. O conceito de seletividade

global tem papel fundamental no funcionamento do sistema artificial, assim como no sistema biológico. Apesar de o café ser constituído de milhares de substâncias diferentes, o sistema artificial, assim como o biológico, apenas percebe um padrão elétrico global, o qual é suficiente para identificar de forma inequívoca o café como tal. As análises realizadas pela LE podem ser qualitativas, quando o arranjo de sensores é usado para discriminar e classificar amostras por meio de uma comparação com um banco de dados obtidos em um treinamento prévio e, quantitativas, quando a presença e a quantidade de um componente (analito) precisam ser determinadas¹⁰.

1.1 Objetivo

Nesse sentido, esse trabalho de doutorado teve como objetivos o desenvolvimento e aplicação de uma LE na detecção, discriminação e quantificação de MIB e GEO em amostras artificiais preparadas com água de diferentes fontes, a saber, destilada, mineral e de torneira. A LE foi treinada com amostras dos contaminantes individuais e em misturas com mais de um contaminante. Amostras com concentrações variadas de isoborneol (ISO), cuja estrutura química é muito semelhante ao MIB, também foram analisadas pela LE. Em um caso mais próximo da realidade, foram analisadas amostras de água fornecidas pela SABESP, coletadas do sistema Guarapiranga, antes e após a estação de tratamento. A análise das Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*) foi empregada para avaliar a capacidade da LE em discriminar amostras dos 3 tipos diferentes de analitos. A classificação das amostras e quantificação dos analitos foi posteriormente realizada com o auxílio de um programa baseado em lógica *Fuzzy*. Tal programa foi desenvolvido e implementado visando o reconhecimento de amostras teste de forma mais simples. A leitura dos resultados é mais direta e o instrumento, LE, torna-se mais acessível a operadores não familiarizados com métodos estatísticos mais elaborados ou mesmo subjetivos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo é apresentada a revisão bibliográfica, descrevendo os compostos de interesse, o que já foi proposto e avaliado em termos de sensores químicos para sua detecção e a língua eletrônica investigada nesse trabalho.

2.1 Geosmina e 2-metilisoborneol

Os compostos, geosmina (GEO) e 2-metilisoborneol (MIB), cujas estruturas são apresentadas na Figura 1, foram identificados pelos técnicos da SABESP como responsáveis pelo gosto e odor de terra e mofo, respectivamente, das amostras provenientes dos mananciais da região metropolitana de São Paulo.

Figura 1. Fórmula estrutural dos compostos geosmina (GEO) e 2-metilisoborneol (MIB).

Embora GEO e MIB possam causar gosto e odor desagradáveis, estes compostos não estão relacionados na legislação vigente para controle e qualidade da água para consumo humano (portaria 518/04 do Ministério da Saúde)²¹. Nessa portaria, os parâmetros gosto e odor são classificados apenas como não objetáveis, um critério de referência. Isto ocorre porque o padrão de aceitação para consumo humano é baseado em critérios estéticos e organolépticos, com valores limites para diversas substâncias que representam risco à saúde. Essas concentrações são inferiores às suas concentrações de toxicidade, porém são suficientes para provocar rejeição ao consumo²².

Com base nisso, a SABESP classifica águas destinadas para consumo humano que possuam até 50 ng.L⁻¹ de GEO ou até 100 ng.L⁻¹ de MIB como objetáveis. Concentrações acima destes valores já provocam rejeição ao consumo. Para remoção desses compostos, é feita aplicação de carvão ativado nos reservatórios das estações de tratamento de água (ETAs). A diferença nas concentrações limiaries entre os compostos para início do tratamento se deve ao fato de MIB possuir um sabor de terra, mais agradável ao paladar humano do que de GEO (mofo). Acredita-se que o sabor de terra é agradável, pois remete ao sabor deixado nas águas pelos filtros de barro, usados antigamente na filtração da água nas residências dos consumidores.

Alguns estudos já foram realizados para se determinar o limiar de detecção humana aos compostos MIB e GEO na água²³. Não existe um valor de limiar abrupto abaixo do qual nunca se sente o composto nem um limiar superior em que sempre se nota a presença do composto²³. Ao contrário, existe um intervalo de concentrações em que às vezes pode-se detectar o composto e às vezes não. Esse intervalo possui uma grande variação devido à diversos fatores como tipo de procedimento, erro do operador, o registro das detecções e o critério usado para calculá-lo^{2,3,23}.

Para GEO, os limiaries de detecção considerados razoáveis são 15 ng.L⁻¹ para odor²³ e 16 ng.L⁻¹ para gosto³ contudo, as menores concentrações já detectadas por painelistas são de 1,3 ng.L⁻¹ para odor^{2,3} e de 7,5 ng.L⁻¹ para gosto³. Para MIB, valores considerados razoáveis são de 35 ng.L⁻¹ para odor²³ e 18 ng.L⁻¹ para gosto³, sendo que os menores valores relatados por painelistas são de 6,3 ng.L⁻¹ para odor^{2,3} e de 2,5 ng.L⁻¹ para gosto³. Esses compostos também podem estar presentes em peixes (piscicultura)^{23,24}, queijos do tipo *Brie* e *Camembert*²⁵, grãos de trigo²⁶ e bebidas como café²⁷, suco de uva²⁸ e vinho²⁹, cada qual com um limiar de detecção próprio.

2.2 Sensores para geosmina e 2-metilisoborneol

A determinação das concentrações de MIB e GEO em águas de abastecimento urbano normalmente é feita com o emprego de cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa (CG/EM). É fundamental que técnicas de extração e pré-concentração sejam aplicadas, já que as concentrações desses compostos são relativamente pequenas. Os limites de detecção obtidos com análise acoplada CG/EM + extração são extremamente baixos, da ordem de 5 ng.L⁻¹ e 4 ng.L⁻¹ para GEO e MIB, respectivamente³⁰. Em termos de monitoramento da

qualidade de água de abastecimento, porém, a CG/EM possui um custo elevado, o tempo de análise é longo e, o mais crítico, dificilmente pode ser instalada em regiões remotas, o que decididamente inviabiliza seu uso no monitoramento da qualidade da água em tempo real. Ocasionalmente, mudanças na qualidade da água causadas por algum episódio específico podem não ser detectadas a tempo e, conseqüentemente, a água é fornecida sem que qualquer ação preventiva possa ser feita.

Como mencionado anteriormente, sensores químicos não-específicos tem sido desenvolvidos e empregados no monitoramento da qualidade de água, como métodos alternativos visando a redução no tempo entre a coleta da amostra e sua análise, possibilitando a tomada de decisões de forma mais rápida ou até mesmo de forma preventiva, redução dos custos de equipamentos usado nas análises e da própria medição entre outros.

Dentre as contribuições encontradas na literatura podemos citar o trabalho de Ji e colaboradores que desenvolveram sensores para gás com alta especificidade para MIB^{6,7}. Esses sensores são baseados na técnica de impressão molecular. Mais conhecidos como MIPs (do inglês, *molecularly imprinted polymers*)^{31,32}, tais estruturas poliméricas são obtidas sob um processo de polimerização que inclui no meio reacional a molécula (alvo) que se deseja detectar. Uma vez polimerizado, remove-se a molécula do sistema com o solvente apropriado, o porogeno, restando assim, cavidades de formato e tamanho específicos. Com esses sensores obtiveram êxito na detecção de MIB em concentrações tão baixas quanto 10 ppb⁷. Contudo, usando as mesmas condições não observaram aumento da sensibilidade e especificidade por GEO⁷. A alta seletividade e estabilidade dos MIP os tornam alternativas interessantes às enzimas, aos anticorpos e receptores naturais usados na tecnologia de sensores. Contudo, os sensores baseados nesta tecnologia apresentam atualmente tempo de resposta longo, dificuldade de conversão do evento de ligação (MIP-analito) em um sinal mensurável e um desempenho insatisfatório em meio aquoso³².

Em outras investigações foram usados narizes eletrônicos comerciais, compostos por sensores poliméricos não específicos na detecção dos compostos MIB e GEO em soluções aquosas^{8,33}. Por exemplo, Catarina Bastos e colaboradores usaram um equipamento comercial, composto por 14 sensores químicos poliméricos depositados por eletropolimerização³⁴, na detecção de geosmina e *Streptomyces*, um microorganismo produtor de geosmina, em água³³. Com esse equipamento foram capazes de distinguir entre amostras com e sem GEO, além de separar as amostras contaminadas com GEO (5, 10 e 100ppb (ou $\mu\text{g.L}^{-1}$)) em três grupos distintos. Contudo, não conseguiram distinguir entre as amostras de GEO e *Streptomyces*. Em outra investigação, Stuetz e colaboradores avaliaram o desempenho

de outro nariz eletrônico, composto por 12 sensores poliméricos, na detecção de diversos compostos, como geosmina, 2-metilisoborneol, diesel, entre outros, em águas tratada e bruta⁸. Com esse equipamento, conseguiram discriminar e quantificar amostras de MIB e GEO com concentrações tão baixas quanto 1 pg.L⁻¹.

A vantagem do uso de arranjos de sensores, ou sistemas multisensores, é a possibilidade de integrar o sinal medido gerando um padrão de resposta único para o meio complexo sendo analisado. Contudo, algumas limitações dos sensores químicos operados na fase gasosa também devem ser consideradas. Por exemplo, a influência das condições ambientais (umidade e temperatura) na resposta elétrica dos sensores e a dificuldade em se estabelecer procedimentos de calibração são deficiências há tempos reconhecidas.

Parte dessas desvantagens pode ser minimizada ao se empregar arranjos de sensores químicos na fase líquida, também conhecidos por língua eletrônica (LE). Nesta abordagem, a umidade possui papel secundário, uma vez que o sensor está imerso na solução que será analisada. Com isso a interface amostra/sensor fica bem estabelecida e a sensibilidade aumenta. Além disso, devido à facilidade de se preparar amostras simples ou complexas, a calibração do sistema sensor pode ser realizada de forma mais satisfatória. Esta abordagem vem sendo aplicada na análise de água, com foco em diferentes fatores, incluindo a quantificação de íons^{9,10}, discriminação entre diferentes marcas de água mineral^{11,12}, detecção de poluentes¹³, produção¹⁵ e monitoramento da qualidade¹⁴ da água de beber e aplicações voltadas ao meio ambiente¹⁶. Entretanto, nenhum desses estudos abordou a detecção de MIB ou GEO.

2.3 Língua eletrônica

As papilas gustativas presentes na boca são responsáveis pelo reconhecimento do gosto dos diferentes alimentos. Cada uma contém de 50 a 100 células gustativas, as quais possuem receptores que se ligam às moléculas e íons dos alimentos (estímulos)³⁵. Esses receptores são formados por células nervosas capazes de converter esses estímulos em impulsos elétricos que serão processados e analisados pelo cérebro³⁶.

Contudo, a língua humana não consegue discriminar cada substância química presente em um alimento e sim, os sabores básicos como salgado, doce, azedo, amargo e umami¹⁷. Em outras palavras, pode-se dizer que a língua humana possui seletividade global, já que não há a identificação de uma substância específica (os receptores são inespecíficos). Portanto, para

que o cérebro reconheça o gosto de determinado alimento ele terá que interpretar os estímulos vindos de todos os receptores e comparar a informação gerada (análise multivariada dos dados) com o banco de dados que a pessoa possui, ou seja, os gostos de alimentos conhecidos por ela. Por exemplo, o ser humano reconhece o gosto de café, porém não identifica as inúmeras moléculas que compõe essa bebida⁶⁰.

Analogamente, sensores de paladar artificiais buscam mimetizar o funcionamento dos receptores presentes na língua e, portanto, precisam ser sensíveis, não-específicos e apresentar diferenças entre si para preservar o conceito de seletividade global. Ainda, devem funcionar em fase líquida ou gasosa, quando se considera a apresentação dos alimentos.

Dentre os sensores artificiais para gosto é de interesse deste trabalho os sensores químicos condutimétricos. Ao entrarem em contato com o alimento, tais sensores sofrem alterações em suas propriedades físico-químicas que levam à mudanças em seus níveis de condutividade elétrica. Esses sinais (respostas elétricas) são analisadas por programas computacionais que executam métodos de análise de dados multivariada. Um arranjo de sensores químicos para a análise na fase líquida é denominado de língua eletrônica (LE), e na fase gasosa de nariz eletrônico (NE). As LE desenvolvidas até o momento são associadas a métodos elétricos ou eletroquímicos de detecção, tais como potenciometria^{37,38}, voltametria^{39,40} ou medidas de impedância^{17,18,41}, descritas a seguir.

A LE potenciométrica baseia-se na medida da diferença de potencial elétrico, sem fluxo de corrente, entre os seus diferentes eletrodos em relação a um eletrodo de referência como, por exemplo, Ag/AgCl⁴². Em geral, os eletrodos são compostos de uma membrana semi-permeável, feita de diferentes materiais que podem inclusive proporcionar alguma seletividade por determinada substância, como no caso dos eletrodos íon seletivos¹⁵. Os valores de potencial fornecidos por cada sensor são avaliados tanto por análise de Componentes Principais quanto por diferentes tipos de redes neurais artificiais¹⁵. Isso possibilita tanto uma análise qualitativa (identificação) como quantitativa (multideterminação)⁴³. Um exemplo desta LE é descrito por Gutiérrez e colaboradores, em que preenchem um tubo plástico, contendo um contato elétrico de cobre, com uma resina condutiva a base de pó de grafite. Após a cura, uma cavidade de 0,3mm é formada em sua parte superior, onde é formada uma fina membrana a base de PVC⁴³. Como desvantagem deste tipo de língua pode-se citar a pouca sensibilidade por não eletrólitos^{15,17}, além da necessidade de um eletrodo de referência, o que em geral dificulta a miniaturização do dispositivo. Esta abordagem vem sendo aplicada na análise de diferentes líquidos, como cerveja⁴⁴, vinho^{45,46}, em análises clínicas^{47,48}, em processos agroindustriais⁴³ e outras³⁸. Na

avaliação da qualidade de água tem se limitado à detecção e quantificação de íons^{9,49,50}, discriminação de águas minerais pela marca do fabricante^{12,46}, detecção de poluentes¹³, monitoramento da qualidade da água⁵¹.

Um segundo tipo de LE, baseada em voltametria, foi idealizada por Winkist e colaboradores⁵². Nesta técnica mede-se a corrente que flui entre os eletrodos à medida que as substâncias presentes na solução sofrem oxidação ou redução no eletrodo de trabalho¹⁵. Esse tipo de LE é composto de um arranjo de eletrodos de diferentes metais nobres (ouro, platina, irídio, paládio, ródio), que atuam como eletrodos de trabalho¹⁵. Diferentes informações podem ser obtidas à medida que se muda a forma da onda (rampa, pulso, etc.) e a amplitude do sinal de interrogação dos eletrodos. Este método é altamente sensível, porém de baixa seletividade. Isso tem levado ao desenvolvimento de eletrodos específicos⁴¹. Esta também é utilizada na análise de diferentes líquidos, como leite⁵³, vinho⁵⁴, sucos³⁹ e outras bebidas. Na avaliação da qualidade de água tem se limitado à detecção e quantificação de íons⁵⁵, discriminação de águas minerais pela marca do fabricante¹¹, monitoramento da qualidade da água¹⁴ e da produção de água de abastecimento¹⁵ e aplicações voltadas para o meio ambiente¹⁶.

O terceiro tipo de LE, estudado neste trabalho, é baseado em sensores poliméricos interrogados em regime de corrente alternada. A impedância do circuito equivalente à situação do eletrodo modificado por um filme polimérico nanoestruturado e imerso numa solução eletrolítica depende da contribuição dos processos elétricos envolvendo eletrodo, filme, solução e interfaces. Cada um desses processos pode ser analisado pelo circuito RC em paralelo proposto por Taylor⁵⁶ e depois aplicado por Riul¹⁸ em línguas eletrônicas baseadas em medidas de impedância, onde cada termo é fisicamente representado por um elemento no circuito (resistores e capacitores). No intervalo de 100 a 10⁴ Hz, a impedância elétrica de tal circuito depende apenas do filme polimérico. Portanto, qualquer mudança na composição química da substância sendo analisada é percebida pelo filme polimérico, que tem suas resistência e capacitância alteradas¹⁰. A amplitude dessa alteração dependerá da concentração de analito sendo analisado e da composição do filme, de modo que usar um arranjo com diferentes tipos de filmes poliméricos na análise de uma amostra irá gerar uma impressão digital única, possibilitando desta forma a discriminação entre as amostras.

A unidade sensorial da LE estudada é formada por diversos microeletrodos interdigitados de ouro recobertos por filmes poliméricos ultrafinos^{17,18}. Operando em regime de corrente alternada, mede-se a impedância desses sensores na presença do líquido a ser analisado. As respostas elétricas são então processadas por meio de análise de Componentes Principais e redes neurais artificiais. Esse tipo de língua eletrônica apresenta algumas

vantagens como não necessitar de um eletrodo de referência em sua composição, apresentar grande reprodutibilidade, reversibilidade e alta sensibilidade, inclusive para não-eletrólitos, como sacarose e quinino¹⁸. Também permite o uso combinado com um nariz eletrônico (sensor de gases)⁴¹. Diferentes polímeros condutores tem sido empregados na classificação de diferentes tipos de bebidas como vinhos⁵⁷, café¹⁸, chá⁵⁸, águas minerais^{18,58}, clorofórmio⁵⁹, soja⁶⁰, combustíveis^{36,61} e na distinção entre tipos de água⁶².

Nesse sentido, neste trabalho propõe-se o desenvolvimento e aplicação de uma língua eletrônica baseada em sensores químicos não-específicos e medidas de impedância na detecção, discriminação e quantificação de MIB e GEO em amostras de água.

2.4 Métodos de análise do banco de dados

A LE é composta por um arranjo de sensores diferentes entre si. Essa diferença se deve essencialmente à estrutura química dos filmes que recobrem o eletrodo. A análise de uma amostra com esse arranjo de sensores gera n valores de capacitância elétrica (ou de resistência), sendo n o número de sensores do arranjo. Essas medições são repetidas diversas vezes, em amostras com diferentes concentrações de um analito desejado, a fim de se obter um banco de dados representativo. Esse banco de dados nada mais é que uma matriz, onde cada coluna contém as respostas de um determinado sensor para as diferentes amostras, organizadas em linhas. A manipulação dessa grande quantidade de dados é muitas vezes complicada e demanda o uso de ferramentas de análise multivariada já implementadas em sistema computacional como, por exemplo, análise das componentes principais (PCA)^{15,63}, redes neurais⁶⁴ e lógica *Fuzzy*⁶⁵.

Na análise do banco de dados deste trabalho foram usados os programas PCA (discriminação) e lógica *Fuzzy* (classificação).

2.4.1 Análise das Componentes Principais (PCA)

A análise das componentes principais (PCA, do inglês *principal component analysis*)⁶³ é um método estatístico usado na análise de bancos de dados com múltiplas variáveis, que irá correlacionar estaticamente os dados coletados pela LE, indicando quão semelhantes são as amostras entre si (quanto maior a proximidade maior a semelhança), qual variável (sensor) contribui mais para a diferenciação das amostras e se as variáveis estão correlacionadas entre si⁶⁶.

Em um conjunto com muitas variáveis (> 3), fica difícil a visualização individual e pode ser que algumas se movam juntas por estarem medindo o mesmo princípio que governa a conduta do sistema, causando redundância da informação⁶⁶. Uma maneira de evitá-la é usar a PCA, na qual o conjunto de variáveis iniciais (matriz gerada na coleta dos dados pela LE) é substituído por um novo conjunto de menor dimensão. Esse novo conjunto é obtido por meio da matriz de variância e covariância com a qual são obtidas as novas coordenadas dos pontos das amostras em relação ao eixo das componentes principais (PC, do inglês *Principal Component*) e a quantidade de informação de cada uma, cujo peso é informado pelo valor de sua respectiva variação (em percentual)⁶⁶. Portanto, quanto maior a variação, maior a importância da PC. São calculadas tantas PCs quantas são as variáveis iniciais, ou seja, se há oito variáveis são calculadas oito PCs. Usualmente, as PCs 1 e 2 contêm mais de 80% da informação, o que, muitas vezes, é suficiente para discriminar corretamente as variáveis.

Embora a PCA facilite a interpretação dos dados por reduzir um gráfico de N-dimensões para um bidimensional (PCs 1 e 2) e ser amplamente usada em associação a LE, é de difícil utilização por operadores não especializados. Adicionalmente, dificulta a geração de resultados de forma automática, imprescindível para um sistema autônomo de coleta de dados baseado em LE. Por isso, é constante a busca de métodos de análise de dados que possam ser automatizados e permitam o fornecimento de resultados de forma mais compreensível a um operador não especializado (como um nome ou quantidade aparecendo em um visor). Entre as técnicas que apresentam estas características encontra-se a lógica *Fuzzy*⁶⁵.

2.4.2 Lógica Fuzzy

Fuzzy é um exemplo de lógica que representa e manipula conhecimento de modo semelhante ao humano. Quase 30 anos após a publicação do primeiro artigo sobre conjuntos *Fuzzy* por Lofti A. Zadeh⁶⁵, a lógica *Fuzzy* finalmente se despontou como uma alternativa à lógica clássica (valores binários) em áreas de aplicação, indo de controle de processos industriais à bioengenharia⁶⁷. Inicialmente, a lógica *Fuzzy* ficou restrita ao meio acadêmico, porém, a partir dos anos 80, devido ao sucesso da aplicação de controle *Fuzzy* na indústria japonesa, este passou a ser empregado por indústrias alemãs e, posteriormente, em outros países⁶⁷. A tecnologia *Fuzzy* é aplicada em diversos ramos industriais, como por exemplo, na indústria automotiva (controle de transmissão e tração), em processos industriais (incineradores) e químicos (refinaria e destilação), e robótica⁶⁷. Também é aplicada em

diversos equipamentos residenciais como, por exemplo, em câmeras fotográficas, máquinas de lavar, refrigeradores, entre outros⁶⁷.

O controle por lógica *Fuzzy* emergiu nos anos 70 a partir do trabalho de Mamdani e colaboradores na Inglaterra⁶⁷. Eles desenvolveram o primeiro sistema de controle baseado em regras *Fuzzy* (ou controle lingüístico), que foi implementado em um motor a vapor de laboratório⁶⁷. Neste tipo de controle, a lógica baseia-se em regras com causa e consequência (*se...então...*) e utiliza variáveis lingüísticas (pequeno, grande, baixo), possibilitando que a lógica de controle seja escrita usando os mesmos termos que os especialistas humanos usam.

O controle de temperatura (T) realizado por um ar-condicionado pode ser expresso por meio desse controle lingüístico:

- Se T é alta, então refrigerar.
- Se T é baixa, então aquecer.

Deste modo, o comportamento do ar-condicionado dependerá do grau ao qual a temperatura T satisfaz o significado lingüístico *alta* e *baixa*. Essas variáveis lingüísticas são definidas por especialistas por meio das suas funções de pertinência (μ), que estão no intervalo $[0, 1]$, em relação ao seus domínios (valores de temperatura que satisfazem as condições *alta* e *baixa*). Um exemplo dessas funções de pertinência é ilustrado na Figura 2.

Figura 2. Função de pertinência (μ) de um ar-condicionado em função da temperatura (T).

Além dessas variáveis de entrada poderiam haver outras como *muito alta* e *muito baixa*. Do mesmo modo, poderiam haver outras variáveis de saída, como o controle da velocidade do ventilador do ar-condicionado, para resfriar ou aquecer mais rapidamente (ou vagarosamente).

Quando aplicada aos sensores, a lógica fuzzy possibilita um aumento no grau de precisão e na repetibilidade, uma vez que o controlador *Fuzzy* requer que o sensor seja suficientemente preciso de modo a determinar se um específico parâmetro medido pertence ao

domínio pré-definido. Deste modo, permite que os sensores funcionem com uma tolerância maior quanto à precisão, repetibilidade e linearidade⁶⁷.

Wiziack¹⁷ observou que os valores obtidos com a língua eletrônica não possuem uma resposta exata, e sim, um intervalo no qual um determinado sensor identifica uma amostra específica. Esse intervalo corresponde ao domínio usado no controlador *Fuzzy*. Deste modo, é possível especificar, para cada sensor, os domínios dos compostos (geosmina e 2-metilisoborneol) que se deseja identificar nas águas *in natura* e tratadas. As amostras de água podem ser classificadas como objetável (imprópria para consumo) e não objetável (própria para consumo) conforme portaria nº 518/04 ou pela concentração do composto na amostra. Há alguns trabalhos na literatura de língua eletrônica associada à lógica *Fuzzy*, usada na classificação de chás⁶⁸, água^{12,14}, bebidas alcoólicas⁶⁹ e alimentos para bebês¹⁴.

2.5 Filmes nanoestruturados

A LE usada neste estudo é composta por um arranjo de sensores formados por microeletrodos interdigitados de ouro recobertos com filmes poliméricos nanoestruturados⁷⁰. Os sensores diferem entre si quanto aos polímeros depositados, a espessura dos filmes e à geometria dos microeletrodos¹⁰, sendo normalmente depositados pelas técnicas de Langmuir-Blodgett (LB)^{71,72}, que necessita um equipamento dedicado para a deposição, e por automontagem (LbL)^{73,74}, na qual a deposição pode ser feita tanto manualmente como com o auxílio de equipamentos dedicados⁷²⁻⁷⁷.

Destas, optou-se pela técnica LbL devido à facilidade do procedimento de deposição e a garantia de reprodutibilidade das espessuras dos filmes na escala nanométrica. Além disso, a técnica pode ser executada com diferentes classes de materiais, o que atende a expectativa por sensores com sensibilidades mais variadas possíveis. Essas características têm sido aproveitadas e difundidas pelo grupo de eletrônica molecular da POLI onde este trabalho de tese foi desenvolvido, tanto para a fabricação de sensores^{10,20,60,61} quanto de diodos emissores de luz^{80,81}.

Na técnica LbL os filmes são depositados sobre um substrato sólido que é inicialmente tratado, a fim de apresentar afinidade pelo polímero ou outro material a ser depositado. Os substratos podem ser, a princípio, de qualquer classe de material, mas são normalmente feitos de vidro, quartzo, silício, mica, ITO (substrato de vidro revestido com óxido de estanho e índio), entre outros. No modo eletrostático, depositam-se sucessivamente camadas alternadas

de polications e poliânions. No entanto, outras espécies eletrolíticas e não-poliméricas podem ser depositadas segundo esse modo, como nanopartículas, nanotubos de carbono e grafeno funcionalizados.

A execução do método consiste na imersão do substrato, por exemplo, com cargas positivas, na solução de um poliânion, conforme ilustrado na Figura 3. Durante esse período, ocorre a adsorção da primeira camada que se liga ao substrato por meio da atração eletrostática entre suas moléculas (de carga negativa) e a superfície do substrato (de carga positiva). Após a deposição da primeira camada, realiza-se um enxágüe do substrato na solução de limpeza (água ultrapura, cujo pH normalmente é o mesmo da solução polimérica) para se retirar o excesso de material. O substrato passa a exibir cargas negativas na superfície e, por isso, é em seguida, imerso na solução do polication. Desta forma ocorre a adsorção de uma nova camada, que agora reverte a carga positiva inicial do substrato. O processo de enxágüe é realizado sempre após a deposição de polication ou poliânion e caso não seja realizada, o filme formado geralmente apresenta baixa adesão e desuniformidade^{74,75}. Até este ponto foi obtida uma bicamada, ou seja, duas camadas, uma de poliânion e outra de polication, que estão fortemente ligadas ao substrato e uma à outra por meio de inúmeras ligações iônicas. A repetição desse ciclo permite a deposição de diversas bicamadas e possibilita a fabricação de filmes ultrafinos com multicamadas. Com esse procedimento consegue-se obter a estrutura mais simples possível $((A/B)_n)$, sendo A o polication, B o poliânion e n o número de bicamadas.

O que confere a esse processo a característica de autolimitação é que ao imergir o substrato na solução de polieletrólito, o material irá adsorver até que, transcorrido um período de tempo (varia para cada polieletrólito), o processo de adsorção satura, ou seja, a adsorção do polieletrólito cessa⁸². Esse fenômeno ocorre porque as moléculas dos polieletrólitos (polication e poliânion) possuem grupos dissociados de mesma carga e à medida que forem sendo adsorvidas, a polarização da superfície muda gradativamente, passando, por exemplo, de positiva (apenas o substrato) para negativa (imersão no poliânion). Com o aumento da quantidade de material adsorvido, há um aumento dessa carga superficial, o que evolui até que ela se torne tão grande que impossibilita a adsorção de mais material de mesma carga devido à forte força de repulsão intermolecular. Ou seja, o processo de adsorção é interrompido. Esse efeito é chamado de supercompensação de cargas⁸³ e, é muito importante porque com a completa mudança da carga superficial: (1) as moléculas da solução são repelidas e, deste modo, o processo de adsorção é auto-regulado, restringindo à adsorção a apenas uma quantidade fixa (autolimitante), e (2) a adsorção de espécies com carga oposta

torna-se possível, como também a criação de filmes multicamadas⁸⁵. A supercompensação de cargas ocorre em todas as etapas de adsorção de polieletrólitos, desde que o tempo de imersão permita que o sistema atinja o equilíbrio. Quando esse equilíbrio não é atingido, o processo não é autolimitante. Além disso, em geral, esses processos de adsorção são irreversíveis, ou seja, não ocorre uma desorção apreciável de material adsorvido a partir do filme formado. Dependendo dos materiais usados como policação e poliânion na deposição do filme polimérico, é possível removê-lo através da imersão do filme em uma solução contendo uma alta concentração de sal^{83,84}. É importante salientar que apesar de depositar-se o filme em “camadas” e chamá-los de filmes multicamadas, no caso de polieletrólitos fortes e de alto peso molecular essas camadas não são bem definidas, já que na verdade elas penetram mutuamente, como se formassem uma única camada⁸³.

Figura 3. Ilustração do procedimento de fabricação de filmes ultrafinos automontados via atração eletrostática. A) esquema utilizando béqueres, sendo as etapas 1 e 3 correspondentes a adsorção das soluções poliméricas de poliânion e policação, respectivamente, e etapas 2 e 4 correspondentes a limpeza do substrato nas soluções de lavagem; B) Ilustração molecular simplificada das duas etapas de adsorção a partir de um substrato polarizado positivamente⁸⁵.

Considerando o uso prático desses filmes, como nos sensores químicos para líquidos (LE), é muito importante que o processo de deposição possibilite a fabricação dos filmes com características similares, incluindo propriedades morfológicas e elétricas. Para que isso seja possível é necessário depositar filmes automontados com alto grau de repetibilidade e reprodutibilidade. Normalmente, esses filmes são depositados de forma manual e, portanto, estão sujeitos a erros humanos. Conseqüentemente, podem apresentar diferenças significativas em suas características morfológicas e elétricas entre um lote e outro, apresentando baixas

repetibilidade e reprodutibilidade^{74,75}. Em um estudo prévio, verificou-se que filmes depositados por diferentes operadores humanos apresentam grandes diferenças em suas características, indicando que as qualidades dos filmes fabricados é influenciada pelo grau de atenção e experiência do responsável pela deposição^{74,75}. Diante desses resultados, Braga et al. desenvolveram um sistema automático que deposita filmes pela técnica de LbL, apresentado na Figura 4, chamado *Haubenteuer* (cuja patente já foi licenciada⁸⁶), o qual permitiu a deposição de filmes de diferentes materiais com alto grau de repetibilidade e reprodutibilidade, inclusive para filmes com até 60 bicamadas⁷⁴. A introdução desse sistema aumentou consideravelmente a reprodutibilidade dos sensores usados no laboratório do GEM, minimizando deste modo, uma das maiores preocupações na instrumentação baseada em arranjo de sensores poliméricos: a baixa reprodutibilidade dos sensores fabricados.

Figura 4. Equipamento dedicado para deposição dos filmes nanoestruturados pela técnica de automontagem.

Como foi apresentado neste capítulo, o monitoramento de MIB e GEO é de grande interesse, muito embora exista pouca ou nenhuma tecnologia para esse fim. Normalmente, o monitoramento destes compostos é feito com a técnica de cromatografia gasosa, que embora seja muito precisa, impossibilita o monitoramento em tempo real e *in loco*. Alternativamente, o uso de arranjo de sensores químicos para a fase líquida (LE) ou gasosa (NE) contorna essa desvantagem. Entretanto, poucos estudos foram direcionados a detecção destes compostos. A LE pode apresentar certas vantagens sobre outros tipos de sistemas multissensores nesse tipo de aplicação, apesar de também apresentar desafios. Entre eles, pode-se citar a necessidade de métodos de análise de dados com saída amigável, a fim de facilitar o uso do instrumento por pessoal não especializado. Desse modo, foi proposto o uso da lógica *Fuzzy* na interpretação das respostas elétricas dos diferentes sensores da LE frente às amostras analisadas. Sendo uma

lógica que permite a associação de variáveis numéricas a atributos lingüísticos, deve favorecer a implementação de interface homem-máquina mais amigável. No presente estudo, o atributo da amostra, objetável ou não-objetável, poderia ser apresentado em um mostrador, ou então acionar avisos sonoros ou luminosos, que permitam tomar ações preventivas mais rápidas e eficazes.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Materiais para a preparação dos sensores

Polianilina (PANI, M_w 10.000 g.mol⁻¹), polipirrol (PPI, M_w 67.089 g.mol⁻¹), hidrocloreto de poli(alilamina) (PAH, M_w 56.000 g.mol⁻¹), poli(4-estireno sulfonato de sódio) (PSS, M_w 70.000 g.mol⁻¹) e ácido canforsulfônico (CSA) foram adquiridos da Sigma-Aldrich e usados sem purificação adicional. Poli(*o*-etoxianilina) (POEA M_w 15.000 g.mol⁻¹) foi gentilmente fornecida pela EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Poli(*o*-metoxianilina) (POMA, M_w 15.000 g.mol⁻¹) foi gentilmente fornecida pela Profa. Debora Balogh (Instituto de Física da Universidade de São Paulo). Os polímeros POEA e POMA foram obtidos por síntese química como descrito na literatura^{87,88}. Lignosulfonato de sódio desaçucarado (LS, M_w 2000 g.mol⁻¹) foi fornecido pela Melbar Produtos de Lignina SA (Brasil). A fórmula estrutural dos polímeros empregados na fabricação dos sensores é apresentada nas Figuras 5 e 6. 2-metilisoborneol (MIB) e geosmina (GEO) foram adquiridos da Supelco (100µg.ml⁻¹ em metanol). Isoborneol (ISO) da Acros foi gentilmente fornecido pelo Prof. Manel del Valle (Universidade Autônoma de Barcelona). Todos os outros reagentes (grau analítico de pureza) usados na limpeza dos microeletrodos foram usados assim como adquiridos. Água ultrapura (resistividade 18 MΩ.cm⁻¹) usada na preparação dos sensores e das soluções de deposição dos filmes foi produzida em um sistema de purificação Milli-Q da Millipore.

Figura 5. Estrutura química dos materiais utilizados como polications.

Figura 6. Estrutura química dos materiais utilizados como poliânions.

3.1.2 Soluções para deposição dos sensores

Para a deposição dos materiais foram preparadas as respectivas soluções aquosas:

- Soluções de PANI-HCl, PANI-CSA e POMA- (1 g.L^{-1}): o polímero na forma desdopada foi dissolvido em dimetil acetamida (DMAc) sob agitação magnética por 18 horas. A solução obtida foi filtrada em papel de filtro (porosidade: $10\mu\text{m}$). Posteriormente, adicionou-se gota-a-gota uma solução do ácido desejado sobre a solução do polímero sob agitação magnética, a fim de promover a dopagem do polímero. A dopagem foi percebida quando a solução azul (polímero desdopado) mudou para um verde intenso (polímero dopado). O volume final da solução foi ajustado em um balão volumétrico com solução diluída do ácido empregado na dopagem. Foram preparadas duas soluções de PANI, uma delas dopada com solução de HCl 1 mol.L^{-1} e outra com solução de CSA $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$. A solução de POMA foi preparada com solução de HCl 1 mol.L^{-1} . O pH das soluções foi ajustado em 2,7;
- Solução de POEA (1 g.L^{-1}): como a POEA utilizada já estava em sua forma dopada (sal esmeraldina), foi dissolvida diretamente em solução de HCl diluída (pH 2,7) sob agitação magnética por 18 h. Para facilitar a dissolução, o polímero foi previamente umedecido com acetona. A solução obtida foi filtrada em papel de filtro (porosidade: $10\mu\text{m}$);
- Soluções de PAH, PSS-HCl, PSS-CSA e LS (1 g.L^{-1}): os materiais foram dissolvidos diretamente em soluções aquosas dos ácidos correspondentes, sob agitação magnética por 1 h. O pH das soluções de PSS foi ajustado em 2,7, enquanto que o pH das soluções de PAH e LS foi fixado em 5,5;
- Soluções de PPI (1 g.L^{-1} e $19,32 \text{ g.L}^{-1}$ ou 1:10v/v): diluiu-se a formulação comercial em água ultrapura sob agitação magnética a fim de obter as concentrações indicadas acima. O pH das soluções foi fixado em 2,03 (1 g.L^{-1}) e 3,3 ($19,32 \text{ g.L}^{-1}$).

3.1.3 Substratos

Os filmes foram depositados sobre lâminas de vidro ótico (BK7, dimensões 30 mm x 10 mm x 1 mm), previamente limpas em solução piranha ($\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$, 3:1 v/v, em ebulição por 10 minutos) seguida de solução RCA ($\text{NH}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ 1:1:5, v/v, 80°C , 10 minutos). Entre

cada solução de limpeza, as lâminas foram enxaguadas com água ultra-pura corrente por 10 minutos.

3.1.4 Microeletrodos interdigitados

Os microeletrodos interdigitados de ouro (IME) usados neste trabalho foram gravados sobre lâminas de vidro ótico BK7 pelo procedimento de fotolitografia convencional, de acordo com o trabalho de Wiziack e colaboradores¹⁷. Na Figura 7 estão ilustradas vistas esquemáticas dos microeletrodos empregados, cujas dimensões são descritas na Tabela 1. Eles diferem quanto a largura, comprimento e número dos dígitos, sendo denominados de M-50 os microeletrodos com 50 dígitos e M-02 os com 2 dígitos. Essas duas geometrias foram estudadas a fim de se verificar se a geometria M-02 apresentaria sensibilidade maior aos compostos MIB e GEO do que os M-50, uma vez que os M-02 apresentam uma estrutura de maior facilidade de fabricação e de custo menor¹⁷.

Figura 7. Ilustração esquemática simplificada dos microeletrodos interdigitados usados na fabricação dos sensores.

Tabela 1. Descrição das dimensões dos microeletrodos ilustrados na Figura 7.

	Geometria M-50	Geometria M-02
Largura dos dígitos:	10 μ m	550 μ m
Comprimento dos dígitos:	5mm	16mm
Espaço entre dígitos:	10 μ m	10 μ m
Altura dos dígitos:	0,2 μ m	0,2 μ m
Número de dígitos:	50	02

3.1.5 Amostras de água

As fórmulas estruturais dos compostos analisados neste estudo são apresentadas nas Figuras 1 (geosmina (GEO) e 2-metilisoborneol (MIB)) e 8 (isoborneol - ISO). Soluções individuais de cada contaminante em diferentes concentrações foram preparadas com águas de diferentes fontes: destilada (25, 50, 100, 200, 300, 500 e 1000 ng.L⁻¹), mineral e de torneira (50, 100 e 200ng.L⁻¹). Soluções contendo MIB e GEO juntos, em diferentes proporções, também foram preparadas em água destilada, mineral e de torneira. A concentração final dessas soluções, independentemente das proporções de MIB e GEO foi fixada em 100 ng.L⁻¹. A composição das soluções contendo dois contaminantes é descrita na Tabela 2. Adicionalmente, foram analisadas amostras coletadas pela SABESP do sistema Guarapiranga. A amostra denominada “bruta” (pH = 7,55 ± 0,05) corresponde à amostra antes da ETA (sem tratamento) e a amostra denominada “final” (pH = 8,70 ± 0,02) corresponde à amostra após a ETA (com tratamento). Essas amostras foram subdivididas em dois grupos: as que foram mantidas *in natura* denominadas bruta 1 e final 1, e as com adição de MIB e GEO, denominadas bruta 2 e final 2. À amostra “bruta 2” foi adicionado os padrões MIB 60 ng.L⁻¹ e GEO 50 ng.L⁻¹ e à amostra “final 2” os padrões MIB 30 ng.L⁻¹ e GEO 20 ng.L⁻¹. Essas amostras foram fracionadas em três partes: uma para análise sensorial (SABESP), outra para análise por cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa (SABESP), e a terceira para análise pela LE (GEM-EPUSP). Entre parênteses estão indicados os responsáveis pelas análises. As amostras de água foram coletadas em 27/06/2011. No dia seguinte foram feitas as análises sensorial e por cromatografia. A análise com a LE foi realizada em 29/06/2011.

Figura 8. Estrutura química do composto isoborneol (ISO).

Tabela 2. Composição das amostras em água baseada na razão entre o número de mols de GEO por MIB. Amostras foram preparadas misturando diferentes proporções de soluções padrão de GEO e MIB à 100 ng.L⁻¹.

Amostras	$n_{\text{(GEO)}} : n_{\text{(MIB)}} \text{ (nmols)}$
A (controle)	Água pura
B	Somente MIB
C	0,15 : 0,45
D	0,27 : 0,30
E	0,41 : 0,15
F	Somente GEO

3.2 Métodos

3.2.1 Sistema sensor (língua eletrônica)

A língua eletrônica desenvolvida e avaliada foi composta por um conjunto de dez sensores poliméricos. Cada sensor é constituído por um microeletrodo interdigitado de ouro recoberto com um tipo de filme polimérico, depositado por automontagem⁷⁰. Os sensores diferiram entre si quanto aos tipos de polímeros depositados, à espessura dos filmes e à estrutura dos microeletrodos, conforme descrito na Tabela 1 e ilustrado na Figura 7⁽¹⁰⁾. Antes da deposição dos filmes, os microeletrodos de ouro foram imersos em uma solução metanólica de ácido 3-mercaptopropiônico (3-MPA, 100mM) por 18 horas. Esse pré-tratamento foi realizado para funcionalizar a superfície do ouro com grupos ácido carboxílico a fim de facilitar a adsorção dos materiais positivamente carregados (polications, Figura 5). Na funcionalização, ilustrada na Figura 9, o grupo tiol do 3-MPA se liga ao ouro e a outra extremidade da molécula, que exibe o grupo carboxila, fica livre. Está extremidade servirá de sítio de ancoragem para a cadeia polimérica durante a deposição do filme.

Figura 9. Funcionalização do eletrodo de ouro com ácido 3-mercaptopropiônico (3-MPA).

Após o pré-tratamento, os filmes poliméricos foram depositados pela técnica de automontagem (LbL) via atração eletrostática^{73,74}, usando o sistema automático *Haubenteuer*^{74,75} da V Company do Brasil (Figura 4), descrita na secção 2.5 *Filmes nanoestruturados* da Revisão bibliográfica. A opção pela deposição com o sistema automático se deu, principalmente, pela reprodutibilidade das características dos filmes. Resumidamente, o equipamento realizou a deposição imergindo inicialmente o microeletrodo na solução de polycation por três minutos. O tempo de deposição foi estabelecido em experimentos preliminares, sendo este o tempo em que a concentração de material adsorvido sobre o substrato atingia a saturação. O microeletrodo com a primeira camada de polycation foi então imerso em uma solução ácida diluída sob agitação por vinte segundos para remover as cadeias poliméricas fracamente adsorvidas. Após essa etapa, o filme adsorvido era deixado ao ar livre para secar por quarenta segundos. Na secagem, a extremidade inferior do microeletrodo era encostada em um papel absorvente conforme descrito na literatura^{74,75}. A deposição da camada de poliânion foi realizada da mesma maneira. A espessura dos filmes foi variada simplesmente pela repetição das etapas descritas acima. Todas as deposições foram realizadas à temperatura ambiente (25°C). A relação dos filmes fabricados é apresentada na Tabela 3. Os microeletrodos sem filme são referidos como BRANCO.

Tabela 3. Descrição dos vinte sensores usados inicialmente para detecção de GEO e MIB, com os quais foram montadas duas LEs. Entre parênteses estão indicadas as geometrias dos microeletrodos, que podem ter 02 ou 50 dígitos.

LE1	LE2
S01 – BRANCO (M-02)	S11 – POEA/PSS (M-02)
S02 – BRANCO (M-50)	S12 – POEA/PSS (M-50)
S03 – PAH/PPI (M-02)	S13 – BRANCO (M-02)
S04 – PAH/PPI (M-50)	S14 – BRANCO (M-50)
S05 – POMA/PPI (M-02)	S15 – PANI/PSS+PANI-CSA (M-02)
S06 – PAH/PPI (M-50)	S16 – PANI/PSS-CSA (M-50)
S07 – PAH/PPI (M-02)	S17 – PANI/PSS-CSA (M-02)
S08 – PAH/LS (M-02)	S18 – PANI/PSS-HCl (M-50)
S09 – PAH/LS (M-50)	S19 – PANI/PSS-HCl (M-02)
S10 – POMA/PPI (M-50)	S20 – PANI/PSS+PANI-CSA (M-50)

3.2.2 Sistema de medidas

O sistema de língua eletrônica desenvolvido e empregado na análise das amostras de água e seu respectivo diagrama de bolcos são apresentados na Figura 10. Basicamente, o sistema é composto por um arranjo de sensores conectado a um analisador de impedância

(Solartron SI 1260) por meio de um multiplexador de 10 canais, o qual permite a interrogação de todos os sensores sequencialmente (destacados em verde no diagrama de blocos - Figura 10). As medições e aquisição dos dados foram realizadas por meio de um programa criado na plataforma LabView desenvolvido pela EMBRAPA Instrumentação Agropecuária. A análise multivariada dos dados foi feita com a análise das Componentes Principais e por lógica *Fuzzy* usando rotinas desenvolvidas no programa MatLab. Tanto as medições e aquisições dos dados como a análise deles foi realizada em um computador (destaque em vermelho no diagrama de blocos - Figura 10).

Figura 10. Sistema de medidas usado na análise das amostras (acima) e seu respectivo diagrama de blocos (abaixo).

As amostras foram analisadas com o auxílio de um segundo robô, ilustrado na Figura 11, desenvolvido em parceria com um aluno de iniciação científica (Jeferson Pelison-EPUSP). O robô, destacado em rosa no diagrama de blocos da Figura 10, era operado pelo mesmo instrumento virtual usado na aquisição dos dados. A língua eletrônica é fixada em um braço que se move nas direções vertical e horizontal com a ajuda de dois motores de passo controlados por um microcontrolador (Figura 12). Há cinco posições de parada: uma correspondente ao agitador magnético (etapa de limpeza) e as outras quatro correspondentes às posições das amostras.

A temperatura das amostras foi controlada com o auxílio do sistema de ar condicionado do laboratório, em que a temperatura ambiente era estável, mantida em 25°C. Em um primeiro experimento, foram obtidos espectros de impedância com os sensores imersos em um pequeno conjunto de amostras de MIB e GEO. O sinal de interrogação dos sensores foi de 50 mV AC (amplitude). As medições foram iniciadas após acondicionar a LE nas amostras por 1 minuto. Este tempo foi o mínimo observado para que a resposta elétrica dos sensores estabilizasse. As medições foram realizadas no intervalo compreendido entre 100 Hz e 1 MHz, em escala logarítmica. Nos experimentos de discriminação e classificação das amostras, a resposta dos sensores foi registrada em algumas frequências pré-determinadas. Nesse caso, transcorrido o tempo de acondicionamento, cada amostra era analisada por 5 minutos, que corresponde a 50 medições para cada um dos sensores em cada amostra analisada. A duração do tempo de análise (5 minutos para cada amostra) possibilitou a análise de todas as amostras em um único dia. É importante salientar que as amostras eram avaliadas em sequência aleatória (de um dia para o outro) para evitar qualquer tipo de tendência. Após a análise de cada amostra, os sensores eram limpos, imergindo-os em água ultrapura sob agitação magnética por cinco minutos. Adicionalmente, para garantir maior reprodutibilidade às medições, as amostras eram acondicionadas em béqueres de mesmo volume (150 ml), o mesmo volume de solução (50 ml) era analisado pela LE, e a mesma área do sensor era imersa na amostra.

Figura 11. Equipamento automatizado para realizar as medidas das amostras.

Figura 12. Vista frontal do equipamento mostrando o braço para fixação da língua eletrônica.

3.2.3 Análise do banco de dados

Após a análise de cada amostra, calculou-se a média aritmética das 50 medições em cada amostra, com cada sensor. Como resultado, obteve-se matrizes de dados nas quais as linhas corresponderam a essa média aritmética enquanto as colunas continham os sensores e os respectivos valores de capacitância (ou resistência) para cada tipo de amostra analisada. Esse banco de dados foi posteriormente analisado com o emprego das técnicas de análise das componentes principais (PCA)^{15,63} para discriminação e por lógica *Fuzzy*⁶⁵ para classificação das amostras. As análises foram conduzidas por meio de rotinas implementadas em MatLab.

3.2.3.1 Análise das Componentes Principais (PCA)

A análise PCA deste trabalho foi realizada usando o programa MatLab. Nessa rotina, a matriz com as variáveis iniciais X_{ij} , onde i corresponde às amostras e j às variáveis (sensores), era substituída por uma matriz menor Y_{iz} , onde i corresponde às amostras e z às coordenadas das componentes principais. Além disso, os gráficos gerados possuem duas informações: quão semelhantes são as amostras entre si devido a sua proximidade e a contribuição de cada variável (sensor) na discriminação das amostras, possibilitando também verificar se há sensores que contribuem de mesma forma. Neste caso, se os sensores estão sobrepostos no gráfico gerado, eles são redundantes, contribuindo da mesma forma para a discriminação daquele banco de dados. A remoção de um deles não acarreta perda de discriminação e informação.

Para gerar a nova matriz Y_{iz} , são necessárias várias etapas, sumarizadas a seguir. A primeira etapa consiste em calcular a matriz de variância e covariância S , em que o somatório dos elementos de sua diagonal principal (traço da matriz) corresponde à variância total dos dados (t). Para isso, calcula-se primeiramente os valores médios de cada coluna da matriz inicial X_{ij} . Depois, subtraí-se de cada elemento da matriz X_{ij} o valor médio correspondente, obtendo-se deste modo uma matriz centrada na média, A_{ij} . O produto da matriz transposta de A (A') por A é dividido por uma grandeza ν (graus de liberdade da matriz), onde $\nu = i - 1$, obtendo-se $S_{2 \times 2}$ (Equação 1)⁸⁹.

$$S = A' \times A / \nu \quad \text{Eq. (1)}$$

Depois disso calcula-se os autovalores (λ) de S usando a Equação 2, onde I é a matriz identidade. Com a resolução do determinante da Equação 2 serão obtidas duas raízes (λ_1 e λ_2), cuja soma corresponde ao valor de variância total (t). Atribuindo-se a t o valor de 100% e usando os valores λ_1 e λ_2 , com uma simples regra de três obtêm-se os valores de variância das PCs 1 e 2 respectivamente, isto é, a quantidade de informação de cada PC⁸⁹.

$$|S - \lambda \times I| = 0 \quad \text{Eq. (2)}$$

A terceira etapa consiste em encontrar os eixos perpendiculares, ou seja, as Componentes Principais. Para isso, calcula-se a matriz dos autovetores $U_{2 \times 2}$ definida pela Equação 3. Com a substituição de λ por λ_1 e λ_2 obtêm-se os valores das colunas de U (U_1 e U_2), que devem ser ordenadas em função da ordem decrescente dos autovalores. Portanto, se λ_1 maior que λ_2 , U_1 vem antes de U_2 , se λ_2 maior que λ_1 , U_2 vem antes de U_1 . Esta matriz é normalizada a 1, gerando a matriz $B_{2 \times 2}$. Nessa normalização, os elementos da matriz U são divididos por uma constante c , que é igual à raiz quadrada da soma dos quadrados dos elementos da coluna. O valor dos elementos da diagonal principal de B corresponde ao cosseno do ângulo α que o sistema das componentes principais faz com o sistema de origem. Seu centro corresponde à localização dos pontos médios calculados anteriormente para as duas primeiras colunas no sistema de origem (m_1, m_2)⁸⁹.

$$|S - \lambda \times I| \times U = 0 \quad \text{Eq. (3)}$$

A quarta e última etapa consiste em calcular as novas coordenadas das amostras (Y_{iz}) com relação ao novo sistema de eixo (Equação 4)⁸⁹.

$$A_{ij} \times B = Y_{iz} \quad \text{Eq. (4)}$$

3.2.3.2 Lógica Fuzzy

Para este trabalho foram desenvolvidos diversos controladores *Fuzzy*, um para cada composto estudado (MIB, GEO ou ISO) em cada tipo de água (destilada, mineral e de torneira). Para tanto foi usada a caixa de ferramentas de lógica *Fuzzy* do programa MatLab. Os controladores possuem cinco entradas, cada uma correspondendo a um dos sensores e, de

uma a três saídas, dependendo do número de compostos que eram analisados por amostra, ou seja, quando apenas amostras contendo diferentes concentrações de 2-metilisoborneol era analisada o controlador possui apenas uma saída: a concentração de 2-metilisoborneol. Quando amostras contendo diferentes proporções de 2-metilisoborneol e geosmina eram analisadas, o controlador possui duas saídas: uma para cada composto. E por fim, quando amostras contendo MIB, GEO ou ISO eram analisadas simultaneamente, o controlador possui três saídas: uma para cada composto. Em todos os casos a saída gerada pelo controlador *Fuzzy* indica, em ng.L^{-1} , a concentração do composto na amostra analisada.

Resumidamente, o controlador *Fuzzy* executa três passos para gerar a saída: fuzzificação, inferência e defuzzificação. Na fuzzificação ele avalia o grau de pertinência da entrada numérica fornecida (resposta elétrica do sensor); na inferência ele analisa as regras ativadas e gera os conjuntos intermediários de saída; na defuzzificação ele realiza operações *fuzzy* para gerar o conjunto de saída e a saída numérica (concentração da amostra em ng.L^{-1}).

Para avaliar o grau de pertinência é necessário determinar a função de pertinência (μ), ilustrada na Figura 13, de cada sensor. Ela é determinada através da função trapezoidal ilustrada na Equação 5, onde: b e c são os valores mínimo e máximo de capacitância medidos com cada sensor para cada tipo de contaminante nas diversas concentrações estudadas; a foi determinado subtraindo cerca de 2% do valor de b ($a = 0,98*b$); d foi determinado somando cerca de 2% ao valor de c ($d = 1,02*c$), determinando deste modo o domínio do controlador *Fuzzy*. Esse valor percentual, 2%, corresponde ao valor ótimo para esse arranjo de sensores de modo que haja uma pequena intersecção entre as curvas trapezoidais adjacentes, evitando assim que haja áreas não cobertas pelas curvas (variação menor que 2%) ou que haja uma grande intersecção entre essas curvas (variação muito maior que 2%). No primeiro caso por haver áreas não cobertas no domínio do controlador algumas entradas podem não ser classificadas. No segundo caso, mais de uma regra pode ser ativada simultaneamente provocando perda de precisão do controlador. Vale salientar que quando μ é igual a 1, a amostra analisada corresponde àquela concentração. Por exemplo, ao se analisar uma amostra de água pura e o μ correspondente a essa entrada for igual a 1, indica que a amostra analisada pertence àquela concentração, ou seja, água pura.

Depois de avaliar o grau de pertinência o controlador verifica quais regras foram ativadas. O controlador possui tantas regras quantas necessárias em que cada uma representa uma saída, as quais podem ser o controle (água destilada, mineral e de torneira) ou

concentração do composto contaminante. Na relação abaixo algumas das regras criadas estão descritas, onde é possível notar a estrutura das regras *fuzzy*: *se...então....*

- Regra 1: *Se* entradas 1, 2, 3, 4 e 5 são iguais a 0 ng.L⁻¹ (água pura), *então* saída é 0 ng.L⁻¹ (água pura);
- Regra 2: *Se* entradas 1, 2, 3, 4 e 5 são iguais a 50 ng.L⁻¹, *então* saída é 50 ng.L⁻¹;
- Regra 3: *Se* entradas 1, 2, 3, 4 e 5 são iguais a 100 ng.L⁻¹, *então* saída é 100 ng.L⁻¹;
- Regra 4: *Se* entradas 1, 2, 3, 4 e 5 são iguais a 200 ng.L⁻¹, *então* saída é 200 ng.L⁻¹.

Figura 13. Função de pertinência (μ) do sensor 2 em função da capacitância (F) para soluções diluídas de GEO.

$$f(x; a, b, c, d) = \begin{cases} 0, & x \leq a \\ \frac{x-a}{b-a}, & a \leq x \leq b \\ 1, & b \leq x \leq c \\ \frac{d-x}{d-c}, & c \leq x \leq d \\ 0, & d \leq x \end{cases} \quad \text{Eq. (5)}$$

Para exemplificar o funcionamento das regras e da defuzzificação será descrito um exemplo. Ao medir uma amostra de água pura com a língua eletrônica, a resposta elétrica dos sensores será inserida no controlador. Se apenas a regra 1 descrita anteriormente for ativada e

a função de pertinência (μ) de todos os sensores for igual a 1, o controlador gerará um conjunto intermediário de saída que corresponde a própria curva trapezoidal da água (curva de cor preta da Figura 13), realizará as operações matemáticas para calcular a saída correspondente àquela área que, neste exemplo, será 0 ng.L^{-1} (água pura), como esperado.

Caso apenas a regra 1 tenha sido ativada mas a resposta elétrica dos sensores for um valor entre c e d , a função de pertinência (μ) deles será um valor entre 1 e 0 e a saída do gerador será um valor maior que 0 ng.L^{-1} . Por exemplo, se μ de todos os sensores for 0,8, a saída do controlador será $6,5 \text{ ng.L}^{-1}$.

Se duas regras forem ativadas simultaneamente, por exemplo as regras 1 e 2, o controlador gerará dois conjuntos intermediários de saída, um para cada regra ativada, cujo peso é determinado pela função de pertinência (μ) correspondente. Se μ das duas regras for igual a 0,5, o peso das duas regras ativadas é o mesmo, logo a saída do controlador será 25 ng.L^{-1} . Neste exemplo um falso positivo uma vez que a amostra analisada corresponde a água pura. Fatores que podem favorecer a ativação de regras simultaneamente incluem um banco de dados ruim usado na criação do controlador ou valores de a e d mal determinados (grande intersecção entre as curvas trapezoiais adjacentes) ou resposta elétrica dos sensores muito parecidas para as diferentes soluções analisadas, dificultando a geração de curvas trapezoidais com pouca intersecção, entre outros.

Resumidamente, as respostas elétricas dos sensores são inseridas no controlador, o qual realiza uma análise estatística baseada nas regras ativadas e calcula o valor da saída, isto é, a concentração da solução da amostra.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os principais resultados obtidos com a língua eletrônica na análise de amostras de água contendo geosmina (GEO), 2-metilisoborneol (MIB) e isoborneol (ISO). Primeiramente, a espectroscopia de impedância foi empregada na avaliação da resposta elétrica dos sensores para um pequeno conjunto de amostras de MIB e GEO em diferentes concentrações em água destilada. A influência da geometria dos eletrodos e do tipo de medida elétrica (capacitância e resistência) na sensibilidade dos sensores foi avaliada. Os sensores que responderam melhor aos compostos foram empregados na montagem de uma língua eletrônica, a qual foi utilizada na análise de amostras de MIB, GEO e ISO preparadas em água mineral e de torneira. Posteriormente, a língua eletrônica foi empregada na análise de amostras “reais” provenientes do sistema Guarapiranga. O banco de dados gerado com as medições foi analisado pelas técnicas PCA e lógica *Fuzzy*.

4.1 Análise da resposta elétrica dos sensores

A resposta elétrica dos sensores em regime de corrente alternada quando em contato com soluções aquosas de MIB e GEO foi analisada em termos do circuito elétrico equivalente (Figura 14) proposto por Taylor⁹⁰ e depois aplicado por Riul e colaboradores¹⁸ em línguas eletrônicas baseadas em medidas de impedância. A impedância elétrica de tal circuito depende dos processos elétricos envolvendo o microeletrodo, indicado pela capacitância C_g , o filme polimérico (cobertura do microeletrodo), representado por uma combinação RC paralelo, indicado pela capacitância C_b e pela condutância G_b , a transferência de cargas na interface filme/solução eletrolítica, indicada pela condutância G_t , e a solução eletrolítica, indicada pela condutância G_d . A dupla camada formada pela adsorção de íons na superfície do filme é representada pela capacitância C_d que é carregada através de G_d . A condutância total da solução eletrolítica é dada pela soma de G_t e G_d , cujo valor é aproximadamente igual a G_d uma vez que a condutância na interface filme/eletrolito (G_t) é muito menor que a da solução eletrolítica (G_d). A resposta elétrica desses resistores e capacitores são dependentes da frequência.

Figura 14. Circuito elétrico equivalente para um sistema representando um eletrodo metálico coberto por um filme semicondutor imerso em uma solução eletrolítica¹⁸.

No intervalo entre 100 e 10^4 Hz, a impedância do circuito proposto é quase que exclusivamente devida ao filme polimérico, representado por uma combinação RC paralelo. Assim, qualquer alteração na composição química da amostra é percebida pelo filme polimérico cujas capacitância e resistência são alteradas. Tal alteração é relacionada com a presença de analitos e sua concentração na amostra analisada. Mais ainda, a intensidade desta alteração depende da composição do filme polimérico e, por isso, um arranjo de sensores fabricados com diferentes filmes poliméricos provê uma “impressão digital” única de cada amostra, possibilitando sua discriminação. Para frequências maiores, a impedância depende quase que exclusivamente da geometria do eletrodo

Nas Figuras 15 e 16 estão apresentadas as respostas elétricas (capacitância e resistência), adquiridas entre 100 e 10^6 Hz, de todos os sensores fabricados (conforme Tabela 3) imersos em soluções aquosas de MIB e GEO em uma concentração fixa de 100 ng.L^{-1} . De acordo com o modelo proposto, o filme polimérico possui maior significância na resposta dos sensores quando estes são avaliados entre 100 e 10^4 Hz, intervalo no qual a capacitância medida com o sensor polimérico é sempre maior que a apresentada pelo sensor sem filme (e a resistência é sempre menor). Isso ocorre devido à contribuição dos dipolos presentes na camada polimérica^{10,91}. Para frequências maiores, o filme polimérico influi menos na resposta do sensor, a qual converge para a mesma exibida pelo sensor sem filme. Isso pode ser comprovado após inspeção dos valores médios de capacitância em 10^6 Hz (Figuras 14 e 15), sendo de 46,1pF (sem filme M-02) e 47,0pF (com filme M-02) e de 0,22nF (sem filme M-50) e 0,23nF (com filme M-50). Segundo Taylor, para frequências mais baixas, próximas de 100 Hz, a influência do filme é ainda maior. Assim optou-se por trabalhar com uma frequência intermediária, entre 100 Hz e 10^4 Hz. Dentro deste intervalo, selecionou-se a frequência de 1

kHz, pois nesta, os sensores apresentaram a maior diferença na resposta elétrica entre amostras de diferentes concentrações. Além disso, a frequência de 1 kHz pode ser produzida por circuitos mais simples, o que deve certamente facilitar o desenvolvimento de instrumentação mais robusta e de baixo custo.

Figura 15. Resposta elétrica dos sensores (eletrodos de 02 dígitos) com e sem filmes poliméricos em soluções aquosas de GEO e MIB em uma concentração fixa de 100 ng.L⁻¹ em função da frequência.

Figura 16. Resposta elétrica dos sensores (eletrodos de 50 dígitos) com e sem filmes poliméricos em soluções aquosas de GEO e MIB em uma concentração fixa de 100 ng.L⁻¹ em função da frequência.

A espectroscopia de impedância permitiu obter a relaxação dielétrica do circuito equivalente, a qual está relacionada aos processos de relaxação dipolar, tanto do próprio filme quanto das moléculas de analito adsorvidas. A frequência de relaxação está associada ao tempo necessário para ocorrer o alinhamento dos dipolos no sentido do campo aplicado. Esse tempo mínimo dependerá da facilidade (ou dificuldade) com que o dipolo consegue se reorientar⁹². Para tanto, foram preparados os diagramas de Nyquist⁹³ apresentados nas Figuras 17 e 18. Os semi-círculos do diagrama são típicos de um circuito *RC* paralelo, onde o raio corresponde a resistência de transferência de carga na interface filme polimérico/solução (R_{tc}); a frequência de relaxação (f) corresponde ao ponto máximo do semi-círculo; e a capacitância da dupla camada (C_d) resultante do acúmulo de cargas na interface pode ser calculada com o emprego da Equação 6⁽⁹³⁾.

$$C_d = \frac{1}{2\pi f R_{tc}} \quad \text{Eq. (6)}$$

Os valores estimados de frequência, resistência e capacitância do circuito elétrico equivalente quando os sensores estão imersos em soluções de MIB e GEO de 100 ng.L⁻¹ são apresentados na Tabela 4. Como se pode observar, a frequência de relaxação quando são usados sensores com microeletrodos de 2 dígitos, varia entre 15 e 20 kHz, com exceção aos sensores com filmes de PANI dopados com CSA (17 e 19), que apresentam frequências ainda maiores, na ordem de 75 kHz. Isso ocorre porque esses filmes são muito condutivos, e consequentemente, os dipolos se alinham rapidamente. O mesmo efeito é observado nos sensores com microeletrodos de 50 dígitos, em que a frequência de relaxação dos sensores com PANI-CSA (18 e 20) de 100 kHz (MIB) e 65 kHz (GEO) é praticamente o triplo da apresentada pelos demais, que apresentam uma média de 33,3 kHz (MIB) e de 23,3 kHz (GEO). Tempos de relaxação de microsegundos são consistentes com o tempo requerido para a orientação dos dipolos presentes nas cadeias poliméricas. Este processo é lento porque depende do deslocamento de grandes segmentos de cadeias poliméricas, os quais são mantidos unidos por atrações eletrostáticas fortes. Entretanto, os valores calculados para a capacitância na dupla camada são bem parecidos entre os sensores de uma mesma classe quando imersos na solução de um mesmo composto. Os valores médios obtidos são de 42,23

pF em MIB e 47,7 pF em GEO para os microeletrodos M-02 e de 22,1 nF em MIB e 23,02 nF em GEO para os microeletrodos M-50.

A diferença entre os valores de capacitância calculados se deve, principalmente, à geometria dos microeletrodos. Essa influência já foi estudada por Wiziack^{10,17} onde foi verificado que os microeletrodos de 2 dígitos (M-02) apresentam um valor de capacitância maior para medidas em soluções de ácido clorídrico (HCl) e cloreto de sódio (NaCl) que os microeletrodos de 50 dígitos (M-50). Os motivos que influem são: (1) em M-02 a área metálica em contato com a solução é maior do que em M-50 (eletrodos sem filme polimérico); (2) as linhas do campo elétrico que se formam no topo dos eletrodos se movem pela solução eletrolítica, contribuindo significativamente para o aumento da capacitância medida com M-02; (3) os filmes poliméricos agem como uma esponja, retirando íons da solução eletrolítica, o que aumenta sua condutância e contribui para um aumento na capacitância elétrica geral como proposto pelo modelo de Taylor; (4) os filmes poliméricos ocupam uma área superficial “ativa” maior em M-02 (maior contato eletrodo/filme), o que aumenta ainda mais sua sensibilidade. Contudo, para água e soluções de sacarose e cafeína, observou-se efeito contrário, em que os microeletrodos M-50 apresentaram maior sensibilidade às soluções. O mesmo efeito foi observado para gasolina³⁶. A hipótese aventada para esse efeito é que essas soluções possuem constantes dielétricas menores do que a solução de NaCl, com isso os campos elétricos formados no topo dos microeletrodos M-02 não conseguem propagar pela solução com a mesma eficiência³⁶. Além disso, o comprimento dos eletrodos (w_1) da geometria M-50 é muito maior que o comprimento dos eletrodos (w_2) da geometria M-02, o que também favorece que essa geometria apresente sensibilidade maior às soluções de constantes dielétricas menores, como ocorre com as soluções de MIB e GEO.

Figura 17. Diagramas de Nyquist obtido com os sensores com eletrodos de 02 dígitos imersos em soluções de MIB e GEO em uma concentração fixa de 100 ng.L⁻¹.

Figura 18. Diagramas de Nyquist obtido com os sensores com eletrodos de 50 dígitos imersos em soluções de MIB e GEO em uma concentração fixa de 100 ng.L⁻¹.

Tabela 4. Valores estimados da frequência de relaxação (F), resistência de transferência de cargas na interface filme/solução (R_{tc}) e da capacitância da dupla camada (C_d) dos sensores quando imersos em soluções de 2-metilisoborneol e geosmina de concentração fixa de 100 ng.L⁻¹.

Geometria eletrodo	Sensor	2-Metilisoborneol			Geosmina		
		F (Hz)	R_{tc} ($\times 10^4 \Omega$)	C_d (F)	F (Hz)	R_{tc} ($\times 10^4 \Omega$)	C_d (F)
02 dígitos (M-02)	S1	14K	21,90	51,9p	10k	25,4	62,7p
	S3	16k	21,30	46,7p	15k	24,4	43,5p
	S5	18k	19,40	45,6p	15k	22,6	46,9p
	S7	18k	21,00	42,1p	15k	24,5	43,3p
	S8	19k	22,30	37,6p	15k	24,5	43,3p
	S11	21k	17,50	43,3p	15k	21,8	48,7p
	S13	19k	19,70	42,5p	17k	24,0	39,0p
	S15	20k	14,90	53,4p	19k	18,4	45,5p
	S17	80k	7,67	25,9p	20k	15,4	51,7p
	S19	70k	6,82	33,3p	20k	15,2	52,4p
50 dígitos (M-50)	S2	40k	2,75	14,5n	25k	2,84	22,4n
	S4	32k	1,25	39,8n	29k	2,81	19,5n
	S6	30k	2,70	19,6n	22k	3,19	22,7n
	S9	30k	2,64	20,1n	20k	2,99	26,6n
	S10	30k	2,51	21,1n	22k	2,97	24,4n
	S12	40k	2,25	17,7n	25k	3,03	21,0n
	S14	30k	2,30	23,1n	20k	2,98	26,7n
	S16	70k	1,21	18,8n	30k	2,37	22,4n
	S18	100k	0,70	22,7n	50k	1,60	19,9n
	S20	100k	0,70	22,7n	60k	1,08	24,6n

Após analisar a resposta elétrica dos sensores em função da frequência, investigou-se com qual geometria (50 ou 02 dígitos) e com qual medida elétrica (capacitância ou resistência) os sensores apresentam maior sensibilidade aos compostos MIB e GEO. A finalidade desta análise é possibilitar a montagem de um arranjo de sensores capaz de distinguir e classificar corretamente amostras de MIB, GEO e ISO quando estes estão diluídos em água destilada, mineral e de torneira. Para tanto, foram feitas medições em amostras de MIB e GEO preparadas em água destilada e analisados os valores medidos segundo a abordagem empregada por Kindschy e colaboradores⁹⁴. Nela, a resposta elétrica dos sensores para cada concentração é normalizada, dividindo-se o valor de resposta (capacitância ou resistência) do sensor em solução pelo valor medido em água destilada (valor de referência). Valores iguais ou inferiores a 1 indicam que o sensor apresenta sensibilidade baixa àquela amostra. Depois, calculou-se a diferença entre os valores de capacitância (ΔC) e resistência (ΔR) medidos para as soluções de MIB e GEO de maior (1000 ng.L⁻¹) e menor (50 ng.L⁻¹) concentração, onde ΔC e ΔR representam a sensibilidade de cada sensor aos compostos MIB e

GEO¹⁰. Quanto mais próximo de zero for a variação, menor a sensibilidade. Os resultados dessa análise são apresentados nas Figuras 19 e 20.

Figura 19. Resposta elétrica (capacitância) dos sensores com microeletrodos de 50 e 2 dígitos, como indicado, em termos de sua sensibilidade (ΔC) à 2-Metilisoborneol e geosmina medidos em 1 kHz. Intervalo da concentração de MIB: 50 a 1000 ng.L⁻¹. Obs: BRANCO 1 – sensores 01 e 02; BRANCO 2 – sensores 13 e 14; PAH/PPI 1 – sensores 03 e 04; PAH/PPI 2 – sensores 06 e 07.

Figura 20. Resposta elétrica (resistência) dos sensores com microeletrodos de 50 e 2 dígitos, como indicado, em termos de sua sensibilidade (ΔR) à 2-Metilisoborneol e geosmina medidos em 1 kHz. Intervalo da concentração de MIB: 50 a 1000 ng.L⁻¹. Obs: BRANCO 1 – sensores 01 e 02; BRANCO 2 – sensores 13 e 14; PAH/PPI 1 – sensores 03 e 04; PAH/PPI 2 – sensores 06 e 07.

Como se pode observar nas Figuras 19 e 20, dependendo da geometria dos microeletrodos há uma medida elétrica mais apropriada. Os sensores feitos com eletrodos de 50 dígitos apresentam maior sensibilidade aos compostos MIB e GEO quando são feitas medidas de capacitância, independentemente do filme polimérico depositado. Já os microeletrodos de 2 dígitos mostram-se mais sensíveis aos compostos quando são feitas medidas de resistência. Além disso, observa-se que a variação dos valores capacitivos (M-50) é maior que 0,8 para MIB e 0,6 para GEO, enquanto que a variação dos valores resistivos (M-02) está em torno de 0,4 para MIB e 0,5 para GEO, indicando que os sensores são mais sensíveis aos compostos quando são realizadas medidas de capacitância com os microeletrodos de 50 dígitos. A maior sensibilidade (ΔC) dos microeletrodos M-50 aos compostos do que os M-02 já era esperada, diante dos resultados obtidos com as medidas de espectroscopia de impedância.

Além do efeito da geometria do microeletrodo, também foi estudado o efeito do filme polimérico sobre a sensibilidade dos sensores, principalmente em função da massa de polímero adsorvida no filme. A massa de polímero foi controlada pela simples variação na concentração das soluções de deposição, como no caso dos filmes de PAH/PPI e do número de bicamadas poliméricas depositadas, como no caso dos filmes de PANI/PSS. Em um estudo adicional investigou-se o efeito provocado por diferentes dopantes sobre as propriedades de filmes de PANI/PSS.

A diferença entre os sensores de PAH/PPI apresentados na Figura 19 é na concentração da solução de PPI usada na deposição: 1,0 g.L⁻¹ no sensor 1 e 19,32 g.L⁻¹ (diluição 1:10 v/v) no sensor 2. Como se pode observar, o sensor 2 possui maior sensibilidade aos compostos do que o sensor 1. Isso ocorre porque no sensor 2 há uma maior quantidade de polímero adsorvida e, conseqüentemente, o filme depositado apresentará maiores espessura, rugosidade, a área superficial e também, dipolos elétricos. Um aumento da área superficial aumenta a sensibilidade do sensor porque há maior área de contato entre filme e solução (formação de dupla camada). Além disso, a capacitância está relacionada com a área metálica dos eletrodos: quanto maior a área, maior a capacitância. Pela definição $C = \epsilon A/d$, na qual A é a área do capacitor e d a distância entre as placas. A presença de mais dipolos também favorece um aumento no valor medido de capacitância do sensor, porque quanto mais dipolos estão presentes na estrutura, ao aplicar-se um campo elétrico no dispositivo, a polarização será maior, e conseqüentemente, a capacitância será maior⁹². O mesmo efeito de aumento da sensibilidade também pôde ser observado nos sensores de PANI dopados com CSA, em que o

sensor com uma camada a mais de PANI apresenta maior sensibilidade aos compostos MIB e GEO.

O uso de diferentes dopantes influi nas características morfológicas e elétricas dos filmes poliméricos depositados^{74,95}. Filmes fabricados com dopantes de maior massa molar (CSA) apresentam maior quantidade de material adsorvido e, conseqüentemente, apresentam rugosidade e área superficiais maiores e mais dipolos do que os filmes fabricados com dopantes de menor massa molar (HCl). Isso ocorre porque os dopantes de maior massa molar não deixam a cadeia polimérica altamente carregada e, portanto, ela fica mais compacta (menor repulsão intramolecular), o que favorece uma maior deposição de material polimérico⁹⁵. Isso diminui a força de atração eletrostática, fazendo com que o processo de adsorção leve mais tempo. Filmes de POEA/LS dopados com CSA e HCl foram expostos ao gás etileno, com o primeiro apresentando maior sensibilidade ao gás devido a maior interação filme polimérico/gás (maior área de contato)⁹⁵. O mesmo efeito era esperado para os filmes de PANI dopados com CSA, mas eles não apresentaram maior sensibilidade aos compostos do que seu par, dopado com HCl. Uma hipótese para isso é que o tempo de deposição de 3 minutos pode não ter sido suficiente para que os filmes apresentassem diferenças de rugosidade superficial e quantidade de material depositada significativa a ponto de mudar sensivelmente sua sensibilidade aos compostos.

Na Figura 21 são apresentados os valores de capacitância medidos com os sensores que apresentaram maior ΔC quando imersos em soluções de MIB e GEO de diferentes concentrações. Os valores capacitivos foram normalizados para possibilitar uma comparação direta entre eles. Como se pode observar na Figura 21, a capacitância aumenta à medida que a concentração dos compostos aumenta, e a maioria dos sensores satura em concentrações de 500 ng.L^{-1} para MIB e 300 ng.L^{-1} para GEO. Além disso, observa-se que no intervalo de 0 a 1000 ng.L^{-1} , a resposta elétrica dos sensores varia de forma exponencial com o aumento da concentração de MIB e GEO. Contudo, em uma janela de concentrações menores (0 a 200 ng.L^{-1}), a resposta de alguns sensores é quase que linearmente dependente da concentração dos compostos. Embora ainda não tenham sido definidos níveis seguros de contaminação com MIB e GEO na água potável, a faixa entre 50 e 100 ng.L^{-1} (equivalente a 50~100 ppt - partes por trilhão) é geralmente considerada a máxima aceitável pelos consumidores (dependerá do composto e da região). Além disso, algumas companhias de tratamento de água consideram essa faixa de concentração como limite antes de iniciarem ações para remoção dos compostos, como a aplicação de carvão ativado. Diante disto, pode-se

afirmar que o nível de saturação dos sensores não inviabiliza seu uso em sistemas de alarme para MIB e GEO.

Figura 21. Resposta elétrica normalizada (capacitância), obtida dividindo-se o valor medido em solução pelo valor de referência (água destilada), dos sensores em soluções de diferentes concentrações de 2-metilisoborneol e geosmina. Medidas obtidas em 1 kHz à 25°C com os microeletrodos de 50 dígitos.

Com o estudo da resposta elétrica dos sensores pôde-se observar que sensores feitos com os microeletrodos de 50 dígitos são mais sensíveis aos compostos do que os de 2 dígitos. Além disso, a maior sensibilidade foi observada empregando-se medidas de capacitância a uma frequência fixa de 1 kHz. Adicionalmente, sensores com maior quantidade de polímero adsorvida apresentam maior sensibilidade do que seus pares com menor quantidade de filme polimérico. Esta maior sensibilidade é provavelmente devida à maior área superficial, possibilitando maior área de contato entre o filme e o eletrodo, aumentando a sua sensibilidade e ao maior número de dipolos presentes no sistema. Além disso, os sensores apresentaram uma saturação de sua resposta em torno de 300 ng.L^{-1} para GEO e de 500 ng.L^{-1} para MIB.

4.2 Análise das componentes principais

Um objetivo secundário do estudo da resposta elétrica dos sensores foi encontrar quais apresentavam maior sensibilidade aos compostos MIB e GEO de forma a reduzir o número de sensores empregados no desenvolvimento deste trabalho. Devido à limitação do multiplexador usado nas medições, apenas 10 sensores podem ser usados simultaneamente, portanto, optou-se por montar um arranjo de sensores com os cinco mais sensíveis de cada geometria, conforme Tabela 5, a fim de se validar o que foi concluído anteriormente, uma vez que amostras preparadas em diferentes tipos de água serão analisadas. Além da sensibilidade, também se considerou o filme depositado sobre os microeletrodos de forma a obter-se dois conjuntos de sensores parecidos, possibilitando sua comparação.

Tabela 5. Descrição dos 10 sensores usados para detecção de GEO, MIB e ISO. Entre parênteses estão as geometrias dos microeletrodos, que podem ter 02 ou 50 dígitos.

LE	Posição inicial (ref. Tabela 3)
S01 – BRANCO (M-50)	S14
S02 - PANI/PSS+PANI-CSA (M-50)	S20
S03 – PAH/PPI(M-50)	S06
S04 – PAH/LS ((M-50)	S09
S05 – PANI/PSS-HCl (M-50)	S18
S06 – BRANCO (M-02)	S13
S07 – PANI/PSS+PANI-CSA (M-02)	S15
S08 – PAH/PPI (M-02)	S07
S09 – POEA/PSS (M-02)	S11
S10 – PAH/LS (M-02)	S08

A LE composta pelos sensores listados na Tabela 5 foi empregada na análise de amostras de água destilada, mineral e de torneira contendo MIB, GEO e ISO na faixa de concentração de 0 a 200 ng.L⁻¹. Essa faixa de concentrações foi escolhida com base nos valores estabelecidos pela SABESP no monitoramento de MIB e GEO nos reservatórios das ETAs. Os resultados são organizados por tipo de água usada na preparação das amostras.

4.2.1 Água destilada

Inicialmente, foram analisadas as amostras preparadas em água destilada, de modo a minimizar a influência de íons dissolvidos sobre a resposta dos sensores e garantir uma condição mais controlada, que permitisse avaliar a capacidade da LE em distinguir as diferentes amostras. Nas Figuras 22 e 23 são mostrados os gráficos de PCA obtidos a partir das respostas elétricas dos sensores para amostras de MIB. Nota-se que mais de 90% da variância total está contida na primeira componente principal (PC1). Com isso pode-se distinguir as soluções de MIB quase que exclusivamente pela projeção dos pontos no eixo *x*. Nas duas figuras as amostras são separadas em diferentes grupos, não havendo sobreposição dos mesmos. Contudo, na Figura 22 os pontos apresentam uma tendência de se deslocar para a direita à medida que a concentração de MIB aumenta, o que já não é observado na Figura 23, em que as amostras de 50 ng.L⁻¹ estão à esquerda das amostras de água pura, enquanto que as outras à direita. Além disso, nota-se na Figura 22 que os pontos de uma mesma amostra estão mais próximos, indicando maior reprodutibilidade das medidas com a LE na configuração de sensores com eletrodos de 50 dígitos e medidas de capacitância. Além disso, pode-se observar a influência de cada sensor na discriminação das amostras. Os sensores estão indicados pelas notações S01 a S05 na Figura 22 e S06 a S10 na Figura 23. Nota-se na Figura 22 que a posição do sensor S01 (sem filme) é bem distinta dos demais sensores, que estão mais próximos uns dos outros. Uma possibilidade para esse efeito é que para essas soluções preparadas em água destilada, esse sensor apresenta valores de capacitância bem diferentes dos demais. O mesmo efeito é observado com o sensor S10 (PAH/LS) na Figura 23.

Figura 22. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de MIB (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Figura 23. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de MIB (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Com geosmina os resultados não foram tão bons. Usando os sensores com eletrodos de 50 dígitos (Figura 24), as amostras foram separadas em quatro grupos havendo sobreposição das amostras de 100 e 200 ng.L⁻¹. Já com os eletrodos de 02 dígitos (Figura 25), as amostras são separadas em diferentes zonas (separadas pelas barras), uma vez que os pontos estão bem dispersos uns dos outros, indicando novamente uma menor reprodutibilidade da LE com esta configuração. Neste caso, os pontos apresentam uma tendência de se deslocar para a direita à medida que a concentração de GEO aumenta. Na Figura 24 nota-se que o sensor S02 apresenta uma posição bem distinta em relação aos demais. Novamente, uma possibilidade para esse efeito é que para essas soluções, esse sensor apresenta valores de capacitância bem diferentes dos demais. O mesmo sendo observado para o sensor S10 na Figura 25.

Figura 24. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de GEO (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Figura 25. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de GEO (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Com o propósito de avaliar os limites dessa LE, amostras de menor concentração também foram avaliadas (Figuras 26 a 29). Embora em todos os gráficos PCAs as amostras tenham sido separadas em grupos distintos e sem sobreposição, os melhores resultados foram obtidos com os eletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância), independentemente do composto analisado (Figuras 26 e 28), em que os pontos de uma mesma amostra estão bem próximos uns dos outros indicando maior reprodutibilidade entre as medidas. Na Figura 29 os pontos parecem estar tão dispersos quanto na Figura 28, contudo deve-se observar também a escala do eixo vertical, sendo menor na Figura 28 (-0,4 a 0,4) do que na Figura 29 (-1,5 a 1,5), ou seja, há maior dispersão dos dados quando os sensores M-02 são empregados na análise. Além disso, é possível notar que os pontos apresentam uma tendência de se deslocar para a direita à medida que a concentração de GEO aumenta (Figuras 28 e 29) como havia sido observado com concentrações maiores (Figuras 24 e 25). Também é possível notar nas Figuras 27 e 29 que a posição do sensor S10 é bem distinta dos demais. Já nas Figuras 26 e 28 percebe-se que os sensores estão mais dispersos nos gráficos, indicando uma maior diferença na resposta elétrica de cada um deles para as soluções medidas.

Figura 26. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de MIB (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Figura 27. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de MIB (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Figura 28. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de GEO (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Figura 29. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de GEO (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Em condições naturais, MIB e GEO normalmente são encontrados simultaneamente e em diferentes concentrações⁹⁶. Portanto, para simular uma situação real, foram preparadas e analisadas com a LE, amostras de água contaminadas com diferentes quantidades dos dois compostos. Soluções individuais de MIB e GEO ($[100 \text{ ng.L}^{-1}]$) foram preparadas e misturadas segundo uma proporção pré-definida, como descrito na Tabela 2. Nas Figuras 30 e 31 estão os gráficos PCAs obtidos a partir das respostas elétricas da LE para essas misturas. Na Figura 30 observa-se que a LE consegue notar variações na proporção dos compostos $[\text{GEO}]/[\text{MIB}]$, que é linearmente correlacionada com as PCs 1 (excessão da amostra B) e 2. É possível notar que os pontos se deslocam para baixo (redução da PC2), à medida que a $[\text{GEO}]/[\text{MIB}]$ aumenta (aumento da quantidade de GEO na solução) enquanto que se deslocam para cima (aumento da PC2) à medida que a $[\text{GEO}]/[\text{MIB}]$ diminui (aumento da quantidade de MIB na solução). Também é possível notar que as amostras estão organizadas em grupos distintos, pequenos e sem sobreposição. Contudo na Figura 31 o mesmo não é observado, uma vez que os pontos não apresentam uma tendência à medida que a $[\text{GEO}]/[\text{MIB}]$ varia. As amostras contendo apenas um dos compostos (B e F) estão agrupadas à esquerda do gráfico, próximas umas das outras e, ainda, próximas das amostras de referência (água destilada – amostra A). Além disso, as amostras de proporções intermediárias (C, D e E) estão localizadas em grupos próximos, havendo pequena sobreposição entre eles.

Figura 30. Gráfico PCA de amostras com diferentes proporções de MIB e GEO preparadas em água destilada, obtidas com os microeletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância). Proporções das amostras indicadas na Tabela 2.

Figura 31. Gráfico PCA de amostras com diferentes proporções de MIB e GEO preparadas em água destilada, obtidas com os microeletrodos de 02 dígitos (medidas de resistência). Proporções das amostras indicadas na Tabela 2.

Por fim, estudou-se o desempenho da LE na análise de isoborneol, cujos resultados são mostrados nas Figuras 32 e 33. Independentemente da geometria do eletrodo e da medida elétrica (capacitância ou resistência) a LE foi capaz de discriminar todas as amostras analisadas, separando-as em grupos distintos, um para cada concentração. Os pontos apresentam uma tendência de se deslocar para a direita à medida que a concentração de ISO aumenta nas amostras. Contudo, na Figura 32 pode-se observar que os pontos de uma mesma amostra estão mais próximos uns dos outros do que na Figura 33, indicando que no primeiro caso, os resultados obtidos com a LE são mais reprodutíveis.

Figura 32. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de ISO (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Figura 33. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de ISO (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Pode-se concluir com a análise das amostras em água destilada (Figuras 22 a 33) que independentemente do composto analisado, as amostras ficam mais agrupadas quando as medidas de capacitância são consideradas e quando são usados os eletrodos de 50 dígitos. Nessa configuração, a resposta da língua eletrônica é mais reproduzível. Além disso, parece ser a mais apropriada para detectar as variações na composição de amostras com misturas dos dois compostos (MIB e GEO) (Figura 30). Adicionalmente, a LE estudada consegue detectá-los em concentrações de até 25 ng.L^{-1} (menor concentração analisada). Também consegue discriminar e quantificar de forma satisfatória amostras com concentrações no intervalo entre 0 e 200 ng.L^{-1} , embora algumas amostras de MIB (Figura 22) e GEO (Figura 24) tenham ficado sobrepostas.

4.2.2 Água mineral

Após a análise de amostras preparadas com água destilada, a LE foi empregada na análise de amostras preparadas com água mineral. A água mineral representa uma condição mais complexa para a LE, uma vez que contém uma grande quantidade de minerais

dissolvidos. No entanto, não representa uma condição real, pois dificilmente está contaminada com MIB ou GEO. Conforme apresentado na Figura 34, a LE com sensores de 50 dígitos distingue facilmente as amostras de diferentes concentrações de MIB, separando-as em 4 grupos distintos que não se sobrepõem, contudo não apresenta uma correlação com nenhuma das PCs. Por outro lado, a LE com sensores de 2 dígitos apresentou desempenho inferior (Figura 35), conforme a extensa sobreposição dos grupos de amostras de água mineral pura e amostra de MIB (50 ng.L⁻¹), bem como uma pequena sobreposição das amostras de água mineral pura com as de MIB (200 ng.L⁻¹).

Na análise das amostras de geosmina (Figuras 36 e 37), o desempenho da LE foi melhor. Elas foram separadas em quatro grupos distintos (sem sobreposição), contudo apenas na Figura 36 observa-se que a LE consegue notar variações na concentração de GEO que é linearmente correlacionada com a PC 1, onde os pontos se deslocam para a direita (aumento da PC 1) à medida que a concentração de GEO na amostra aumenta.

Figura 34. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de MIB (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Figura 35. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de MIB (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Figura 36. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de GEO (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Figura 37. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de GEO (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Em seguida foram analisadas amostras contendo MIB e GEO em diferentes proporções, como descrito na Tabela 2. Na Figura 38 observa-se que a LE consegue notar variações na proporção dos compostos [GEO]/[MIB], que é linearmente correlacionada com a PC2. É possível notar que os pontos se deslocam para baixo (redução da PC2), à medida que a [GEO]/[MIB] aumenta (aumento da quantidade de GEO na solução) enquanto que se deslocam para cima (aumento da PC2) à medida que a [GEO]/[MIB] diminui (aumento da quantidade de MIB na solução). Também é possível notar que as amostras estão agrupadas em grupos distintos, pequenos, sem sobreposição e bem separados do grupo contendo as amostras controle (A, água mineral pura). Na Figura 39 observa-se uma piora no desempenho da LE quando sensores de 2 dígitos são empregados. Não há uma correlação direta entre a variância na PC 1 ou PC 2 com a variação de [GEO]/[MIB]. Além disso, há sobreposição dos grupos contendo as amostras B e D. As amostras de água pura se misturam com as amostras contendo os compostos, diferentemente do observado na Figura 38.

Figura 38. Gráfico PCA de amostras com diferentes proporções de MIB e GEO preparadas em água mineral, obtidas com os microeletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância). Proporções das amostras indicadas na Tabela 2.

Figura 39. Gráfico PCA de amostras com diferentes proporções de MIB e GEO preparadas em água mineral, obtidas com os microeletrodos de 02 dígitos (medidas de resistência). Proporções das amostras indicadas na Tabela 2.

Por fim, analisaram-se as amostras de isoborneol, as quais foram separadas em quatro grupos distintos (Figuras 40 e 41) sem sobreposição, à exceção das amostras de água mineral pura e de 50 ng.L⁻¹ (Figura 41). Na Figura 40 nota-se uma tendência dos pontos de se deslocarem para a direita à medida que aumenta a concentração de ISO, ao contrário do observado na Figura 41, em que não há nenhuma tendência. Embora na Figura 40 os pontos pareçam estar mais dispersos que na Figura 41, deve-se observar também a escala do eixo vertical, sendo menor na Figura 40 (-0,4 a 0,3) do que na Figura 41 (-2 a 3).

Novamente, usando medidas de capacitância obteve-se um desempenho melhor da língua eletrônica, cuja resposta é mais reproduzível (maior proximidade dos pontos das amostras de MIB e ISO). Além disso, os pontos das amostras de GEO e ISO estão linearmente correlacionados com a PC 1, onde os pontos se deslocam para a direita (aumento da PC 1) à medida que a concentração do composto na amostra aumenta. Essa configuração também se mostra mais interessante quando são analisadas amostras de água contendo os dois compostos misturados em proporções diferentes (Figura 38), onde há uma correlação linear entre os pontos das amostras e a PC 2.

Figura 40. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de ISO (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Figura 41. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de ISO (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

4.2.3 Água de torneira

Como último caso, foram analisadas amostras de MIB, GEO e ISO preparadas com água de torneira, estabelecida no estudo como a condição mais próxima da situação real, ou seja, como a água que é distribuída a partir das estações de tratamento. Nas Figuras 42 e 43 estão os resultados obtidos com as amostras de MIB, nas quais pode-se notar que as amostras foram separadas em grupos distintos (Figura 42) ou em zonas distintas (Figura 43), sem sobreposição. Na Figura 42 nota-se ainda que os pontos apresentam uma correlação linear com a PC 1, onde os pontos se deslocam para a esquerda (redução da PC 1) à medida que a concentração de MIB aumenta na amostra, o que já não pode ser observado na Figura 43, em que as amostras de 50 ng.L⁻¹ ficam no extremo direito do gráfico. Adicionalmente, a resposta da LE mostrada na Figura 42 é muito reprodutível, indicada pela alta proximidade dos pontos de uma mesma amostra.

Figura 42. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de MIB (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Figura 43. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de MIB (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Na Figura 44 observa-se que as amostras de geosmina foram separadas em grupos distintos sem sobreposição, com grande proximidade entre os pontos de uma mesma amostra, o que indica alta reprodutibilidade da resposta elétrica do arranjo de sensores. Ainda se observa uma correlação direta entre a concentração de GEO e PC 1 (Figura 44). O mesmo não ocorre quando são empregadas as medidas de resistência. Alguns grupos estão sobrepostos (100 e 200 ng.L⁻¹) e não há qualquer correlação entre concentração e variância ao longo de alguma PC (Figura 45).

Figura 44. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de GEO (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Figura 45. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de GEO (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Em seguida foram analisadas amostras contendo MIB e GEO em diferentes proporções, como descrito na Tabela 2, para simular uma situação real como discutido anteriormente. Na Figura 46 observa-se que a LE consegue notar variações na proporção dos compostos [GEO]/[MIB], que é linearmente correlacionada com a PC1. É possível notar que os pontos se deslocam para a direita (aumento da PC1), à medida que a [GEO]/[MIB] aumenta (aumento da quantidade de GEO na solução), enquanto que se deslocam para a esquerda (redução da PC1) à medida que a [GEO]/[MIB] diminui (aumento da quantidade de MIB na solução). Também é possível notar que as amostras estão agrupadas em grupos distintos, pequenos, sem sobreposição e separados do grupo contendo as amostras controle (A): água de torneira sem os compostos. Na Figura 47 observa-se uma piora na discriminação das amostras. Os pontos não apresentam uma tendência de se deslocar em qualquer direção à medida que a [GEO]/[MIB] varia, assim como há uma sobreposição dos grupos contendo as amostras C e E.

Figura 46. Gráfico PCA de amostras com diferentes proporções de MIB e GEO preparadas em água de torneira, obtidas com os microeletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância). Proporções das amostras indicadas na Tabela 2.

Figura 47. Gráfico PCA de amostras com diferentes proporções de MIB e GEO preparadas em água de torneira, obtidas com os microeletrodos de 02 dígitos (medidas de resistência). Proporções das amostras indicadas na Tabela 2.

As amostras de isoborneol (Figuras 48 e 49) foram separadas em grupos distintos sem sobreposição, com exceção de dois conjuntos de amostras, de 100 e 200 ng.L⁻¹ (Figura 48). Na Figura 49 nota-se uma tendência dos pontos de se deslocarem para a direita à medida que a concentração de ISO aumenta, o que não ocorre quando são realizadas medidas de capacitância (Figura 48). Independentemente da medida elétrica usada, os pontos de uma mesma amostra estão próximos uns dos outros, indicando grande reprodutibilidade da resposta elétrica do arranjo de sensores.

Desse estudo, fica claro que o desempenho da língua eletrônica baseada em medidas de capacitância com sensores de 50 dígitos é melhor (exceção para as amostras de ISO) do que baseada em medidas de resistência com sensores de 2 dígitos. Além da capacidade de discriminação entre as amostras, nessa configuração a LE consegue quantificar os compostos de interesse, haja vista a correlação direta entre concentração e PC 1, cuja variância foi acima dos 80 % na maioria das análises realizadas. Essa conclusão corrobora as observações feitas no início do estudo em que a sensibilidade a MIB e GEO é maior para os sensores com eletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância). Portanto, deste ponto do trabalho em diante, apenas os resultados obtidos com essa configuração são apresentados e discutidos.

Figura 48. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos em amostras de ISO (medidas de capacitância) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

Figura 49. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 02 dígitos em amostras de ISO (medidas de resistência) em diferentes concentrações, conforme indicado na figura.

4.2.4 Análises simultâneas

Depois de analisar os resultados para cada composto individualmente, foram preparadas matrizes contendo dados (resposta elétrica) para amostras dos 3 compostos e em todas as concentrações, as quais foram então processadas por PCA. A análise foi realizada separadamente pelo tipo de água usada no preparo das amostras (Figuras 50 a 52) e pelo tipo de composto (Figuras 53 a 55). Foram empregadas apenas as respostas em capacitância dos sensores feitos com microeletrodos de 50 dígitos.

4.2.4.1 Água destilada

Devido ao grande volume de água consumida ao longo do trabalho, foi necessário destilar água por muitas vezes e isso teve efeito sobre os valores medidos pela LE nas amostras de referência (água destilada). Nesse caso, optou-se por normalizar os dados de modo a permitir uma comparação direta. A normalização foi feita de acordo com a Equação 7.

$$C_{\text{norm}} = \frac{C_{\text{am}}}{R} \quad \text{Eq.(7)}$$

onde:

C_{norm} = capacitância normalizada

C_{am} = capacitância medida na amostra

CM_{ISO} = valor médio da capacitância medida nas amostras de água destilada usadas no preparo das amostras de isoborneol

CM_{GEO} = valor médio da capacitância medida nas amostras de água destilada usadas no preparo das amostras de geosmina

CM_{MIB} = valor médio da capacitância medida nas amostras de água destilada usadas no preparo das amostras de 2-metilisoborneol

R = é a razão entre $CM_{\text{ISO}}/CM_{\text{MIB}}$ quando são normalizadas as amostras de isoborneol e $CM_{\text{GEO}}/CM_{\text{MIB}}$ quando são normalizadas as amostras de geosmina

Os resultados obtidos para as amostras preparadas em água destilada são apresentados na Figura 50. Como se pode observar, nesse tipo de água a LE consegue distinguir uma amostra da outra, quer seja pelo tipo de composto bem como pela concentração. Há uma correlação entre PC 1 e a concentração das amostras, já que os pontos para um determinado tipo de composto deslocam-se para a direita à medida que a sua concentração aumenta na solução. Embora os pontos referentes a algumas amostras estejam próximos uns dos outros, é possível identificar grupos distintos, sem sobreposição, e relativamente pequenos, o que demonstra a habilidade da LE estudada em discriminar MIB, GEO e ISO em diferentes concentrações.

Figura 50. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância) em amostras em água destilada de MIB, GEO e ISO em diferentes concentrações, conforme indicado na figura. Valores das amostras de GEO e ISO normalizados usando as medidas em água destilada pura (amostras de MIB) como referência.

4.2.4.2 Água mineral

Duas marcas de água mineral foram usadas no preparo das soluções de MIB, GEO e ISO, sendo que uma foi usada para preparar as de ISO e a segunda para as de MIB e GEO, sendo que cada composto foi diluído com água proveniente de garrafas diferentes, porém de mesmo lote. Embora a água mineral usada no preparo das soluções de MIB e GEO fossem da mesma marca e lote, as amostras foram preparadas em dias diferentes, o que foi suficiente para a LE notar uma variação na característica da água pura, cujos valores de capacitância medidos foram bem diferentes, chegando na maior variação, a 17,2% com o sensor de PANI/PSS (HCl). Assim, para comparar os dados de forma direta, optou-se por normalizá-los usando a equação 7, alterando apenas os valores de capacitância medidos para água destilada pelos medidos com água mineral.

Os resultados obtidos com a normalização são apresentados na Figura 51. Pode-se notar que as amostras de MIB e GEO estão agrupadas bem próximas umas das outras, havendo pequena sobreposição das amostras de 50ng.L⁻¹. Já as amostras de ISO estão agrupadas em uma região diferente das demais. Além disso, observa-se uma correlação entre a concentração

das amostras de GEO e ISO e a PC 1, em que os pontos tendem a se deslocar para a direita (aumento da PC 1) à medida que a concentração dos compostos aumenta. Embora os pontos referentes a algumas amostras estejam próximos uns dos outros, é possível identificar grupos distintos, sem sobreposição (com exceção das amostras de 50 ng.L⁻¹ de MIB e GEO), e relativamente pequenos, o que demonstra a habilidade da LE estudada em discriminar MIB, GEO e ISO em diferentes concentrações.

Figura 51. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância) em amostras em água mineral de MIB, GEO e ISO em diferentes concentrações, conforme indicado na figura. Valores das amostras de GEO e ISO normalizados usando o valor das medidas em água mineral pura (amostras de MIB) como referência.

4.2.4.3 Água de torneira

A água de torneira usada no preparo das amostras foi coletada em dias diferentes: do primeiro, uso-se para preparar as amostras de ISO e, do segundo, para MIB e GEO. Embora a água de torneira usada no preparo das amostras de MIB e GEO tenha sido coletada no mesmo dia, a LE notou uma pequena variação na característica da mesma, cujos valores de capacitância medidos apresentaram variações na ordem de 2%. A maior variação (cerca de

10%) foi observada com o sensor de PAH/PPI. Diante disto, para investigá-las corretamente, novamente, foi necessário normalizar o banco de dados usando a equação 7, desta vez trocando os valores de capacitância medidos para água destilada pelos medidos com água de torneira.

Os resultados obtidos para as amostras preparadas em água destilada são apresentados na Figura 52. Como se pode observar, nesse tipo de água a LE consegue distinguir uma amostra da outra, quer seja pelo tipo de composto (MIB e GEO) bem como pela concentração. Há uma correlação entre PC 1 e a concentração das amostras, já que os pontos para um determinado tipo de composto deslocam-se para a direita à medida que a sua concentração aumenta na solução. Os pontos referentes as amostras de MIB e GEO estão separados em grupos distintos, sem sobreposição, e relativamente pequenos, o que demonstra a habilidade da LE estudada em discriminar MIB e GEO em diferentes concentrações. Contudo, os pontos referentes às amostras de ISO estão bem dispersos, estando sobrepostos uns aos outros e também, há uma sobreposição entre algumas amostras de ISO (50 ng.L⁻¹) com amostras de água de torneira.

Figura 52. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância) em amostras em água de torneira de MIB, GEO e ISO em diferentes concentrações, conforme indicado na figura. Valores das amostras de GEO e ISO normalizados usando o valor médio das medidas em água de torneira pura (amostras de MIB) como referência.

4.2.4.4 2-metilisoborneol, geosmina e isoborneol

Nas Figuras 53 a 55 são apresentados os resultados da análise de dados baseada no composto. Como se pode observar, para cada composto, a LE consegue separar as amostras em três grupos distintos: um para cada tipo de água. As amostras preparadas em água destilada, de menor concentração iônica, são agrupadas no lado superior esquerdo do gráfico, enquanto as amostras preparadas em água mineral e de torneira, de maior concentração iônica, estão localizadas no lado direito do gráfico, sendo que as amostras com água mineral estão localizadas no canto superior direito e as amostras com água de torneira no canto inferior direito. Observando-se os destaques de cada figura (localizados abaixo da mesma), pode-se notar que a língua eletrônica, além de separar as amostras pelo tipo de água, também é capaz de separar as amostras pela concentração do composto, separando-as em grupos distintos e sem sobreposição, com exceção das amostras de ISO preparadas em água de torneira, onde alguns grupos estão sobrepostos (Figura 55). As amostras de MIB e GEO (água destilada - Figura 53) e ISO (água mineral - Figura 54), que nos respectivos destaques parecem estar sobrepostas, estão separadas em grupos distintos. Isso é notado quando uma ampliação ainda maior é empregada (ampliação não mostrada). Além disso, é possível notar nessas figuras que todos os pontos apresentam uma tendência de se deslocar para uma direção à medida que aumenta a concentração do composto (indicada por uma seta nos destaques).

Figura 53. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância) em amostras de MIB preparadas usando água destilada, mineral e de torneira em diferentes concentrações, conforme indicado na figura. No destaque são apresentadas as amostras com aumento, facilitando sua visualização. As setas indicam a tendência de deslocamento dos pontos com o aumento da concentração.

Figura 54. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância) em amostras de GEO preparadas usando água destilada, mineral e de torneira em diferentes concentrações, conforme indicado na figura. No destaque são apresentadas as amostras com aumento, facilitando sua visualização. As setas indicam a tendência de deslocamento dos pontos com o aumento da concentração.

Figura 55. Gráfico PCA obtido usando os eletrodos de 50 dígitos (medidas de capacitância) em amostras de ISO preparadas usando água destilada, mineral e de torneira em diferentes concentrações, conforme indicado na figura. No destaque são apresentadas as amostras com aumento, facilitando sua visualização. As setas indicam a tendência de deslocamento dos pontos com o aumento da concentração.

4.3 Controlador *Fuzzy*

O banco de dados foi exaustivamente analisado pela técnica PCA que possibilitou a discriminação das amostras, separando-as em função da concentração dos compostos. Contudo, considerando-se a automação do sistema de medidas, a técnica PCA não se mostra a mais adequada. Dentre as diversas opções, optou-se pela lógica *Fuzzy* por esta não necessitar de expressões matemáticas complexas, sendo necessário apenas o conhecimento de um especialista para desenvolver o controlador. Além disso, a lógica *Fuzzy* possibilita a classificação das amostras em função de sua concentração ou de outro parâmetro de interesse.

Para analisar os dados coletados com a língua eletrônica foram desenvolvidos diversos controladores *Fuzzy* cujas saídas indicavam a concentração (em ng.L^{-1}) dos compostos presentes nas amostras. O desempenho desses controladores é mostrado nas Tabelas 6 a 8. Pode-se notar que na grande maioria dos casos, a LE consegue classificar todas as amostras corretamente (taxas de acerto próximas de 100%). É importante salientar que a saída do controlador foi considerada correta apenas quando ela correspondia ao valor esperado, ou seja, quando uma amostra de água destilada era analisada, a saída do controlador só era considerada correta se ela classificasse aquela amostra como sendo água destilada, do contrário a saída do controlador era considerada errada.

Tabela 6. Desempenho do controlador *Fuzzy* na análise das amostras de água com diferentes contaminantes.

Água	Composto	Taxa de acerto
Destilada	2-Metilisoborneol	100,00%
	Geosmina	98,00%
	Isoborneol	100,00%
Mineral	2-Metilisoborneol	100,00%
	Geosmina	100,00%
	Isoborneol	100,00%
Torneira	2-Metilisoborneol	100,00%
	Geosmina	100,00%
	Isoborneol	80,00%

Tabela 7. Desempenho do controlador *Fuzzy* na análise das amostras de água contendo os compostos MIB e GEO em diferentes proporções.

Água	Composto	Taxa de acerto
Destilada	[GEO]/[MIB] (mistura)	97,18%
Mineral	[GEO]/[MIB] (mistura)	100,00%
Torneira	[GEO]/[MIB] (mistura)	100,00%

Tabela 8. Desempenho do controlador *Fuzzy* na análise simultânea das amostras preparadas com diferentes contaminantes em diferentes tipos de água (destilada, mineral e de torneira).

Água	Composto	Taxa de acerto
Destilada	Todos	98,33%
Mineral	Todos	95,00%
Torneira	Todos	93,33%

Na Tabela 6 estão os resultados obtidos com as análises dos compostos preparados em diferentes tipos de água. Como se pode observar, a taxa de acerto foi de 100% para a maioria das amostras analisadas. A pior taxa de acerto foi obtida com as amostras de isoborneol preparadas em água de torneira (80%), em que quatro amostras (de um total de vinte) foram classificadas erroneamente: duas amostras de 100 ng.L⁻¹ e duas de 200 ng.L⁻¹, foram classificadas como sendo amostras de 150 ng.L⁻¹. Isso ocorre dada a semelhança nos valores de capacitância medidos, que ativaram simultaneamente duas regras, com o controlador gerando uma saída de 150 ng.L⁻¹. Isso já era esperado porque na técnica PCA algumas amostras de ISO ficam sobrepostas (Figura 48). Vale destacar que a detecção desse composto não era o objetivo principal deste estudo e sim, detectar MIB e GEO. Ele foi analisado a fim de se verificar a capacidade da língua eletrônica em discriminar duas moléculas tão semelhantes (MIB e ISO). A outra situação em que o controlador não apresentou taxa de acerto de 100% foi na análise das amostras de geosmina preparadas com água destilada, em que uma amostra de 200 ng.L⁻¹ foi classificada como sendo de 100 ng.L⁻¹.

Na Tabela 7 são mostrados os resultados obtidos na análise das amostras de água contendo os dois compostos (MIB e GEO) em diferentes proporções. Novamente, os controladores desenvolvidos apresentaram taxas de acerto próximas de 100%. A única situação em que a taxa de acerto máxima não foi obtida foi na análise das amostras preparadas em água destilada (97,18%), em que apenas uma amostra do grupo C (0,15 : 0,45 - n_(GEO) :

$n_{(MIB)}$ (nmols)) foi classificada erroneamente ($0,20 : 0,40 - n_{(GEO)} : n_{(MIB)}$ (nmols)). Neste caso foram analisadas um total de trinta e cinco amostras.

Quando todas as amostras foram analisadas juntas, separando-as apenas em função do tipo de água usada, os programas desenvolvidos possuem três saídas, uma para cada composto. Nesta análise foram usados os valores de capacitância normalizados usando a equação 7, os mesmos usados para gerar as PCAs mostradas nas Figuras 50 a 52. Embora a análise simultânea seja de maior dificuldade, as taxas de acerto foram maiores que 90% (Tabela 8). A maior taxa de acerto (98,33%) foi obtida com as amostras preparadas em água destilada, onde apenas uma amostra, de um total de 60, não foi classificada corretamente: amostra de geosmina de 200 ng.L^{-1} foi classificada como sendo de 100 ng.L^{-1} . Já com as amostras em água mineral, a taxa de acerto foi de 95%, em que uma amostra de água não é classificada corretamente e duas de MIB de 50 ng.L^{-1} são classificadas como sendo de 25 ng.L^{-1} pois duas regras são ativadas simultaneamente (água e MIB 50 ng.L^{-1}). A menor taxa de acerto (93,33%) foi observada na análise das amostras preparadas com água de torneira em que quatro amostras de ISO são classificadas erroneamente, as mesmas que foram classificadas de forma errônea na análise individual.

Como se pode notar nos resultados apresentados nas Tabelas de 6 a 8, quanto maior a complexidade da água usada no preparo das soluções menor a taxa de acerto do programa *Fuzzy*, porém, mesmo assim os controladores *Fuzzy* desenvolvidos apresentam taxas de acerto superiores a 90% na detecção e discriminação de soluções contendo os compostos MIB e GEO em diferentes concentrações preparados em diferentes tipos de água (destilada, mineral e de torneira).

Adicionalmente, nenhuma amostra de água pura foi classificada como contaminada, ou seja, não houve falsos positivos, o que é importantíssimo ao se considerar a aplicação proposta da língua eletrônica no monitoramento em tempo real e *in loco* da água para abastecimento urbano. E, diante das altas taxas de acerto apresentadas pelos controladores *Fuzzy* pode-se afirmar que o uso desta técnica na análise de amostras de água obtidos com a língua eletrônica é uma alternativa interessante à PCA podendo ser implementada na automação do sistema de medidas.

4.4 Água “real”

O arranjo de sensores investigado mostrou-se ser capaz de discriminar as amostras analisadas, separando-as em grupos distintos, um para cada concentração, independentemente do tipo de água usada no preparo das mesmas. Contudo, para demonstrar sua eficiência também foram analisadas amostras de água coletadas do sistema Guarapiranga, antes e após a estação de tratamento pela língua eletrônica cujos resultados foram comparados com os resultados obtidos com as análises sensorial (painelistas) e por cromatografia gasosa.

Os resultados obtidos com a análise por cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa são apresentados na Tabela 9. Como se pode observar as amostras bruta 1 e final 1, apresentaram concentrações de MIB e GEO inferiores a 5 ng.L⁻¹. Já as amostras bruta 2 e final 2, que receberam adições de padrões de MIB e GEO, apresentaram concentrações dos compostos um pouco diferentes dos padrões adicionados, conforme mostrado na Tabela 9.

Tabela 9. Resultado da análise por cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa das amostras bruta e final coletas do sistema Guarapiranga.

Amostra	[MIB] (ng.L ⁻¹)	[GEO] (ng.L ⁻¹)
Bruta 1	< 5,0	< 5,0
Bruta 2	61,0	34,0
Final 1	< 5,0	< 5,0
Final 2	25,0	19,0

Observações: amostras bruta 1 e final 1: *in natura*, amostra bruta 2: adição de padrões MIB (60 ng.L⁻¹) e GEO (50 ng.L⁻¹); amostra final 2: adição de padrões MIB (30 ng.L⁻¹) e GEO (20 ng.L⁻¹).

A análise sensorial avaliou diversos atributos das amostras, cujos resultados são apresentados na Tabela 10. Como resultado dessa análise, a amostra final 2 foi classificada como objetável, ou seja, imprópria para consumo devido à sensações no paladar de terra e mofo, além de um gosto amargo.

Tabela 10. Dados das análises de gosto e odor nas amostras brutas 1 e 2 e finais 1 e 2 pelos painelistas da SABESP.

	Adstringente	Seco	Irritante às narinas	Carbonatado	Amargo	Ácido	Terra	Mofo	Cloro combinado	Vegetação	Vegetação em decomposição	Rançoso
Bruta 1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	4.0	0.0	0.0	4.0	4.0	0.0
Bruta 2	0.0	0.0	6.0	0.0	0.0	0.0	8.0	6.0	0.0	0.0	2.0	2.0
Final 1	4.0	2.0	4.0	0.0	0.0	2.0	4.0	0.0	6.0	0.0	0.0	0.0
Final 2	6.0	4.0	8.0	4.0	2.0	0.0	6.0	8.0	4.0	0.0	0.0	0.0

Escala de intensidade:

- 2 - Limiar
- 4 - Fraco
- 6 - Fraco a Moderado
- 8 - Moderado
- 10 - Moderado a forte
- 12 - Forte

Os resultados obtidos com a língua eletrônica são apresentados na Figura 56. Pode-se observar que as amostras foram separadas em quatro grupos pequenos, bem separados e sem sobreposição, com as amostras brutas à esquerda da PC 2 e as finais à direita da PC 2. Além disso, as água brutas estão separadas em dois grupos, com as amostras da água bruta 1 (*in natura*) à esquerda e as da bruta 2 (com adição de MIB e GEO) à direita. Do mesmo modo, as amostras finais também são separadas em dois grupos distintos, com as finais 1 (*in natura*) à esquerda e as finais 2 (com adição de MIB e GEO) à direita. Portanto, pode-se afirmar que há uma correlação linear entre a concentração dos compostos nas amostras e a PC 1: os pontos se deslocam para a direita (aumento da PC 1) com a adição de padrões de MIB e GEO nas respectivas amostras de água. Pode-se afirmar ainda, que há uma separação das amostras entre impróprias e próprias para consumo, onde apenas as amostras finais 1 estão acima do eixo da PC 1 (porção positiva da PC 2) e as demais abaixo do eixo da PC 1. Dentre todas as amostras, a final 1 é a única própria para consumo, enquanto que as demais são classificadas como imprópria. A amostra final 2 foi classificada como imprópria pela análise sensorial, como explicado anteriormente e as brutas por não serem tratadas, são impróprias para consumo. Adicionalmente, a LE demonstrou a capacidade em detectar pequenas concentrações dos compostos: 61 ng.L⁻¹ de MIB e 34 ng.L⁻¹ de GEO em água bruta e 25 ng.L⁻¹ de MIB e 19 ng.L⁻¹ de GEO em água final.

Figura 56. PCA das amostras brutas e finais analisados com a LE. Amostras bruta 1 e final 1: *in natura*, amostra bruta 2: adição de padrões MIB (60 ng.L^{-1}) e GEO (50 ng.L^{-1}); amostra final 2: adição de padrões MIB (30 ng.L^{-1}) e GEO (20 ng.L^{-1}).

Por fim, as amostras “reais” coletadas no sistema Guarapiranga foram analisadas pelo respectivo controlador *Fuzzy*. Como esperado, dada a discriminação obtida entre as amostras com a PCA, o programa desenvolvido consegue classificar corretamente todas as amostras analisadas, ou seja, apresenta taxa de acerto de 100%.

5. CONCLUSÕES

Um sistema de língua eletrônica baseado em sensores poliméricos, medidas de impedância e análise multivariada de dados foi desenvolvido e seu potencial avaliado na discriminação e quantificação de amostras de água contaminadas com os compostos 2-metilisoborneol, geosmina e isoborneol.

Com o estudo da resposta elétrica dos sensores demonstrou-se que a maior sensibilidade aos compostos é observada quando é empregada medidas de capacitância elétrica nos sensores com microeletrodos de 50 dígitos, a uma frequência de 1 kHz.

A língua eletrônica associada à técnica PCA consegue discriminar amostras contaminadas com MIB, GEO e ISO, separando-as em função da concentração dos compostos, apresentando grande reprodutibilidade das medidas, indicada pela alta proximidade entre os pontos de uma mesma classe de amostra (réplicas). Amostras contendo os compostos MIB e GEO em diferentes proporções também foram discriminadas de forma satisfatória, com as amostras sendo separadas em função da razão entre $n_{\text{(GEO)}} : n_{\text{(MIB)}}$ (nmols). Quando os compostos são analisados simultaneamente, agrupados pelo tipo de água, novamente a LE apresenta desempenho satisfatório, separando as amostras em grupos distintos (sem sobreposição). Na maioria dos casos há uma correlação direta entre os pontos das amostras e a PC 1, em que os pontos se deslocam ao longo do eixo da PC 1 à medida que aumenta a concentração do composto na amostra. Por fim, a análise de amostras de água coletadas no sistema Guarapiranga, mostrou que a LE é capaz de discriminar corretamente entre amostras de água imprópria e própria para consumo. Adicionalmente, a LE demonstrou a capacidade em detectar pequenas concentrações dos compostos MIB e GEO: 25 ng.L⁻¹ em água destilada, de 61ng.L⁻¹ (MIB) e 34ng.L⁻¹ (GEO) em água bruta (antes da ETA) e de 25ng.L⁻¹ (MIB) e 19ng.L⁻¹ (GEO) em água final (após a ETA).

Apesar do bom desempenho obtido com a técnica PCA na análise dos dados obtidos com a LE, a interpretação dos gráficos gerados é difícil, especialmente para aqueles que não estão familiarizados com a técnica. Com o uso da lógica *fuzzy* essa adversidade é contornada, uma vez que com ela a interpretação dos resultados é bem intuitiva, já que podem ser usadas variáveis linguísticas como própria e imprópria, ou então, gerar uma saída numérica, isto é, a concentração do composto presente na amostra.

Os controladores *fuzzy* desenvolvidos apresentaram taxas de acerto próximas de 100% para a maioria das amostras analisadas. O pior desempenho foi na classificação de amostras de ISO preparadas em água de torneira, em que duas amostras são classificadas erroneamente (taxa de acerto: 80%). Quando as amostras foram analisadas simultaneamente, agrupadas pelo tipo de água, as taxas de acerto apresentadas pelos controladores foram de: 98,33% (água destilada), 95% (água mineral) e 93,33% (água de torneira). A classificação de amostras mais complexas, de diferentes proporções de MIB e GEO, e das amostras “reais” foi realizada com êxito, com taxas de acerto de 100%, à exceção das amostras de diferentes proporções de MIB e GEO preparadas em água destilada (97,18%). Adicionalmente, nenhuma amostra de água pura foi classificada como contendo algum contaminante, ou seja, não houve falsos positivos.

O excelente desempenho da LE associada à tecnologia *Fuzzy* na classificação das amostras contaminadas com MIB e GEO e a possibilidade de se converter a concentração dos compostos em variáveis linguísticas, como própria e imprópria, tornam plausível a implementação da LE no monitoramento de MIB e GEO nos reservatórios de água, fornecendo em tempo real e *in loco* informações sobre a qualidade da água provinda da estação de tratamento.

6. TRABALHOS FUTUROS

Desenvolver um protótipo portátil e autônomo baseado em um sistema do tipo língua eletrônica associado à lógica *Fuzzy* (como apresentado nesta tese) para monitorar, *in loco*, a água dos mananciais da região metropolitana de São Paulo e das estações de tratamento (módulo de aquisição), fornecendo informações, em tempo real, aos técnicos da SABESP (centro de controle), possibilitando a estes tomarem ações preventivas, quando necessário, aplicando carvão ativado para a remoção dos compostos geosmina e 2-metilisoborneol por exemplo. O controle e a operação dos módulos de aquisição, bem como os resultados da análise por eles efetuada podem ser executados/transmitidos usando um meio de comunicação sem fio, por exemplo, via telefonia, satélite ou internet (rede de comunicação) até o centro de controle, onde computadores irão receber e disponibilizar as informações oriundas dos diversos módulos de aquisição.

Também podem ser desenvolvidos sensores específicos baseado na técnica de impressão molecular de polímeros aumentando a sensibilidade do sistema aos compostos, compondo um sistema híbrido composto por sensores químicos não-específicos e específicos.

REFERÊNCIAS

-
- [1] Disponível em: www.sabesp.com.br. Acesso em 27/12/2006.
- [2] ALVES, R.; *Técnicas de avaliação de gosto e odor em águas de abastecimento: método analítico, análise sensorial e percepção dos consumidores*, Dissertação de mestrado, EPUSP, São Paulo (2005).
- [3] YOUNG, W.F., et al.; *Taste and odour threshold concentrations of potential potable water contaminants*, Water Research, 30, 2 (1996) 331-340.
- [4] <http://www.blogsabesp.com.br/1931/problema-com-algas-na-represa-do-guarapiranga-deve-ser-resolvido-em-dez-dias> em 09/12/2011.
- [5] Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo 2000, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, CETESB, São Paulo 2001.
- [6] JI, H-S., et al.; *Selective piezoelectric odor sensors using molecular imprinted polymers*; Analytica Chimica Acta, 390 (1999) 93-100.
- [7] JI, H-S., et al.; *Increasing the sensitivity of piezoelectric odour sensors based on molecular imprinted polymers*; Biosensors and Bioelectronics, 15 (2000) 403-409.
- [8] STUETZ, R.M., WHITE, M., FENNER, R.A.; *Use of an electronic nose to detect tainting compounds in raw treated potable water*; J. Water Sci. Res. Technol. – Aqua, 47 (1998) 223-228.
- [9] CALVO, D., et al.; *Automated SIA system using an array of potentiometric sensors for determining alkaline-earthly ions in water*; Electroanalysis 19 (2007) 644-651.
- [10] WIZIACK, N.K.L., PATERNO, L.G., FONSECA, F.J., MATTOSO, L.H.C.; *Effect of film thickness and different electrodes geometries on the performance of chemical sensors made of nanostructured conducting polymer films*; Sensors and Actuators B 122 (2007) 484-492.
- [11] SCOZZARI, A., ACITO, N., CORSINI, G. *A novel method based on voltammetry for the qualitative analysis of water*; IEE Transactions on Instrumentation and Measurement 56 (2007) 2688-2697.
- [12] MARTÍNEZ-MÁÑEZ, R., et al.; *An electronic tongue design for the qualitative analysis of natural waters*; Sensors and Actuators B 104 (2005) 302-307.
- [13] Di NATALE, C., et al.; *Multicomponent analysis on polluted waters by means of an electronic tongue*; Sensors and Actuators B 44 (1997) 423-428.
- [14] ILIEV, B., et al.; *A fuzzy technique for food and water quality assessment with an electronic tongue*; Fuzzy Sets and Systems 157 (2006) 1155-1168.
- [15] KRANTZ-RÜCKER, C., et al.; *Electronic tongues for environmental monitoring based on sensor arrays and pattern recognition: a review*; Anal. Chim. Acta 426 (2001) 217-226.
- [16] IVARSSON, P. et al.; *Supervision of rinses in a washing machine by a voltammetric electronic tongue*; Sensors and Actuators b 108 (2005) 851-857.
- [17] WIZIACK, N.K.L.; *Estudo do desempenho de uma língua eletrônica baseada em materiais nanoestruturados*; Dissertação de Mestrado, EPUSP, São Paulo (2005).
- [18] RIUL, A., et al.; *Artificial taste sensor: efficient combination of sensors made from Langmuir-Blodgett films of conducting polymers and a ruthenium complex and self-assembled films of an azobenzene-containing polymer*; Langmuir, 18, (2002) 239-245.

-
- [19] LIMA, J.P.H.; *Um nariz eletrônico baseado em polímeros condutivos*; Tese de Doutorado, EPUSP, São Paulo (2010).
- [20] WIZIACK, N.K.L., et al.; *A sensor array based on mass and capacitance transducers for the detection of adulterated gasolines*; Sensors and Actuators B 140 (2009)508-513.
- [21] Portaria MS nº 518/2004; Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Série E: Legislação de Saúde, (2005) 30 páginas, Brasília, Brasil
- [22] Comentários sobre a Portaria MS nº 518/2004: subsídios para implementação; Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Série E: Legislação de Saúde, (2005) 91 páginas, Brasília, Brasil
- [23] HOWGATE, P.; *Tainting of farmed fish by geosmina and 2-methyl-iso-borneol: a review of sensory aspects and of uptake/depuration*; Aquaculture, 234 (2004) 155-181.
- [24] SMITH, J.L., BOYER, G.L., ZIMBA, P.V.; *A review of cyanobacterial odorous and bioactive metabolites: impacts and management alternatives in aquaculture*, Aquaculture 280 (2008) 5-20.
- [25] JARAHADIAN, C., JOSEPHSON, D.B., LINDSAY, R.C.; *Volatile compounds from penicillium sp. Contributing musty-earthly notes to brie and camembert cheese flavors*, J. Agric. Food Chem., 33, 3 (1985), 339-343.
- [26] JELE, H.H., et al.; *Determination of geosmin, 2-methylisoborneol, and a musty-earthly odour in wheat grain by SPME-GC-MS, profiling volatiles and sensory analysis*, J. Agric. Food Chem., 51, 24 (2003), 7079-7085.
- [27] BLANK, I., GROSCH, W.; *On the role of (-)-2-methylisoborneol for the aroma of robusta coffee*, J. Agric. Food Chem., 50, 16 (2002), 4653-4656.
- [28] MORALLES-VALLE, H., et al.; *Microextraction and gas chromatography/mass spectrometry for improved analysis of geosmin and other fungal "off" volatiles in grape juice*; Journal of Microbiological Methods 83 (2010) 48-52.
- [29] DARRIET, P., PONS, M., LAMY, S., DUBOURDIEU, D.; *Identification and quantification of geosmin, an earthy odorant contaminating wines*; J. Agric. Food Chem. 48 (2000) 4835-4838.
- [30] MORALES-VALE, H., et al.; *Microextraction and gas chromatography/mass spectrometry for improved analysis of geosmin and other fungal "off" volatiles in grape juice*; Journal of Microbiological Methods 83 (2010) 48-52.
- [31] TARLEY, C.R.T., SOTOMAYOR, M.D.P.T., KUBOTA, L.T.; *Polímeros biomiméticos em química analítica. Parte 1: preparo e aplicações de MIP ("molecularly imprinted polymers") em técnica de extração e separação*; Química Nova 28 (2005) 1076-1086.
- [32] TARLEY, C.R.T., SOTOMAYOR, M.D.P.T., KUBOTA, L.T.; *Polímeros biomiméticos em química analítica. Parte 2:aplicações de MIP ("molecularly imprinted polymers") no desenvolvimento de sensores químicos*; Química Nova 28 (2005) 1087-1101.
- [33] BASTOS, A.C., MAGAN, N.; *Potential use of an electronic nose for the early detection and differentiation between Streptomyces in potable water*; Sensor and Actuators B 116 (2006) 151-155.
- [34] GIBSON, T.D., et al.; *Detection and simultaneous identification of microorganisms from headspace samples using an electronic nose*; Sensors and Actuators B 44 (1997) 413-422.
- [35] DEISINGH, A.K., STONE, D.C., THOMPSON, M.; *Applications of electronic noses and tongues in food analysis*; Intern. J. Food Sci. and Technol. 39 (2004) 587-604.

-
- [36] WIZIACK, N.K.L., *Desenvolvimento de sistemas multisensoriais híbridos, língua e narizes eletrônicos para a avaliação de combustíveis*; Tese de Doutorado, EPUSP, São Paulo (2010).
- [37] LEGIN, A., et al.; *Application of electronic tongue for qualitative and quantitative analysis of complex liquid medias*, Sensors and Actuators B 65 (2000) 232–234.
- [38] CORTINA, M, GUTÉS, A., ALEGRET, S., del VALE, M. *Sequential injection system with higher dimensional electrochemical sensor signals Part 2 Potentiometric e-tongue for the determination of alkaline ions*, Talanta 66 (2005) 1197-1206.
- [39] MARTINA, V. et al.; *Development of an electronic tongue based on a PEDOT-modified voltammetric sensor*, Anal Bioanal Chem (2007) 387:2101–2110.
- [40] GUTÉS, A., CÉSPEDES, F., ALEGRET, S., del VALE, M.; *Sequential injection system with higher dimensional electrochemical sensor signals Part 1. Voltammetric e-tongue for the determination of oxidizable compounds*, Talanta 66 (2005) 1187-1196.
- [41] PIOGGIA, G, et al.; *A composite sensor array impedentiometric electronic tongue Part I. Characterization*, Biosensors and Bioelectronics 22 (2007) 2618-2623.
- [42] VLASOV, Y; LEGIN, A.; RUDNITSKAYA, A.; *Electronic tongues and their analytical application*, Anal Bioanal Chem 373 (2002) 136–146.
- [43] GUTIÉRREZ, M., et al.; *Application of a potentiometric electronic tongue to fertigation strategy in greenhouse cultivation*, Comp. Elect. Agric. 57 (2007) 12-22.
- [44] ARRIETA, A.A., et al.; *Prediction of bitterness and alcoholic strength in beer using an electronic tongue*; Food Chemistry 123 (2010) 642-646.
- [45] RUDNITSKAYA, A. et al.; *Evaluation of the feasibility of the electric tongue as a rapid analytical tool for wine prediction and quantification of the organic acids and phenolic compounds. The casa study of Madeira wine*; Analytica Chimica Acta 662 (2010) 82-89.
- [46] LEGIN, A. et al.; *Application of the electronic tongue for quantitative analysis of mineral water and wine*; Electroanalysis, 11, (1999) 814-820.
- [47] GUTIÉRREZ, M., ALEGRET, S., del VALE, M.; *Potentiometric bioelectronic tongue for the analysis of urea and alkaline ions in clinical samples*, Biosensors and Bioelectronics 22 (2007) 2171-2178.
- [48] MOTTRAM, T., et al.; *Evaluation of a novel chemical sensor system to detect clinical mastitis in bovine milk*, Biosensors and Bioelectronics 22 (2007) 2689-2693.
- [49] MIMENDIA, A., et al.; *Use of sequential injection analysis to construct a potentiometric electronic tongue: application to the multidetermination of heavy metals*; Sensors and Actuators B 146 (2010) 420-426.
- [50] GALLARDO, J. et al.; *An electronic tongue using potentiometric all-solid-state PVC-membrane sensors for the simultaneous quantification of ammonium and potassium ions in water*; Analytical and Bioanalytical Chemistry, 377, (2003) 248-256.
- [51] MIMENDIA, A., et al.; *A review of the use of the potentiometric electronic tongue in the monitoring of environmental systems*; Environmental Modelling & Software 9 (2010) 1023-1030.
- [52] WINQUIST, F., WIDE, P., LUNDSTRÖM, I; *An electronic tongue based on voltammetry*; Anal. Chim. Acta 357 (1997) 21-31.

-
- [53] PAIXÃO, T.R.L.C., BERTOTTI, M.; *Fabrication of disposable voltammetric electronic tongues by using Prussian Blue films electrodeposited onto CD-R gold surfaces and recognition of milk adulteration*; Sensors and Actuators B 137 (2009) 266-273
- [54] WEI, Z., WANG, J., YE, L.; *Classification and prediction of rice wines with different marked ages by using a voltammetric electronic tongue*; Biosensors and Bioelectronics 26 (2011) 4767-4773.
- [55] WINQUIST, F., OLSSON, J., ERIKSSON, M.; *Multicomponent analysis of drinking water by a voltammetric electronic tongue*; Analytica Chimica Acta 683 (2011) 192-197
- [56] TAYLOR, D.M.; MACDONALD, A.G.; *AC admittance of the metal/insulator/electrolyte interface*; J. Phys. D: Appl. Phys. 20 (1987) 1277-1283.
- [57] RIUL, A., et al.; *Wine classification by taste sensors made from ultra-thin films and using neural networks*, Sensors and Actuators B 98 (2004) 77-82.
- [58] RIUL, A, et al.; *An electronic tongue using polypyrrole and polyaniline*, Synthetic Metals 132 (2003) 109-116.
- [59] CARVALHO, E.R., et al.; *Sensorial System to Detect Chloroform in Water*, Sensor Letters 4 (2006) 1-6.
- [60] GREGORUT, C.; *Avaliação do desempenho de uma língua eletrônica na identificação de cultivares de soja*; Dissertação de Mestrado, EPUSP, São Paulo (2010)
- [61] OZAKI, S.T.R.; *Deteção de adulteração de combustíveis com sensores poliméricos eletrodepositados e redes neurais artificiais*; Dissertação de Mestrado, EPUSP, São Paulo (2010)
- [62] RIUL, A. Jr. et al.; *Nano-assembled films for taste sensor applications*; Artificial Organs, 27, (2003) 469-472.
- [63] BEEBE, K.R., PEEL, R.J., SEASHOLTZ, M.B.; *Chemometrics: a practical guide*, John Wiley and Sons, New York, 1998.
- [64] GUTIÉRREZ, M., et al.; *Nutrient Solution Monitoring in Greenhouse Cultivation Employing a Potentiometric Electronic Tongue*; J. Agric. Food Chem. 56, 6 (2008) 1810-1817.
- [65] ZADEH, L.A.; *Fuzzy Sets*, Information and Control 8 (1965) 338-353.
- [66] BORATO, C.E., *Estudo de filmes poliméricos ultrafinos de polianilinas para aplicação em sensores*; Dissertação de Mestrado, EESC, IFSC, IQSC, USP, São Carlos (2002).
- [67] YEN, J., LANGARI, R., ZADEH, L.A.; *Industrial Applications of Fuzzy logic and Intelligent Systems*, IEE Press, New York (1995).
- [68] KIM, J.D. et al.; *A simple taste analyzing system design for visual and quality analysis of different tastes using multi-array chemical sensors and pattern recognition techniques*; Talanta 70 (2006) 546-555.
- [69] RONG, L., PING, W., WENLEI, H.; *A novel method for wine analysis based on sensor fusion technique*; Sensors and actuators B 66 (2000) 246-250.
- [70] RIUL, A.; MALMEGRIM, R.R.; FONSECA, F.J.; MATTOSO, L.H.C.; *An artificial taste sensor based on conducting polymers*, Biosensors and Bioelectronics 18 (2003) 1365-1369.
- [71] PETTY, M. C.; *Langmuir Blodgett films – An introduction*, Cambridge University Press, Cambridge (1996).
- [72] ULMAN, A.; *An Introduction to Ultrathin Organic Films-from Langmuir-Blodgett to Self-Assembly*, Academic Press, New York (1991).
- [73] LVOV, Y.M.; DECHER, G.; *Assembly of Multilayer Ordered Films by Alternating Adsorption of Oppositely Charged Macromolecules*; Crystallography Reports, **39**, 4 (1994) 628-647.

-
- [74] BRAGA, G.S.; *Influência dos parâmetros de fabricação em filmes automontados poliméricos*; Dissertação de Mestrado, EPUSP, São Paulo (2006).
- [75] BRAGA, G.S., et al.; *Influence of the deposition parameters on the morphology and electrical conductivity of PANI/PSS self-assembled films*; Mater Sci and Eng. C 28 (2008) 555-562.
- [76] <http://www.rieglerkirstein.de/lbyl.htm> em 08/08/2005.
- [77] <http://www.changkyung.co.kr/ksv/lb/dip%20coater.htm> em 21/01/2005.
- [78] <http://www.nima.co.uk/equipment/dipcoat.htm#Top> em 10/01/2005.
- [79] <http://www.imebinc.com/Item/CZ-HMS.htm> em 24/05/2006.
- [80] SANTOS, G., et al.; *Enhancement of light emission from an europium(III) complex based-OLED by using layer-by-layer assembled hole-transport films*; ECS Transactions 39 (2011) 307-313.
- [81] SANTOS, J.C.B., et al.; *Influence of polyaniline and phthalocyanine hole-transport layers on the electrical performance of light-emitting diodes using MEH-PPV as emissive material*; Thin Solid Films 516 (2008) 3184-3188.
- [82] SCHLENOFF, J.B.; DUBAS, S.T.; *Mechanism of polyelectrolyte multilayer growth: charge overcompensation and distribution*; Macromolecules, **34**, (2001) 592-598.
- [83] SCHLENOFF, J.B.; DUBAS, S.T.; *Mechanism of polyelectrolyte multilayer growth: charge overcompensation and distribution*; Macromolecules, **34**, (2001) 592-598.
- [84] DUBAS, S.T.; SCHLENOFF; *Polyelectrolyte multilayers containing a weak polyacid: construction and deconstruction*; Macromolecules 34 (2001) 3736-3740.
- [85] DECHER, G.; *Fuzzy nanoassemblies: toward layered polymeric multicomposites*; Science, 277, (1997) 1232-1237.
- [86] BRAGA, G.S., LIMA, J.P.L., PATERNO, L.G., FONSECA, F.J.; *Equipamento para deposição de películas automontadas*; BR PI 0703927-1, 13 set. 2007.
- [87] PATERNO, L.G., et al.; *Self-assembled films of poly(o-ethoxyaniline) complexed with sulfonated lignin*; Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 23 (2002) 257-262.
- [88] LIMA, J.P.H., ANDRADE, A.M.; *Morphological analysis of poly(o-methoxyaniline) thin-films deposited by spin coating technique*; J. Mater. Sci: Mater. Electronic. 17 (2006) 593-596.
- [89] BORATO, C.E.; *Desenvolvimento de sensores poliméricos para detecção de metais pesados e avaliação da qualidade da água*; Tese de Doutorado, EESC, IFSC, IQSC, USP, São Carlos (2007)
- [90] TAYLOR, D.M.; MACDONALD, A.G.; *AC admittance of the metal/insulator/electrolyte interface*; J. Phys. D: Appl. Phys. 20 (1987) 1277-1283.
- [91] BRUGNOLLO, E.D.; et al.; *Fabrication and characterization of chemical sensors made from nanostructured films of poly(o-ethoxyaniline) prepared with different doping acids*; Thin solid Films 516 (2008) 3274-3281.
- [92] MORA, N.D. (Comp.), LUCAS J.F.R., MARAN, M.A. (apoio técnico); *Apostila de Materiais Elétricos*, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Foz do Iguaçu, Paraná (2010) Capítulo 18.
- [93] GIROTTTO, E.M., De PAOLI, M.; *Transporte de massa em polímeros intrinsecamente condutores: importância, técnicas e modelos teóricos*; Química Nova 22 (1999) 358-368.
- [94] KINDSCHY, L.M., ALOCILJA, E.C.; *Development of a molecularly imprinted biomimetic electrode*; Sensors 7 (2007) 1630-1642.

-
- [95] PATERNO, L.G., MATTOSO, L.H.C.; *Influence of different dopants on the adsorption, morphology and properties of self-assembled films of poly(o-ethoxyaniline)*; Journal of Appl. Pol. Sci. 83 (2002) 1309-1316.
- [96] KLAUSEN, C., et al.; Abundance of actinobacteria and production of geosmin and 2-methylisoborneol in Danish streams and fish ponds; FEMS Microbiology Ecology 52 (2005) 265-278.

APÊNDICE A - POLÍMEROS COM IMPRESSÃO MOLECULAR

No período de estágio (Abril a Novembro de 2011) no Grupo de Sensores e Biosensores da Universidade Autônoma de Barcelona, Espanha, sob orientação do Prof. Manel del Valle realizou-se o estudo e o desenvolvimento de sensores específicos para 2-metilisoborneol e geosmina. Tais sensores foram produzidos com a técnica de impressão molecular, na qual a polimerização do monômero ocorre na presença da molécula que se deseja detectar (alvo), criando cavidades específicas e artificiais na estrutura do polímero para a molécula alvo¹.

A produção dos sensores segundo essa técnica envolve duas etapas. A primeira consiste em misturar monômero e a molécula alvo em um solvente porogênico, que permita a formação do complexo monômero-molécula alvo por meio de interações químicas ou físicas. Depois, acrescenta-se a esta solução o agente de reticulação e o iniciador¹. A decomposição do iniciador pode ser realizada por aquecimento ou irradiação com luz ultravioleta na ausência de oxigênio. Uma vez que a reação de polimerização seja terminada, a molécula alvo é removida do polímero com o solvente apropriado, criando cavidades em sua estrutura, nas quais apenas a molécula alvo consegue se encaixar². Um esquemático das etapas de obtenção de polímero com impressão molecular é ilustrado na Figura 1.

Figura 1. Representação esquemática da técnica de impressão molecular². Dentre as possíveis interações entre o polímero e a molécula alvo são citadas: A e B. ligações covalentes; C. interações eletrostáticas; D. interações Van der Waals ou hidrofóbicas; E. ligações metálicas.

Polímeros obtidos com esta técnica são chamados de polímeros com impressão molecular, também conhecidos como MIPs (*molecularly imprinted polymers*)^{1,2,3}, os quais podem ser considerados como sensores biomiméticos porque as cavidades criadas possuem grande afinidade e seletividade à molécula alvo, similar ao encontrado em materiais biológicos, como nas interações enzima-substrato e anticorpo-antígeno.

Na literatura foram encontrados dois trabalhos sobre sensores para MIB feitos usando a técnica de impressão molecular^{4,5}, nos quais a polimerização ocorre sobre a superfície de um cristal de quartzo. A diferença nos trabalhos é que no segundo os autores depositaram uma

camada de *nylon* sobre o cristal antes de realizarem a polimerização, conseguindo deste modo um aumento na sensibilidade dos sensores, em que o limite de detecção passou de 200 ppb para 10 ppb⁵. Contudo, não conseguiram fabricar um MIP para GEO. Os autores creditaram o insucesso à estrutura flexível da geosmina, bem diferente da estrutura rígida apresentada pelo 2-metilisoborneol⁴.

Diante do baixo número de publicações sobre MIPs para MIB, iniciou-se os estudos e o desenvolvimento de sensores específicos usando teofilina como molécula alvo (MIP bem documentado na literatura). Teofilina, cuja estrutura química é apresentada na Figura 2, é uma metilxantina encontrada em café, chá e cacau⁶ e é usada no tratamento de doenças pulmonares, como asma e bronquite³. Como altos níveis de teofilina na corrente sanguínea podem causar efeitos tóxicos e fatais⁷, é importante monitorar seus níveis durante os tratamentos, evitando riscos desnecessários aos pacientes, sendo que para aliviar os sintomas de constrição respiratória são necessários de 5 a 15 mg.ml⁻¹ de teofilina no sangue^{3,6}.

Figura 2. Estrutura química das metilxantinas teofilina, cafeína e teobromina.

Dentre os documentos disponíveis na literatura, os trabalhos de Kindischy^{3,8} foram usados como referência no estudo de polimerização porque usam ácido metacrílico (MAA) como monômero e etileno glicol dimetacrilato (EGDMA) como reagente de ligação cruzada, os mesmos usados nos trabalho de Ji^{4,5}. A única alteração em relação aos materiais usados na referencia foi a troca do iniciador, quando se usou o azobis(dimetilvaleronitrila) (ABDV), o mesmo usado por Ji^{4,5}.

A polimerização foi realizada como descrito na literatura^{3,8}, com apenas uma alteração: usou-se um agitador magnético com aquecimento ao invés do banho-maria. Inicialmente, foi realizada a polimerização em massa em frascos selados, permitindo a familiarização com os

procedimentos experimentais (Figura 3). Além de MIP para teofilina, foram preparadas amostras de polímeros sem impressão molecular (NIPs – do inglês, *non-imprinted polymers*) usados como referência e MIPs para cafeína e teobromina, metilxantinas de estrutura química semelhante à teofilina (Figura 2). Essas moléculas foram usadas para verificar se os sensores apresentariam seletividade cruzada às outras metilxantinas.

Figura 3. Polimerizações em massa. (A) NIP, (B) MIP teofilina, (C) MIP cafeína e, (D) MIP teobromina.

Depois da obtenção dos polímeros, foram testadas condições para fabricação de filmes de MIP diretamente sobre a superfície de lâminas de vidro, usadas como substrato. Para assegurar uma boa adesão do MIP à superfície do substrato, as lâminas foram silanizadas³, empregando-se o agente acoplante 3-(trimetoxisilil)propil metacrilato (3-MPS), apresentada na Figura 4. A extremidade silano forma ligações com as funcionalidades do vidro, e a outra extremidade (metacrilato) fica livre para formar ligações com o ácido metacrílico da resina polimerizada.

Figura 4. Fórmula estrutural do 3-(trimetoxisilil)propil metacrilato (3-MPS).

Foram testadas diferentes condições de polimerização sobre a superfície do vidro:

- (1) Substrato dentro do frasco selado: a polimerização ocorre em todo o frasco. Nesse procedimento, ao se separar o substrato do bloco polimérico formado, ele pode se

romper e não há controle da espessura do filme retido na superfície do vidro (Figuras 5 A e B);

- (2) Colocando uma gota da mistura reacional (5 μL) sobre o substrato: a polimerização não era boa, pois a gota não se espalhava pela superfície do vidro, e à medida que o tempo transcorria, a gota se encolhia, ocorrendo a polimerização apenas neste pequeno espaço. O mesmo ocorria se outro volume da gota era usado (Figura 5 C);
- (3) Fazendo um sanduíche (substrato+mistura reacional+substrato inerte): nesse procedimento, uma gota da solução polimérica era colocada sobre a superfície do vidro tratado e sobre ela, colocava-se um substrato não tratado. Foram usados três substratos diferentes: lâmina de vidro não tratado, folha de transparência e chapa de PTFE, que após a polimerização eram removidos. O pior desempenho ocorreu com o uso do vidro não tratado, pois quando as lâminas eram separadas, parte do polímero formada era removida junto do vidro não silanizado. Usando a transparência e o PTFE, os resultados foram melhores. A transparência tem a vantagem de apresentar uma superfície mais lisa, plana e homogênea que a do PTFE, fatores que influem diretamente na qualidade do filme formado (Figura 5 D e E). A espessura dos MIPs depositados sobre a transparência é mostrada na Tabela 1 e foi obtida com medidas de perfilometria realizadas em Barcelona.

Tabela 1. Espessura média dos filmes depositados sobre lâminas de vidro usando a transparência durante a polimerização.

Solução	Espessura média do filme (nm)
NIP	$237,00 \pm 55,22$
MIP teofilina	$157,67 \pm 19,66$
MIP cafeína	$165,00 \pm 21,21$
MIP teobromina	$933,40 \pm 162,81$

Figura 5. Ilustração com os diferentes métodos empregados na polimerização de um filme fino sobre a superfície do substrato de vidro. (A) polimerização dentro do frasco selado, (B) filme formado em (A), (C) gota sobre a superfície, (D) filme formado usando a transparência e, (E) chapa de *teflon* usada nos testes.

Determinada a melhor forma de depositar os filmes sobre o vidro, usou-se os microeletrodos de ouro como substrato. Apesar da silanização, o polímero possui baixa adesão ao ouro e acaba sendo removido junto com a transparência, permanecendo apenas sobre o vidro.

De acordo com a literatura, uma mercaptana comumente usada no tratamento da superfície do ouro para deposição do MAA é a alil mercaptana^{9,12}. Em dois trabalhos^{9,10} o eletrodo de ouro é imerso em uma solução de etanol:água (4:1, v/v) contendo a mercaptana (53 μM) e 1-butanotiol (13 μM) por duas horas, induzindo grupos vinil na superfície do eletrodo de ouro. Posteriormente, era seco com gás de nitrogênio. Em outros dois^{11,12} o eletrodo era imerso em uma solução de alil mercaptana (10 mM) por 24 horas. Posteriormente, era limpo com etanol e seco à 40°C.

Dessa forma, optou-se por funcionalizar os eletrodos por dois tratamentos, primeiro a silanização e depois com a mercaptana (10 mM em metanol). Contudo, o polímero formado continuou apresentando baixa adesão no ouro. Inverter a ordem dos tratamentos, eliminar a silanização e aumentar a concentração da mercaptana em 10 vezes não surtiu qualquer mudança significativa na qualidade dos filmes, que continuaram apresentando baixa adesão ao ouro.

Uma outra abordagem, proposta por D'Agostino¹³ usa um volume muito maior do reagente de ligação cruzada (EDGMA) ao invés do solvente porogênico na polimerização, o que leva à obtenção de um filme mais rígido, resistente ao *stress* e com boa aderência. De fato, ao se polimerizar sobre uma lâmina de vidro sem silanizar, o polímero formado apresentou alta adesão (Figura 6A). Contudo ao depositá-lo sobre o eletrodo de ouro (tratado)

parte do polímero foi removida junto com a transparência (Figura 6B). Porém, deste modo conseguiu-se uma melhor adesão do que usando o solvente porogênico.

Figura 6. Polimerização feita sem o solvente porogênico: (A) NIP sobre vidro não silanizado (boa adesão) e, (B) NIP sobre eletrodo de ouro (pouca adesão).

Dadas as dificuldades encontradas para formar um filme polimérico sobre a superfície do ouro, decidiu-se mudar o substrato, usando eletrodos de óxido de índio dopados com estanho (ITO), mesmo eletrodo usado por Kindschy^{3,8}.

Para preparar os eletrodos de ITO, primeiramente cortou-se as lâminas de ITO da DELTA ($30-60\Omega/\square$) nas dimensões de 16 mm x 12mm. A definição da geometria dos eletrodos foi feita com uma fita adesiva sobre o ITO e, com a ajuda de um estilete, fez-se um corte no sentido do comprimento da lâmina dividindo-a em duas partes iguais. Posteriormente, decapou-se o ITO desse corte com o emprego de um cotonete, que era imerso em ácido clorídrico e em zinco em pó. A fricção do cotonete era suficiente para remover o ITO da área exposta. O distanciamento entre os dígitos formados foi de aproximadamente 200 μm . Após a decapagem, os eletrodos de ITO eram imersos em uma solução diluída de detergente em água ultrapura e colocados em um banho de ultra-som por 30 minutos. Na sequência eram enxaguados exaustivamente em água ultrapura e secos com gás de nitrogênio. Depois de limpos, os eletrodos eram silanizados como descrito na literatura^{3,8}.

A polimerização foi realizada pelo método do sanduíche explicado anteriormente, porém parte do eletrodo não era coberta pela transparência, deixando deste modo uma parte do eletrodo sem polímero (ponto de contato com o impedancímetro). Inicialmente, fez-se um NIP e um MIP para teofilina. Para remoção da molécula alvo e limpeza entre as medições, os sensores eram imersos em metanol sob agitação por 30 minutos e então, em água destilada sob agitação por mais 10 minutos.

Uma solução de teofilina (1 mM) em água destilada foi analisada pelos sensores usando o analisador de impedâncias IM6e da Bas-Zahner. Usando a equação de Nyquist, calculou-se os valores de resistência e capacitância a partir das medidas de impedância, os quais eram os

mesmos que se obtinha com o programa Z-View, o qual foi usado nos cálculos dos valores resistivos e capacitivos das medições. Cada dia eram realizadas 3 medições sob temperatura ambiente (24 °C). Os sensores eram imersos nas soluções por 5 minutos antes de se iniciarem as medições. Entre as medições, os sensores eram imersos em metanol sob agitação por 30 minutos e depois em água destilada sob agitação por 10 minutos.

Na Figura 7 são mostrados os resultados obtidos durante um período de 3 dias. Como se pode observar, no primeiro e no terceiro dia, o MIP apresentou maior sensibilidade a teofilina que o NIP. Contudo, após essas medições verificou-se que o polímero depositado estava sendo removido durante a etapa de limpeza.

Figura 7. Resposta elétrica (capacitância) dos sensores em água destilada e teofilina (1 mM) durante um período de três dias.

Ao término do estágio na universidade espanhola, foram preparados diversos MIPs para serem analisados no Brasil. Esses novos MIPs foram depositados sobre eletrodos de ITO com contatos definidos manualmente (conforme descrito anteriormente) e sobre microeletrodos interdigitados, fabricados pelo procedimento de fotolitografia convencional. Detalhes sobre a fabricação destes podem ser encontrados na literatura¹⁴.

Os NIPs e MIPs fabricados estão relacionados abaixo. Os sensores apresentaram diferenças na geometria dos eletrodos (2 e 50 dígitos), nas moléculas alvo (teofilina, cafeína e isoborneol) e suas respectivas concentrações durante a polimerização, indicada entre parênteses na relação abaixo. Apenas nos filmes 3 e 6 não foram mantidas as proporções entre os materiais como descrito na literatura^{3-5,8}. Neles, apenas as quantidades de teofilina e

isoborneol foram alteradas, colocando-se o dobro em relação à literatura. Além disso, diferentes solventes foram usados: N,N-dimetilformamida (DMF)^{3,8} (sensores de 1 a 6) e hexano^{4,5} (sensores de 7 a 10).

- Eletrodos 02 dígitos:

1. NIP
2. MIP Teofilina (14mg)
3. MIP Teofilina (28mg)
4. MIP Cafeína (14mg)

- Microeletrodos Interdigitados (50 dígitos):

5. NIP
6. MIP Teofilina (14mg)
7. NIP
8. MIP ISO (2.6mg)
9. MIP ISO (24mg)
10. MIP ISO (44mg)

No Brasil, continuaram-se os estudos dos MIPs, com enfoque na etapa de limpeza (remoção da molécula alvo do MIP). Inicialmente, soluções padrão de teofilina em metanol foram analisadas por espectroscopia de ultravioleta visível (UV-vis) usando o equipamento UV-1650PC de feixe duplo da SHIMADZU, para construir a curva de calibração (Figura 8), com a qual seria possível estimar a quantidade de teofilina que estava sendo removida do MIP (2) durante a limpeza. (Figura 9).

Os valores de absorbância no comprimento de onda de 273nm^{15,16} associada à transição eletrônica no anel aromático, foram usados para construir a curva de calibração, apresentada na Figura 8. O valor da absortividade, a (m²/g), foi determinado a partir da lei de Beer-Lambert, Equação (1):

$$A = abc \quad \text{Eq. (1)}$$

onde:

A - é a absorbância (unidades arbitrárias);

a - é a absortividade (m² g⁻¹);

b - é o caminho óptico da amostra (m);

c - é a concentração da solução (g L^{-1}).

A relação A/c é obtida a partir da equação da reta da curva de calibração ($Y=58,147.X + 0,01$) e sua unidade é convertida de L g^{-1} para $\text{m}^3 \text{g}^{-1}$. Depois, esse valor é dividido por b (0,01m) obtendo-se a absortividade ($5,815 \text{ m}^2 \text{g}^{-1}$). Sabe-se a concentração de teofilina na solução polimérica (14 mg.mL^{-1}) e o volume da gota usada na polimerização ($5 \mu\text{L}$). Logo, a quantidade esperada de teofilina no filme é de $70 \mu\text{g}$.

Figura 8. Curva de calibração para teofilina.

Na etapa de limpeza, o sensor era imerso em 20 mL de metanol sob agitação e em intervalos regulares recolhia-se 3 mL dessa solução para análise no espectrômetro UV-vis. O valor de absorbância obtido em 273nm foi usado na construção da curva apresentada na Figura 9. Após a análise, essa alíquota era devolvida ao béquer de limpeza. Esse procedimento foi realizado por 240 minutos. Após esse período, quase metade do filme havia sido removido do eletrodo. Com base no valor de absorbância em 240 min (0,284) e na equação 3, concluiu-se que a massa de teofilina removida do filme era de $14,64 \mu\text{g}$. Parte dessa diferença pode ser atribuída ao processo de fabricação do filme, porque ao se colocar a transparência sobre a gota da solução polimérica, parte dela era removida da superfície do

vidro, restando uma quantidade menor, porém suficiente para formar um filme uniforme sobre a superfície dos eletrodos. Embora a quantidade calculada seja cerca de 5 vezes menor que a estimada, esta análise possibilitou comprovar que havia teofilina no filme polimerizado sobre o ITO.

Figura 9. Remoção da teofilina do sensor baseado em MIP durante o procedimento de limpeza (metanol sob agitação).

Diante da baixa adesão dos MIPs, a análise desses sensores foi interrompida para a conclusão do estudo usando sensores químicos poliméricos não-específicos na análise de amostras de água contaminadas com 2-metilisoborneol, geosmina e isoborneol, apresentado nesta tese.

REFERÊNCIAS DO APÊNDICE A

- [1] TARLEY, C.R.T., SOTOMAYOR, M.D.P., KUBOTA, L.T.; *Polímeros biomiméticos em química analítica. Parte 2: aplicações de MIP ("molecularly imprinted polymers") no desenvolvimento de sensores químicos*; Quim. Nova 28 (2005) 1087-1101
- [2] ALEXANDER, C., et al.; *Molecular imprinting science and technology: a survey of the literature for the years up to and including 2003*; J. Mol. Recognit. 19 (2006) 106-180.
- [3] KINDSCHY, L.M., ALOCILJA, E.C.; *Development of a molecularly imprinted biomimetic electrode*; Sensors 7 (2007) 1630-1642.
- [4] JI, H-S, et al.; *Selective piezoelectric odor sensor using molecularly imprinted polymers*; Anal. Chim. Acta 390 (1999) 93-100.
- [5] JI, H-S, et al.; *Increasing the sensitivity of piezoelectric odour sensors based on molecularly imprinted polymers*; Biosensors and Bioelectronics 15 (2000) 403-409.
- [6] National Jewish Healthy, <http://www.nationaljewish.org/healthinfo/medications/lung-diseases/longterm/theophylline-faqs.aspx>, em 22/04/2010.
- [7] ULYANOVA, Y.V., BLACKWELL, A.E., MINTEER, S.D.; *Poly(methylene green) employed as molecularly imprinted polymer matrix for electrochemical sensing*; The Analyst 131 (2006) 257-261
- [8] KINDSCHY, L.M., ALOCILJA, E.C.; *A molecularly imprinted polymer on indium tin oxide and silicon*; Biosensors and Bioelectronics 20 (2005) 2163-2167.
- [9] SHOJI, R., TAKEUCHI, T., KUBO, I.; *Atrazine sensor based on molecularly imprinted polymer-modified gold electrode*; Anal. Chem. 75 (2003) 4882-4886.
- [10] FUCHIWAKI, Y., et al.; *6-Chloro-N,N-Diethyl-1,3,5-Triazine-2,4-Diamine (Simazine) Electrochemical Sensing Chip Based on Biomimetic Recognition Utilizing a Molecularly Imprinted Polymer Layer on a Gold Chip* Analytical Letters 41 (2008) 1398-1407.
- [11] SYU, M-J, et al.; *Amperometric detection of bilirubin from a micro-sensing electrode with a synthetic bilirubin imprinted poly(MAA-co-EGDMA) film*; Biosensors and Bioelectronics 22 (2006) 550-557.
- [12] HUANG, C-Y, et al.; *A portable potentiostat for the bilirubin-specific sensor prepared from molecular imprinting*; Biosensors and Bioelectronics 22 (2007) 1694-1699.
- [13] D'AGOSTINO, G., ALBERTI, G., BIESUZ, R., PESAVENTO, M.; *Potentiometric sensor for atrazine based on a molecular imprinted membrane*; Biosensors and Bioelectronics 22 (2006) 145-152.
- [14] WIZIACK, N.K.L.; *Estudo do desempenho de uma língua eletrônica baseada em materiais nanoestruturados*; Dissertação de Mestrado, EPUSP, São Paulo (2005).
- [15] ADAMS, R.F., VANDEMARK, F.L., SCHIMDT, G.J.; *More sensitive high-pressure liquid-chromatographic determination of theophylline in serum*; Clin. Chem. 22 (1976) 1903-1906.
- [16] BUDVÁRINÉ-BÁRÁNY, Z., et al.; *HPLC purity tests for caffeine, theophylline and theobromine*; Acta Pharm. Hung. 61 (1991) 1-7.

APÊNDICE B – PUBLICAÇÕES E PARTICIPAÇÕES EM CONGRESSOS CIENTÍFICOS

- [1] BRAGA, G.S, PATERNO, L.G., FONSECA, F.J., *Performance of an electronic tongue during monitoring 2-methylisoborneol and geosmin in water samples*; submetido.
- [2] BRAGA, G.S., PATERNO, L.G., FONSECA, F.J.; *Electronic tongue system: tainting compounds detection*; X Brazilian MRS Meeting - SBPMAT 2011, Gramado, RS, Brasil (Setembro de 2011).
- [3] BRAGA, G.S., PATERNO, L.G., FONSECA, F.J.; *Use of an electronic tongue to detect geosmin in distilled water*; International Symposium on Olfactation and Electronic Nose – ISEON2011, Nova Iorque, EUA (Maio de 2011).
- [4] BRAGA, G.S., PATERNO, L.G., FONSECA, F.J., DEL VALLE, MANEL; *Molecularly imprinted polymer based sensor for the detection of theophylline*; International Symposium on Olfactation and Electronic Nose – ISEON2011, Nova Iorque, EUA (Maio de 2011).
- [5] BRAGA, G.S., PATERNO, L.G., FONSECA, F.J.; *Use of an electronic tongue system to detect MIB in distilled water*; International Conference on Food and Agriculture Applications of Nanotechnologies, NanoAgri 2010, São Pedro, SP, Brasil (Junho de 2010).
- [6] BRAGA, G.S., PATERNO, L.G., FONSECA, F.J.; *Use of an electronic tongue system to detect methylisoborneol in distilled water*; AIP Conference Proceedings 1137 (2009) 501-503 (ISOEN 2009, Brescia, Itália).
- [7] BRAGA, G.S., PATERNO, L.G., FONSECA, F.J.; *Use of an electronic tongue system and fuzzy logic to analyze water samples*; AIP Conference Proceedings 1137 (2009) 504-506 (ISOEN 2009, Brescia, Itália).
- [8] BRAGA, G.S., PATERNO, L.G., FONSECA, F.J.; *Water analysis using an electronic tongue system combined with fuzzy logic*; 6th Ibero-American Congress on Sensors – IBERSENSOR 2008, São Paulo, SP, Brasil (Novembro de 2008).
- [9] BRAGA, G.S., LIMA, J.P.H, PATERNO, L.G., FONSECA, F.J., ANDRADE, A.M.; *POMA/PEDOT self-assembled films deposited with an automated system: morphology and electrical characterization*; International Conference on Science and Technology of Synthetic Metals – ICSM 2008, Porto de Galinhas, PE, Brasil (Julho de 2008).

- [10] BRAGA, G.S., PATERNO, L.G., LIMA, J.P.H, FONSECA, F.J., ANDRADE, A.M.; *Influence of the deposition parameters on the morphology and electrical conductivity of PANI/PSS self-assembled films*; Materials Science and Engineering C 28 (2008) 555-562.
- [11] SORRINI, E., FONSECA, F.J., BRAGA, G.S., PATERNO, L.G., DINIZ, D.; *Língua eletrônica no controle de gosto e odor na água*; 24º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária Ambiental – 24º CBESA, Belo Horizonte, MG, Brasil (Setembro de 2007).