

ALTERAÇÕES DE PROPRIEDADES DA ÁGUA POR PROCESSOS FÍSICOS E QUÍMICOS

TESE DE DOUTORADO
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA

Aluna: Maria Eugênia Garcia Porto
Orientador: Prof. José Fernando Gregori Faigle
Departamento de Físico-Química

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA
UNICAMP**

Porto, Maria Eugênia Garcia

ALTERAÇÕES DE PROPRIEDADES DA ÁGUA POR
PROCESSOS FÍSICOS E QUÍMICOS / Maria Eugênia Garcia Porto –
Campinas, [SP:s.n.], 2004.

Orientador: José Fernando Gregori Faigle.

Tese Doutorado – Universidade Estadual de Campinas. Instituto
de Química.

1. Clusters 2. Campo Magnético 3. Fusão Fracionada 4. Diluição Extrema
I. Faigle, José Fernando Gregori. II Universidade Estadula de Campinas. Título

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Fernando Gregori Faigle (Orientador)

Prof. Dr. Efraim Lázaro Reis (DQ-UFV)

Prof. Dr. José Glauco Ribeiro Tostes (UENF)

Profa. Dra. Inés Joekes (IQ-UNICAMP)

Profa. Dra. Teresa Dib Atvars (IQ-UNICAMP)

Este exemplar corresponde à redação final da Tese de Doutorado defendida pela aluna **MARIA EUGÊNIA GARCIA PORTO**, aprovada pela Comissão Julgadora em 06 de fevereiro de 2004.

Prof. Dr. José Fernando Gregori Faigle
(Presidente da Banca)

Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos colegas que fazem ou fizeram parte do nosso grupo de pesquisa pelo companheirismo, dedicação e cumplicidade ao longo do trabalho: Marco, Cassiana, Lara, Luis, Marcos, Juliana, Ana, Rita, Prof. João Muniz e Prof. Nadim Heluany.

Agradeço também à Natura, pela bolsa de pesquisa; a todos do laboratório de ensino, especialmente à Cláudia e ao Divino, pelas ajudas constantes e empréstimo de material; ao Prof. Ulf e alunos do laboratório Phoenix pela disponibilização de equipamentos; ao Prof. Pedro L.O. Volpe e ao Prof. José de Alencar Simoni pelas medidas calorimétricas; ao Cláudio B. Transferetti pelas ajudas nas medidas de refletância no infravermelho e outras; ao Marcelo Janini e Marta W. Donida pelo companheirismo e pela contribuição na correção da tese, e a todos aqueles que direta ou indiretamente ajudaram para a realização deste trabalho, mesmo não sendo citados nominalmente.

Meu agradecimento especial ao Prof. Rogério Custódio que me orientou na parte de estudos teóricos. Pela sua atenção, disponibilidade e dedicação. Muito obrigada.

O meu mais profundo respeito e gratidão ao meu orientador, Prof. Fernando Faigle, por resistir, insistir e concluir. Obrigada pela união da alquimia pessoal em um verdadeiro processo alquímico! Obrigada pela doação e pelo seu exemplo!

Dedico este trabalho a todos aqueles que buscam a verdade apesar do confronto inevitável com o poder, a ciência estabelecida e a cultura de sua época. O legado da verdade é o único seguro e irremediável, principalmente por nos fazer enfrentar a nós mesmos. Dentre os poucos que tive o privilégio de conhecer dedico-o particularmente à Lucia, por me fazer chegar até aqui.

CURRICULUM VITAE

MARIA EUGÊNIA GARCIA PORTO

BACHARELADO EM QUÍMICA – UNICAMP (1993)

MESTRADO EM QUÍMICA – UNICAMP (1998)

“Alterações de Propriedades Biológicas e Físico-químicas da Água Induzidas por Campos Magnéticos.”

Apoio Financeiro CNPq : Ago/1997 a Set /1998

- Bolsa Pesquisa/Empresa para o Projeto de Doutorado oferecido pela Natura Inovação e Tecnologia de Produtos Ltda : Out/1998 a Set/2002
- Professora de Ensino Superior
Cursos de Engenharia Ambiental e Engenharia de Alimentos
Centro Regional Universitário de Espírito Santo do Pinhal – CREUPI

Artigos Publicados

- Ferreira, M.M.C., Porto, M.E.G. ; “Uma Química Quântica Visual : Unindo o Útil ao Agradável”, *Química Nova*, **1993**, 16 (6), 589-595.
- Ferreira, M.M.C.; Ferreira, W.C.; Lino, A.C.S.; Porto, M.E.G. ; “Uncovering Oscillations, Complexity and Chaos in Chemical Kinetics Using *Mathematica*”; *J. Chem. Education*, **1999**, 76 (6), 861-866.
- Faigle, J.F.G. e Porto, M.E.G.; “Evidências de alterações de comportamentos da água quando submetida a campos magnéticos”; *Anais do Congresso “A Homeopatia no Século XXI ”*, **2000**, 65-77.
- Porto, M.E.G. e de Souza, A.A.; “Estudos de Movimentos Moleculares em Líquidos por Relaxação de Spins Nucleares e por Relaxação Dielétrica”; *Anais Assoc. Bras. Quím.*, **2002**, 51(3), 113-124.
- Faigle, J.F.G.; Porto, M.E.G e Barboza, M.A.; “Evidências de Estruturação da Água em Soluções Diluídas de Cloreto de Magnésio”, *Revista de Homeopatia da Associação Médica Homeopática Brasileira – AMHB*, **2002**, nº 4, 6-11.

Participação em Congresso

- Congresso Médico Internacional: A Homeopatia no Século XXI, Centro de Convenções - Unicamp – Campinas, 30 de novembro de 2000. “Soluções não moleculares – Bases científicas: *Vertentes físico-químicas*”.
- I Seminário Sobre Ciências Básicas em Homeopatia, Universidade Federal de Viçosa, MG, 02 de novembro de 2002. “Propriedades da Água Induzidas por Campos Magnéticos”.
- VI Seminário Sobre Homeopatia na Produção Orgânica, ESALQ – Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz, Piracicaba – SP, 30 de março de 2003. “Estruturação de Solventes”
- Jornada Científica Farmacêutica, Escola Paulista de Homeopatia, São Paulo, 12 de julho de 2003. “Estudo de Alterações de Propriedades Físico-Químicas e Biológicas da Água”
- II Seminário Sobre Ciências Básicas em Homeopatia, Universidade Federal de Viçosa, MG, 13 de dezembro de 2003. “Alteração da Cinética de Permeação de Água em Sistemas Biológicos”.
- 24^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ, 28 a 31 de maio de 2001. “Influência do campo magnético na cristalização de carbonato de cálcio” M.A. Barboza, M.E.G. Porto e J.F.G. Faigle.
- 24^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ, 28 a 31 de maio de 2001. “Alteração na absorção de U.V. de água quando exposta a campos magnéticos.” M.A. Barboza, M.E.G. Porto e J.F.G. Faigle.
- 25^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ, 20 a 23 de maio de 2002. “Formação de Agregados de Moléculas de Água em Soluções Diluídas” J.F.G. Faigle, M.E.G. Porto e M.A. Barboza.
- 25^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ, 20 a 23 de maio de 2002. “Novas Propriedades da Água.” J.F.G. Faigle, M.E.G. Porto e M.I. Ortolan.
- *I Forum de Professores de Química do Ensino Médio*, 13 e 14 de janeiro de 2003. Organização Grupo G6 – Universidade Federal de São Carlos UFSCar

RESUMO

ALTERAÇÕES DE PROPRIEDADES DA ÁGUA POR PROCESSOS FÍSICOS E QUÍMICOS

Autora: Maria Eugênia Garcia Porto

Orientador: Prof. Dr. José Fernando Gregori Faigle

Os modelos que prevêem uma distribuição de *clusters* de diversos tamanhos e formas para a água líquida nos fazem supor que alterações dessa estrutura devem promover mudanças no comportamento da água.

Ao longo deste trabalho testamos três tipos de processos que, segundo a literatura, deveriam alterar o comportamento da água líquida associado às mudanças estruturais do sistema: a adição de solutos ao meio aquoso, a fusão fracionada da água e a exposição da água ao campo magnético.

As medidas físico-químicas da água tratada e das soluções extremamente diluídas de $MgCl_2$ e CH_3COOH apresentaram um aumento de absorção de luz UV em relação ao controle, na região entre 200-300 nm, que corresponde à cauda do pico de absorção da água. Os valores de condutividade elétrica tiveram um incremento de $\sim (1,00 \pm 0,20) \mu S \text{ cm}^{-1}$ após a água passar por um dos processos anteriores. Nos testes de intumescimento evidenciou-se uma rápida absorção da água tratada pelas sementes de trigo, indicando uma alteração na cinética de permeação desta quando comparada ao controle. No processo germinativo dessas sementes houve uma estimulação no crescimento das plântulas, uma maior homogeneidade e vigor das mesmas. Com a otimização das propriedades características de *clusters* pequenos, desenvolveu-se um hidratante para a pele somente com água tratada, sem o uso de formulações gordurosas. Esse hidratante promoveu um aumento real da quantidade de água capaz de permear o estrato córneo, hidratando-o em até 28%.

Cálculos matemáticos utilizando métodos Hartree-Fock e Teoria de Funcional de Densidade para *clusters* de até 12 moléculas de água indicaram uma estabilização energética progressiva do sistema.

ABSTRACT

ALTERATIONS OF WATER PROPERTIES BY PHYSICAL AND CHEMICAL PROCESSES

Author: Maria Eugênia Garcia Porto

Advisor: Prof. Dr. José Fernando Gregori Faigle

Models that propose cluster distributions for liquid water usually relate structure changes to alterations of the water behavior.

During this work we test three kinds of processes that, according to the literature, should alter the water behavior associated to structure changes of the system: addition of solute in aqueous medium, fractional melting of water and magnetic field treatment. To verify the alterations of the water properties after these processes some biological and physico-chemical measurements of properties that have been related to cluster size in liquid water were selected.

Water with a probable new cluster size distribution presents some changes in physico-chemical measurements as high absorption of ultraviolet light, in the range of 200-300nm, which corresponds to the tail of water absorption. Treated water presents also an increase of about $(1,00 \pm 0,20) \mu\text{S cm}^{-1}$ of electric conductivity when compared to reference. Biological tests revealed an increase of seed's treated water permeation and a better germination process when compared to control. Optimizing small clusters properties on water we achieved 28% of stratum corneum's hydration, without creams and ointments. These results contributed to the development of a hydration solution for human skin based on cluster size concepts.

Calculations using Hartree-Fock Method and Density Functional Theory for clusters of size ranging from 2 to 12 water molecules indicated a progressive energetic stabilization of the system.

ÍNDICE

Lista de Figuras _____ xii

Lista de Tabelas _____ xvii

CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS

Introdução _____ 02

Objetivo _____ 10

Argumentação Teórica _____ 11

CAPÍTULO II - ESTUDOS EXPERIMENTAIS

Introdução _____ 21

Procedência dos Reagentes Utilizados _____ 30

Materiais e Equipamentos Utilizados _____ 30

PARTE I - PREPARAÇÃO E UTILIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES

Procedimentos do Preparo das Soluções

Preparação de Soluções em Diluições Extremas _____ 31

Fusão Fracionada da Água _____ 33

Exposição da Água ao Campo Magnético _____ 34

Medidas Experimentais

Espectroscopia na Região do Ultravioleta _____ 36

Condutividade Elétrica _____ 52

Intumescimento e Germinação de Sementes de Trigo _____ 56

Hidratação do Estrato Córneo _____ 67

Adição de um Corante _____ 81

Comentários Gerais _____ 84

PARTE II – APLICAÇÃO: PREPARAÇÃO DE SOLUÇÃO HIDRATANTE

Procedimento do Preparo da Solução Hidratante _____ **92**

Medidas Experimentais

Espectroscopia na Região do Ultravioleta _____ **94**

Condutividade Elétrica _____ **95**

Intumescimento e Germinação de Sementes de Trigo _____ **97**

Hidratação do Estrato Córneo _____ **105**

Comentários Gerais _____ **109**

CAPÍTULO III - ESTUDOS TEÓRICOS

Introdução _____ **112**

Cálculos _____ **113**

Comentários Gerais _____ **131**

CAPÍTULO IV - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Discussão Geral _____ **134**

Conclusão _____ **139**

CAPÍTULO V – COMPLEMENTAÇÃO

Adendo _____ **141**

Apêndices

Apêndice I. Funcionais de Troca e de Correlação _____ **152**

Apêndice II. Tabelas com Resultados dos Cálculos _____ **154**

Bibliografia _____ **170**

Lista de Figuras

1. Diagrama de fase do gelo.....11
2. Formação do gelo no sistema cristalino hexagonal tipo Ih, a partir de estruturas tetraédricas de água.....13
3. Ilustração de duas moléculas de água formando uma ligação de hidrogênio...15
4. Curvas de energia potencial para diferentes tipos de ligação de hidrogênio....16
5. Regiões de moléculas de água que sofrem orientação ao redor do íon central, com menor influência deste à medida em que se distanciam até as camadas mais externas.....22
6. Íon magnésio ligado a seis moléculas de água, sendo que uma ou mais dessas moléculas podem ser substituídas por um ligante (L) 25
7. Ilustração das camadas de um cristal de gelo e as correlações destas camadas com as frações obtidas por fusão fracionada da água.....28
8. Esquema da montagem experimental utilizada na preparação da água exposta ao campo magnético 35
9. Espectros diferenciais de absorção de luz UV de soluções de $MgCl_2$ em concentrações nominais entre 10^{-7} mol L^{-1} e 10^{-19} mol L^{-1} , em relação ao espectro médio da água controle.....41
10. Espectros diferenciais de absorção de luz UV de soluções de CH_3COOH em concentrações nominais entre 10^{-7} mol L^{-1} e 10^{-19} mol L^{-1} , em relação ao espectro médio da água controle..... 42
11. Valores das áreas sob as curvas de absorção de UV das soluções de $MgCl_2$ e CH_3COOH em concentrações nominais entre 10^{-5} mol L^{-1} e 10^{-19} mol L^{-1} 44
12. Valores das áreas sob as curvas de absorção de UV das soluções de $MgCl_2$ em concentrações nominais entre 10^{-5} mol L^{-1} e 10^{-19} mol L^{-1} 44
13. Espectro diferencial de absorção de luz UV das 1ª, 2ª e 3ª frações de água obtidas por fusão fracionada e do controle, em relação ao espectro da água desionizada utilizado como linha base.....46
14. Curvas diferenciais de absorção de luz UV das 1ª e 3ª frações (5% em volume), da 2ª fração (90% em volume) e do controle..... 47

15. Curvas diferenciais de absorção de luz UV das 1ª e 3ª frações (15% em volume), da 2ª fração (70% em volume) e do controle.....	47
16. Curvas diferenciais de absorção de luz UV da 1ª fração 5%, 10% e 15% em volume do cristal de gelo, em relação à água desionizada.....	48
17. Espectro diferencial de absorção de luz UV das 1ª, 2ª e 3ª frações de água provenientes do congelamento a partir no centro do cristal de gelo e do controle, em relação ao espectro da água desionizada	49
18. Curva diferencial de absorção de luz UV da água exposta ao campo magnético em relação ao controle	51
19. Curvas diferenciais de absorção de UV da água exposta ao campo magnético em relação ao controle, antes e após o borbulhamento de argônio	51
20. Razão entre o número de plântulas normais (N) e o número de plântulas anormais (A) de trigo irrigadas com o controle e com a solução de $MgCl_2$ $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, no 4º dia de germinação	60
21. Aumento de massa de água absorvida pelas sementes de trigo quando imersas na 1ª e na 3ª frações em relação ao controle, em percentagem.....	61
22. Percentagem de plântulas normais (N) e anormais (A) de trigo no 4º dia de germinação, quando previamente intumescidas e regadas com a 1ª fração e com o controle.....	62
23. Fotos do 4º dia de germinação de plântulas de trigo irrigadas com a 1ª fração de água obtida por fusão fracionada e com o controle.....	63
24. Aumento de massa de água absorvida pelas sementes de trigo em relação ao controle em percentagem.....	64
25. Razão entre o número de plântulas de trigo normais (N) e o de anormais (A) no 4º dia de germinação, quando irrigadas com o controle e com a água exposta ao campo magnético	65
26. Ponte de impedância capaz de medir capacitância, na qual um dos componentes é um capacitor aberto (Z_p) e a pele é o dielétrico entre as placas do capacitor.....	67

27. Incremento médio de hidratação do estrato córneo em relação à área de referência(%) com a aplicação de soluções aquosas de glicerina em diferentes composições.....	69
28. Variação de resposta individual típica à hidratação do estrato córneo produzida por uma solução de $MgCl_2$ $1,6 \times 10^{-7}$ mol L^{-1}	74
29. Hidratação do estrato córneo produzida por soluções de $MgCl_2$ $1,6 \times 10^{-7}$ mol L^{-1} , preparadas em sextuplicatas.....	74
30. Aumento de hidratação do estrato córneo (%) em relação à área de referência para a 1ª fração obtida pela fusão fracionada da água.	75
31. Variação de resposta individual à hidratação do estrato córneo produzida pela 1ª fração 5%.....	76
32. Hidratação do estrato córneo produzida pela 1ª fração 5% obtida em seis experimentos, utilizando-se sempre a mesma técnica de fracionamento.....	76
33. Hidratação do estrato córneo produzida pela 1ª fração de água 5% obtida por congelamento a partir do núcleo do cristal, em três fracionamentos.....	77
34. Variação de resposta individual à hidratação do estrato córneo produzida pela água exposta ao campo magnético em relação à área de referência.....	79
35. Hidratação do estrato córneo produzida pela água exposta ao campo magnético obtida em seis experimentos diferentes.....	79
36. Visualização da dispersão do corante Azul de Toluidina nas frações de água e controle, após congelamento das amostras	82
37. Espectro diferencial de absorção de UV das seguintes amostras: hidratante, água exposta ao campo magnético e as 1ª e 3ª frações de água	94
38. Aumento de massa de água absorvida (%) em relação ao controle das amostras: hidratante 3%, água exposta ao campo e 1ª e 3ª frações	98
39. Razão entre o número de plântulas de trigo normais (N) e o de anormais (A) no 4º dia de germinação, quando irrigadas com: solução de $MgCl_2$ $1,6 \times 10^{-7}$ mol L^{-1} , 1ª fração obtida por fusão fracionada da água, água exposta ao campo magnético e hidratante 3%, em relação ao controle.....	99
40. Tamanho médio da parte aérea das plântulas de trigo (cm) do lote controle, após o 4º dia de germinação	101

41. Tamanho médio da parte aérea das plântulas de trigo (cm) do lote irrigado com água exposta ao campo magnético, após o 4º dia de germinação	101
42. Tamanho médio da parte aérea das plântulas de trigo (cm) do lote irrigado com o hidratante 3%, após o 4º dia de germinação	102
43. Curvas de tendência do tamanho da parte aérea das plântulas de trigo dos lotes irrigados com água exposta ao campo, hidratante 3% e controle	103
44. Fotos do 4º dia de germinação das plântulas de trigo intumescidas e regadas com água tratada em campo magnético, hidratante 3% e controle.....	104
45. Aumento da hidratação do estrato córneo após a aplicação de hidratantes preparados a partir de água tratada no campo magnético, com a adição de diferentes quantidades de MgCl ₂	105
46. Aumento da hidratação no estrato córneo após a aplicação do hidratante diluído em água desionizada em diferentes percentagens de volume.....	106
47. Percentagem de aumento da hidratação da pele após a aplicação das amostras nos intervalos de 2, 5 e 8 horas: (A) água exposta ao campo magnético, (B) 1ª fração 4%, (C) hidratante e (D) hidratante 3%.....	107
48. Variação da energia interna (E) da água em função do fluxo magnético (B) e função de distribuição radial (g) da molécula de água sob várias intensidades de campo magnético aplicado.....	113
49. Energia de interação por molécula quando $n \rightarrow \infty$, para as bases STO-3G, 6-31G, SBK e SBK(d,p), com e sem o cálculo do BSSE.....	118
50. Curvas dos valores de energia de interação por molécula de água (ΔE e $\Delta E'$) utilizando-se os conjuntos de base 6-31G, SBK e SBK(d,p).....	118
51. Energia de interação por molécula quando $n \rightarrow \infty$, utilizando-se os métodos BLYP, B3LYP e BPW91, com funções pVDZ e pVTZ.....	122
52. Curvas dos valores de energia de interação por molécula de água (ΔE) utilizando-se os métodos BLYP, B3LYP e BPW91.....	122
53. Energia de interação por molécula quando $n \rightarrow \infty$ utilizando-se os métodos BLYP, B3LYP e BPW91 com funções de base duplo zeta de valência (cc-pVDZ), com e sem a correção do erro BSSE.....	124

54. Energia de interação por molécula quando $n \rightarrow \infty$ utilizando-se os métodos BLYP, B3LYP e BPW91 com funções de base triplo zeta de valência (cc-pVTZ), com e sem a correção do erro BSSE	124
55. Curvas dos valores de energia de interação por molécula de água (ΔE e $\Delta E'$) utilizando-se os métodos BLYP, B3LYP e BPW91 e bases duplo zeta de valência (cc-pVDZ), com e sem a correção do erro BSSE.....	125
56. Curvas dos valores de energia de interação por molécula de água (ΔE e $\Delta E'$) utilizando-se os métodos BLYP, B3LYP e BPW91 e bases triplo zeta de valência (cc-pVTZ), com e sem a correção do erro BSSE.....	125
57. Curvas dos valores de energia de interação por molécula de água (ΔE), com os métodos BLYP e BPW91, cc-pVTZ.....	127
58. <i>Clusters</i> de água (H ₂ O) _n (n = 2 a 5) obtidos pelo cálculo de energia das estruturas utilizando-se da DFT, com método e funções de base BLYP-pVTZ.....	128
59. <i>Clusters</i> de água (H ₂ O) _n (n = 6 a 9) obtidos pelo cálculo de energia das estruturas utilizando-se da DFT, com método e funções de base BLYP-pVTZ.....	129
60. <i>Clusters</i> de água (H ₂ O) _n (n = 10 a 12) obtidos pelo cálculo de energia das estruturas utilizando-se da DFT, com método e funções de base BLYP-pVTZ.....	130
61. Espectros do índice de refração em vários números de onda para as amostras: hidratate 4%, solução de MgCl ₂ 4,0 x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ e água desionizada.....	142
62. Espectros do índice de absorção em vários números de onda para as amostras: hidratate 4%, solução de MgCl ₂ 4,0 x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹ e água desionizada.....	143
63. Curvas de absorção de luz UV/Vis das soluções aquosas de iodo expostas aos pólos norte e sul e do controle.....	144
64. Curvas de absorção de luz UV pelas amostras indicadas no gráfico.....	146

65. Curvas de tensão superficial em função da concentração de SDS para os solventes água desionizada e água desionizada exposta ao campo magnético sob a influência de uma solução de NaHCO_3148
66. Aumento da velocidade de ascensão capilar em papel cromatográfico da água tratada em campo magnético em relação ao controle.....149

Lista de Tabelas

1. Propriedades de alguns minerais da classe dos silicatos e suas relações com as formas do gelo.....12
2. Entropia padrão dos íons em solução aquosa, raio efetivo aproximado do íon em solução aquosa e raio iônico no cristal.....24
3. Condutividade elétrica média (k) e as respectivas estimativas de desvio padrão para as 1^{as} frações de água e controle.....54
4. Condutividade elétrica média (k) e as respectivas estimativas de desvio padrão da água exposta ao campo magnético e do controle.....56
5. Valores médios de hidratação do estrato córneo 2, 5 e 8 horas após a aplicação das soluções de MgCl_272
6. Condutividade elétrica média (k) e as respectivas estimativas de desvio padrão do hidratante, hidratante 3%, soluções de MgCl_2 e controle.....96
7. Energia de interação por molécula de água quando $n \rightarrow \infty$, para as bases STO-3G, 6-31G, SBK e SBK(d,p).....115
8. Energia de interação por molécula de água quando $n \rightarrow \infty$, para as bases STO-3G, 6-31G, SBK e SBK(d,p), utilizando-se o cálculo BSSE117
9. Funções de polarização atribuídas aos átomos nas funções de base duplo zeta de valência (cc-pVDZ) e triplo zeta de valência (cc-pVTZ).....120
10. Energia de interação por molécula de água quando $n \rightarrow \infty$, para os métodos BLYP, B3LYP e BPW91, nas bases pVDZ e pVTZ.....121
11. Energia de interação por molécula de água quando $n \rightarrow \infty$, utilizando-se utilizando-se os métodos BLYP, B3LYP e BPW91, nas bases pVDZ e pVTZ, com o cálculo do BSSE.....123

12. Tabela de Coerência : desempenho das amostras estudadas frente às medidas físico-químicas e biológicas realizadas.....	135
13. Condutividade elétrica média e as respectivas estimativas de desvio padrão para as amostras: água desionizada; água desionizada + superfície de vidro; água desionizada + superfície de vidro + campo magnético; água desionizada + superfície de vidro + campo magnético + solução de NaHCO ₃ ou de H ₂ O ₂ sob a influência do mesmo campo.....	146

TABELAS DO APÊNDICE II

1. Valores das energias mínimas (u.a.) obtidas para as geometrias otimizadas dos <i>clusters</i> (H ₂ O) _n (1 ≤ n ≤ 12), com os conjuntos de base STO-3G, 6-31G, SBK e SBK (d,p).....	154
2. Valores de ΔE (kcal mol L ⁻¹) calculados para <i>clusters</i> (H ₂ O) _n (1 ≤ n ≤ 12), com os conjuntos de base STO-3G, 6-31G, SBK e SBK (d,p).....	155
3. Valores de ΔE' (kcal mol L ⁻¹) calculados para <i>clusters</i> (H ₂ O) _n (1 ≤ n ≤ 12), com os valores de energia apresentados nas tabelas 4, 5, 6 e 7.....	156
4. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os <i>clusters</i> (H ₂ O) _n (1 ≤ n ≤ 12), com o conjunto de base STO-3G.....	157
5. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os <i>clusters</i> (H ₂ O) _n (1 ≤ n ≤ 12), com o conjunto de base 6-31G.....	158
6. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os <i>clusters</i> (H ₂ O) _n (1 ≤ n ≤ 12), com o conjunto de base SBK.....	159
7. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os <i>clusters</i> (H ₂ O) _n (1 ≤ n ≤ 12), com o conjunto de base SBK (d,p).....	160
8. Valores das energias (u.a.) obtidas para os <i>clusters</i> (H ₂ O) _n (1 ≤ n ≤ 12), calculados para os métodos BLYP, B3LYP e BBW-91.....	161
9. Valores de ΔE (kcal mol L ⁻¹) calculados para <i>clusters</i> (H ₂ O) _n (1 ≤ n ≤ 12), para os métodos BLYP, B3LYP e BBW-91.....	162
10. Valores de ΔE' (kcal mol L ⁻¹) calculados para <i>clusters</i> (H ₂ O) _n (1 ≤ n ≤ 12), com os valores de energia apresentados nas tabelas 11-16	163

11. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os <i>clusters</i> $(\text{H}_2\text{O})_n$ ($1 \leq n \leq 12$), com o método BLYP / cc-pVDZ.....	164
12. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os <i>clusters</i> $(\text{H}_2\text{O})_n$ ($1 \leq n \leq 12$), com o método BLYP / cc-pVTZ.....	165
13. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os <i>clusters</i> $(\text{H}_2\text{O})_n$ ($1 \leq n \leq 12$), com o método B3LYP / cc-pVDZ.....	166
14. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os <i>clusters</i> $(\text{H}_2\text{O})_n$ ($1 \leq n \leq 12$), com o método B3LYP / cc-pVTZ.....	167
15. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os <i>clusters</i> $(\text{H}_2\text{O})_n$ ($1 \leq n \leq 12$), com o método BPW-91 / cc-pVDZ.....	168
16. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os <i>clusters</i> $(\text{H}_2\text{O})_n$ ($1 \leq n \leq 12$), com o método BPW-91 / cc-pVTZ.....	169

“Também na ciência é impossível abrir novos campos se não se estiver disposto a deixar o ancoradouro seguro da doutrina aceita e enfrentar o perigo de um arriscado salto à frente em direção ao vazio.”

W. Heisenberg

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Introdução

Apesar da água ser uma substância essencial à vida na Terra ainda não se tem, de forma concensual e inequívoca, um modelo que descreva as interações que ocorrem na água líquida. Seu estudo demandou grandes esforços de muitos físico-químicos durante os últimos 50 anos. Diferentes modelos estruturais foram propostos ao longo deste período, mas até agora nenhum deles se mostrou completamente satisfatório, no sentido de abranger e explicar os comportamentos e propriedades da água [1,2].

O conceito de “estrutura” de um líquido deve ser entendido dentro de uma visão dinâmica, já que neste caso a posição média de uma molécula sofre alterações em um curto intervalo de tempo [3]. Diferente de um sólido, que possui estrutura bem definida, um meio líquido se caracteriza pelos choques e mudanças de orientação de suas moléculas a intervalos de tempo muito curtos. Mesmo assim, algumas estruturas locais são estáveis no meio líquido e se mantêm em equilíbrio dinâmico com as moléculas livres do solvente, que se orientam para participar da estruturação local. Para a água líquida a 25 °C, o tempo médio de reorientação de uma molécula é 10^{-12} s (região de microonda) [3].

Em 1933 Bernal e Fowler [4] foram os primeiros a defender que a água líquida seria composta por arranjos preferencialmente tetracoordenados de moléculas de H₂O, interligados uns aos outros continuamente. Esses arranjos tetraédricos de moléculas H₂O mudariam seu “empacotamento” de acordo com a temperatura do sistema: abaixo de 4 °C a água seria formada preferencialmente por arranjos do tipo tridimita (*tridymite-like*); entre 4 °C e 200 °C os arranjos seriam na sua grande maioria do tipo quartzo (*quartz-like*); e entre as temperaturas de 200 °C e 340 °C os arranjos da água seriam do tipo amônia (*close packed ammonia-like*). A hipótese da existência desses vários arranjos se fundamentou em alguns comportamentos da água, principalmente nos valores de densidade em função da temperatura, como será visto mais adiante no ítem **Argumentação Teórica**.

Em 1950 Pople [5,6], trabalhando com o modelo proposto por Bernal e Fowler [4], propôs um modelo para a água líquida no qual admite-se pequenas distorções locais nas ligações de hidrogênio, mas não se prevê alterações na macro-estrutura da rede contínua de moléculas de H₂O. Esse modelo foi chamado de modelo contínuo.

Em 1957 Frank e Wen [7] apresentaram outra visão para a modelização da água. Sendo aceito na época o fato de que a água líquida retém certa similaridade com o gelo, os autores descreveram a água como um meio que possui estruturas *ice-like*, em maior ou menor grau, de acordo com a temperatura e a pressão do sistema. Durante a fusão da água, a rede cristalina perde gradualmente a ordenação característica do estado sólido, passando para a estrutura menos ordenada do líquido. No entanto, a rede cristalina do sólido não se destrói completamente. Aparecem irregularidades que diminuem a ordem cristalina a longas distâncias e a ampla periodicidade da rede do sólido [8]. O líquido, por sua vez, guarda uma regularidade de organização espacial e mantém certas estruturas *ice-like*, semelhantes ao cristal de gelo. Essas estruturas locais unidas através das ligações de hidrogênio formam *clusters* que estão em constante movimentação. Este modelo passou a ser conhecido como modelo de misturas, em contraste com o modelo contínuo de Pople.

Mais tarde, em 1962, Bernal [9] reformulou sua visão sobre a água dizendo que este líquido seria constituído por uma rede de moléculas de água tetracoordenadas, formando anéis de 4, 5, 6, 7 ou mais moléculas. Anos depois, em 1999, Zvereva [10] previu através de cálculos matemáticos diferenças na energia desses anéis ou *clusters* de água, de acordo com o número de moléculas que os compõem, tanto para o estado eletrônico fundamental como para o excitado. Nessa mesma época, Harvey [11] previu teoricamente espectros na região do ultravioleta (UV) para *clusters* de água, onde cada arranjo tem o seu máximo de absorção de luz em uma frequência específica.

Recentemente, alguns autores têm evidenciado teórica e experimentalmente que a estrutura da água líquida ou, numa visão mais atual, que o tamanho e a geometria dos *clusters* presentes no meio são responsáveis por várias

propriedades físico-químicas desta substância [12-17]. Esta constatação, ainda pouco assimilada mesmo nos meios acadêmicos mais atualizados, é de fundamental importância, uma vez que nos leva a pensar na água como $(\text{H}_2\text{O})_n$, sendo o valor de n determinante de diversas propriedades.

Pesquisadores [13-19] que atuam na investigação de estruturas de *clusters* $(\text{H}_2\text{O})_n$ ($n=2-6$), a partir de modelos teóricos e resultados experimentais obtidos em espectrômetros de tunelamento em Berkeley - Califórnia, analisaram o tamanho dos *clusters* de água, número de ligações de hidrogênio presentes e estruturas de menor energia em determinadas temperaturas, sugerindo que tais parâmetros estão intimamente relacionados com várias propriedades da água. Em 2001 foram obtidos, pela primeira vez, espectros de alta resolução do estiramento vibracional e movimentos libracionais de trímeros de água, $(\text{H}_2\text{O})_3$ e $(\text{D}_2\text{O})_3$ [18,19]. Os pesquisadores obtiveram a banda vibracional do $(\text{D}_2\text{O})_3$ centrada em $142,8 \text{ cm}^{-1}$ e quatro bandas libracionais do $(\text{H}_2\text{O})_3$ entre $515-528 \text{ cm}^{-1}$. Esta foi a primeira observação experimental do estiramento vibracional da ligação de hidrogênio e de movimentos libracionais para um *cluster* de água.

Estudos [13-33] que pretendem elucidar a estrutura da água e propriedades correlatas se baseiam fundamentalmente em cálculos de energia e na importância da cooperatividade das ligações de hidrogênio existentes no meio. Cada tamanho e/ou geometria de um *cluster* apresenta uma energia diferente e é a partir desses valores de energia que se infere quais são as estruturas mais prováveis de existir em determinadas condições de temperatura e pressão.

Por outro lado, encontramos muitos trabalhos [34-39] que não se vinculam a modelos, apenas evidenciam, através de técnicas espectroscópicas na região do infravermelho ou de cálculos teóricos, a existência de duas estruturas distintas em equilíbrio na água líquida, consideradas por alguns autores como “água livre” e “água ligada”. A proporção destas duas estruturas varia com a temperatura do sistema. Com a adição de solutos aparece ainda uma terceira estrutura de água relacionada à esfera de solvatação do solvente ao redor do soluto [37].

Estudos recentes mostram a agregação de solutos formando *clusters* maiores à medida em que as soluções são mais diluídas, o que em princípio não é

intuitivo. A partir de medidas de espalhamento de luz laser e microscopia eletrônica de varredura observou-se que o tamanho dos *clusters* de compostos de fulereno aumentava à medida em que a solução era diluída [38].

Apesar de vários modelos para a estrutura da água se basearem no modelo de *clusters*, ainda não ficou estabelecido quais *clusters* são mais estáveis em uma determinada condição. Muito menos se pode esclarecer qual a relação entre a estrutura dos *clusters* e o comportamento do sistema.

No entanto, existem patentes [40,41], artigos relatados na literatura [42] e produtos comerciais [43,44] que empregam água supostamente microclusterizada ou desclusterizada (*microclustered water, declustered water*), sugerindo que a água enriquecida em *clusters* menores passa a adquirir algumas propriedades benéficas, sendo utilizada como princípio ativo de hidratantes para pele e cabelos, *sprays* nasais e loção para os olhos (colírio).

Esta noção empírica de que diversas propriedades exibidas por uma amostra de água dependem do tamanho e geometria dos *clusters* ganha consistência quando acoplada aos trabalhos de Berezin [45] e Zhou [46] que propõem o enfraquecimento e quebra de ligações de hidrogênio da água quando submetida à ação de campos magnéticos. Segundo Zhou [46] e Kochmarsky [3] o campo magnético modifica as interações de spin eletrônico, diminuindo a probabilidade de formação das ligações de hidrogênio. Esta diminuição e/ou quebra das ligações de hidrogênio possibilita a formação de novos arranjos de *clusters* para as moléculas de água. Entende-se, portanto, que campos magnéticos devem alterar a distribuição de tamanho dos *clusters* e essa distribuição define pelo menos algumas das propriedades da água. Entretanto, ainda não existe nenhuma medida experimental capaz de prever a distribuição de tamanho de *clusters* em líquidos. A quebra das ligações de hidrogênio por ação do campo magnético ou pela adição de alguns solutos pode ser prevista teoricamente mas, a determinação inequívoca do tamanho dos *clusters* numa amostra de água é impossível até o momento. Normalmente as alterações populacionais na distribuição do tamanho de *clusters* são inferidas a partir das mudanças de comportamento da água quando tratada por um processo qualquer.

No entanto, existem várias evidências de que a água tratada em campos magnéticos possui propriedades diferentes da água não tratada. Alterações em medidas de entalpia de solução [47], adsorção de água em superfícies [48], cristalização e precipitação de sais [49,50], solubilidade de alguns minerais[51-54], dureza e resistência na preparação de concreto [55], tensão superficial [56] e efeitos hidrodinâmicos [57-61] são observados quando a água é submetida à ação de campos magnéticos. Algumas patentes e equipamentos comerciais que utilizam o tratamento da água em campo magnético para o consumo doméstico, indicam uma provável eficiência desses processos [62-66].

Na indústria do petróleo [67] a cristalização de parafina em colunas, linhas e equipamentos de superfície tem sido um dos grandes problemas na produção e movimentação de petróleos, acarretando crescentes perdas de produção. O tratamento por aplicação do campo magnético é uma nova tecnologia, ainda não totalmente explorada, que se revela como uma técnica preventiva do problema: simples, de baixo investimento e com benefícios significativos.

Na área agro-pecuária os tratamentos magnéticos são ainda mais difundidos e utilizados com bons resultados, apesar da pouca compreensão do mecanismo que rege o fenômeno. Tanto na pecuária [68], utilizando-se água tratada em campo magnético para a nutrição de diversos animais, como na agricultura [69-72], no cultivo de determinadas espécies de plantas, há um aumento da produtividade específica de cada sistema em relação ao grupo controle.

A água tratada em campos elétricos ou magnéticos é utilizada na irrigação de plantas [68,70-73] e diretamente sobre sementes antes do processo de germinação [74-76]. Alguns desses estudos são bastante criteriosos e mostram a relação da intensidade do campo aplicado com os rendimentos obtidos. Em Cuba existem trabalhos [75,76] que propõem mecanismos de ação do campo magnético sobre a dinâmica de regulação fisiológica das sementes. Utilizando sementes de alface expostas previamente ao campo magnético obteve-se um aumento da taxa de intumescimento e da quantidade de água absorvida pelas sementes. Esses resultados foram explicados através da interação do campo magnético com as correntes iônicas das membranas celulares, que alteram as concentrações iônicas e

a pressão osmótica em ambos os lados da membrana e, conseqüentemente, alteram o mecanismo de permeação da água através desta.

Na área biomédica a aplicação de campos magnéticos também é bastante diversificada. Relata-se a estimulação na consolidação de fraturas [77], estimulação na regeneração de fibras nervosas [78], alteração em analgesia [79], mudanças na orientação das células vermelhas do sangue quando solidificadas e submetidas a campos intensos de 8T [80], estimulação de sínteses proteicas *in vitro*, que se comportam de forma semelhante às estimulações feitas por choque térmico [81], variação da freqüência de descargas neurais [82], alterações do morfismo de células hepáticas [83], entre outros [84-86].

O elenco de aplicações descritas na literatura para a água tratada em campo magnético é de tal ordem que faz supor ao observador desatento que se propõe uma espécie de panacéia, ou seja, que a exposição da água a campos magnéticos produziria um princípio ativo capaz de atuar em diversas áreas.

No entanto, cada experimento é realizado em uma condição diferente e os tratamentos que produzem resultados em uma área não necessariamente apresentam o mesmo resultado em outra. Daí as controvérsias entre os vários autores; daí também o alto grau de empirismo nas pesquisas que visam otimizar um processo de magnetização em busca de um determinado resultado.

Em 1998, um dos trabalhos apresentados no Congresso de Cosmetologia em Cannes [87] enfatizou a eficiência da aplicação de formulações contendo partículas magnéticas (~600nm) sobre a superfície da pele na melhora da circulação sanguínea capilar. Os resultados clínicos propiciaram a concepção de um produto anti-celulite baseado nesse tipo de tecnologia. Uma parte de nossas pesquisas também está direcionada para a área cosmetológica, onde testamos água ou soluções tratadas em campo magnético a serem utilizadas como hidratantes para a pele. Da mesma forma que os testes realizados na agricultura, as pesquisas voltadas para a área de cosmetologia mostram que as condições experimentais de preparo das amostras de água têm importância fundamental para a obtenção de bons resultados na pele humana.

A pele humana é uma membrana constituída basicamente de lipídeos e proteínas [88,89]. Os lipídeos formam espontaneamente camadas bilipídicas, que agem como barreiras ao fluxo de moléculas polares como, por exemplo, a água. As principais proteínas encontradas na pele são colágenos, relacionados à sustentação mecânica da pele, e a elastina, uma proteína com fibras elásticas. Para mantermos as características da pele é necessário que os constituintes dessa membrana mantenham suas funções, sem sofrer modificações nas cadeias de proteínas e sem aumentar o número de ligações cruzadas intermoleculares existentes.

Estudos relacionados ao envelhecimento, inicialmente realizados com diabéticos, mostram que açúcares disponíveis na circulação sanguínea podem se ligar às proteínas, através de um processo não enzimático chamado de glicação ou reação de Maillard [90-98]. A partir da glicação formam-se compostos chamados de AGEs (Advanced Glycation End-Products) responsáveis pelo acúmulo de proteínas oxidadas e reticuladas nos tecidos. A ação dos AGEs promove um aumento das ligações cruzadas nos tecidos, tornando-os escuros e endurecidos. Esta reação é conhecida na área alimentícia como sendo a responsável pela coloração amarronada das carnes tostadas ao forno com uma camada de açúcar na superfície. Já foi demonstrado [92,93,97,98] que o conteúdo de AGEs nos colágenos aumenta significativamente com a idade e nos portadores de diabetes.

Os tecidos têm a propriedade fundamental de auto-regulação do seu metabolismo. A relação entre a idade de uma pessoa e o acúmulo dos AGEs em proteínas danificadas é concomitante com a perda parcial das funções biológicas de órgãos como fígado, coração, pulmão e tecidos como a córnea [92]. Também nesses órgãos o acúmulo dos AGEs causa um enrijecimento dos tecidos dificultando suas atividades. A alteração prévia das proteínas pode ser considerada, não como uma consequência dos efeitos da idade, mas como uma de suas causas [91].

Uma das maneiras de se retardar os efeitos do envelhecimento da pele é mantê-la hidratada. Os hidratantes comerciais normalmente agem através do mecanismo de oclusão dos poros ou contêm substâncias que retiram moléculas de

água da derme (camada interna da pele) para a epiderme (camada superficial). No entanto, nenhum mecanismo tem sido apresentado mostrando uma ação hidratante propriamente dita, ou seja, a de aportar moléculas de água do exterior para a pele. Nesse trabalho desenvolvemos um hidratante que não utiliza nenhum dos mecanismos anteriores para atingir uma maior hidratação da pele; esse hidratante é composto por água reestruturada capaz de permear membranas rapidamente. O desenvolvimento deste hidratante foi baseado no modelo de misturas utilizando-se de alguns processos que visam alterar a distribuição de tamanho de *clusters* da água líquida.

Existem alguns estados em que a água possui características completamente diferentes das usuais dentro das condições normais de temperatura e pressão. No estado supercrítico ($T > 374\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $P > 220\text{ bar}$), por exemplo, todas as propriedades do fluido sofrem alterações devidas à uma grande diminuição da sua densidade [99-105]. A constante dielétrica (ϵ) da água, que controla a solubilidade das espécies iônicas no meio, pode ser reduzida a valores entre 5 e 20 no estado supercrítico, contra o valor de 80 em condições normais [99]. Como consequência, a água supercrítica consegue dissolver substâncias não-polares, enquanto que a solubilidade de substâncias polares e iônicas diminui drasticamente. Este comportamento peculiar da água supercrítica tem sido relacionado a uma mudança de estrutura, especialmente a uma redução no número de ligações de hidrogênio existentes entre as moléculas de água. Vale notar que os estudos de Zhou [46] mencionados anteriormente chegam a conclusão semelhante sobre a ação do campo magnético sobre a água.

Existem também algumas patentes baseadas em tratamentos magnéticos da água, que propõem uma diminuição do tamanho dos *clusters*, que indicam que a água tratada consegue dispersar óleos e gorduras [41,42]. Ou seja, a água tratada em determinados tipos de arranjo magnético passa a ser um meio de maior solubilidade para substâncias apolares. Esse princípio é utilizado em produtos comerciais como emulsões cosméticas [41] e condicionadores magnéticos para água de piscina [106], que dissolvem óleos bronzeadores evitando o acúmulo de gordura nas bordas, além de inibir a formação de algas e evitar a corrosão das

tubulações e do filtro. Apesar da enorme diferença entre as variáveis de estado observa-se, portanto, certas similaridades entre a água no estado supercrítico e aquela tratada em campos magnéticos, tanto em algumas propriedades exibidas como no modelo interpretativo que justifica tais propriedades.

Além da ação do campo magnético sobre a água utilizamos mais dois processos que visam alterar a sua distribuição de tamanho de *clusters*: adição de solutos em diluições extremas e fusão fracionada. Em relação ao primeiro processo já existem estudos [107,108] de soluções extremamente diluídas que evidenciam diferenças de comportamento destas quando comparadas com o controle (água). Para o segundo processo não existem pesquisas até o momento, apenas estudos experimentais vinculados à modelizações teóricas para o gelo produzido a baixa temperatura (100K) [109]. Todos esses processos aos quais a água é submetida visam promover modificações de algumas de suas propriedades e serão explicados detalhadamente no capítulo II.

Objetivo

O objetivo deste trabalho é testar a adequação do modelo de misturas para alguns comportamentos da água líquida, a partir da obtenção de dados experimentais que desafiam uma explicação plausível pelo modelo contínuo e que podem ser interpretados adotando-se a hipótese da existência de *clusters*. Foram selecionados experimentos capazes de evidenciar alterações de propriedades físico-químicas e biológicas de água desionizada, que não podem ser explicados pela ação de solutos ou de variáveis termodinâmicas de estado (P,T). A interpretação dos resultados é utilizada como evidência indireta a favor da hipótese do modelo de misturas, uma vez que não existem técnicas conhecidas capazes de medir diretamente a presença de *clusters* no meio. Como resultado dessa investigação apresentamos uma nova aplicação da água baseada nos princípios estudados – água tratada com propriedades hidratantes para a pele humana.

ARGUMENTAÇÃO TEÓRICA

O Gelo e a Água Líquida

Existem 9 tipos de gelo classificados segundo o sistema cristalino. O gelo comum obtido sob pressão atmosférica é o gelo tipo I hexagonal, Ih. O gelo tipo Ih pode sofrer uma modificação para o cúbico Ic a temperaturas abaixo de -80°C . Acima dessa temperatura o gelo Ic não é estável e retorna espontaneamente para a forma Ih [110].

O diagrama de fase do gelo mostrado na figura 1 foi obtido a partir de estudos de difração de nêutrons e de Raio X [110].

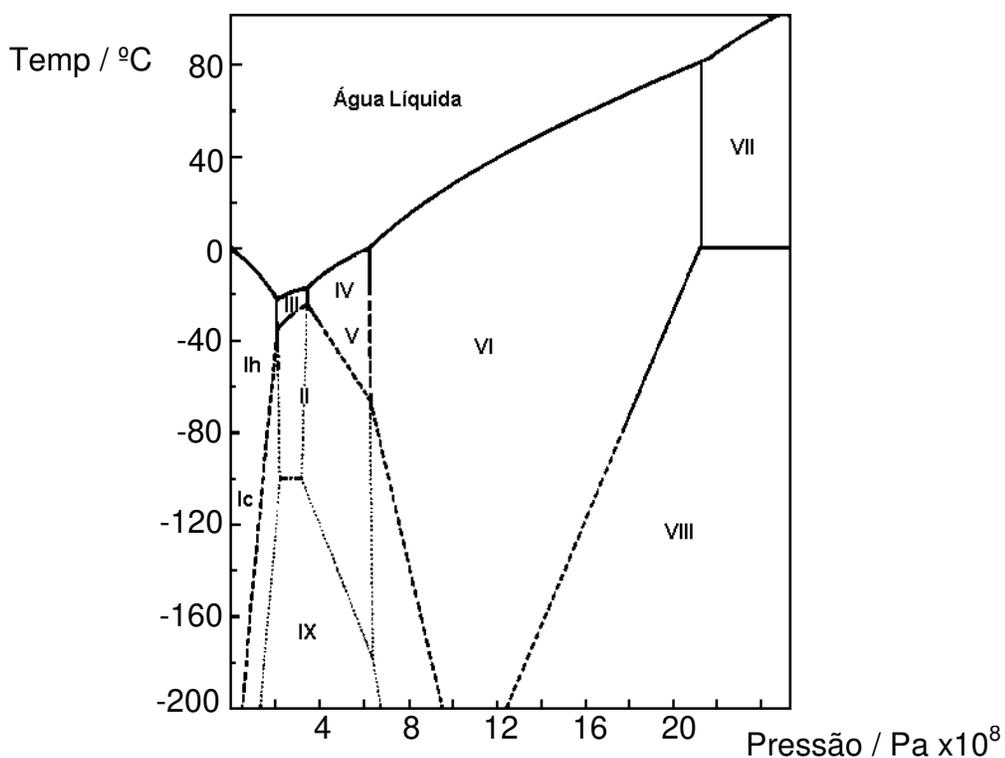


Figura 1. Diagrama de fase do gelo. As linhas cheias e tracejadas referem-se a regiões medidas diretamente, estáveis e meta-estáveis, respectivamente. As linhas pontilhadas representam regiões estimadas ou extrapoladas [110].

As várias formas de gelo podem ser relacionadas a sistemas cristalinos de alguns minerais da classe dos silicatos. Esses minerais são compostos por dióxido

de silício SiO_2 e são tetra-coordenados. A tabela 1 mostra a relação de alguns tipos de gelo com diferentes sistemas cristalinos e algumas propriedades dos minerais correspondentes. As formas alfa e beta dos minerais correspondem ao sistema cristalino formado sob temperaturas mais baixas e mais elevadas, respectivamente.

Tabela 1. Propriedades de alguns minerais da classe dos silicatos e suas relações com as formas do gelo.

Nome do Mineral	Sistema Cristalino	Densidade (g / cm³)	Índice de Refração	Morfismo do Gelo Correspondente
Alfa Quartzo	Trigonal	2,65	1,55	Gelo II
Beta Quartzo	Hexagonal	2,53	1,54	-
Alfa Tridimita	Monoclínico	2,26	1,47	-
Beta Tridimita	Hexagonal	2,22	1,47	Gelo Ih
Stishovita	Tetragonal	4,28	1,81	Gelo VI
Coesita	Monoclínico	3,00	1,59	Gelo V
Cristobalita	Tetragonal	2,32	1,48	Gelo Ic
Keatita	Tetragonal	2,50	1,52	-

Quando Bernal e Fowler [4] sugeriram que na água líquida existiam estruturas *ice-like* do tipo tridimita, quartzo e amônia, eles estavam se referindo às mesmas estruturas tetraédricas dos minerais de silício nos seus respectivos sistemas cristalinos. A estrutura tipo amônia também forma sistemas tetra-coordenados se considerarmos a possibilidade de formarmos uma ligação através do par de elétrons não ligante do átomo de nitrogênio.

A diferença entre os vários tipos de gelo é o ângulo das ligações de hidrogênio que, com o aumento da pressão, sofre deformações alterando a regularidade da rede do gelo quando comparada com a do tipo Ih [110].

Entretanto, todos os tipos de gelo têm uma característica comum no que se refere à sua estrutura: cada átomo de oxigênio é ligado à quatro átomos de hidrogênio, o que confirma o modelo de empacotamento tetraédrico para as moléculas de H₂O. Para entendermos como o empacotamento tetraédrico das moléculas de H₂O forma o sistema cristalino hexagonal do gelo tipo Ih é conveniente observarmos a figura 2.

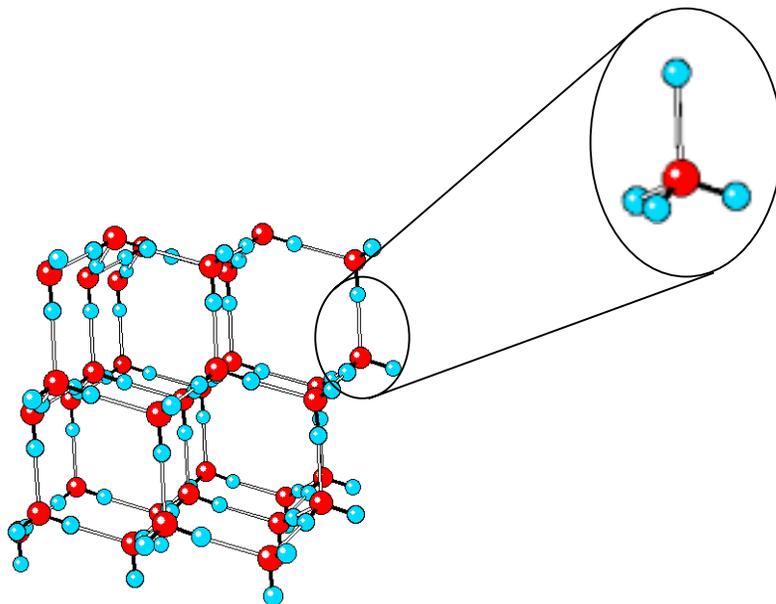


Figura 2. Formação do gelo no sistema cristalino hexagonal tipo Ih, a partir de estruturas tetraédricas de água.

Os arranjos de moléculas de água no gelo tipo tridimita (beta tridimita) são compostos por estruturas tetraédricas que dão origem a um sistema hexagonal do tipo gelo Ih. Esse sistema hexagonal contém muitos espaços, que podem ou não estar preenchidos por moléculas gasosas, e que acarretam uma diminuição da densidade do sólido em relação ao líquido. Com a fusão da água o número de arranjos hexagonais deve diminuir, sem que a estrutura tetraédrica se desfaça necessariamente. Esses arranjos hexagonais, agora fragmentados, fazem com que a densidade da água aumente, atingindo seu valor máximo a 4 °C. Nesse ponto, segundo Bernal e Fowler [4], as estruturas *ice-like* encontradas na água são

associadas à estrutura cristalina do quartzo, que é mais denso que a tridimita. Com a elevação da temperatura há o aumento da energia cinética das moléculas, que desencadeia gradativamente uma perda de estruturação do meio. A partir de 200 °C o sistema é do tipo amônia, devido ao aumento da pressão para manter a água no estado líquido.

Quando Frank e Wen [7] descreveram a água líquida como um meio que possui estruturas *ice-like*, em maior ou menor grau de acordo com a temperatura do sistema, eles também se referiram à estrutura do gelo tipo Ih. A medida em que a água se funde há uma diminuição da quantidade de sítios estruturados, os quais poderão determinar diversas propriedades da água líquida.

Estudos recentes [109] indicam que há um aumento gradativo na ordenação das moléculas de água na direção do núcleo do gelo. Essas diferentes estruturações das camadas do gelo nos possibilitam imaginar que após a fusão, se essas estruturações forem mantidas em alguma extensão, a água proveniente de cada camada poderá apresentar propriedades distintas. A técnica de fusão fracionada da água visa evidenciar mudanças de comportamentos entre as frações de água provenientes de diferentes camadas do gelo.

A Ligação de Hidrogênio

Numa visão clássica, o átomo de hidrogênio possui valência 1. Gradativamente, os químicos chegaram à conclusão de que, em amostras de água, o hidrogênio se comporta como se tivesse uma valência entre 1 e 2. Esta foi a base do conceito da “ponte de hidrogênio”, atualmente “ligação de hidrogênio”: deveria existir uma força específica de atração entre a molécula A-H e um segundo átomo ou molécula B, sendo esta uma interação bem mais fraca que uma ligação covalente A-H [111]. Desta forma teríamos espécies do tipo [A-H---B].

A figura 3 mostra a distância da ligação de hidrogênio entre duas moléculas de água quando comparada com a ligação covalente intramolecular.

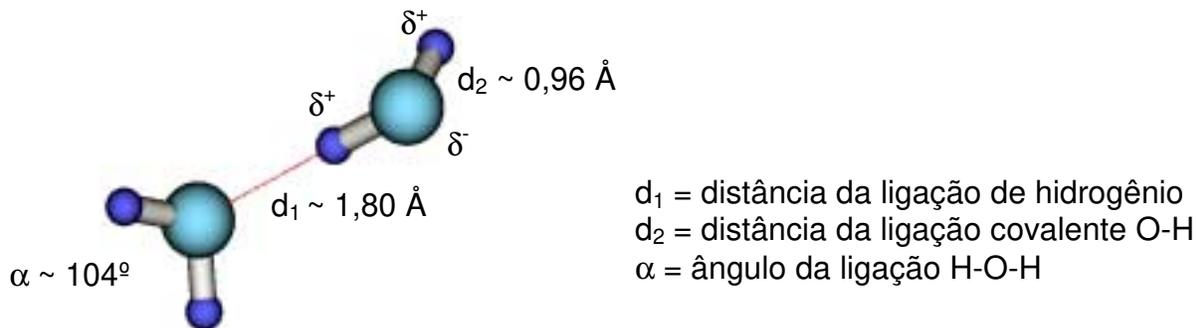


Figura 3. Ilustração de duas moléculas de água formando uma ligação de hidrogênio.

A maioria das ligações de hidrogênio pode ser explicada por um mecanismo eletrostático simples [111].

Na figura 4 estão esquematizadas funções de energia potencial para alguns tipos de interação entre hidrogênio e oxigênio. Em uma ligação típica O-H---O observa-se que quando o oxigênio que se aproxima da hidroxila é, por exemplo, o de uma carbonila, a curva de energia potencial vai se assemelhar à curva (a) [111]. O poço de menor energia potencial corresponde à forma mais estável do equilíbrio ceto-enólico, O-H---O=CR₂, enquanto que o poço de maior energia está relacionado à forma menos estável, H-O---H-O-CR₂. Os dois mínimos de energia potencial estão separados por uma barreira de energia suficiente para se distinguir as duas formas tautoméricas.

A curva (b) representa uma situação onde há uma certa simetria na ligação. A curva mostra que os mínimos de energia potencial são equivalentes, apesar de separados por uma barreira suficientemente grande para impedir uma transição rápida de um lado para o outro. Essa situação pode representar o modelo da estrutura do gelo sugerido por Pauling em 1935, baseado na noção de desordem protônica ou *jumping* protônico. Essa desordem significa que na média a ligação O-H---O tem, estatisticamente, meio próton de cada lado [111].

No caso de soluções ou líquidos puros com apenas um tipo de ligação de hidrogênio, a curva tem um único poço de energia potencial que representa a distância de equilíbrio da formação da ligação, como mostrado na curva (c) [111].

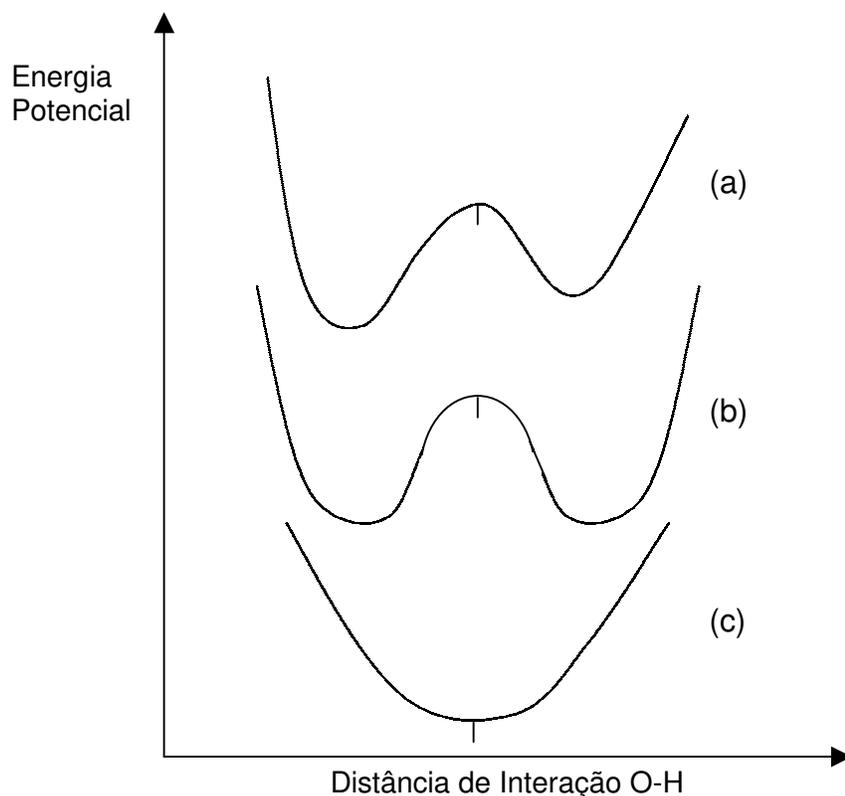


Figura 4. Curvas de energia potencial para diferentes tipos de ligação de hidrogênio (ver indicação no texto).

Uma das áreas que mais estuda as ligações de hidrogênio atualmente é a biologia molecular. Sabe-se que as moléculas de água através das ligações de hidrogênio estabilizam diversas proteínas e estruturas helicoidais essenciais aos organismos vivos. A estrutura de moléculas de H₂O formada ao redor das biomoléculas também é responsável pela atividade dessas nos organismos.

A energia da ligação de hidrogênio na água líquida pode ser representada pela equação 1[3] :

$$\Delta E_H = E(O-H) - E(O-H...O) \quad \text{equação 1}$$

na qual, E(O-H) é a energia do grupo O-H na água sem a ligação de hidrogênio e E(O-H...O) é a energia do grupo O-H com a ligação de hidrogênio.

A energia da ligação de hidrogênio depende da pressão, da temperatura e do ambiente que circunda a molécula de água, e possui valores dentro da seguinte faixa [3] :

$$5,43 \times 10^3 < \Delta E_H < 1,88 \times 10^4 \text{ J / mol de ligações}$$

Diferentes fatores contribuem para a energia da ligação de hidrogênio e dentre os principais temos [3] :

1. Interação eletrostática de um dos pares de elétrons não ligantes do oxigênio com um dos prótons das moléculas vizinhas.
2. O intercâmbio de elétrons com a aproximação de uma molécula vizinha. Este intercâmbio é acompanhado por uma polarização mútua das nuvens eletrônicas das moléculas envolvidas.
3. Repulsão como resultado da superposição (*overlap*) das nuvens eletrônicas.

As ligações de hidrogênio afetam várias propriedades de uma substância, tais como, ponto de ebulição, solubilidade, pressão de vapor e até mesmo a energia correspondente às transições eletrônicas.

Estudos do efeito de solventes em espectros de absorção na região do ultravioleta e do visível (UV/vis) mostram que o máximo da banda de absorção correspondente às transições eletrônicas $n \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$ são deslocados no sentido de energias mais altas (*blue shift*) quando se aumenta a polaridade do solvente e, conseqüentemente, a intensidade das ligações de hidrogênio[112,113].

Clusters de Água

Algumas moléculas com ambas as características de doadores e aceptores de prótons que formam ligações de hidrogênio, podem adotar uma estrutura alternativa de “gaiolas” ou “estruturas fechadas com cavidades centrais”, chamadas de *clusters*. Tais estruturas quando muito grandes não são estáveis, devido aos espaços vazios, e adquirem estabilidade quando moléculas de tamanhos apropriados preenchem este espaço dentro da cavidade (um exemplo simples são os gases hidratados) [1,111].

No modelo de misturas [7], a água líquida é vista como uma mistura de *clusters* constituídos por moléculas H₂O de diversos tamanhos e formas, de acordo com a temperatura do sistema. Entende-se que tais *clusters* de água são estruturas do tipo (H₂O)_n, dispersas em uma rede de moléculas H₂O. A idéia da existência de *clusters* está naturalmente associada a descontinuidades do meio aquoso.

Esta visão é fundamental na tentativa de se elaborar uma explicação plausível para as mudanças de comportamento da água quando processada em campos magnéticos, em fusão fracionada ou por adição de solutos em diluições extremas. As razões para a mudança de comportamento por ação do campo magnético e por fusão fracionada já foram mencionadas. No caso da adição de solutos em diluições extremas, esta mudança é justificada com base na idéia de que, primeiramente, formam-se aglomerados de moléculas do solvente ao redor da molécula do soluto, que devem manter-se à medida em que essa solução é diluída [108]. A partir de determinado momento, quando não há mais quantidade significativa de soluto presente na solução, esses aglomerados (*clusters*) de água são os responsáveis pelas características da solução, essencialmente diferentes das características do solvente puro [107,108,114].

Noções da Ação do Campo Magnético na Água

A água é diamagnética e quando submetida à ação de um campo magnético gera um campo interno com direção antiparalela ao campo externo aplicado. Dentro de um campo magnético, o momento magnético m de uma molécula de água livre pode ser expresso como:

$$m = \chi B / N_A \mu_0 \quad \text{equação 2}$$

na qual, B é a densidade de fluxo magnético, χ é a susceptibilidade magnética, μ_0 é a constante fundamental de permeabilidade no vácuo e N_A é o número de Avogadro. Para a água a 298 K, $\chi = -9,035 \times 10^{-6} \text{ N m}^{-2}$ e $\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7} \text{ J C}^{-2} \text{ m}^{-1} \text{ s}^2$.

A densidade volumétrica de energia em função do fluxo magnético (B) de uma molécula de água livre em um campo magnético é [3] :

$$\rho(B) = \partial E(B) / \partial V = (1/2) M B \quad \text{equação 3}$$

em que, $E(B)$ é a energia, V é o volume e M é a magnetização da água, $M = \chi H = \chi B / \mu_0 = m N_A$.

Para valores de B utilizados neste trabalho ($0 < B < 30 \text{ mT}$), a energia do campo magnético possui valores com ordem de grandeza muito inferior às energias

mais fracas das ligações de hidrogênio ($E(B) / \Delta E_H \approx 10^{-10}$). Entretanto, Kochmarsky [3] considera que para densidades de fluxo magnético entre $3 \text{ mT} < B < 1000 \text{ mT}$, essa energia é suficiente para alterar instantaneamente a multiplicidade de spin eletrônico, tornando parte dos possíveis estados de spin que formam as ligações de hidrogênio proibidos [3]. Assim, o campo externo pode causar um enfraquecimento e uma diminuição da média estatística do número de ligações de hidrogênio entre moléculas de água, afetando sua estrutura e, como conseqüência, seu comportamento [3,46]. Neste caso, o autor considera a ligação de hidrogênio como um compartilhamento de elétrons e não como uma simples interação eletrostática.

Outro estudo dos possíveis mecanismos da ação do campo magnético sobre a água está relacionado à permeação da água em sementes [75,76]. O aumento no intumescimento das sementes é a razão pela qual as sementes tratadas em campo magnético germinam mais rápido que as não tratadas. Tal comportamento na germinação das sementes é obtido apenas se uma influência muito forte é exercida no potencial da água dentro das sementes, que vai induzir, entre outros efeitos, um enfraquecimento na parede celular fazendo com que a plântula possa emergir mais facilmente [76]. Estudos mostram que o campo altera o comportamento elétrico das membranas celulares, incluindo o fluxo iônico através das membranas. A massa de água absorvida pelas sementes na fase de intumescimento pode ser descrita como:

$$m_a / m_i = F [1 - \exp(- k_w t)] \quad \text{equação 4}$$

na qual, m_a é a massa de água absorvida pelas sementes depois do tempo t ; m_i é a massa inicial média das sementes. O fator F e a razão de água absorvida k_w são dependentes da densidade de fluxo magnético (B) [75,76]. A variação em mais de 30% no k_w , quando B varia entre 0 e 10 mT, estabelece uma ligação entre o campo magnético e a osmorregulação.

“Nada no mundo faz as pessoas terem tanto medo quanto a influência das pessoas que têm a mente independente.”

A. Einstein

CAPÍTULO II

ESTUDOS EXPERIMENTAIS

Introdução

Para testar a aplicabilidade do modelo de misturas para a água líquida estudamos alguns processos, que segundo a literatura, devem promover alterações no comportamento da água devido a mudanças estruturais do sistema.

Estes processos podem ser químicos, como a adição de solutos ao meio aquoso, ou físicos, como a ação do campo magnético sobre a água ou a sua fusão fracionada. Se esses processos levarem a uma alteração populacional na distribuição de tamanho de *clusters* e se isto determinar algumas propriedades desta substância, então, uma amostra enriquecida com *clusters* menores ou maiores deve ter propriedades diferentes da água ordinária.

Neste trabalho estudamos os três tipos de processos acima referidos, os quais, em princípio, devem alterar o comportamento da água líquida associado a mudanças da sua estrutura. Para verificarmos as alterações de propriedades da água quando submetida aos processos utilizados foram selecionados experimentos que têm sido interpretados na literatura [11,40,41,46] em termos compatíveis com a existência de *clusters* no meio aquoso. A seguir, faremos uma breve explanação de cada processo utilizado para uma melhor compreensão do leitor frente aos resultados obtidos com cada amostra de água tratada.

Soluções em Diluições Extremas

Já é muito bem conhecido o fato de que a adição de um soluto ao meio aquoso poderá modificar a estruturação do solvente [4,7]. Existem solutos que promovem uma estruturação no solvente na região intermediária (vide figura 5), enquanto outros promovem uma quebra de estrutura quando comparada com o solvente puro [7,116-129]. Quando existe um aumento na estruturação do solvente com a adição de alguns solutos, em relação ao solvente puro, estes são chamados de *structure-makers* ou simplesmente *makers*. Por outro lado, aqueles solutos que promovem uma quebra na estruturação do solvente são denominados de *structure-breakers* ou *breakers*. Alguns exemplos de *breakers* são os íons Cs^+ e I^- , além da uréia, formamida e alguns sais inorgânicos [118, 119,123]. Por outro lado, os íons

Li^+ , Mg^{2+} e La^{3+} e alguns álcoois e sacarídeos são classificados como *makers* [116-118,122]. Não existe uma regra que nos conduza a uma classificação direta desses solutos como *makers* ou *breakers*. Esta classificação é baseada em um modelo que considera uma imobilização translacional das moléculas de água na sua primeira camada de solvatação com relação ao íon central e uma variação de entropia relacionada à capacidade desse íon em promover uma estruturação da água ao seu redor, que pode ir além da região de imobilização [4, 7, 120]. A figura 5 ilustra a região de imobilização das moléculas de água ao redor de um íon central, neste caso um cátion.

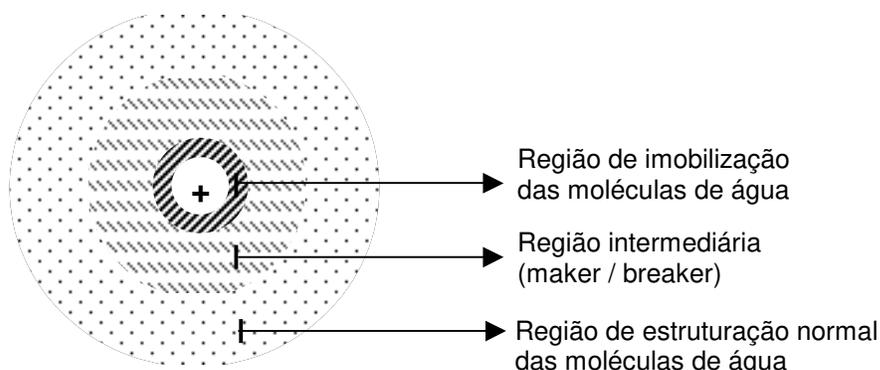


Figura 5. Regiões de moléculas de água que sofrem orientação ao redor do íon central, com menor influência deste à medida em que se distanciam até as camadas mais externas. Nas camadas mais distantes as moléculas de água apresentam uma estruturação normal sem influência do íon central.

A estruturação promovida pela presença de um íon pode alterar algumas propriedades da solução aquosa quando comparada com o solvente puro, tais como a densidade [4] (*structure-makers* diminuem a densidade da solução), a viscosidade [119,120] (*structure-breakers* diminuem o valor de viscosidade), o tempo de relaxação longitudinal T1 das moléculas de água, medido por RMN [122] (*structure-makers* diminuem T1) e o tempo de relaxação dielétrica τ [123-125] (*structure-breakers* diminuem τ), entre outros [126-128].

O intuito desse trabalho não é estudar a estruturação promovida no solvente a partir dos solutos, sejam esses *makers* ou *breakers*. Nosso interesse é encontrar

um soluto que seja um forte estruturador do solvente e verificar se este, mesmo em concentrações muito baixas, poderá promover mudanças de comportamento da água (solvente). Se isso realmente se verificar poderemos supor que este soluto, mesmo em diluições extremas, deve induzir alterações de estrutura na água. Além disso, é conveniente que o soluto escolhido possa ser utilizado na pele humana para que seja aplicado como um dos componentes da solução hidratante a ser desenvolvida nessa tese. Com esta finalidade enfocamos particularmente o íon Mg^{2+} , que em meio aquoso parece promover um efeito substancial tanto na reestruturação do solvente [37] como na capacidade de se ligar a biomoléculas [130], promovendo um aumento da hidratação da pele.

O íon magnésio possui algumas propriedades físico-químicas que se destacam em relação aos outros íons e que indicam que este íon é um forte estruturador da solução. O valor de entropia padrão de um íon em solução, por exemplo, mede a capacidade do íon estruturar as moléculas do solvente ao seu redor em relação ao íon H^+ , adotado como zero na escala de entropia. Valores negativos de entropia indicam que o íon ordena as moléculas do solvente mais severamente que o íon H^+ [131]. Já o raio efetivo do íon em solução, ou raio hidrodinâmico, indica o número de moléculas do solvente que o íon consegue manter na região de imobilização. Os valores apresentados na tabela 2 mostram que o íon magnésio possui a menor entropia em solução e o maior raio hidrodinâmico em relação aos demais íons, indicando que este íon é um forte estruturador do solvente e que carrega muitas moléculas de água ao seu redor.

Complementando esses dados sobre o íon magnésio, estudos de espectroscopia na região do infravermelho com soluções aquosas de eletrólitos [37] indicam que o cloreto de magnésio possui um comportamento diferenciado dentre vários solutos ($LiCl$, $NaCl$, KCl , $RbCl$, $CsCl$, $CaCl_2$, $BaCl_2$, $SrCl_2$, $CuCl_2$, $ZnCl_2$, $MgSO_4$, $CuSO_4$, $ZnSO_4$, Na_2SO_4), já que apresenta uma banda intensa associada às espécies íon-água. De maneira geral, os cátions estudados possuem fortes interações com a água e os ânions não afetam muito os arranjos íon-solvente pois tais interações são mais fracas.

Tabela 2. Entropia padrão dos íons em solução aquosa [131], raio efetivo aproximado do íon em solução aquosa [132] e raio iônico no cristal [132]. Valores para temperaturas de 298,15 K.

Íons	Entropia padrão dos íons em solução aquosa (S°) / $\text{J K}^{-1} \text{mol}^{-1}$	Raio efetivo aproximado do íon em solução aquosa / Å	Raio iônico no cristal / Å
Mg^{+2}	-138,1	8	0,65
Cu^{+2}	-99,6	6	0,72
Cd^{+2}	-73,2	5	0,97
CO_3^{-2}	-56,9	4,5	-
Ca^{+2}	-53,1	6	0,99
Hg^{+2}	-32,2	5	1,10
Ba^{+2}	9,6	5	1,35
Li^+	13,4	6	0,68
SO_4^{-2}	20,1	4	-
Zn^{+2}	41,6	6	0,74
Cl^-	56,5	3	1,81
Na^+	59,0	4	0,95
K^+	102,5	3	1,33

O íon Mg^{2+} é um *structure maker*, aumentando a estruturação das moléculas de água quando em uma solução aquosa. Este íon é hexahidratado na sua 1ª esfera de solvatação e é capaz de aportar moléculas de água para camadas da pele, interagindo diretamente com grupos proteicos, ácidos nucleicos, membranas, etc, como mostra a figura 6 [130].

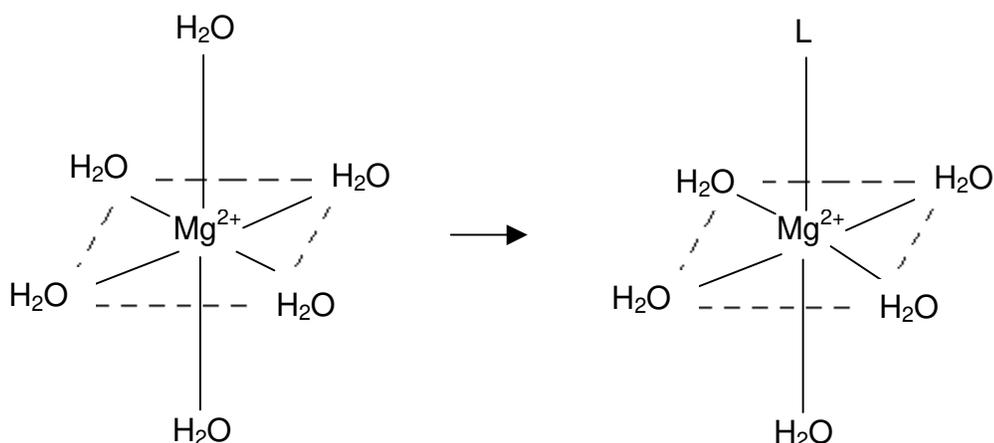


Figura 6. Íon magnésio ligado a seis moléculas de água, sendo que uma ou mais dessas moléculas podem ser substituídas por um ligante (L) que, em geral, representa um sítio biológico.

Por esta razão, no estudo de alterações de propriedades da água por adição de solutos em diluições extremas, optamos pelo uso do cloreto de magnésio como soluto. Como se verá mais adiante, essas mesmas soluções servirão de base para a elaboração de uma solução hidratante para a pele humana. Estudamos também soluções aquosas de ácido acético, por este soluto ser completamente diferente do primeiro, evitando assim resultados que possam caracterizar um caso particular em relação ao cloreto de magnésio.

A utilização de soluções em diluições extremas, onde o soluto está abaixo do nível de impurezas da água, através de diluições sucessivas a partir de uma solução mais concentrada, já é conhecida e estudada por outros grupos de pesquisa [107,108]. É possível, por exemplo, medir calores de diluição entre soluções $0,01 \text{ mol kg}^{-1}$ de NaOH e $0,01 \text{ mol kg}^{-1}$ de HCl em soluções extremamente diluídas de NaCl ($m \ll 10^{-23} \text{ mol kg}^{-1}$), obtendo-se valores diferentes daqueles obtidos com o controle (água bidestilada) [107]. Medidas calorimétricas de DSC (differential scanning calorimetry) e de constante dielétrica de soluções de camomila e metanol ultradiluídas ($1 / 10^{60}$ partes) indicam mudanças de comportamento em relação à água destilada, as quais são associadas à quebra de aglomerados ou *clusters* de água presentes nessas soluções [108]. No modelo proposto pelos autores é essencial que haja a formação de *clusters* de água ao

redor das moléculas do soluto na solução de partida. Em geral, cada *cluster* de água é específico para cada substância. Segundo esse modelo, substâncias que não formam aglomerados desse tipo ao seu redor não terão soluções estruturadas a partir das diluições. Apesar dessas soluções atingirem composição química idêntica à do solvente por diluições sucessivas, elas têm propriedades físicas diferentes e detectáveis através de métodos padrão.

Nesse ponto vale lembrar a dificuldade experimental de se produzir soluções ultradiluídas em uma única etapa, o que envolveria a utilização de volumes extremos (grandes ou pequenos), fato este que inviabiliza o procedimento. O que se faz usualmente é uma série de diluições sucessivas a partir de uma solução inicial, até se atingir a faixa de composição pretendida. Note-se que o conhecimento do valor exato de composição não é importante nesse caso. Por exemplo, é difícil esperar uma diferença de comportamento entre uma solução de concentração nominal $1,0 \times 10^{-23} \text{ mol L}^{-1}$ e outra de $1,5 \times 10^{-23} \text{ mol L}^{-1}$.

O termo concentração nominal será adotado nesse trabalho por duas razões principais. A primeira decorre do processo de preparação descrito acima, no qual os volumes são medidos sem um rigor quantitativo. A outra prende-se ao fato de que, em alguns casos, o soluto já está presente na água utilizada, muitas vezes em concentrações superiores àquela correspondente à concentração nominal. Portanto, a concentração nominal é utilizada mais com a finalidade de indicar o número de etapas de diluição do que um comportamento químico do sistema.

Em nosso estudo utilizaremos como ferramenta principal a espectroscopia na região do ultravioleta para detectarmos possíveis diferenças de absorção de luz entre soluções em diluições extremas e o controle.

Segundo Harvey [11] que adota o modelo de misturas, *clusters* de água de diferentes tamanhos devem absorver luz UV em diferentes comprimentos de onda. Sendo assim, uma alteração na distribuição de tamanho de *clusters* de água, promovida por qualquer um dos três processos - adição de soluto ao meio aquoso, fusão fracionada da água ou exposição da água ao campo magnético - deve promover uma mudança no espectro de absorção de luz UV destas amostras em relação ao controle.

Os demais experimentos selecionados para analisarmos a água que passou por um dos três processos citados acima são condutividade elétrica, intumescimento e germinação de sementes e hidratação da pele humana.

No caso da condutividade elétrica, podemos imaginar que a mudança do tamanho dos *clusters* do solvente possa promover alterações na trajetória dos íons do soluto, quando estes percorrem determinada distância sob uma diferença de potencial elétrico. Por isso imaginamos que amostras de água tratadas por diferentes processos, os quais supostamente devem alterar sua distribuição de tamanho de *clusters*, possam apresentar valores de condutividade elétrica diferentes.

No caso dos testes realizados com sementes, de acordo com Zhou [46] a água constituída por estruturas locais menores (*clusters* pequenos) deve penetrar mais facilmente através da casca das sementes e intumescê-las de forma mais rápida e eficiente. Muitas vezes esta facilidade de penetração em membranas biológicas propicia também uma melhor germinação posterior das sementes [76].

Analogamente, amostras de água enriquecidas de *clusters* pequenos em relação ao controle poderiam penetrar mais facilmente na pele humana, aumentando a quantidade de água no estrato córneo e, conseqüentemente, a hidratação local. Os testes biológicos com sementes e com a pele humana, portanto, também são indicadores de uma possível alteração da distribuição de tamanho de *clusters* da água após ser tratada pelos processos já citados.

Água Resultante de Fracionamento

Estudos recentes de espectros na região do infravermelho [109] para partículas esféricas de gelo (variando entre 2 e 40 nm) a 100 K, obtidas por resfriamento de aerosol do líquido, permitiram correlacionar os dados obtidos experimentalmente com diversos modelos possíveis para a estruturação do sólido a essa temperatura. A melhor correlação foi obtida admitindo-se uma estruturação progressiva das camadas do gelo em direção ao núcleo, a partir de uma superfície menos ordenada. Se esse modelo valer também para o gelo ordinário (tipo Ih) obtido em congeladores domésticos, então a fusão da camada externa de um bloco

de gelo deve, em princípio, fornecer estruturas *ice-like* [7] no líquido que são diferentes daquelas obtidas pela fusão do núcleo do gelo. Nenhum trabalho em revista indexada tem relatado esse tipo de estudo, que será apresentado nessa tese de forma original.

A figura 7 representa um corte do gelo e suas respectivas frações, a partir das descrições contidas na referência [109].

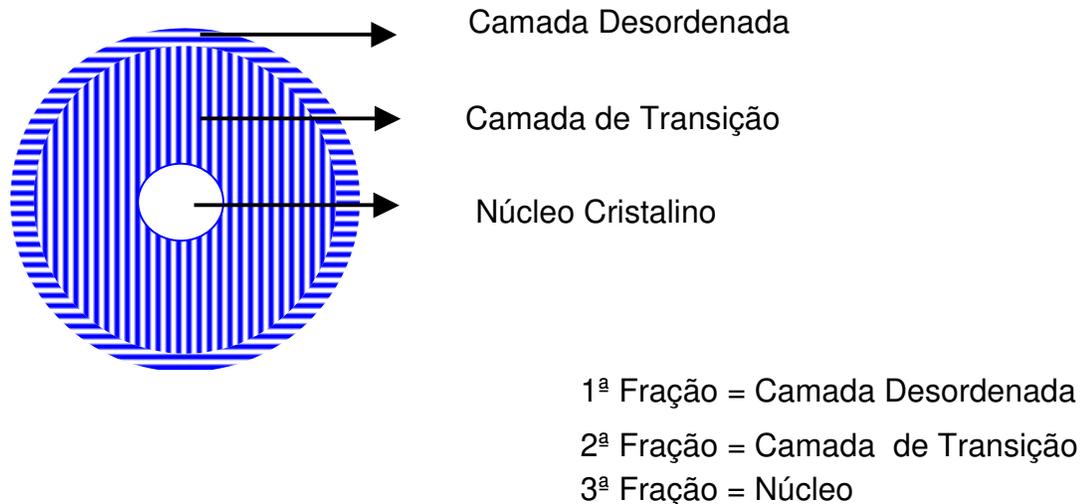


Figura 7. Ilustração das camadas do gelo e suas correlações com as frações obtidas por fusão fracionada da água.

A título de curiosidade, já foram feitos estudos de frações de água com resultados surpreendentes. No âmbito das publicações não científicas, Murrathev [115] escreveu um livro na década de 70 editado pela Academia de Ciências da URSS, traduzido para o português como “Água Viva”, onde são relatadas diferentes propriedades da água obtida a partir da fusão fracionada. Segundo esse autor, as frações de água correspondentes às camadas superficial e intermediária do cristal de gelo contêm menor quantidade de D_2O e são benéficas para os seres vivos. Já a água proveniente do núcleo do cristal de gelo é enriquecida em D_2O , sendo muito prejudicial à saúde. A detecção da quantidade de D_2O nas amostras de água foi feita através de espectrometria de massa. Em nossos estudos não conseguimos confirmar esse resultado.

Utilizamos os mesmos experimentos citados anteriormente para verificarmos as diferenças de comportamento entre as frações de água e o controle. Tais diferenças devem estar relacionadas ao enriquecimento de determinados tamanhos de *clusters*, maiores ou menores, de acordo com a fração selecionada.

Água Exposta ao Campo Magnético

O último processo abordado neste trabalho, capaz de promover alterações no comportamento da água líquida, é a ação do campo magnético sobre a água. Dentro deste tema, a multiplicidade de artigos encontrados na literatura que relatam mudanças de comportamento da água após sua exposição a campos magnéticos nos indica fortemente que este processo altera suas propriedades e, provavelmente, sua estrutura. Como foi mencionado anteriormente, alguns autores [46] propõem um enfraquecimento e quebra de ligações de hidrogênio entre as moléculas de água pela ação de campos magnéticos, possibilitando com isso novas associações de moléculas de água.

Dentro do nosso grupo de pesquisa existem trabalhos [133-137] que evidenciam alterações de comportamento da água e soluções aquosas quando expostas a campos magnéticos ou simplesmente a pólos magnéticos. Por outro lado, sabemos que dependendo do arranjo magnético utilizado podemos obter características diversas para a água.

Como um dos enfoques desse trabalho é fazer com que a água tratada em campo magnético desenvolva propriedades hidratantes e benéficas para a pele, esperamos que somente alguns tipos de arranjos magnéticos sejam capazes de promover tais características na água.

Analogamente aos estudos anteriores, os experimentos selecionados para verificarmos as diferenças de comportamento entre as amostras de água expostas ao campo magnético e o controle foram espectroscopia na região do UV, condutividade elétrica, intumescimento e germinação de sementes e hidratação da pele humana.

Procedência dos Reagentes Utilizados

- Água desionizada com resistividade = $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ (condutividade elétrica = $0,056 \mu\text{S cm}^{-1}$) - Milli-Q plus – Millipore.
- Cloreto de Magnésio hexahidratado ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), PA, ACS - Reagens / Quimiobrás Indústrias Químicas S.A. – Recristalizado.
- Ácido Acético Glacial (CH_3COOH), PA, ACS – CHEMCO Ind. e Com. Ltda.
- Cloreto de Potássio (KCl), PA, ACS – Labsynth Produtos para Laboratórios Ltda
- Metanol (CH_3OH) – grau HPLC, Tedia do Brasil.
- Argônio (Ar) comercial com grau de pureza 99,99.
- Nitrogênio (N_2) White Martins, com grau de pureza 99,999.
- Sementes de trigo do tipo *Triticum durum*, BRS-121-99, EMBRAPA/TRIGO – RS.

Materiais e Equipamentos Utilizados

- Frasco de porcelana com capacidade para 30 mL - marca Chiarotti.
- Béqueres de polipropileno - marca Nalgon - tampados com filme de polietileno.
- Béqueres de vidro pyrex de 100 mL.
- Dedo frio de vidro pyrex, com diâmetro externo de 2,0 cm e altura de 8,5 cm.
- 20 frascos de vidro neutro iguais, com tampa de vidro esmerilhada, capacidade 125 mL - marca Vidrolabor.
- Pipetas de vidro neutro de $1,00 \pm 0,05 \text{ mL}$.
- Cubetas de quartzo de caminho ótico de 1,0 cm e 5,0 cm.
- Placas de Petri de vidro neutro, com diâmetro de 14 cm.
- Lâmpada National EFG16DX, 16W Daylight Color.
- Ímãs flexíveis, compostos por dispersão de óxidos de ferro e de bário em borracha, $(10 \times 10) \text{ cm}^2$.
- Papel de germinação específico para os testes de germinação de sementes, segundo as normas do Ministério da Agricultura [138].

- Congelador de geladeira doméstica que opera a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Banho Termostático, modelo Q-214.D2, Quimis Aparelhos Científicos Ltda.
- Purificador de Água MilliPore, MilliQ-Plus.
- Espectrofotômetro Varian, Modelo Cary 5G / UV-Vis-NIR, duplo feixe.
- Condutivímetro Micronal B331, de leitura direta, com cela Metrohn nº 6.0901110, constante $c = 0,75\text{ cm}^{-1}$.
- Corneometer CM 825 PC – Skin Hidration / Single and Continuous Measurement – CK COLOGNE GERMANY.
- Gaussmeter , F.W. Bell Inc., modelo 4048, com precisão de 2%.

PARTE I - PREPARAÇÃO E UTILIZAÇÃO DAS SOLUÇÕES

Procedimento do Preparo das Soluções

Preparação de Soluções em Diluições Extremas

Soluções de MgCl_2 e CH_3COOH $0,1\text{ mol L}^{-1}$ foram submetidas a processos de diluição sucessivos sempre na razão de 1:100 em volume, com agitação vigorosa, num total de 10 etapas. A partir da solução $0,1\text{ mol L}^{-1}$, preparada em frasco de vidro com tampa de vidro e submetida a agitações vigorosas, transferiu-se 1 mL da solução com a ajuda de uma pipeta volumétrica não aferida para outro frasco idêntico contendo 99 mL de água desionizada, medidos com uma proveta de 100 mL. Fez-se então agitações vigorosas nessa nova solução $\sim 10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$ e repetiu-se o procedimento até a obtenção da solução $\sim 10^{-19}\text{ mol L}^{-1}$. Todas as soluções foram preparadas a partir de um mesmo lote de água desionizada, a uma temperatura inicial de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e em frascos de vidro idênticos, de mesma procedência, utilizados exclusivamente para este estudo. A concentração nominal das soluções de MgCl_2 e CH_3COOH foram: $10^{-1}\text{ mol L}^{-1}$, $10^{-3}\text{ mol L}^{-1}$, $10^{-5}\text{ mol L}^{-1}$,

$10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$, $10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$, $10^{-13} \text{ mol L}^{-1}$, $10^{-15} \text{ mol L}^{-1}$, $10^{-17} \text{ mol L}^{-1}$ e $10^{-19} \text{ mol L}^{-1}$.

Posteriormente, foi realizado um estudo mais detalhado com soluções na faixa de concentração entre $\sim 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ a $\sim 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$, para melhor definição do comportamento do sistema nessa região. Neste caso, o procedimento experimental foi idêntico ao estudo anterior, sendo que as diluições sucessivas nesta região foram feitas na razão 1:25 e 1:50 em volume. As concentrações nominais das soluções de MgCl_2 neste novo estudo foram: $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$; $5 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $5 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$; $1 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$; $1 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$; $1 \times 10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ e $1 \times 10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$.

Após uma lavagem inicial, o material de vidro utilizado ficou imerso em ácido nítrico $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. A seguir o material passou por sucessivas lavagens com água destilada e desionizada, até que esta água após um tempo de residência em cada frasco não apresentasse alterações de condutividade elétrica. Esse cuidado assegura que não existe HNO_3 residual no material a ser utilizado. É necessário um rigoroso critério de seleção e limpeza do material, uma vez que se pretende trabalhar com soluções extremamente diluídas, com a maior confiabilidade possível.

Os espectros de UV foram obtidos 4 h após o preparo das soluções. Como controle foram utilizadas 6 amostras de água desionizada mantidas em frascos idênticos aos das soluções, à mesma temperatura que estas e que sofreram o mesmo número de agitações vigorosas.

Além do estudo espectroscópico na região do UV, foram realizados testes de intumescimento e germinação de sementes de trigo e de hidratação da pele humana com as soluções de MgCl_2 . Inicialmente fizemos um estudo da hidratação da pele com as soluções de MgCl_2 $\sim 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ a $\sim 10^{-19} \text{ mol L}^{-1}$. Após a escolha da faixa de concentração mais adequada para aumentar a hidratação da pele, utilizamos uma solução $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de MgCl_2 para esse fim. Como se verá mais adiante, na Parte II, esta é a concentração do hidratante 3% que é aplicado à pele humana. Por uma questão de uniformidade utilizamos essa mesma concentração nos testes de intumescimento e germinação de sementes.

Fusão Fracionada da Água

O procedimento experimental para a obtenção das frações de água oriundas da fusão fracionada consistiu em congelar amostras de água desionizada em béquer de polipropileno, tampado com filme de polietileno, colocado no congelador de um refrigerador doméstico que opera a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. O refrigerador doméstico sempre foi utilizado somente para o congelamento das amostras de água, sem qualquer outra substância em seu interior. As amostras foram fundidas e separou-se as 1^a, 2^a e 3^a frações relativas às camadas do gelo. Uma das amostras foi fundida sem qualquer fracionamento para servir de controle deste experimento. A forma do gelo é, portanto, cilíndrica e a sua fusão não ocorre uniformemente em toda superfície externa.

A 1^a fração corresponde aos primeiros 10 % em volume de água provenientes da camada superficial do gelo. A 3^a fração corresponde aos últimos 10 % em volume de água provenientes do núcleo do gelo. E a 2^a fração corresponde à camada intermediária do gelo (80 % do volume restante). As percentagens de cada fração foram escolhidas arbitrariamente a princípio. Posteriormente, fez-se alguns estudos com diferentes percentagens de fracionamento para as 1^a e 3^a frações, para se verificar o desempenho destas frente às medidas experimentais escolhidas. As percentagens para o 1^o e 3^o fracionamentos foram de 5 %, 10 % e 15 % em volume de gelo. Exceto nos experimentos indicados, as percentagens de fracionamento da água para as 1^a e 3^a frações foi de 10 % em volume.

Foram testadas também outras formas de congelamento e fusão da água como, por exemplo, o congelamento a partir do núcleo do gelo. Para isso utilizou-se um dedo frio no centro de um béquer de vidro pyrex contendo a amostra a ser congelada. Após uma limpeza rigorosa de todo o material, colocou-se água desionizada em um béquer de 100 mL e um dedo frio no centro do béquer acoplado a um banho termostático a $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$. O banho continha uma mistura 1:1 de etanol comercial e água, para ser utilizado a baixas temperaturas. Após o congelamento da amostra, retirou-se cuidadosamente o dedo frio do banho termostático e adicionou-se água levemente aquecida ao dedo frio para que este

se desprendesse do bloco de gelo que o cercava. A 1ª fração nesse caso corresponde à camada de água que congelou primeiro ao redor do dedo frio (os primeiros 10 % em volume). A 2ª fração é a camada intermediária e a 3ª fração corresponde à camada mais externa em relação ao dedo frio, próxima à parede do béquer (últimos 10 % em volume). O dedo frio foi colocado de forma que não encostasse no fundo do béquer, para que no processo de fusão a 1ª e a 3ª frações não se misturassem.

As frações de água obtidas por fusão fracionada foram analisadas por espectroscopia na região do UV, condutividade elétrica, intumescimento e germinação de sementes de trigo e hidratação da pele humana. Este sistema também foi utilizado para se verificar o efeito de exclusão de um soluto pelas diversas frações, visualizado a partir da adição de um corante. Nesse caso, as amostras são congeladas novamente após a adição do corante às diferentes frações e ao controle. O sistema na fase sólida evidencia as diferenças na dispersão desse corante em cada uma das amostras estudadas.

Exposição da Água ao Campo Magnético

Após testarmos uma grande quantidade de arranjos magnéticos possíveis, no intuito de obtermos uma água com características hidratantes para a pele, observamos que arranjos magnéticos com o pólo sul do ímã era mais eficaz neste sentido. Testamos então vários arranjos com pólo sul e constatamos que o efeito de borda, onde ocorre uma descontinuidade do fluxo de densidade magnética, é bastante relevante para produzir alterações mais intensas e estáveis na água. Com isso, passamos a utilizar um arranjo de pólos magnéticos sul que proporcionasse estas descontinuidades de fluxo magnético para a obtenção da água tratada magneticamente, como mostra a figura 8. Esta água passa a ser chamada a partir de agora de água tratada no campo ou água exposta ao campo magnético.

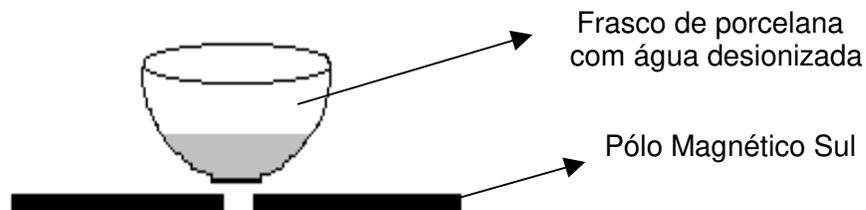


Figura 8. Esquema da montagem experimental utilizada na preparação da água exposta ao campo magnético.

O arranjo de ímãs utilizado apresenta valores de densidade de fluxo magnético (B) que variam de 0 a 300 G (0 – 30 mT). Estes valores foram obtidos através de um medidor do tipo Gaussmeter, que usa um sensor de efeito Hall para medir o fluxo magnético. O sensor foi colocado inicialmente na posição paralela à borda de um dos ímãs percorrendo-se o espaço entre os ímãs com o sensor nesta mesma posição. Os valores máximos de B verificam-se quando o sensor está encostado na borda dos ímãs. À medida em que o sensor é direcionado para o meio do percurso livre entre os ímãs os valores de B diminuem, chegando a zero, voltando a aumentar novamente quando o sensor está na outra metade do percurso.

A água ficou exposta ao campo durante um tempo que depende da intensidade de luz incidente sobre o sistema. Adotou-se um tempo de exposição ao campo de 5 a 6 horas, sob luz branca. Após ser retirada do arranjo magnético a água foi deixada em repouso por mais 2 horas. Este tempo de repouso é necessário pois, como já foi demonstrado em outros trabalhos [73], a água após ser retirada do campo magnético, continua alterando suas propriedades ao longo do tempo.

O controle utilizado neste experimento foi água desionizada do mesmo lote, que passou por processo idêntico ao da água tratada, exceto à exposição ao campo magnético e à luz. A água tratada no campo magnético foi analisada pelos mesmos métodos utilizados nas amostras anteriores.

Medidas Experimentais

Espectroscopia na Região do Ultravioleta

A espectroscopia na região do ultravioleta (UV) permite a obtenção de espectros de absorção de radiação UV por uma substância, em um determinado comprimento de onda, na faixa que compreende de 1 a 400 nm. No entanto, os espectrofotômetros usuais não operam abaixo de 175 nm pois, abaixo desse comprimento de onda as absorções da água e do oxigênio são muito intensas. Na faixa entre 175 nm e 190 nm utiliza-se um fluxo intenso de nitrogênio ou argônio para o arraste do oxigênio, que ainda absorve nessa região. Entre 190 nm e 400 nm estamos na faixa mais usual de obtenção dos espectros de UV [131].

As medidas de espectroscopia na região do UV foram feitas utilizando-se um Espectrofotômetro Varian, Modelo Cary 5G / UV-Vis-NIR, duplo feixe, com fenda de 0,50 nm, sem correção de ruído e cela de quartzo de caminho ótico de 5,00 cm, entre 190 nm e 340 nm.

A absorção de radiação pelas moléculas na espectroscopia UV/Vis ocorre devido às transições eletrônicas do estado fundamental para os estados excitados. As transições eletrônicas observadas, de maneira geral, são do tipo $n \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$, e as dos complexos de transferência de carga dos orbitais ligantes para os orbitais d ou f do átomo central em complexos de metais de transição [131]. Existem também as absorções relacionadas à transferência de carga de íons inorgânicos para o solvente, que possibilitam arranjos íon-solvente que em alguns casos absorvem nessa região do UV [139,140].

A intensidade de absorção por uma amostra varia proporcionalmente com o caminho ótico percorrido pela radiação eletromagnética ao longo da amostra, segundo a Lei de Beer-Lambert [131,141-143] :

$$\log I / I_0 = - \epsilon b c \quad \text{equação 5}$$

em que, I_0 = intensidade da radiação incidente (em um comprimento de onda específico); I = intensidade da radiação transmitida, após passar pela amostra ao longo de um caminho ótico b (cm); ϵ = coeficiente de absorvidade ($L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$); c = concentração das espécies absorventes (mol L^{-1}).

O coeficiente de absorvidade depende da freqüência da radiação incidente e é maior onde a absorção é mais intensa. O produto adimensional $\epsilon b c$ é a absorvância (A). A razão I / I_0 é a transmitância (T) e está relacionada com a absorvância, através da relação :

$$A = - \log T \quad \text{equação 6}$$

A Lei de Beer-Lambert implica em que a intensidade da radiação transmitida através de uma amostra em um dado comprimento de onda decresce exponencialmente com o comprimento do caminho ótico e a concentração da amostra. Por isso, para amostras que apresentam baixas intensidades de absorção é necessário aumentarmos o caminho ótico para uma melhor resolução do espectro.

O valor máximo do coeficiente de absorvidade $\epsilon_{\text{máx}}$ é um indicador da intensidade de uma transição. No entanto, como as bandas de absorção em geral são detectadas ao longo de uma faixa de comprimentos de onda, obtendo-se o coeficiente de absorvidade em apenas um comprimento de onda λ não teremos uma boa indicação da intensidade correta de uma transição. A integração do coeficiente de absorvidade é a soma destes coeficientes ao longo de todos os comprimentos de onda e corresponde a área A , abaixo da curva de absorção [131].

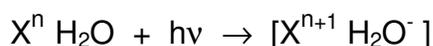
$$A = \int \epsilon \lambda \, d\lambda \quad \text{equação 7}$$

A absorção da água na região do ultravioleta corresponde principalmente à transição eletrônica $n \rightarrow \sigma^*$, que apresenta um máximo de absorção em $\lambda_{\text{máx}} = 167 \text{ nm}$ para o estado gasoso e $\lambda_{\text{máx}} = 147 \text{ nm}$ para o estado líquido [139,144].

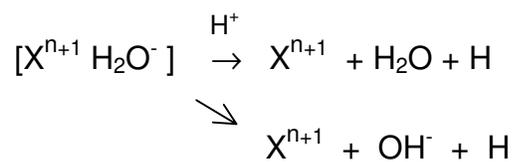
Os espectros de água obtidos na região entre 190 nm e 340 nm, bem distante da absorção máxima, apresentam sinais pouco intensos. Esses sinais correspondem à cauda do pico de absorção observado em 147 nm [131-139] e sua detecção requer cuidados experimentais típicos de trabalhos envolvendo picos de baixa intensidade.

No caso das soluções, as curvas obtidas revelam principalmente a absorção de luz UV de complexos formados pelos íons inorgânicos com moléculas de H₂O. Na literatura são propostos mecanismos de transferência de carga do ânion ou do cátion para o solvente, chamados de CTTS (charge-transfer-to-solvent) [140].

A natureza das transições CTTS é inferida a partir da espectroscopia e da fotoquímica de íons haletos principalmente em soluções aquosas. Vários fatores têm sugerido que o íon hidratado está envolvido na transição eletrônica [139] :



Presume-se que posteriormente o complexo sofre dissociações ou reage através de diversas etapas, como por exemplo [139] :



No entanto, o elétron provavelmente não é transferido para uma única molécula de água e sim para o campo reacional de todas elas e, por consequência, a transição envolvida não é muito clara [139]. Nesse tipo de transição por transferência de carga observa-se pelo menos dois tipos de efeito: a inhomogeneidade devido à interação soluto-solvente, que resulta em uma banda ao invés de um único pico, significando o resultado de uma série de transições; e o Princípio de Incerteza de Heisenberg devido ao curto tempo de vida do estado excitado do complexo, proveniente das colisões deste com o solvente. Para o íon cloreto aquoso o valor máximo da banda de absorção ocorre em $\lambda_{m\acute{a}x} = 190$ nm.

As absorções espectrais dos cátions são muito intensas e ocorrem em energias mais altas, em geral não se sobrepondo às absorções dos ânions. Apesar dos complexos cátion-solvente não serem bem compreendidos, os espectros têm sido analisados como provenientes de um foto-destacamento de um elétron do íon hidratado [139,140].



Soluções em Diluições Extremas

Inicialmente foram feitas aquisições de vários espectros de água desionizada, a uma temperatura de 20 °C, para a verificação da flutuação instrumental. O número de espectros inicialmente adquiridos varia de um dia para outro, mas deve ser o suficiente até que as quatro últimas curvas de absorção de água se sobreponham, indicando uma estabilidade instrumental. A água desionizada foi utilizada como linha base para as posteriores aquisições de espectros nesta região do UV. Fez-se a aquisição dos espectros das 6 amostras de água controle (água sem soluto que passou pelo processo de agitação vigorosa), em triplicata, para o cálculo do espectro médio da água controle. Fez-se, então, a aquisição dos espectros de cada solução estudada. Os espectros obtidos de cada solução foram feitos em triplicata. É importante destacar que após a aquisição dos espectros de cada solução foram feitas repetidas e cuidadosas lavagens da cubeta, com nova aquisição do espectro de água desionizada, confirmando o retorno da absorção à linha base. A cubeta utilizada foi reservada apenas para os estudos de água e sua posição no equipamento obedeceu sempre uma mesma orientação, ou seja, a radiação incidente atravessando inicialmente a mesma face da cubeta. Estes cuidados evitam contaminações e diferentes reflexões da radiação na cubeta de quartzo, que podem interferir nos resultados obtidos.

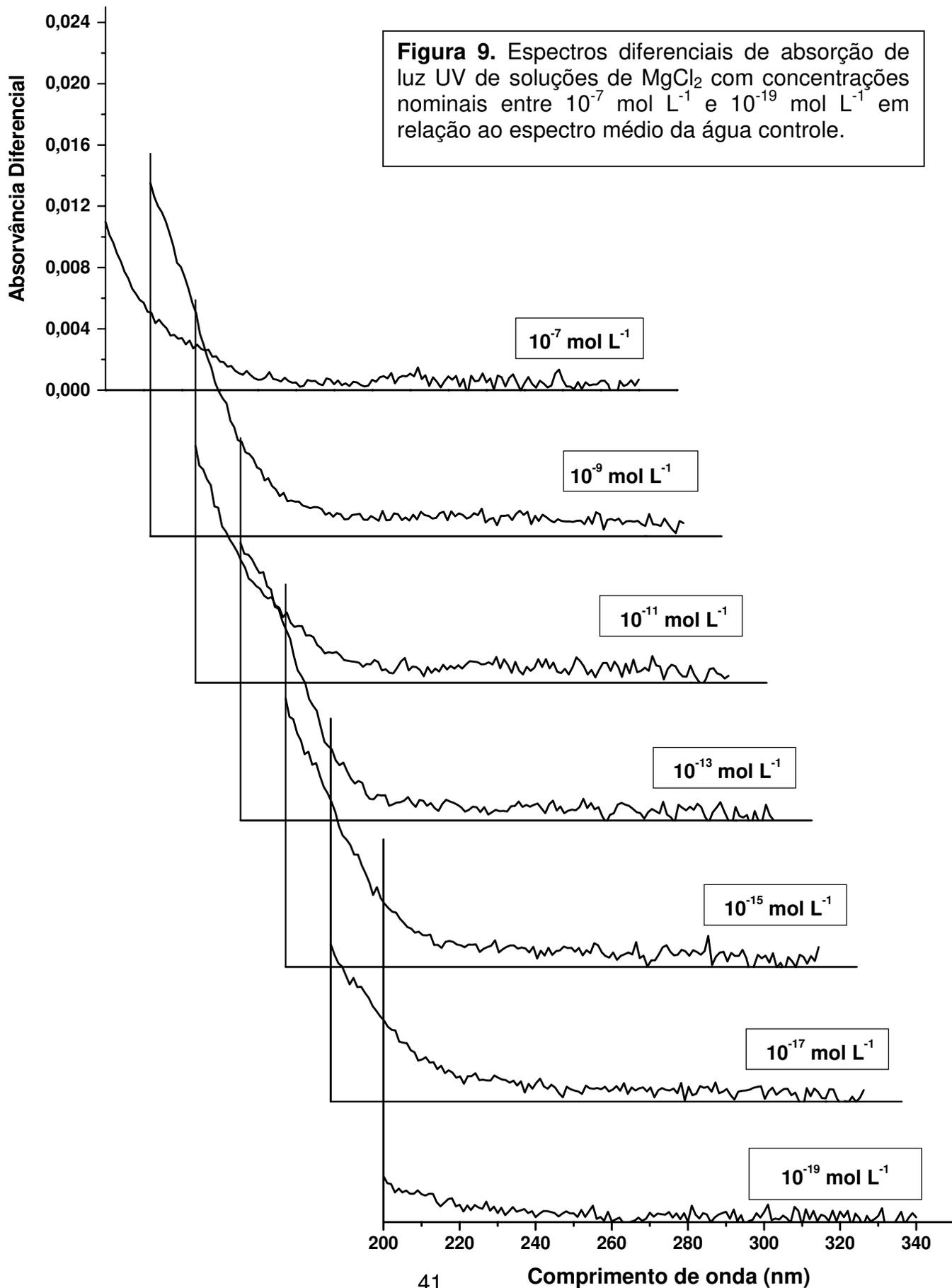
De cada espectro das soluções estudadas foi subtraído ponto a ponto o espectro médio da água controle. Desta forma, obteve-se o espectro de absorvância diferencial de cada solução em relação ao controle. Além disso, fez-

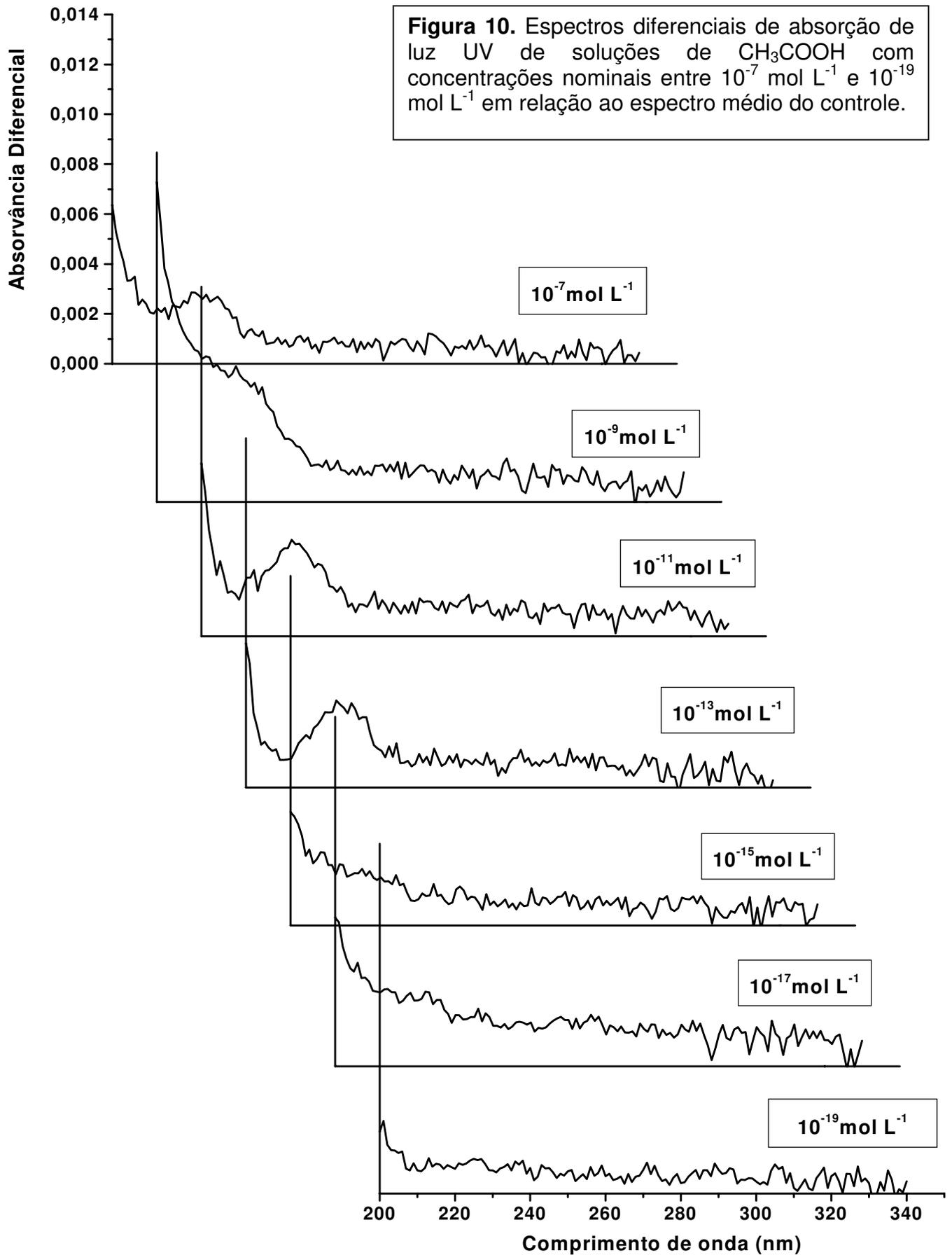
se o mesmo procedimento para cada espectro de água controle em relação ao seu próprio espectro médio para se obter a flutuação instrumental.

Posteriormente, calculou-se a integral da função que descreve a curva de absorção diferencial de cada solução, sempre dentro da mesma faixa de comprimentos de onda.

Foram adquiridos espectros na região do UV de soluções aquosas de MgCl_2 e CH_3COOH em concentrações nominais na faixa de $\sim 10^{-1}$ mol L^{-1} a $\sim 10^{-19}$ mol L^{-1} . As figuras 9 e 10 apresentam os espectros de absorvância diferencial de água adquiridos pela absorção de luz UV das soluções com concentrações a partir de $\sim 10^{-7}$ mol L^{-1} em relação ao controle. Para as diluições iniciais, com concentrações de $\sim 10^{-1}$ mol L^{-1} e $\sim 10^{-3}$ mol L^{-1} , os valores de absorção são bastante elevados devido à quantidade de soluto presente e os espectros apresentam outra escala de absorção. Tais espectros não são apresentados pois este estudo pretende enfatizar o aumento da absorção nas soluções mais diluídas, que apresentam valores de absorção dentro da mesma escala das amostras de água controle. A solução $\sim 10^{-5}$ mol L^{-1} de MgCl_2 ainda apresenta uma intensidade de absorção de luz UV elevada devido à presença do soluto mas, a despeito disso, as figuras 11 e 12 mostram as áreas sob as curvas de absorção a partir dessa solução.

A região que compreende as soluções com concentração entre $\sim 10^{-5}$ mol L^{-1} e $\sim 10^{-7}$ mol L^{-1} será estudada separadamente, uma vez que os espectros de absorção apresentam uma descontinuidade nessa região. A partir da solução $\sim 10^{-7}$ mol L^{-1} a intensidade de absorção de luz UV volta a subir em relação ao controle. Nesses casos, a intensidade de absorção diferencial **umenta** inicialmente com a diluição, e só tende a desaparecer após concentrações de $\sim 10^{-19}$ mol L^{-1} . Este efeito é observado tanto nas soluções de MgCl_2 como nas de CH_3COOH .





Considerando-se que a área sob a curva dos espectros de absorção deve depender da quantidade de sítios absorventes, quando se trata de um espectro diferencial esta área retrata o aumento do número de sítios absorventes nas soluções em relação ao controle. O cálculo dessa área deve fornecer um modo sintético de comparar absorções de soluções em diferentes concentrações. A figura 11 mostra o resultado desse cálculo para as soluções de $MgCl_2$ e CH_3COOH obtido através da integração da função que descreve cada curva. Nos gráficos apresentados cada ponto representa a área sob a curva de absorção para a solução de concentração nominal correspondente. A flutuação dos espectros diferenciais da água em relação ao espectro médio das águas controle, indicados na página 41, não excedeu à 1,2 % dos valores de área das figuras 11 e 12.

Para se verificar a região de descontinuidade entre as soluções $\sim 10^{-5}$ mol L^{-1} e $\sim 10^{-7}$ mol L^{-1} , fez-se um novo estudo com soluções de $MgCl_2$ em concentrações intermediárias. Conforme se observa na figura 12, os novos pontos obtidos (em branco) confirmam a tendência observada no experimento anterior (figura 11) e permitem a definição da concentração onde a curva passa pelo zero, bem como um detalhamento mais apurado do traçado da curva.

No estudo de espectroscopia na região do UV com as amostras de água controle que passaram pelo processo de agitação vigorosa observou-se uma flutuação do máximo de absorção de $\pm 0,0005$ na escala de absorvância. Para as soluções de $MgCl_2$ e CH_3COOH os espectros de absorção apresentaram uma flutuação de $\pm 0,0015$ na escala de absorção.

As soluções iniciais de $MgCl_2$ e CH_3COOH apresentaram uma absorção muito intensa devido à grande quantidade de soluto presente. Como visto anteriormente, os íons Cl^- quando em solução aquosa formam complexos ânion-solvente com o máximo de absorção em 190 nm e os íons Mg^{+2} absorvem em regiões de mais alta energia. As transições eletrônicas do tipo $n \rightarrow \pi^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \sigma^*$ para o CH_3COOH também ocorrem na região de 190 nm [139,140].

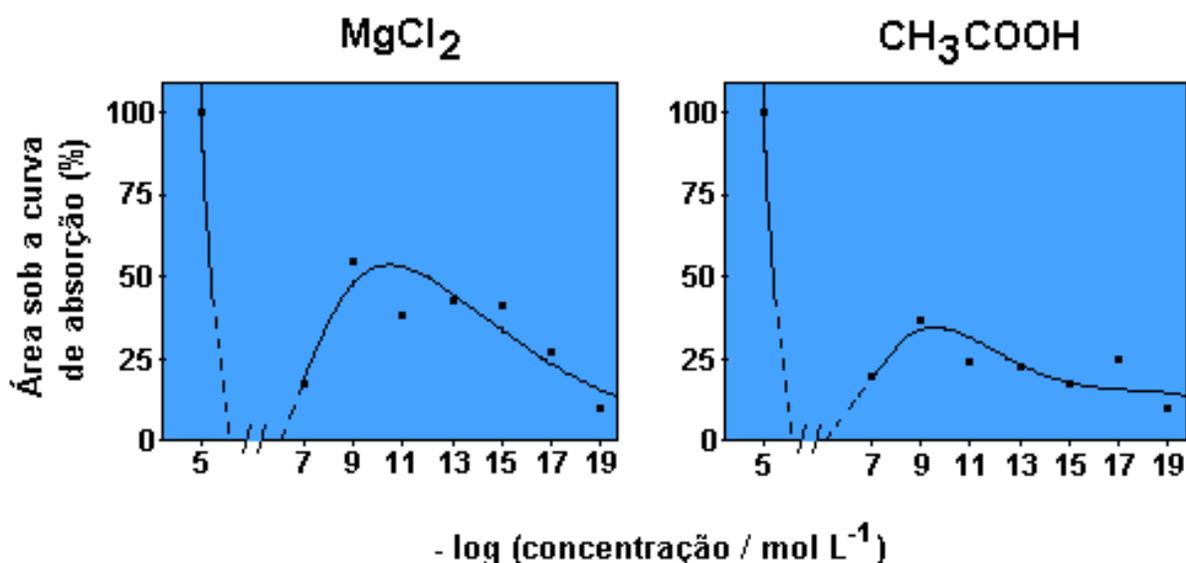


Figura 11. Valores das áreas sob as curvas de absorção de UV das soluções de MgCl₂ e CH₃COOH com concentrações nominais entre $\sim 10^{-5}$ mol L⁻¹ e $\sim 10^{-19}$ mol L⁻¹.

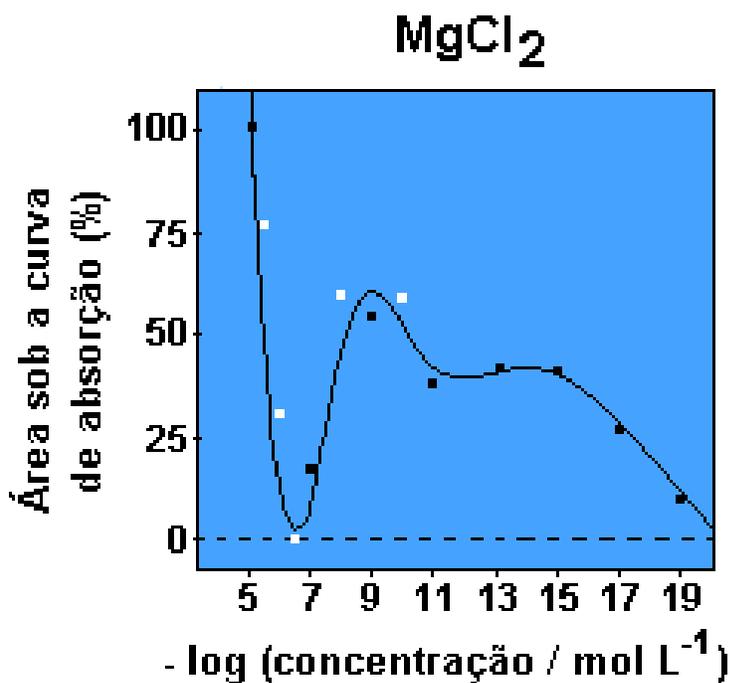


Figura 12. Valores das áreas sob as curvas de absorção de UV das soluções de MgCl₂ com concentrações nominais entre $\sim 10^{-5}$ mol L⁻¹ e $\sim 10^{-19}$ mol L⁻¹. Os pontos brancos são os valores de concentração adicionados em relação à figura 11.

À medida em que as soluções são diluídas esta intensidade diminui drasticamente até o limite de absorção da água desionizada. Surpreendentemente, as soluções com concentrações nominais a partir de $\sim 10^{-7}$ mol L⁻¹ apresentam novamente um **aumento** na intensidade de absorção, que só tende a desaparecer após concentrações de $\sim 10^{-19}$ mol L⁻¹.

Aparentemente, a técnica de espectroscopia na região do UV pode se constituir num método indireto de detectar a presença do soluto, através da estruturação que ele impõe ao solvente, mesmo em diluições extremas.

Harvey [11] através de cálculos matemáticos prevê diferentes valores para o máximo do pico de absorção na região do UV para *clusters* de tamanhos diferentes. Segundo estes cálculos, *clusters* menores apresentam o pico de absorção em regiões de comprimentos de onda maiores. Assim, o aumento da quantidade de *clusters* pequenos de água nas soluções poderia promover o aumento da absorção de luz UV na faixa de comprimentos de onda estudada.

O cálculo das áreas sob a curva de absorção das soluções evidenciou um comportamento não aleatório e uma provável estruturação das soluções à medida em que a concentração das mesmas diminui, num certo intervalo.

Água Resultante de Fracionamento

As aquisições dos espectros diferenciais das amostras obtidas por fusão fracionada da água (1^a, 2^a e 3^a frações) foram feitas com os mesmos critérios e cuidados experimentais descritos no estudo anterior. Fez-se também a aquisição dos espectros de UV das frações obtidas pelo processo de congelamento a partir do núcleo do cristal de gelo.

Foram feitos de 6 a 8 fracionamentos diferentes com cada amostra estudada e a temperatura das amostras foi mantida a 20 °C durante a aquisição dos espectros. Posteriormente, fez-se o cálculo dos espectros diferenciais de absorção de cada amostra tomando-se como linha base o espectro da água desionizada do mesmo lote.

A figura 13 apresenta as curvas de absorção das 1^a, 2^a e 3^a frações e do controle em relação à água desionizada. Observa-se que a 1^a fração absorve mais

intensamente a radiação UV que as demais frações e o controle. A flutuação de cada espectro diferencial de absorção é $\pm 0,01$ na escala de absorvância, considerando-se o número de repetições realizado com cada amostra.

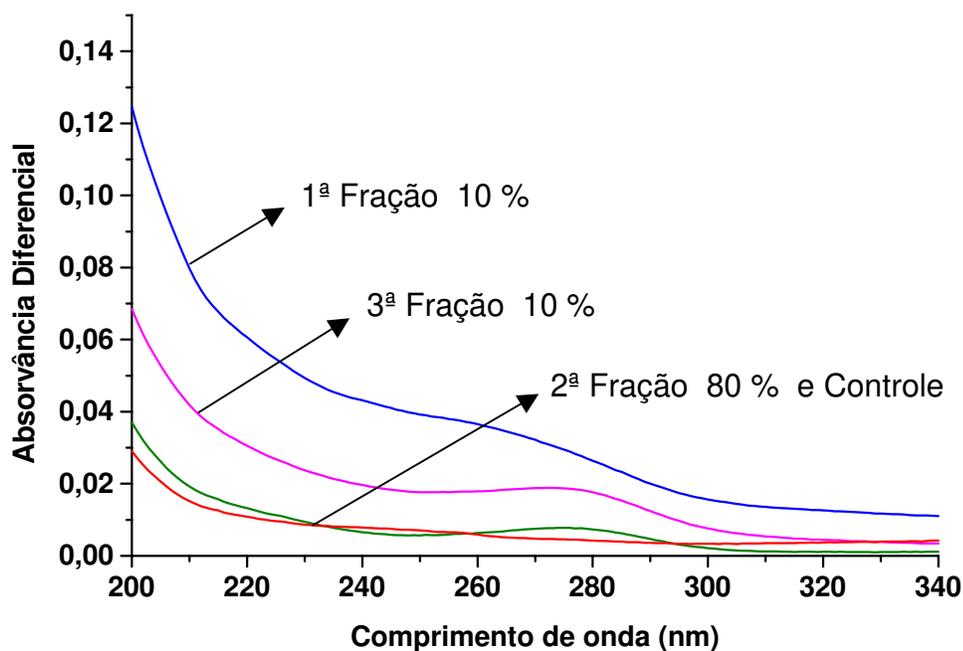


Figura 13. Espectro diferencial de absorção de luz UV das 1ª, 2ª e 3ª frações de água obtidas por fusão fracionada e do controle, em relação ao espectro da água desionizada utilizado como linha base.

No intuito de uma avaliação prévia do comportamento de outras percentagens de fracionamento em relação às intensidades de absorção nesta região do UV fez-se a aquisição de espectros de absorção das 1ª e 3ª frações a 5 % e a 15 % em volume. A 2ª fração tem volume intermediário de cada fracionamento e o controle corresponde à água desionizada que passou pelo processo de congelamento sem fracionamento posterior. Cada fracionamento foi feito em triplicata com as aquisições dos espectros de UV correspondentes, a uma temperatura de 20 °C. Os espectros de absorção para frações de água a 5 % e a 15 % em volume são apresentados nas figuras 14 e 15.

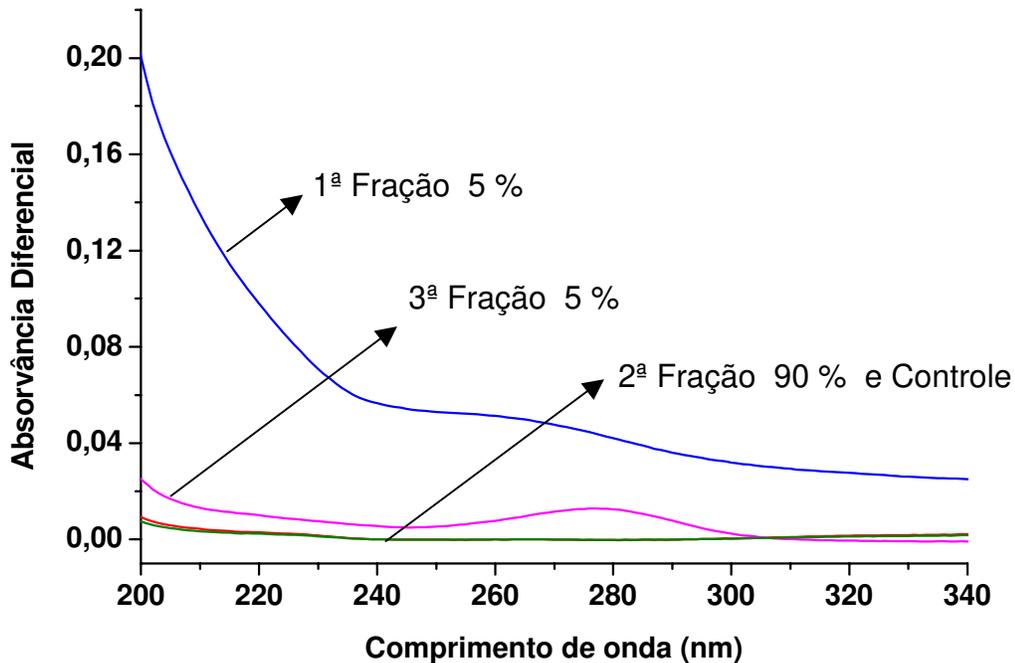


Figura 14. Curvas diferenciais de absorção de luz UV das 1ª e 3ª frações (5 % em volume), da 2ª fração (90 % em volume) e do controle, em relação ao espectro da água desionizada.

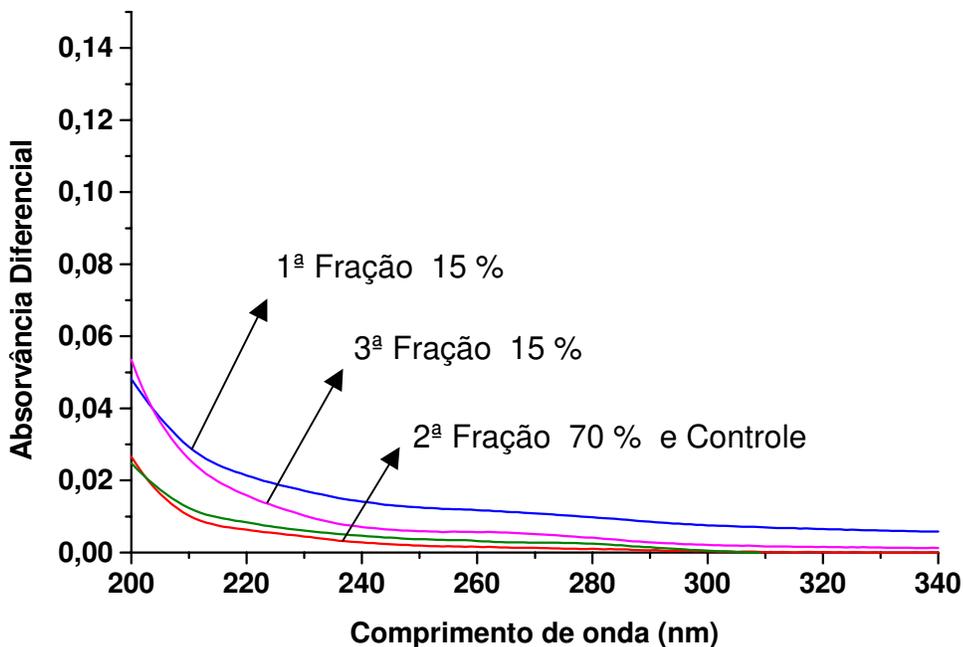


Figura 15. Curvas diferenciais de absorção de luz UV das 1ª e 3ª frações (15 % em volume), da 2ª fração (70 % em volume) e do controle, em relação ao espectro da água desionizada.

A flutuação das intensidades de absorção das curvas apresentadas no estudo das diferentes percentagens de fracionamento para cada fração é de $\pm 0,01$ na escala de absorvância.

As curvas de absorção das amostras com diferentes percentagens de fracionamento revelam que quanto menor a percentagem do 1º fracionamento maior a intensidade de absorção da amostra nesta região do UV. A título de comparação, a figura 16 apresenta as curvas de absorção da 1ª fração 5 %, 10 % e 15 % em volume do gelo, apresentadas separadamente nas figuras 13, 14 e 15.

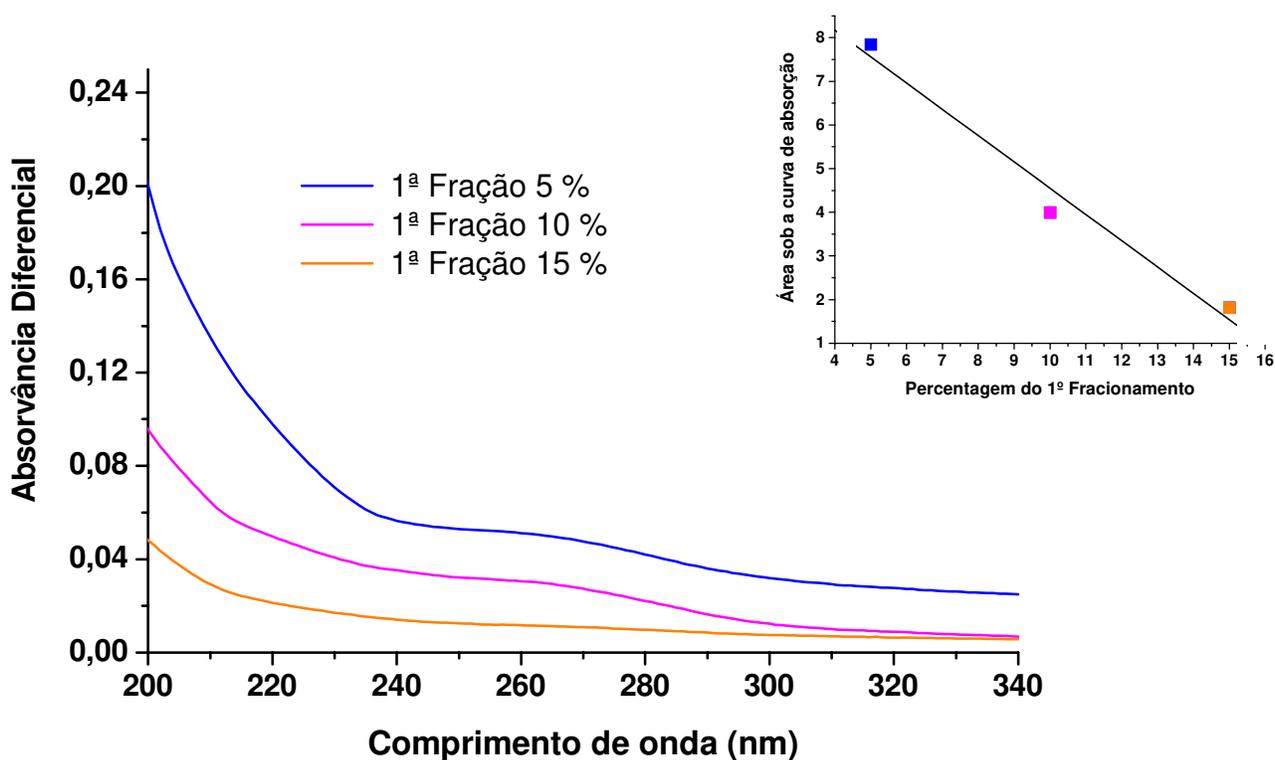


Figura 16. Curvas diferenciais de absorção de luz UV da 1ª fração 5 %, 10 % e 15 % em volume de gelo, em relação à água desionizada. As áreas das curvas de absorção estão representadas no gráfico acima à direita, indicando uma tendência de comportamento da absorção de luz UV em relação à percentagem do 1º fracionamento.

Fez-se também uma especulação das absorções de luz UV pelas 1ª e 3ª frações (10 %) quando o congelamento se inicia a partir do núcleo do gelo. Nesse caso, o material utilizado no processo de congelamento foi de vidro e cada fracionamento foi feito em triplicata, com as respectivas aquisições dos espectros de cada amostra nessa região do UV.

A despeito do congelamento iniciar-se no núcleo do gelo e do material utilizado ser de vidro, observa-se a mesma tendência das curvas de absorção para as frações de água, como mostra a figura 17.

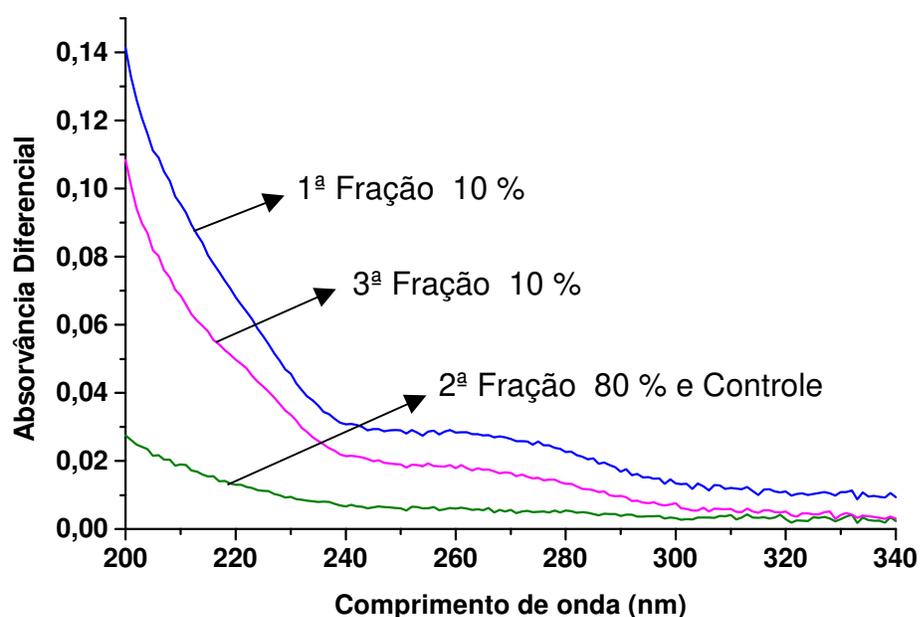


Figura 17. Espectro diferencial de absorção de luz UV das 1ª, 2ª e 3ª frações de água provenientes do congelamento a partir no núcleo do gelo e do controle, em relação ao espectro da água desionizada.

É importante ressaltar a diferença entre os materiais utilizados nos dois processos de congelamento: polipropileno para o congelamento normal e vidro para o congelamento a partir do núcleo do gelo. Este fato deve indicar que as curvas de absorção das frações não devem refletir contaminação desses materiais, já que apresentam o mesmo comportamento independentemente do material utilizado.

Estudos teóricos [11] que relacionam o tamanho dos *clusters* de água com a energia equivalente à transição eletrônica dessas espécies indicam que *clusters* menores absorvem em comprimentos de onda maiores. Se pudermos imaginar que o 1º fracionamento, correspondente à camada externa do cristal de gelo (camada menos ordenada), é enriquecido de *clusters* pequenos poderíamos supor que quanto mais enriquecida em *clusters* menores é a amostra maior sua intensidade de absorção nessa região do UV.

Água Exposta ao Campo Magnético

Os espectros da água tratada em campo magnético obtidos na região do UV foram adquiridos com os mesmos critérios e cuidados experimentais descritos nos estudos anteriores. As curvas de absorção apresentadas são curvas diferenciais da água tratada em relação à água desionizada do mesmo lote, cujo espectro foi utilizado como linha base. A temperatura das amostras durante a aquisição dos espectros de UV foi de 20 °C. As medidas de absorção de luz UV foram feitas com 8 amostras preparadas em dias diferentes. A flutuação das intensidades de absorção das amostras foi de $\pm 0,01$ em relação à curva apresentada na figura 18.

Para se verificar a influência de gases dissolvidos nas amostras sobre os espectros de absorção de UV foram realizados experimentos com borbulhamento de argônio para retirada desses gases. Estes experimentos foram feitos em triplicata.

Fez-se o borbulhamento de argônio tanto no controle como na água tratada em campo magnético, até que os espectros apresentassem uma absorção constante. O controle foi utilizado como linha base. Obteve-se o espectro diferencial de absorção de luz UV pela água tratada após a expulsão dos gases dissolvidos, como mostra a figura 19.

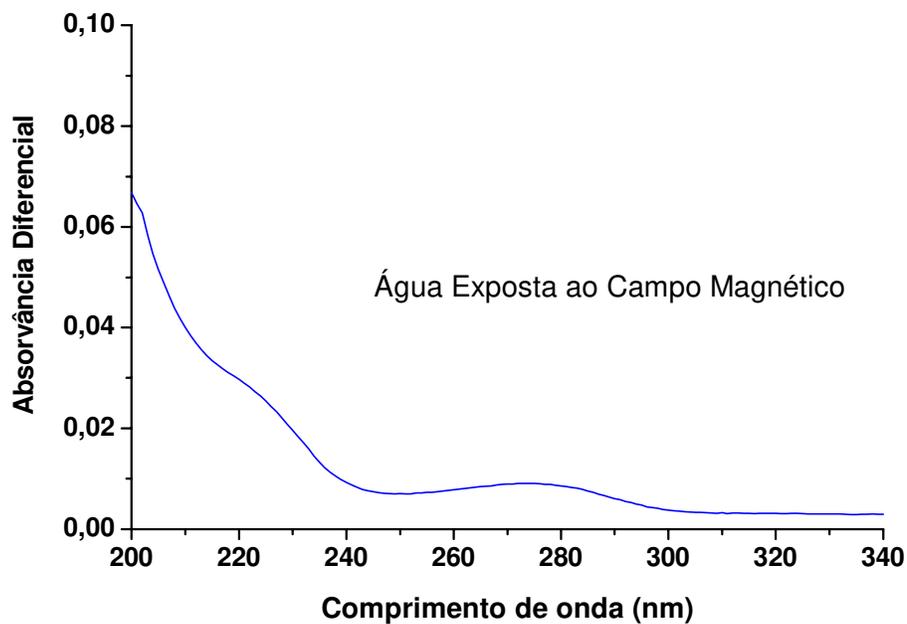


Figura 18. Curva diferencial de absorção de luz UV da água exposta ao campo magnético em relação ao controle.

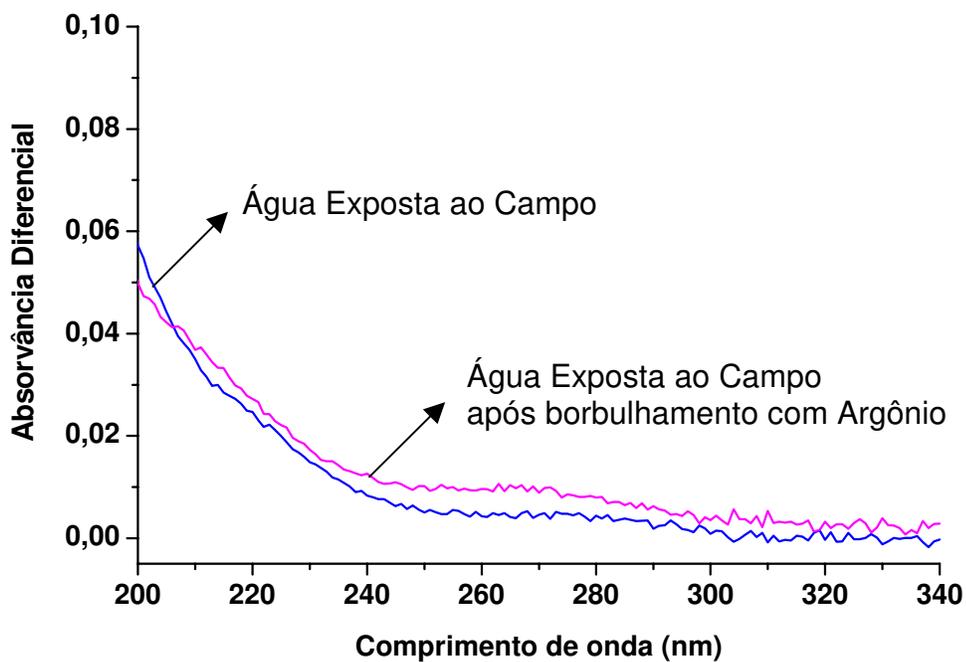


Figura 19. Curvas diferenciais de absorção de luz UV da água exposta ao campo magnético em relação ao controle, antes e após o borbulhamento de argônio.

Observa-se que após o borbulhamento de argônio a intensidade de absorção de luz UV pelas amostras variou dentro da flutuação experimental. Portanto, a presença de gases dissolvidos no meio não é a responsável pelas absorções nessa faixa de comprimentos de onda estudada.

Segundo alguns autores [3,46] o campo magnético altera as ligações de hidrogênio presentes na água possibilitando a formação de novos *clusters*. O aumento das absorções de luz UV pelas amostras indica uma mudança no meio, possivelmente associada à uma distribuição de tamanho de *clusters* diferente daquela inicial. Este resultado em espectroscopia na região do UV é observado em águas tratadas em diversos tipos de arranjos de campo magnético [11,73], não apenas com o arranjo apresentado na figura 8 (página 35).

Os resultados obtidos nas medidas de absorção de luz UV se tornam mais interessantes quando correlacionados aos obtidos na hidratação da pele humana e no intumescimento e germinação de sementes, que também nos fazem supor uma mudança na distribuição do tamanho de *clusters*, tendendo à uma maior quantidade de *clusters* pequenos nestas amostras quando comparadas ao controle.

Condutividade Elétrica

A medida fundamental normalmente usada para o estudo da movimentação de íons em solução é a de condutividade elétrica (k). A condutividade elétrica pode ser definida, pela Lei de Ohm, como uma constante de proporcionalidade entre a densidade de corrente (j) e o campo elétrico aplicado (E) [131] :

$$j = k E \quad (\text{amp} / \text{cm}^2) \quad \text{equação 8}$$

A condutividade de uma solução depende do número de íons presentes e normalmente utiliza-se a condutividade molar (Λ_m), que é definida como :

$$\Lambda_m = k / c \quad (\text{S cm}^2 \text{ mol}^{-1}) \quad \text{equação 9}$$

na qual, c é a concentração molar do eletrólito adicionado.

A condutividade molar (Λ_m) está inversamente relacionada à força de atrito friccional (f) de oposição ao movimento de um íon esférico quando imerso em um meio contínuo, segundo a equação abaixo [131] :

$$\Lambda_m = z^2 e^2 N_A / f \quad (\text{S cm}^2 \text{ mol}^{-1}) \quad \text{equação 10}$$

em que, Λ_m = condutividade molar ; z = carga do íon ; N_A = número de Avogadro (mol^{-1}) ; e = carga elementar (C).

Pela equação de Stokes, a força de atrito friccional é definida como [131] :

$$f = 6 \pi \eta r \quad (\text{kg s}^{-1}) \quad \text{equação 11}$$

na qual, η = viscosidade do meio ($\text{kg m}^{-1} \text{ s}^{-1}$) e r = raio do transportador de carga (m).

As medidas de condutividade foram realizadas em um condutímetro Micronal B331, de leitura direta. A calibração do aparelho foi feita em banho termostático marca Quimis estabilizado a 25 °C, com uma solução de cloreto de potássio 0,01 mol L⁻¹, com condutividade $k = 1,41 \text{ mS cm}^{-1}$.

Soluções em Diluições Extremas

A adição de solutos iônicos à água resulta em um aumento de condutividade elétrica como mostram as equações 8, 9 e 10. No caso das soluções mais concentradas de MgCl₂ e CH₃COOH o valor de condutividade é bastante elevado e não se observou diferença entre esses valores para as soluções que passaram pelo processo de agitação vigorosa e para as soluções controle de mesma concentração. À medida em que faz-se as diluições sucessivas os valores de condutividade diminuem, mas também não foram encontradas diferenças significativas nos valores de condutividade com relação ao controle.

Água Resultante de Fracionamento

Os valores de condutividade elétrica obtidos para as frações de água e o controle estão apresentados na tabela 3, juntamente com as respectivas estimativas de desvio padrão das amostras. Cada experimento foi feito no mínimo em triplicata. Para as frações 10 % foram realizados 8 fracionamentos distintos.

Observamos que a percentagem de fracionamento das frações influi nos valores de condutividade elétrica. A partir da fração 15 % em volume para o 1º fracionamento os valores de condutividade foram iguais aos do controle, levando-se em consideração as estimativas de desvio padrão das amostras. A 1ª fração 5 % apresentou o maior valor de condutividade elétrica e também de absorção de luz UV, quando comparada com o controle.

Tanto a 2ª fração como a 3ª fração, nas várias percentagens de fracionamento, não apresentaram diferenças significativas de condutividade elétrica na faixa de temperatura estudada, quando comparadas ao controle.

Tabela 3. Condutividade elétrica média (k) e as respectivas estimativas de desvio padrão para as 1^{as} frações de água e o controle.

Amostras	k / $\mu\text{S cm}^{-1}$
1ª Fração (5 %)	1,89 \pm 0,15
1ª Fração (10 %)	1,59 \pm 0,24
1ª Fração (10 %) – Dedo Frio	1,40 \pm 0,15
Controle Frações	1,00 \pm 0,10
Controle Frações - Dedo Frio	1,06 \pm 0,10
Água Desionizada	0,60 \pm 0,10

Vale lembrar aqui que a condutividade da água desionizada indicada pelo desionizador da Millipore utilizado nesse trabalho é de 0,056 $\mu\text{S cm}^{-1}$, como indicado na página 30.

Também se observou que no congelamento feito a partir do núcleo do cristal de gelo as frações apresentaram valores de condutividade elétrica semelhantes às aquelas obtidas pelo congelamento normal. Isto significa que, provavelmente, as alterações nos valores de condutividade elétrica dessas amostras não se devem à contaminação dos frascos utilizados, nem a contaminações espúrias do ambiente que circunda a amostra durante o processo de congelamento, já que tanto os materiais quanto os processos utilizados nos dois tipos de congelamento são diferentes.

Durante o processo de congelamento uma das possibilidades de diferenciação química entre as camadas do cristal de gelo é o efeito de exclusão do soluto, que tende a se concentrar na fase líquida durante a transição de fase. Mesmo quando utilizamos água desionizada, com um nível de substâncias presentes bem controlado, podemos pensar no efeito de exclusão de substâncias remanescentes na água. Este efeito poderia tornar a última fração a ser congelada mais rica em possíveis impurezas. No entanto, as medidas de condutividade e os espectros de UV da 3ª fração não mostram esse efeito. Contrariamente, a 1ª fração que deveria ser a fração mais pura de todas apresenta um maior valor de condutividade elétrica e também de absorção de luz UV quando comparada à 3ª fração.

Se imaginarmos que algumas estruturas do estado sólido (*ice-like* [7]) se mantêm quando ocorre a fusão da água poderíamos supor que a 1ª fração, equivalente à superfície do cristal de gelo (camada menos ordenada [108]), possui uma maior quantidade de *clusters* menores. Talvez este fato possa estar relacionado à mudança de algumas propriedades da água após a fusão fracionada, como a condutividade elétrica e a absorção de luz na região do UV.

Água Exposta ao Campo Magnético

A tabela 4 mostra os valores médios de 8 medidas de condutividade elétrica (k) da água exposta ao campo magnético e do controle obtidos a temperaturas entre 22 °C e 24 °C, preparadas em 8 experimentos distintos. O controle é água

desionizada do mesmo lote que passou pelo mesmo processo de preparação da água tratada em campo magnético, exceto a exposição ao campo.

Tabela 4. Condutividade elétrica média (k) e as respectivas estimativas de desvio padrão da água exposta ao campo magnético e do controle.

Amostras	k / $\mu\text{S cm}^{-1}$
Água Exposta ao Campo	2,60 \pm 0,30
Controle	1,50 \pm 0,18
Água Desionizada	0,60 \pm 0,10

Também no caso da água exposta ao campo magnético os valores de condutividade elétrica são bem superiores aos do controle. Segundo Zhou [46] o campo magnético é capaz de quebrar ligações de hidrogênio, o que propiciaria a formação de novos aglomerados de água. Essa nova distribuição de tamanho dos aglomerados de água possivelmente interfira menos na trajetória dos íons transportadores de carga, fazendo com que a condutividade elétrica aumente.

Quando manipulamos propositamente as amostras de água, fluindo-as de um recipiente para outro várias vezes, no intuito de aumentarmos a quantidade de ar dissolvido nas mesmas até a saturação, observamos que ainda assim a água tratada em campo magnético apresenta as mesmas diferenças nos valores de condutividade elétrica em relação ao controle. Evidentemente, os valores de condutividade das amostras aumentam devido ao aumento de gás carbônico dissolvido no meio, mas a diferença entre os valores de condutividade da água tratada e do controle se mantém após a dissolução de CO₂.

Intumescimento e Germinação de Sementes de Trigo

As sementes de trigo utilizadas nos experimentos de intumescimento e germinação são sementes fornecidas pela EMBRAPA -TRIGO do Rio Grande do Sul, o que significa que possuem um controle de qualidade rigoroso, implicando

em uma percentagem de germinação maior e mais homogênea, sempre que respeitadas as condições de armazenamento e plantio das sementes.

Os testes de intumescimento de sementes fornecem uma visão, num sistema diferente da pele humana, do desempenho da água na penetração através de uma barreira, que é a própria casca e película que envolvem a semente. Ao final de várias horas os lotes de sementes tendem a igualar a quantidade média de água absorvida, evidenciando que a maior diferença na cinética de intumescimento das sementes ocorre no início do processo. O desenvolvimento posterior das plântulas, após as sementes terem permanecido imersas em água, é avaliado pelo teste de germinação. Em geral, um aumento no intumescimento das sementes é um fator determinante para uma melhora nas condições germinativas posteriores [76].

Existem algumas sementes que permanecem “duras”, praticamente inalteradas ao final do processo de germinação, pois ficam sem absorver água por um período de tempo mais longo que o normal e não conseguem germinar. Estas sementes não são consideradas na contagem final do processo de germinação.

Os testes de germinação feitos em laboratório visam avaliar as estruturas essenciais do embrião, demonstrando sua aptidão para produzir uma planta normal sob condições favoráveis de campo. Nesses testes a germinação de sementes corresponde à percentagem de plântulas normais em relação às anormais obtidas sob as condições e limites de tempo especificados pelo Ministério da Agricultura e Reforma Agrária [138].

Os critérios de classificação das plântulas em normais ou anormais é bastante complexo pois envolve uma avaliação das estruturas essenciais da mesma. De forma bastante simplificada, podemos classificar de plântulas normais de trigo aquelas que apresentam 3 ou mais raízes e cujo broto seja 2/3 do tamanho da raiz. Quando a raiz é menor ou igual ao broto, ou mesmo quando apresenta menos que 3 raízes, a plântula é classificada de anormal.

Outros cuidados devem ser seguidos nos testes de germinação [138] :

1. O substrato consiste de papel de germinação que deve possuir um controle de qualidade específico para tal finalidade.

2. A quantidade de água utilizada para a germinação deve ser equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato.
3. A temperatura deve ser controlada e os experimentos devem ser feitos em sala climatizada a 20 °C.
4. Espaçamento de semeadura: o espaçamento entre as sementes deve respeitar a distância de 1,5 a 5 vezes a sua largura e deve ser o mais uniforme possível.
5. O substrato deve ficar durante todo o teste suficientemente úmido a fim de dar às sementes a quantidade de água necessária para sua germinação. No entanto, não deve haver um excesso de água ao redor das sementes para não prejudicar a aeração do sistema.
6. A iluminação durante o processo de germinação não é essencial, já que as sementes em questão germinam tanto no claro como no escuro. No entanto, foi feita iluminação artificial em ciclos de 12 horas. A iluminação deve incidir uniformemente nos lotes de sementes em estudo.
7. Não se utiliza nenhum tratamento adicional para promover a germinação das sementes.
8. A contagem e classificação das plântulas é feita no 4º dia e/ou no 8º dia de germinação. Nos testes de germinação realizados neste trabalho fez-se a contagem e classificação das plântulas no 4º dia de germinação.
9. Segundo o Manual do Ministério da Agricultura e Reforma Agrária [138] para se ter uma representatividade dos lotes de sementes germinadas deve-se utilizar 200 sementes para repetições de sistemas já conhecidos e 400 sementes para pesquisas de novos sistemas. Foram feitos experimentos em triplicata com aproximadamente 150 sementes, totalizando cerca de 450 sementes de trigo para cada amostra.

As soluções estudadas no intumescimento e germinação das sementes de trigo foram: solução aquosa de MgCl_2 $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, 1ª fração 10 %, 3ª fração 10%, água exposta ao campo magnético e água desionizada (controle). A 2ª fração não foi testada nesse caso pois, nas medidas realizadas anteriormente, absorção de luz UV e condutividade elétrica, não se mostrou diferente da amostra controle.

Inicialmente foram pesados lotes contendo 6,00g de sementes de trigo (aproximadamente 150 sementes), sendo cada lote imerso na solução em estudo. Pesaram-se as sementes intumescidas ao longo do tempo, após serem secas em papel de germinação [138] para retirar o excesso de líquido. Após um período de 18 h as sementes foram cuidadosamente espalhadas em placas de Petri distintas, contendo como substrato apenas papel de germinação regado com a amostra correspondente. As sementes foram dispersas de forma homogênea, respeitando o espaçamento entre elas para permitir um bom crescimento das raízes e das plântulas. A temperatura foi mantida entre 20 °C e 22 °C durante todo o experimento e a iluminação foi artificial em ciclos de 12 horas. No 4º dia de germinação foi feita a contagem das plântulas normais, anormais e sementes que não germinaram em cada lote, segundo critério descrito no manual do Ministério da Agricultura e Reforma Agrária [138]. Utilizando apenas a quantidade de plântulas que germinaram, calculamos a razão entre o número de plântulas normais (N) e o número de plântulas anormais (A) em percentagem para cada lote.

Soluções em Diluições Extremas

Os experimentos com vegetais são bastante trabalhosos no que se refere ao seu preparo e à contagem das plantas. Dentre as possíveis soluções diluídas de $MgCl_2$ utilizou-se uma solução $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, pelo fato dessa concentração ser equivalente à utilizada na preparação da solução hidratante 3%. O íon Mg^{+2} é capaz de penetrar na pele aportando moléculas de água ligadas à sua esfera de solvatação e talvez possa penetrar mais facilmente nas sementes de trigo ou promover uma melhor germinação dessas plântulas.

Observou-se que a solução de $MgCl_2$ $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ não induziu um aumento significativo na velocidade de intumescimento das sementes de trigo em relação ao controle (água desionizada). No entanto, na etapa de germinação as sementes tratadas com a solução de $MgCl_2$ apresentaram uma razão entre o número de plântulas normais (N) e o de anormais (A) superior ao controle, como mostra a figura 20. O número de plântulas normais e anormais foi calculado em percentagem de sementes utilizadas em cada experimento. Para o controle a

razão N/A foi de 1,0, enquanto que para as sementes tratadas com a solução de $MgCl_2$ a razão N/A foi de 1,6.

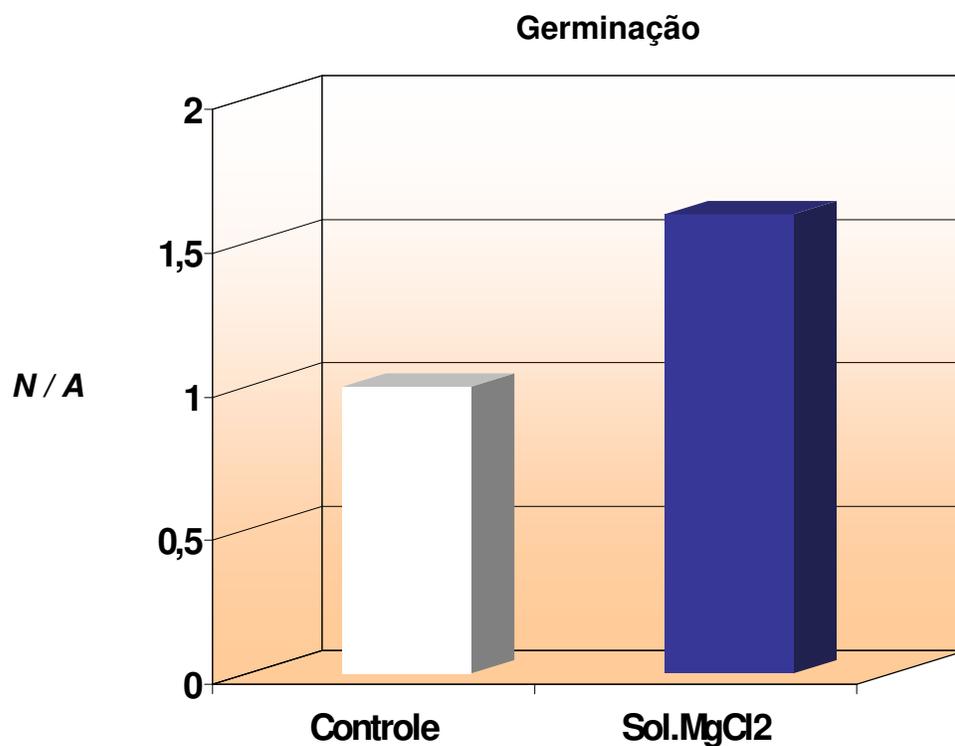


Figura 20. Razão entre o número de plântulas normais (N) e o número de plântulas anormais (A) de trigo irrigadas com o controle e com a solução de $MgCl_2$ $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, no 4º dia de germinação.

Observou-se que a solução de $MgCl_2$ mesmo em baixa concentração promoveu uma melhora no desenvolvimento das plântulas de trigo em estudos de bancada. Em concentrações tão baixas é improvável que o efeito observado seja devido à ação do íon Mg^+ sobre as sementes; é possível pensar que a água reestruturada pela presença do sal seja o agente modificador do processo germinativo.

Água Resultante de Fracionamento

No caso da água obtida por fusão fracionada, os testes de intumescimento e germinação de sementes de trigo mostraram que a 1ª fração penetra mais rapidamente nas sementes e propicia uma maior quantidade de plântulas normais em relação às anormais, quando comparado com a 3ª fração e com o controle. O aumento de massa de água absorvida pelas sementes imersas nas frações é sempre relativo ao lote das sementes imersas na água controle, ou seja, as curvas apresentadas na figura 21 são calculadas em relação ao controle.

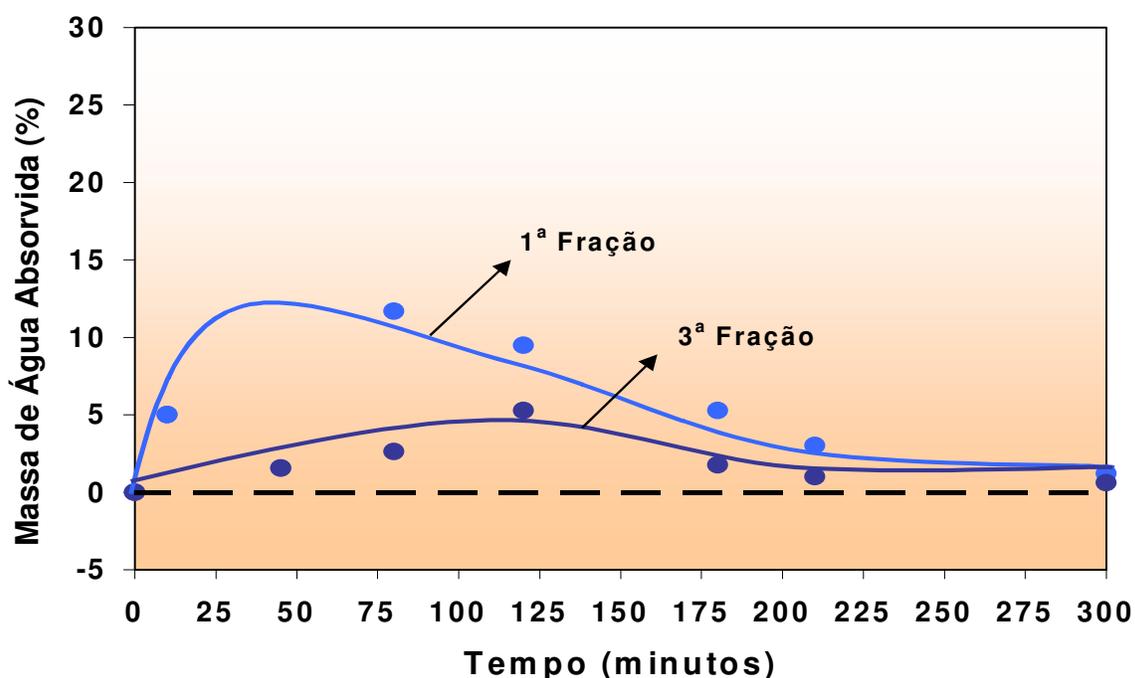


Figura 21. Aumento de massa de água absorvida pelas sementes de trigo quando imersas na 1ª fração e na 3ª fração em relação ao controle, em porcentagem (média de três medidas experimentais, totalizando 450 sementes por lote).

Observou-se um efeito cinético no intumescimento das sementes. A 1ª fração permeou mais rapidamente através da casca e película das sementes, fazendo com que estas atinjissem um intumescimento inicial maior. Após algumas horas observou-se que a quantidade de água absorvida pelas sementes tendeu a se igualar a do controle. Para as sementes de trigo observou-se que após aproximadamente 5 horas de imersão a quantidade de água que a semente foi

capaz de absorver chegou a um limite e a partir desse momento percebemos uma estabilização do sistema.

No teste de germinação apenas a 1ª fração propiciou um melhor desenvolvimento das plântulas em relação ao controle. A figura 22 mostra a razão entre o número de plântulas normais (N) e o de anormais (A) obtido com o uso da 1ª fração e do controle, em percentagem. Essa razão N/A para o lote de sementes irrigado com a 1ª fração é de 2,2 e para o lote irrigado com o controle é de 1,0.

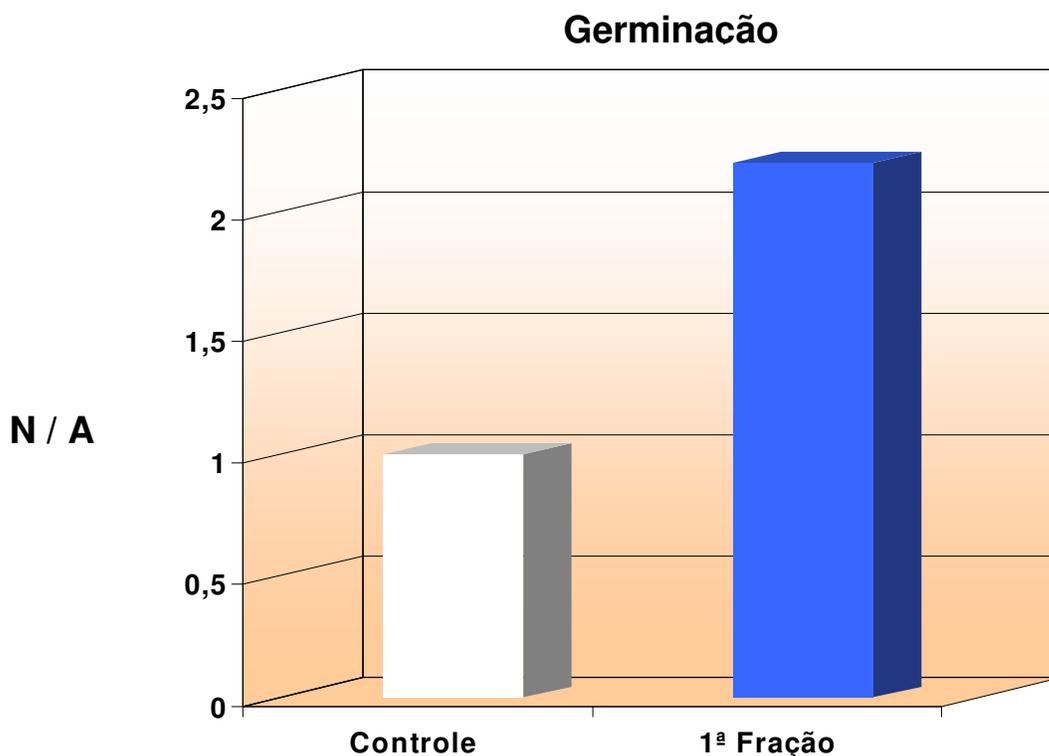


Figura 22. Percentagem de plântulas normais (N) e anormais (A) de trigo no 4º dia de germinação, quando previamente intumescidas e regadas com a 1ª fração e com o controle.

Nos testes de germinação a 1ª fração proporcionou um melhor desenvolvimento das plântulas em relação ao controle, observando-se também um aumento no tamanho médio, uma maior homogeneidade e vigor durante esse período, como mostra a figura 23. Não foram observadas alterações significativas no intumescimento e germinação das sementes de trigo imersas e posteriormente irrigadas com a 3ª fração.

As fotos abaixo evidenciam que as plântulas de trigo irrigadas com a 1ª fração apresentam uma maior homogeneidade, um tamanho médio superior e um vigor maior em relação às plântulas irrigadas com a água controle.

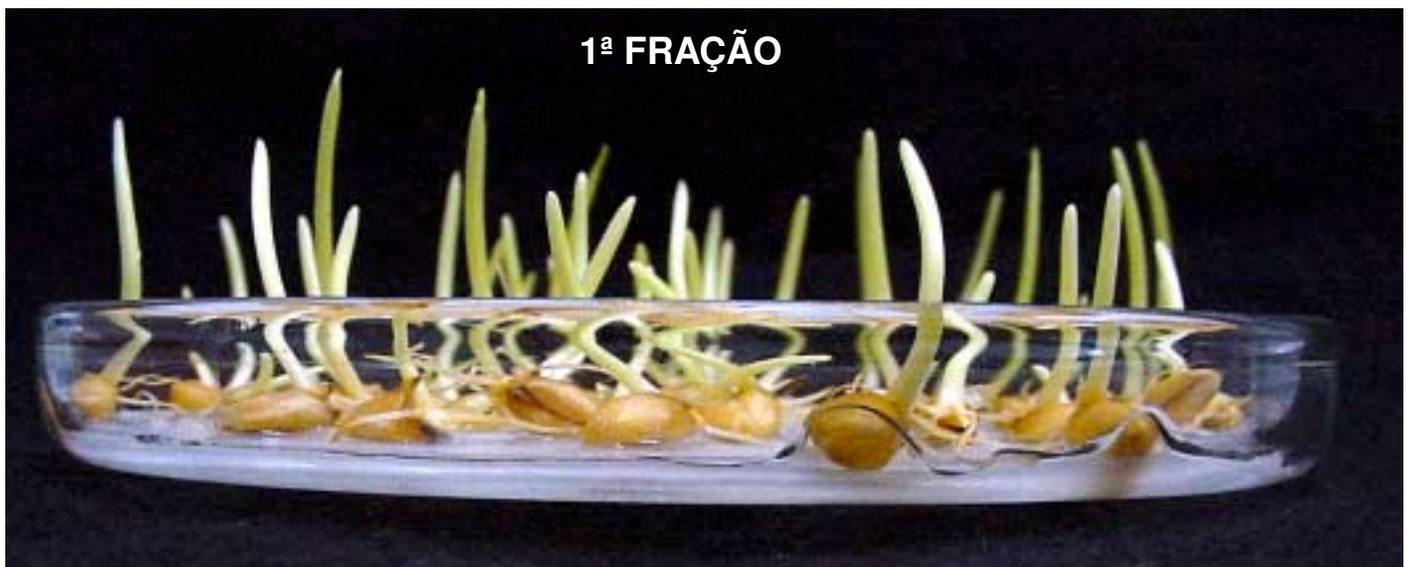
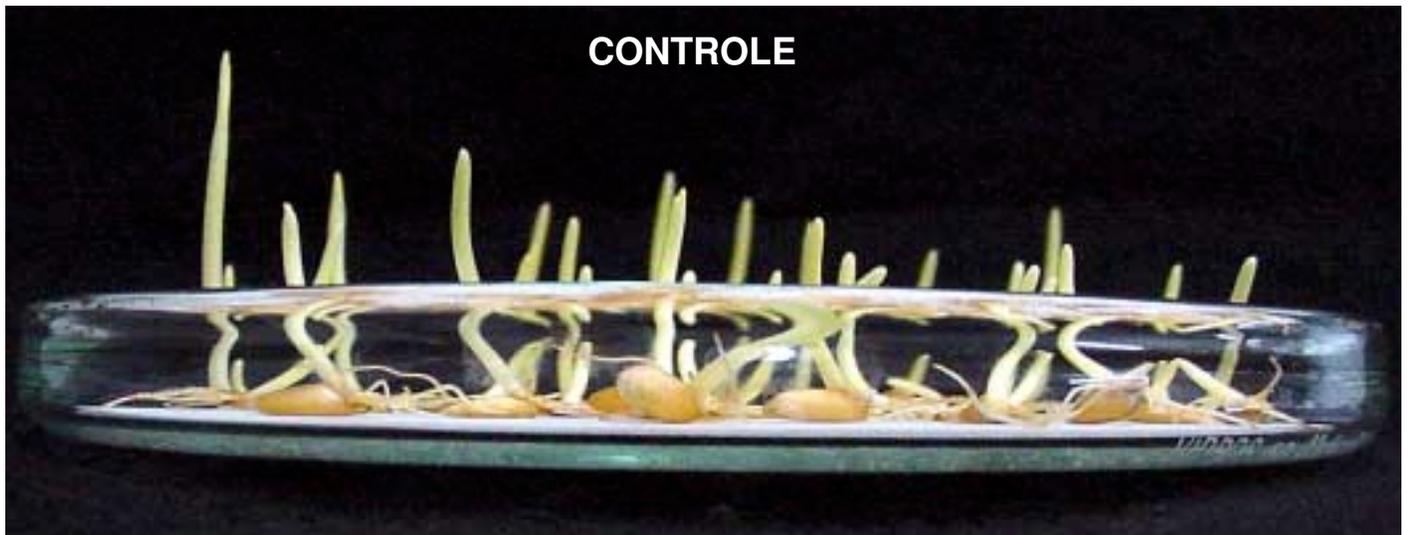


Figura 23. Fotos do 4º dia de germinação de plântulas de trigo irrigadas com a 1ª fração de água obtida por fusão fracionada e com o controle.

Água Exposta ao Campo Magnético

As sementes de trigo imersas na água tratada no campo magnético apresentaram um aumento de massa de água absorvida muito superior ao do controle, principalmente nas primeiras 2 horas, como se observa na figura 24.

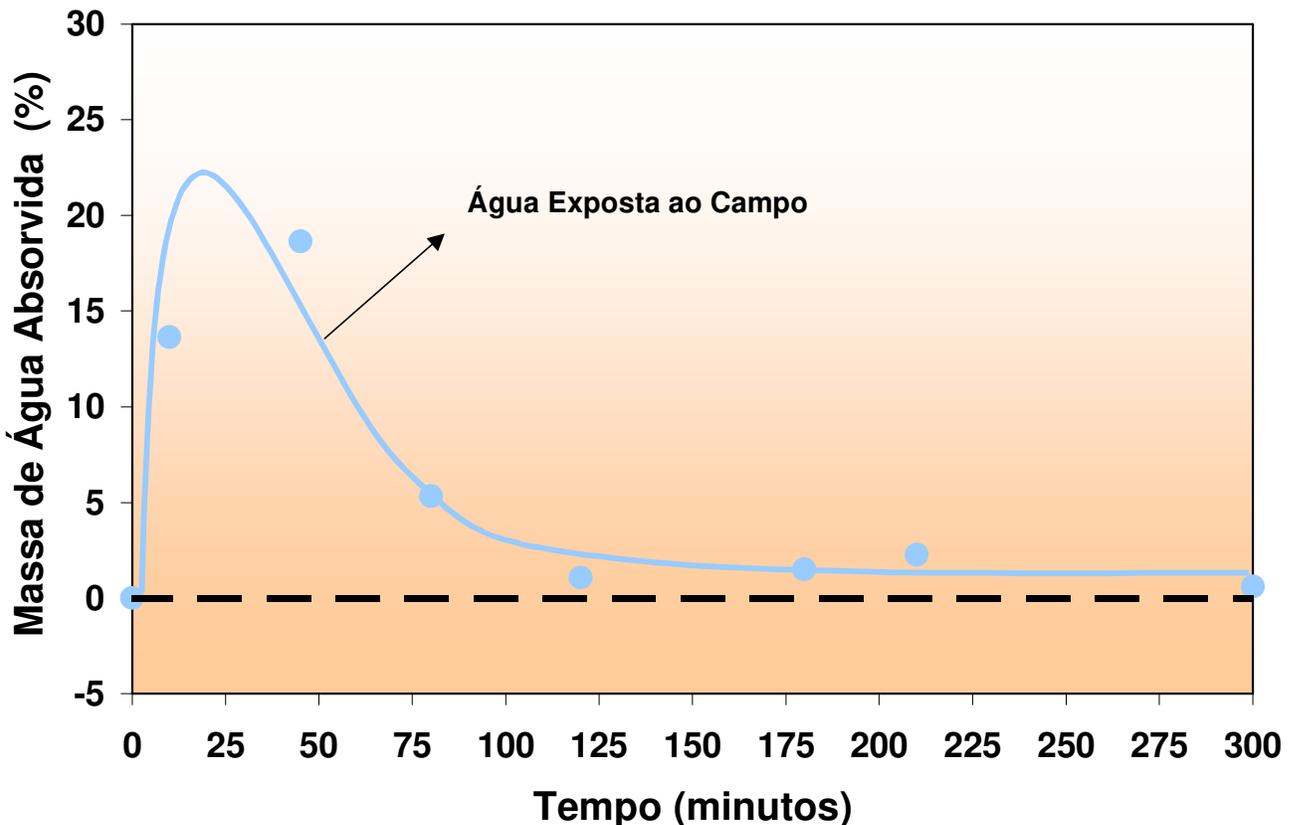


Figura 24. Aumento de massa de água absorvida pelas sementes de trigo em relação ao controle em percentagem.

Também nesse caso, a curva apresentada na figura 24 foi calculada em relação ao controle, que está representado pela linha tracejada. Observa-se que a água exposta ao campo foi capaz de permear muito mais rapidamente as sementes de trigo que a água controle. Após as duas primeiras horas de imersão as sementes tenderam a igualar o valor de massa de água absorvida, com um leve favorecimento para a absorção da água exposta ao campo em relação ao controle.

As sementes de trigo que foram imersas e posteriormente regadas com a água tratada em campo magnético apresentaram, não só uma velocidade de

intumescimento maior em relação ao controle, como também uma quantidade de plântulas de trigo normais muito superior às anormais, no 4º dia de germinação. A figura 25 apresenta a razão entre o número de plântulas normais e o de anormais do lote irrigado com a água exposta ao campo ($N/A = 5,3$) e do lote irrigado com o controle ($N/A = 1,0$).

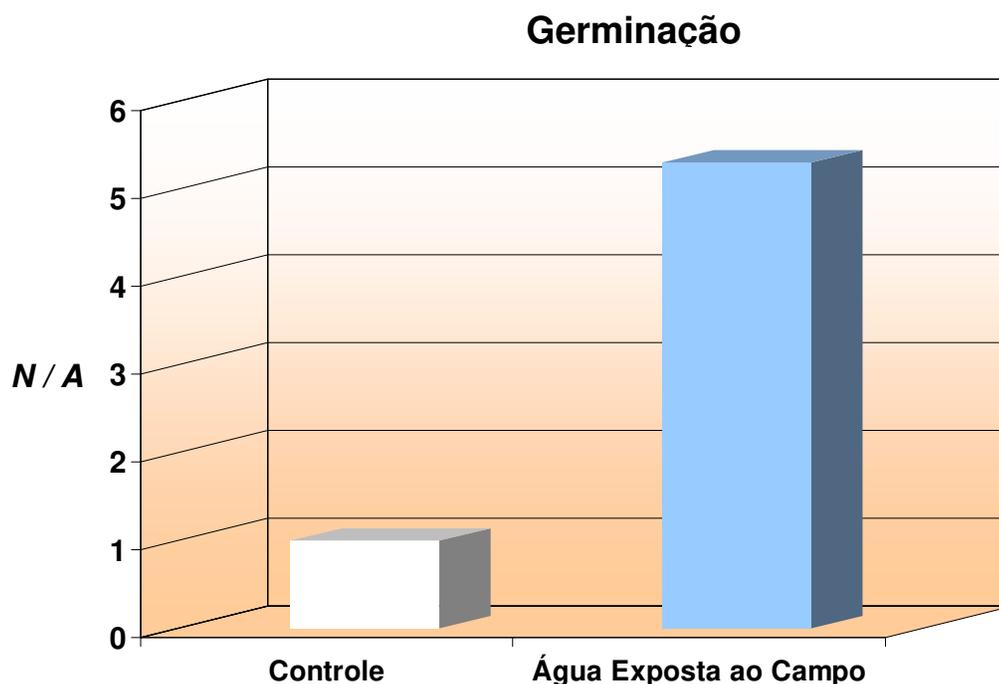


Figura 25. Razão entre o número de plântulas de trigo normais (N) e o de anormais (A) no 4º dia de germinação, quando irrigadas com o controle e com a água exposta ao campo magnético.

Além de uma maior quantidade de plântulas normais em relação às anormais no que se refere ao lote irrigado com água exposta ao campo observou-se, assim como para a 1ª fração, que o tamanho médio, a homogeneidade e o vigor das plântulas foram bastante superiores às irrigadas com o controle. As fotos apresentadas na figura 44 evidenciam estas diferenças (página 104).

Os resultados nos induzem a pensar que o campo magnético possui uma intensa atuação sobre a água que será utilizada posteriormente para embeber as sementes de trigo. A quantidade de água tratada absorvida inicialmente pelas

sementes é muito superior à da água controle e, no estágio seguinte, a plântula vai se desenvolver muito melhor.

O que promoveu esta diferença de comportamento entre o controle, a água tratada no campo magnético e a 1ª fração? Se recorrermos ao modelo contínuo poderíamos imaginar distorções das ligações de hidrogênio na rede de moléculas H₂O, o que não justificaria tal mudança de comportamento da água. O modelo de misturas nos faz pensar sobre possíveis alterações no tamanho dos *clusters* presentes no meio, sugerindo que uma maior quantidade de *clusters* pequenos poderia ter uma permeação mais eficiente através da casca e da película da semente. Com isso haveria um aumento na cinética de intumescimento das sementes imersas na água exposta ao campo ou na 1ª fração e uma melhora na germinação dessas sementes quando comparadas com o controle. A 3ª fração que poderia ser composta por uma maior estruturação das moléculas de água, se a analogia com a fase sólida for válida, também apresentou um leve aumento no intumescimento das sementes, o que não é facilmente explicado pela hipótese de maior permeação de *clusters* pequenos através da casca das sementes.

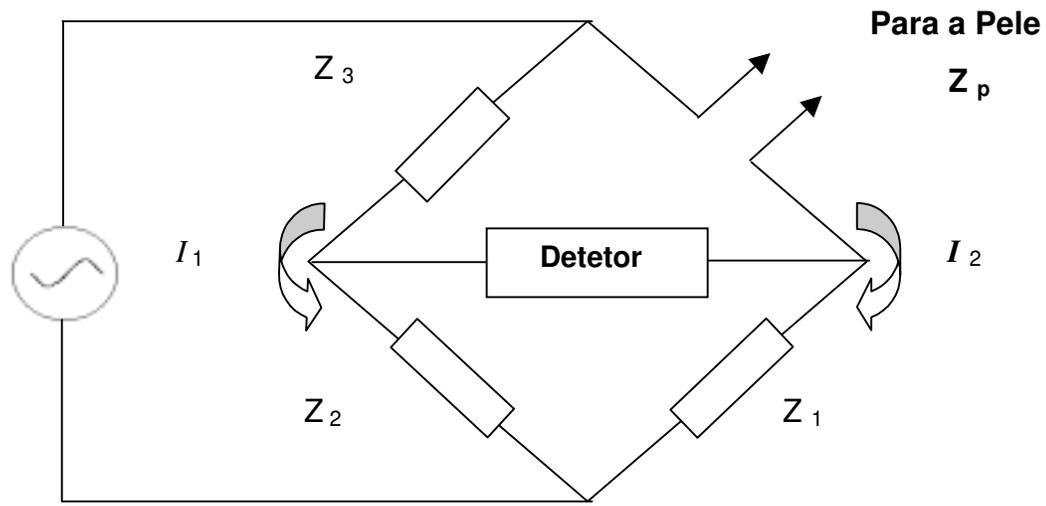
Hidratação do Estrato Córneo

Para a pele conservar suas propriedades elásticas, ela deve manter um certo conteúdo de água no estrato córneo. O estrato córneo é justamente a camada mais externa da pele, sendo ao mesmo tempo uma barreira protetora para manter sua integridade e funções biológicas [146,147].

A hidratação do estrato córneo corresponde a um estado de equilíbrio entre a quantidade de água das camadas mais internas e externas da pele e a perda de água para o ambiente. A hidratação cutânea se efetua pela fixação de água sobre as moléculas de proteínas, mais particularmente sobre a queratina. A água que se encontra ligada às proteínas da camada córnea não é facilmente removida da superfície como a água livre que se evapora pela perspiração [146,147]. Entretanto, o que normalmente se entende por hidratação da pele é a sensação

de maciez e suavidade, associada a uma eventual proteção da pele, quando em contato com substâncias mais agressivas.

Existem vários métodos de medida de hidratação da pele, com princípios bastante distintos entre si, tais como: medidas de perda de água transepidermal (TEWL – TransEpidermal Water Loss), medidas elétricas (condutância e capacitância), análises topográficas da superfície da pele (análise de imagem), ressonância magnética de imagem e espectroscopia de infravermelho próximo da pele humana *in vivo* [148]. Dentre estas, uma das mais simples e não invasivas é a medida de capacitância do estrato córneo, através de um aparelho chamado de Corneometer. Este equipamento é constituído por uma ponte de impedância, como mostra a figura 26.



$$Z_p = Z_1 (Z_3 / Z_2)$$

equação 12

Figura 26. Ponte de impedância capaz de medir capacitância, na qual um dos componentes é um capacitor aberto (Z_p) e a pele é o dielétrico entre as placas do capacitor. I_1 e I_2 são correntes alternadas e Z_1 , Z_2 e Z_3 são componentes reativos. A equação 12 representa o balanceamento da ponte de impedância [149].

O sensor do Corneometer é um eletrodo de ouro coberto com quartzo e que, portanto, não exhibe contato elétrico direto entre o eletrodo e a pele.

A passagem de corrente alternada de baixa frequência através da pele depende por um lado do teor de água do estrato córneo e por outro da sua

integridade [148]. A capacitância está relacionada à constante dielétrica do meio [150], como mostra a equação abaixo :

$$C = \kappa \varepsilon_0 A / d \quad \text{equação 13}$$

em que, C = capacitância (F); κ = constante dielétrica; ε_0 = constante de permissividade (F/m); A = área das placas do capacitor (m²); d = distância entre as placas do capacitor (m).

Como a constante dielétrica da água é muito superior às das demais substâncias usualmente encontradas no ambiente ou mesmo daquelas produzidas pelo metabolismo celular, a alteração dos valores de capacitância observada na pele após a aplicação de um produto deve estar diretamente relacionada à quantidade de água presente na camada córnea. Portanto, após a aplicação de um produto hidratante na pele os valores de hidratação local mostrados pelo Corneometer (em unidades arbitrárias) deverão ser mais elevados, em relação a uma área controle na qual o produto não foi aplicado.

No entanto, se olharmos cuidadosamente para os critérios de hidratação da pele perceberemos que estes ainda são um pouco obscuros, já que de acordo com os métodos utilizados para as medidas de hidratação esses critérios podem variar. Por exemplo, quando as medidas são feitas no Corneometer, um aumento no valor de hidratação está relacionado a um aumento da quantidade de água no estrato córneo, que corresponderá a um aumento no valor da medida do aparelho. Se as medidas de hidratação são feitas no TEWL, o aumento de hidratação é inferido por uma menor perda de água através da pele, seja em condições normais, seja em condições agressivas, causadas por queimaduras ou agentes irritantes. Por outro lado, se a avaliação é feita através da análise de imagens, a pele mais hidratada corresponderá àquela com menos rugosidade e imperfeições. Sendo assim, a idéia de hidratação é ampla e uma pele hidratada deve apresentar boa elasticidade, além de reter uma certa quantidade de água nas camadas internas e externas.

As formulações dos hidratantes comerciais são bastante variadas e, em geral, possuem ou uma substância oclusiva capaz de bloquear a perda de água

transepidermal por oclusão mecânica dos poros ou substâncias chamadas de plastificantes (plasticizers) [148]. Uma substância plastificante muito utilizada como princípio ativo nos hidratantes é a glicerina, capaz de romper a camada bilipídica do estrato córneo e retirar moléculas de água das camadas mais internas para as mais externas da pele. No entanto, a glicerina normalmente não é utilizada em grandes quantidades pois, nesse caso ocorre uma perda de “toque” do produto, ou seja, a aplicação do hidratante não propicia uma sensação de maciez e suavidade na pele. Em pessoas mais sensíveis, uma maior quantidade de glicerina chega a produzir uma sensação desagradável. Existe então um compromisso entre a hidratação que um hidratante é capaz de promover e a sensação de hidratação que se tem ao aplicar o produto. A figura 27 apresenta um gráfico que ilustra a hidratação média do estrato córneo de 6 pessoas após a aplicação de soluções aquosas de glicerina em diferentes composições.

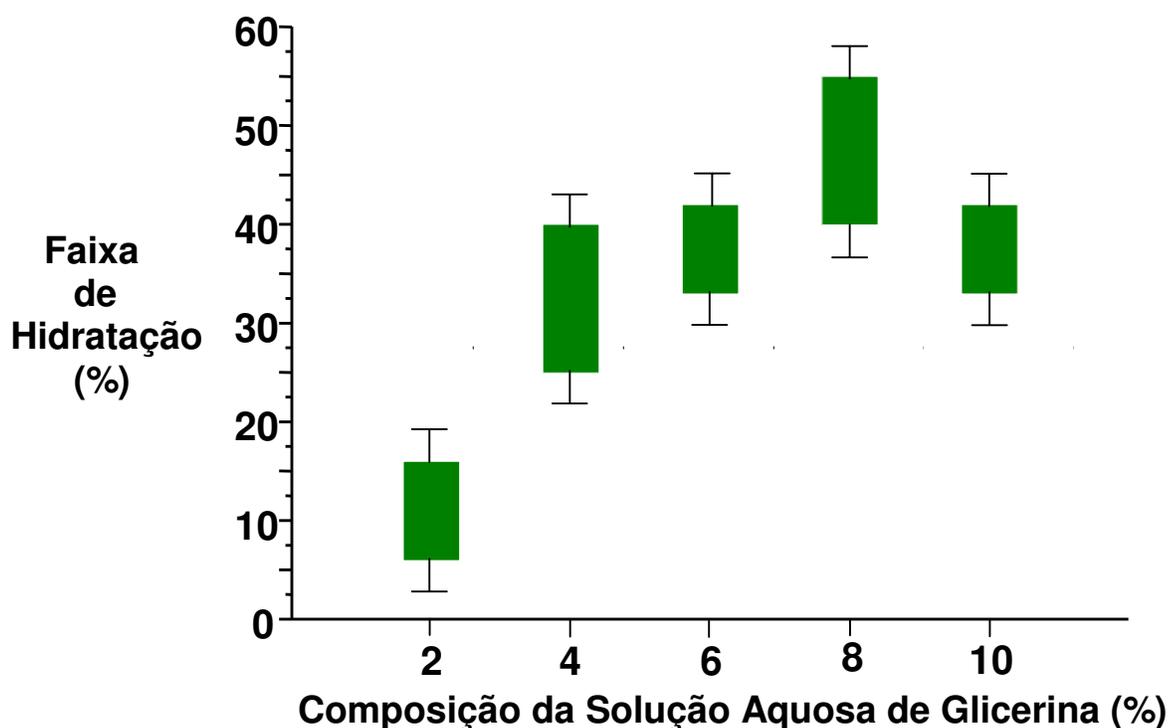


Figura 27. Incremento médio de hidratação do estrato córneo em relação à área de referência (%) com a aplicação de soluções aquosas de glicerina em diferentes composições.

À medida em que a composição da solução de glicerina aumenta ocorre um aumento nos valores de hidratação local, chegando a um máximo para a composição de 8%. No entanto, o aumento dos valores de capacitância do estrato córneo após a aplicação local de glicerina não estão necessariamente relacionados ao aumento da quantidade total de água da pele. As substâncias plastificantes afetam a capacitância independentemente do aumento da quantidade de água total da pele, pois essas substâncias podem alterar a razão entre as moléculas de água ligadas às biomoléculas e as moléculas de água livre, sem modificar o conteúdo total de água [151]. Outros exemplos de substâncias plastificantes são a uréia e algumas proteínas.

É importante ressaltar que as soluções aquosas ou as amostras de água utilizadas nesse trabalho não promovem oclusão nos poros e tão pouco devem agir segundo o mecanismo das substâncias plastificantes; o efeito hidratante deve-se ao aumento da quantidade de água capaz de penetrar nas camadas da pele.

Durante o desenvolvimento deste trabalho foram feitas muitas medidas de hidratação do estrato córneo com diversas amostras. Todos os resultados de hidratação apresentados foram obtidos utilizando-se o Corneometer. As amostras selecionadas foram aquelas mais representativas para cada estudo realizado: solução diluída de MgCl_2 $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, frações de água obtidas por fusão fracionada e água exposta ao campo magnético. Todos os respectivos controles foram aplicados no estrato córneo, sem qualquer resultado de hidratação significativo.

Os testes de hidratação do estrato córneo foram realizados sob dois enfoques: o primeiro visa a utilização dos hidratantes em várias pessoas, sem distinção de sexo, idade ou tipo de pele; o segundo visa a repetição do experimento com soluções preparadas em dias diferentes aplicadas em uma única pessoa.

No primeiro teste a aplicação das amostras foi feita na parte interna do antebraço de 8 indivíduos. Inicialmente, fez-se a delimitação das áreas no antebraço de cada pessoa [$\sim (2,5 \times 2,0) \text{ cm}^2$] e fez-se a leitura das regiões delimitadas com o Corneometer. Em seguida, aplicou-se em cada área uma

determinada amostra a ser estudada, deixando-se sempre uma área de referência sem a aplicação de qualquer produto. Os valores de hidratação foram calculados em relação à área de referência, observando-se as oscilações naturais desta ao longo do dia.

No segundo teste de hidratação utilizou-se o mesmo procedimento descrito anteriormente, sendo que as amostras foram preparadas em sextuplicatas em dias diferentes e foram aplicadas no antebraço de uma pessoa em cada experimento.

Notavelmente, os resultados obtidos no primeiro teste foram semelhantes aos resultados obtidos no segundo teste de hidratação, ou seja, a variação nos valores de hidratação obtida aplicando-se a amostra em 8 pessoas é semelhante à variação obtida quando se aplica a amostra em uma única pessoa durante vários dias.

Cada valor obtido no Corneometer é a média de 10 medidas sucessivas dentro da área delimitada onde foi aplicada a amostra. É desejável que o desvio dos valores de hidratação não exceda 5 pontos para mais ou para menos na escala arbitrária do Corneometer, pois oscilações superiores indicam fortes flutuações nas condições das medidas, que podem estar associadas à transpiração ou a outros fatores. Em nossos estudos trabalhamos com uma variação de 3 pontos para mais ou para menos da escala do Corneometer para garantirmos uma estabilidade nas condições de medida. A estimativa do desvio padrão das medidas de hidratação variou entre 1,5 e 2,0 na escala arbitrária do Corneometer. Os gráficos de barra que mostram a hidratação do estrato córneo (figuras 29, 31 a 35) apresentam a estimativa do desvio padrão máxima de todas as medidas, equivalente à $\pm 2,0$.

Para que as medidas do Corneometer sejam confiáveis é necessário que as pessoas permaneçam durante 20 minutos em sala climatizada antes de cada medida. A pressão aplicada à pele com o sensor do equipamento deve ser constante, por isso é indicado que o mesmo operador faça as medidas de hidratação ao longo do tempo. A aplicação de água desionizada na área de referência não produz nenhum efeito, para a escala de tempo utilizada nestes trabalhos.

Soluções em Diluições Extremas

As soluções de MgCl_2 na faixa de concentração entre $\sim 10^{-1}$ mol L^{-1} e $\sim 10^{-19}$ mol L^{-1} , também utilizadas no estudo de espectroscopia na região do UV, foram aplicadas na pele para se verificar o desempenho destas em relação à hidratação do estrato córneo. A tabela 5 mostra os valores de hidratação em percentagem obtidos após 2, 5 e 8 horas da aplicação da solução, com relação à área controle. Os resultados apresentados são uma média de 3 aplicações feitas em dias diferentes, em um mesmo indivíduo. Cada valor de hidratação é a média de 10 medidas sucessivas do Corneometer em uma mesma área, com uma estimativa de desvio padrão de $\pm 2,0$.

Tabela 5. Valores médios de hidratação do estrato córneo 2, 5 e 8 horas após a aplicação das soluções de MgCl_2 .

- log [MgCl_2]	Hidratação (%) após 2h	Hidratação (%) após 5h	Hidratação (%) após 8h
1	17	13	8
3	-1	1	0
5	2	2	0
7	5	10	5
9	5	8	5
11	7	10	5
13	2	3	0
15	2	0	0
17	0	0	0
19	-4	3	6

Observa-se que a solução de MgCl_2 mais concentrada ($\sim 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$) é a que apresenta o melhor desempenho na hidratação da pele. Esse desempenho diminui com o tempo, como podemos verificar na tabela 5. No entanto, quando soluções de MgCl_2 em torno dessa concentração são expostas ao campo magnético ou quantidades semelhantes de MgCl_2 são adicionadas à água previamente tratada no campo o resultado é extremamente desfavorável. A solução resultante é desconfortável para a pele e, em geral, causa uma leve irritação local.

Descartamos então a utilização de soluções na faixa de $\sim 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ e optamos por utilizar soluções mais diluídas, na outra faixa de concentração que apresentou um aumento de hidratação do estrato córneo em relação à área de referência.

Na parte II deste trabalho, onde apresentaremos os resultados do desenvolvimento de uma solução hidratante, foi feito um estudo mais detalhado da quantidade de MgCl_2 a ser adicionada à água exposta ao campo magnético para otimizar as propriedades hidratantes de uma solução. A concentração $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de MgCl_2 se mostrou mais eficiente nesse caso e por isso foi utilizada na preparação da solução hidratante. Apresentamos a seguir os resultados de hidratação do estrato córneo com a solução de MgCl_2 $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, tanto em testes com vários indivíduos, como em testes feitos com a solução preparada em dias distintos e aplicada a uma mesma pessoa.

As figuras 28 e 29 mostram que a solução de MgCl_2 $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ aumenta a hidratação do estrato córneo quando comparada com a área de referência.

A aplicação da solução de MgCl_2 aumentou o valor de hidratação do estrato córneo em no máximo 10 % com relação ao controle, quando aplicada em 8 pessoas diferentes. Esta solução de MgCl_2 preparada em dias diferentes, proporcionou um aumento máximo de hidratação de 12 % com relação à área controle quando aplicada a uma mesma pessoa.

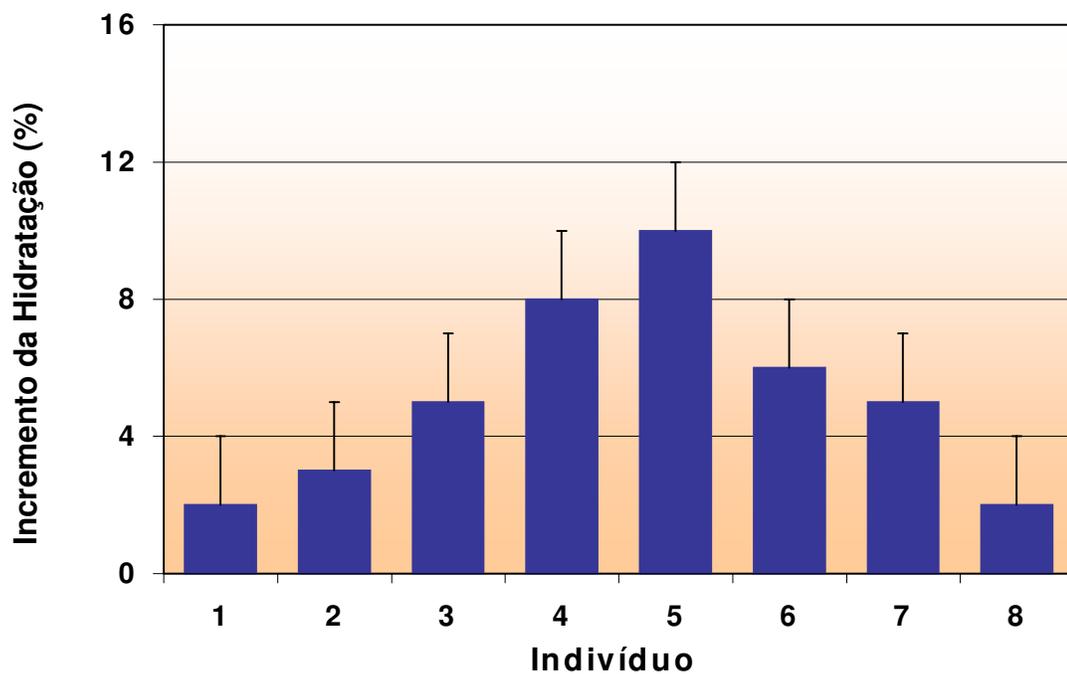


Figura 28. Variação de resposta individual típica à hidratação do estrato córneo produzida por uma solução de MgCl_2 $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

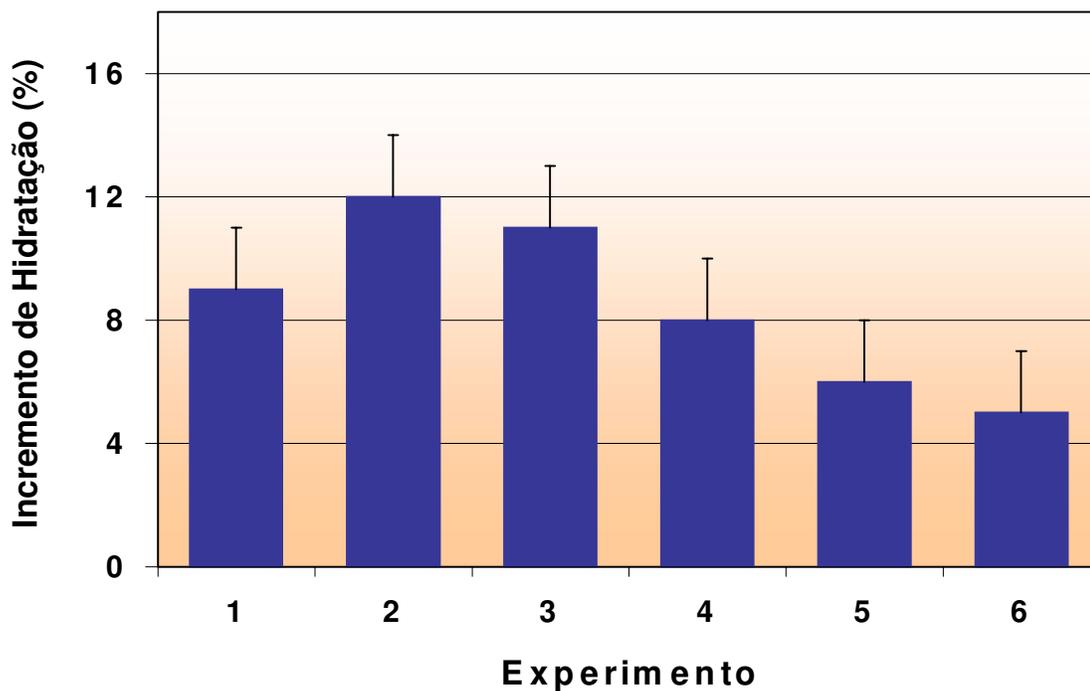


Figura 29. Hidratação do estrato córneo produzida por soluções de MgCl_2 $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, preparadas em sextuplicatas.

Estes resultados indicam que uma solução diluída de $MgCl_2$ é capaz de penetrar o estrato córneo e aumentar a quantidade de água presente no meio.

Este experimento mostra que mesmo em baixas concentrações de $MgCl_2$ a solução apresenta indícios de uma mudança na distribuição de tamanho de *clusters* do solvente, detectada a partir da espectroscopia na região do UV, do aumento na razão N/A na fase de germinação das sementes de trigo e também do aumento da hidratação do estrato córneo.

Água Resultante de Fracionamento

Utilizou-se as frações de água obtidas por fusão fracionada para aplicação no estrato córneo e posterior acompanhamento da hidratação local ao longo do tempo. As medidas iniciais feitas com as 2^a e 3^a frações não indicaram um aumento no valor de hidratação da pele quando comparadas à área de referência. Por este motivo, este estudo enfocou a avaliação da melhor percentagem de fracionamento da 1^a fração. A figura 30 apresenta o resultado médio da hidratação do estrato córneo de 4 pessoas após a aplicação de diferentes percentagens para o 1^o fracionamento, feito em triplicata para cada percentagem.

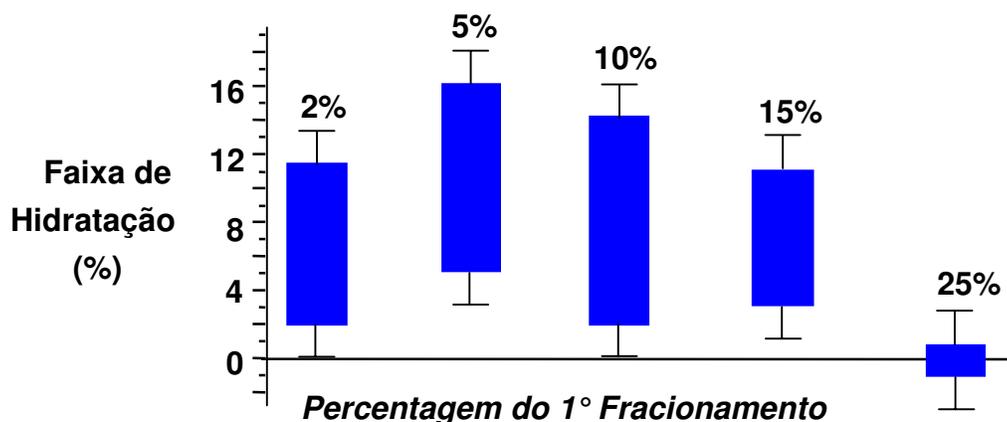


Figura 30. Aumento de hidratação do estrato córneo (%) em relação à área de referência para a 1^a fração obtida pela fusão fracionada da água. Os valores acima das barras referem-se à percentagem em volume do 1^o fracionamento.

Observou-se que, dentre as percentagens de fracionamento testadas, a 1ª fração 5 % promoveu a maior hidratação no estrato córneo e, portanto, foi escolhida para uma melhor avaliação quanto à sua ação hidratante. As figuras 31 e 32 mostram um valor máximo entre 16 % e 17 % de hidratação do estrato córneo, com a aplicação da 1ª fração 5 % em volume.

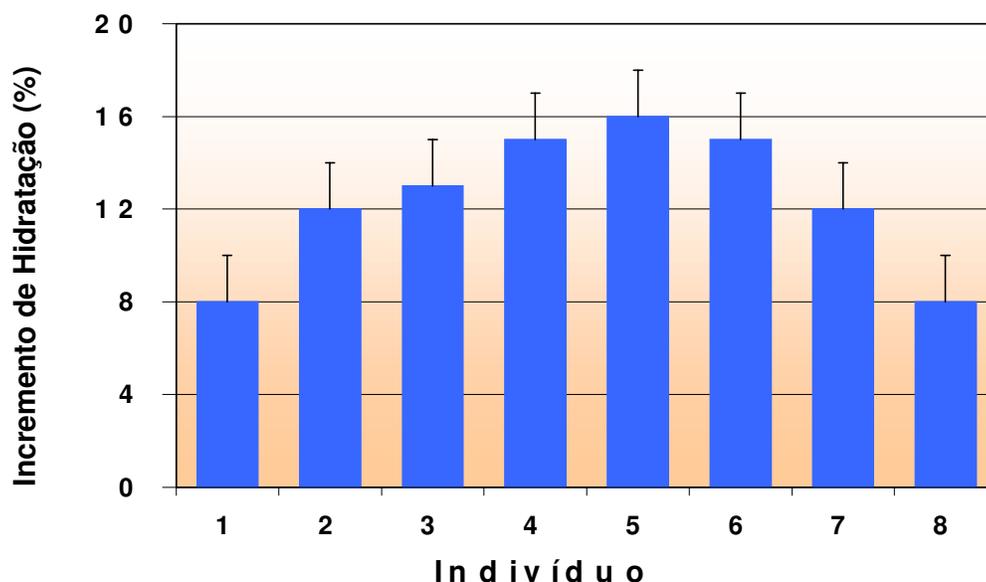


Figura 31. Variação de resposta individual à hidratação do estrato córneo produzida pela 1ª fração 5 %.

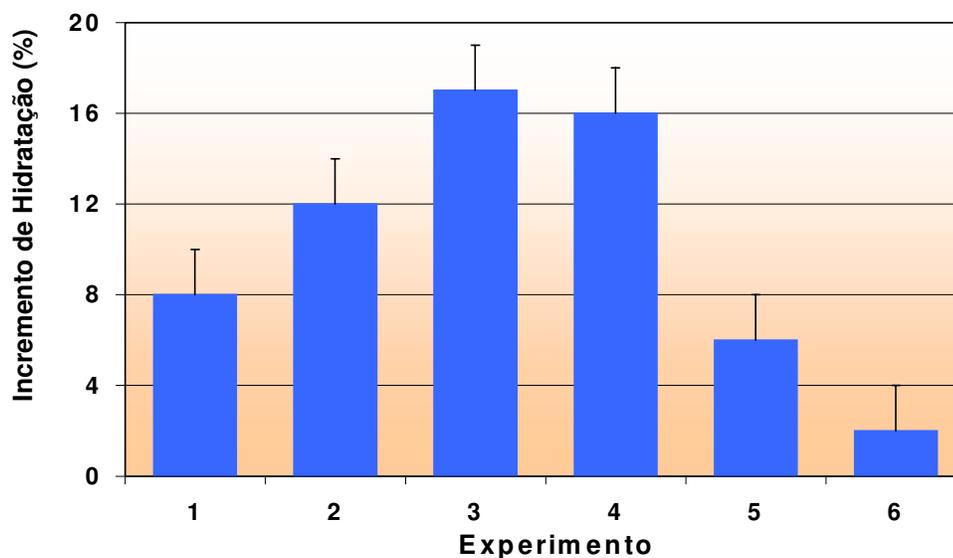


Figura 32. Hidratação do estrato córneo produzida pela 1ª fração 5 % obtida em seis experimentos, utilizando-se sempre a mesma técnica de fracionamento.

Os resultados nos testes de hidratação utilizando-se frações de água obtidas pelo método de congelamento iniciado no centro do cristal de gelo (uso do dedo frio) foram equivalentes àqueles obtidos pelo congelamento normal em refrigerador. Assim como no processo de congelamento normal, a 1ª fração de água ao redor do dedo frio foi a que promoveu melhores resultados na hidratação do estrato córneo quando comparados com a área de referência. As 2ª e 3ª frações de água obtidas por este método também não apresentaram resultados significativos de hidratação.

A figura 33 mostra os resultados de hidratação do estrato córneo obtidos com a 1ª fração 5 % obtida através do congelamento iniciado no núcleo do cristal de gelo (dedo frio), realizado em triplicata.

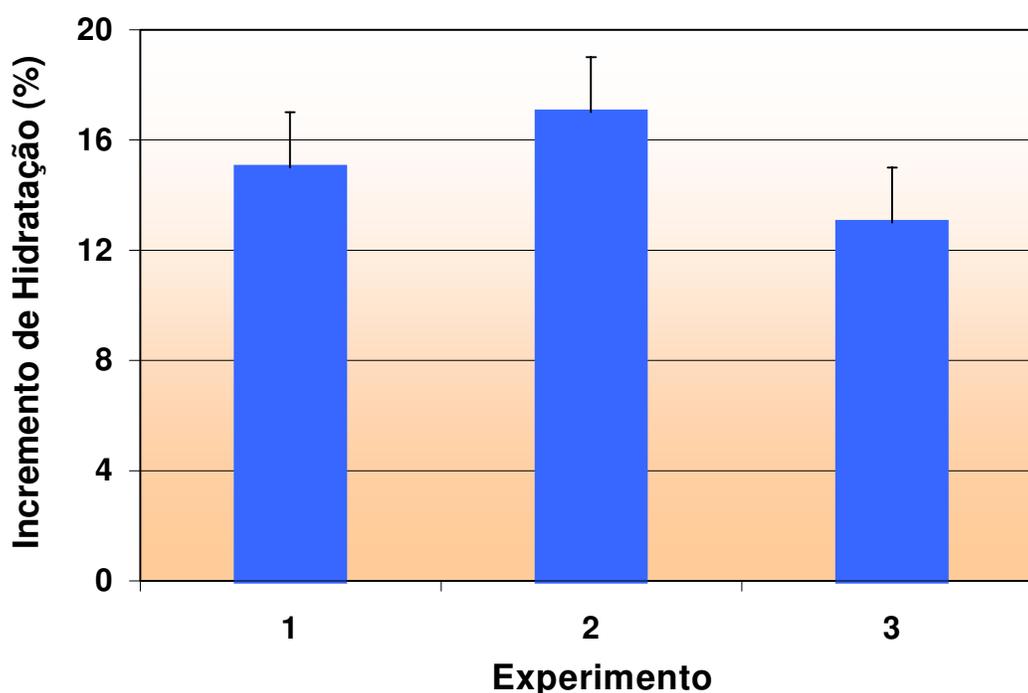


Figura 33. Hidratação do estrato córneo produzida pela 1ª fração de água 5 % obtida por congelamento a partir do núcleo do gelo, em três fracionamentos.

A figura 33 mostra que, aparentemente, os valores de hidratação do estrato córneo obtidos com a 1ª fração 5 % através do congelamento com o dedo frio apresentam uma menor flutuação do que aqueles obtidos através do congelamento normal em refrigerador (figura 32). Neste caso o material de vidro

utilizado no processo de congelamento com o dedo frio também não promoveu diferenças no desempenho em hidratar a pele humana quando comparado ao material de polipropileno utilizado no congelamento normal.

A hidratação do estrato córneo, além das outras medidas experimentais, serve para evidenciar diferenças de comportamento entre as frações de água. Se considerarmos que essas frações devem ter a mesma composição química, então as diferenças dessas propriedades devem indicar estruturas distintas dos aglomerados de água, o que é concordante com a literatura no que se refere ao sólido [109]. Estes resultados nos levam a pensar que a água ao passar do estado sólido para o líquido deve reter alguma estruturação do estado inicial, como previram Frank e Wen [7] ao descreverem as estruturas *ice-like*.

Se no estado sólido, a água da camada superficial do gelo é menos ordenada, podemos imaginar que no estado líquido a 1ª fração deve apresentar menor estruturação ou estruturas de *clusters* de tamanhos menores, quando comparada às demais frações. Talvez uma distribuição de tamanho de *clusters* menores de água apresentem características de melhor permeação na pele humana e nas sementes de trigo, quando comparadas com a água controle.

Água Exposta ao Campo Magnético

O efeito da água exposta ao campo magnético como hidratante da pele é bastante reprodutível e intenso quando se utiliza campos magnéticos específicos.

Durante este trabalho fizemos vários testes de hidratação com amostras de água expostas a diversos arranjos magnéticos. De maneira geral, as amostras de água expostas aos arranjos com o pólo magnético norte (N) ou campos N-N ou N-S não apresentaram um bom efeito hidratante no estrato córneo. Em alguns casos, a água tratada nesses arranjos provocou um desconforto e até uma leve irritação quando aplicadas à pele.

As figuras 34 e 35 apresentam os valores de hidratação do estrato córneo, após a aplicação da água exposta ao campo (conforme figura 8, página 35).

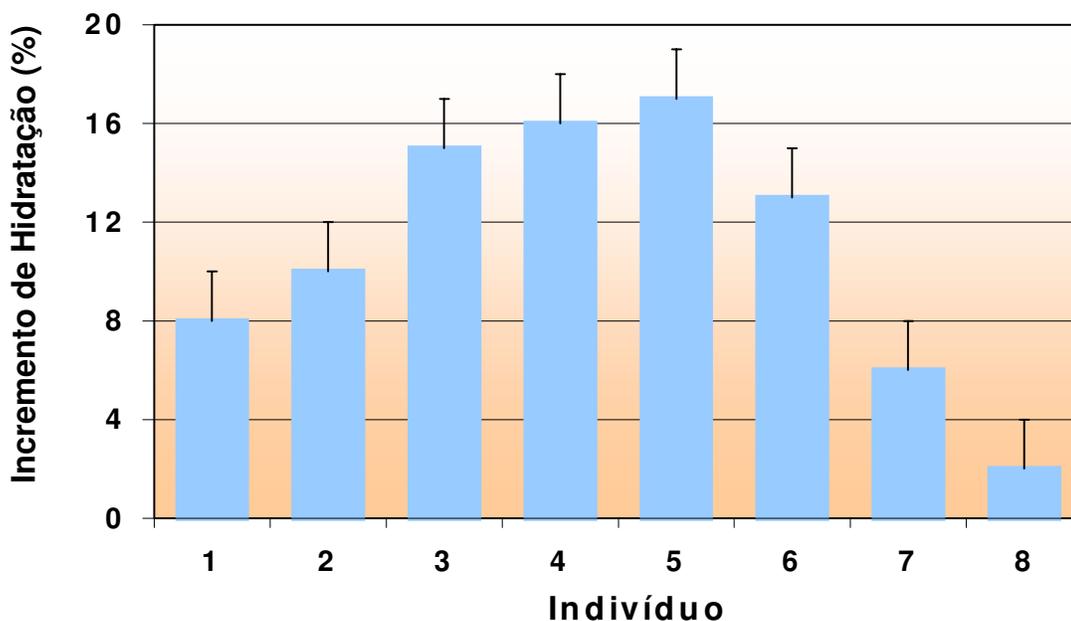


Figura 34. Variação de resposta individual à hidratação do estrato córneo produzida pela água exposta ao campo magnético em relação à área de referência.

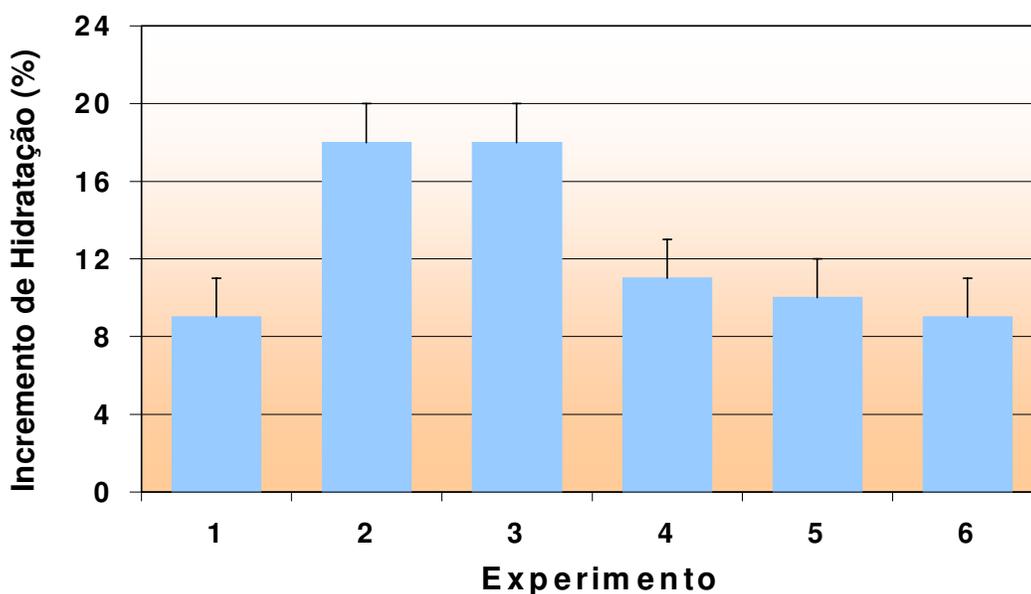


Figura 35. Hidratação do estrato córneo produzida pela água exposta ao campo magnético obtida em seis experimentos diferentes, utilizando-se da mesma técnica de preparação.

Da mesma forma que podemos obter um bom resultado para a hidratação da pele com uma água tratada em determinado arranjo magnético, podemos obter um efeito não desejado. Este fato reforça observações anteriores de que as condições experimentais são de extrema importância para se alcançar um determinado objetivo quando utilizamos arranjos magnéticos.

O valor máximo de hidratação do estrato córneo obtido com a aplicação da água exposta ao campo em relação à área de referência foi entre 17 % e 18 %.

É interessante notar que o valor máximo de hidratação atingido no estrato córneo com a aplicação da 1ª fração 5 % é da mesma ordem de grandeza (16 %) do alcançado com a água tratada no campo. Também no caso da 1ª fração podemos imaginar um enriquecimento de *clusters* menores oriundos da fusão da camada menos ordenada do gelo e uma melhora na velocidade de permeação da pele.

Zhou [46] estudando a influência de campos magnéticos externos sobre a água líquida, através de simulações computacionais, chegou à conclusão de que o campo é capaz de induzir mudanças nas interações de moléculas de água pelo momento magnético, que irão afetar fortemente a formação das ligações de hidrogênio. O campo externo poderia enfraquecer ou até romper algumas ligações de hidrogênio, possibilitando novos arranjos de moléculas de água no meio. Podemos pensar que, provavelmente, o campo magnético atue na água líquida modificando a distribuição de tamanho de *clusters*, e que esses novos *clusters* tenham uma maior penetração e eficiência na hidratação da pele do que os originais. Esta nos parece ser uma explicação plausível para o fato inequívoco da mudança de comportamento da água tratada no campo magnético em relação à água não tratada.

Adição de um Corante

Se realmente o processo de congelamento separa as camadas com maior ou menor grau de ordenação das moléculas, então é razoável supor que uma substância tenha maior facilidade de se ligar a uma dessas frações no estado sólido. Se a substância adicionada for um corante talvez possamos visualizar um efeito de exclusão do soluto nas diferentes frações.

Para visualizarmos este efeito o corante azul de toluidina foi adicionado às amostras de água (1ª, 2ª e 3ª frações e controle) na proporção de 1,5 mL de corante para 40 mL de água. Os frascos utilizados foram béqueres de polipropileno. A percentagem de fracionamento utilizada neste experimento foi de 10 % para as 1ª e 3ª frações e de 80 % para a 2ª fração. Após a homogeneização das soluções, os béqueres de polipropileno foram tampados com filme de polietileno e levados ao refrigerador a uma temperatura de $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ para congelamento das amostras. Este procedimento foi feito em triplicata, sendo que foram feitas 8 repetições do controle para uma avaliação mais completa do padrão de dispersão deste corante em água desionizada. Vale lembrar aqui que o controle consistiu de água desionizada que passou pelo processo de congelamento sem fracionamento posterior.

A figura 36 apresenta fotos típicas da solução sólida com as variações de dispersão do corante em cada amostra. O corante aparece na cor púrpura em razão da baixa temperatura.

Ao observarmos a amostra controle poderíamos interpretar o resultado desse experimento de, no mínimo, duas maneiras diferentes:

1°. Considerando que ocorra uma separação soluto/solvente durante o processo de congelamento da amostra; durante o congelamento as moléculas do corante são excluídas para a parte líquida restante, até que são solidificadas no centro, última camada a ser congelada.

2°. Considerando o modelo que descreve o gelo em diferentes camadas de ordenação [109]; sendo a camada mais externa constituída por moléculas menos ordenadas e o núcleo constituído por uma maior ordenação das moléculas de

água. Nesse caso, o corante utilizado teria uma maior afinidade pelas moléculas que se arranjam no núcleo, já que há uma maior concentração desse corante no centro do cristal – observe o controle na figura 36.

Quando observamos o que acontece com as demais amostras verificamos que a primeira opção de interpretação dos resultados não explica totalmente o comportamento da dispersão do corante no caso das frações. As frações não apresentam o mesmo padrão de coloração na fase sólida, o que indica que apenas o efeito de exclusão não é suficiente para explicar a dispersão do corante nas amostras estudadas. Sendo assim, analisaremos os efeitos observados nesse experimento admitindo também a segunda opção de interpretação dos resultados.

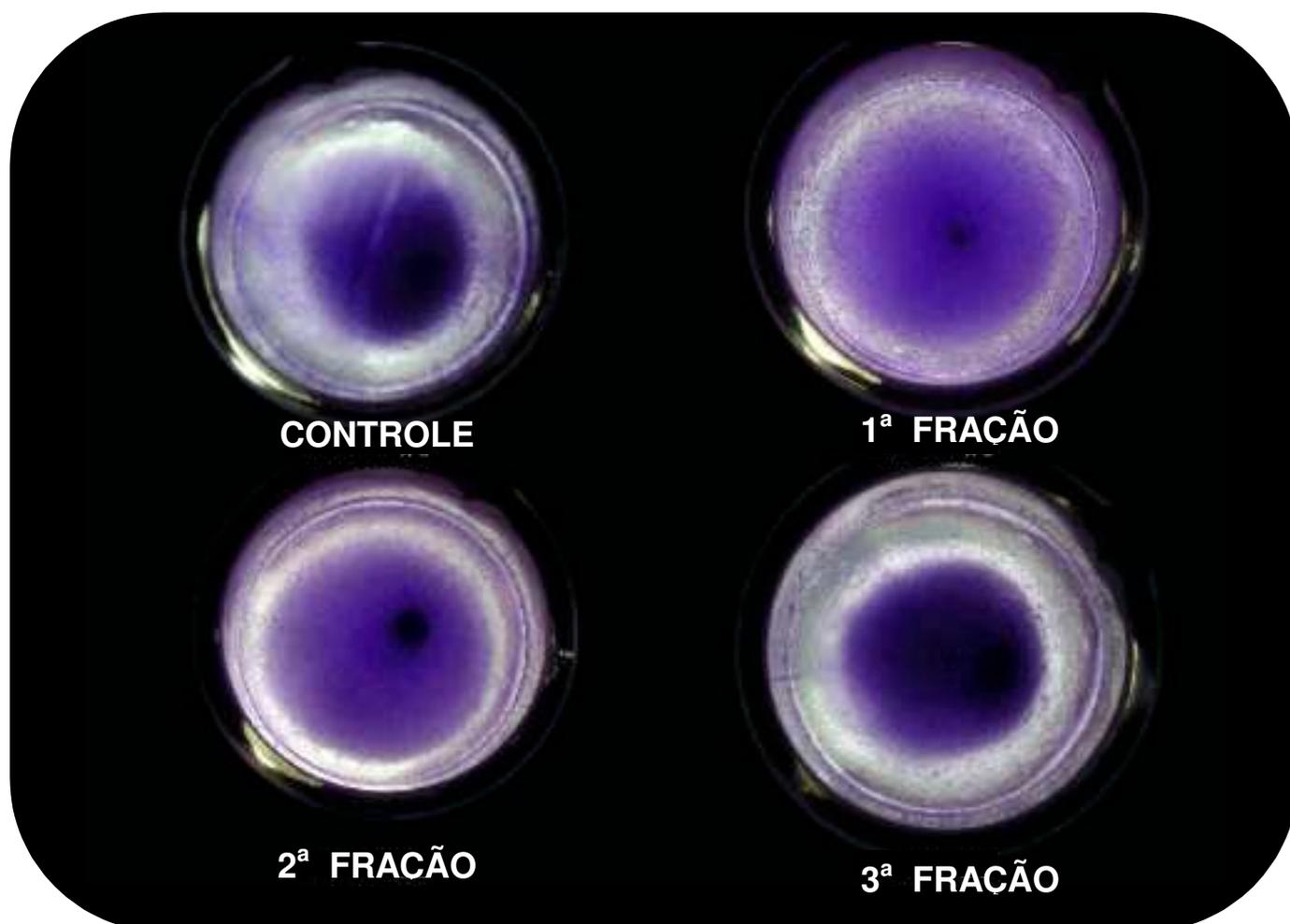


Figura 36. Visualização da dispersão do corante Azul de Toluidina nas frações de água e no controle, após congelamento das amostras.

Nesse momento é importante lembrar que cada fração está, em princípio, enriquecida em uma determinada distribuição de tamanho de *clusters*, mas que cada uma delas deve conter as demais frações em menores proporções. O controle, onde não houve qualquer fracionamento, contém a distribuição de tamanho de *clusters* da água e serve como uma referência.

Através da figura 36 observamos que na amostra controle o corante está mais concentrado no núcleo do cristal, o que nos faz pensar que deve haver uma maior afinidade das moléculas do corante com o arranjo mais ordenado de moléculas de água localizado no núcleo do cristal de gelo. Na 1ª fração o corante está disperso por todo o cristal, com uma concentração um pouco maior no núcleo. Talvez isso se deva ao fato de ainda restar uma pequena quantidade de 3ª fração nessa amostra, o que concentraria as moléculas do corante no núcleo, ou pelo efeito exclusão do soluto durante o congelamento, que nesse caso ocorreu em pequena proporção. Na 2ª fração o corante está um pouco mais disperso no cristal do que no controle devido, provavelmente, a uma menor quantidade de 3ª fração nessa amostra, mas ainda assim apresenta uma concentração de azul de toluidina maior próximo ao núcleo. Na 3ª fração fica nítida a grande concentração do corante no centro do cristal, só que de maneira muito intensa e mais expandida que no controle. Como essa amostra é enriquecida de 3ª fração o corante se concentra fortemente no núcleo e as camadas externas praticamente não apresentam coloração, evidenciando uma grande afinidade do corante azul de toluidina com a 3ª fração de água.

Os resultados apresentados mostram que o corante azul de toluidina interage de forma diferente com cada fração de água, indicando que essas águas não são iguais entre si e nem em relação ao controle. Este resultado, juntamente com os resultados de hidratação da pele, intumescimento e germinação de sementes de trigo e de absorção de luz UV pelas amostras, confirmam uma diferenciação de propriedades entre estas frações, que provavelmente se explica por um efeito populacional na distribuição de tamanho de *clusters* das amostras.

Comentários Gerais

Soluções em Diluições Extremas

O cloreto de magnésio foi escolhido como um possível soluto estruturador do solvente em diluições extremas devido a várias características físico-químicas e biológicas do íon magnésio em solução aquosa. Dentre essas características temos o valor da entropia do íon em solução e o raio hidrodinâmico do íon magnésio, que evidenciam uma forte tendência desta espécie em ordenar moléculas do solvente ao seu redor. Apesar disso, foram testados outros solutos como CaCO_3 , CaCl_2 , NaCl , KCl , $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$, em várias concentrações, no sentido de promover hidratação do estrato córneo, mas o MgCl_2 confirmou o seu melhor desempenho em aumentar a quantidade de água presente na pele após a aplicação da solução.

Os estudos em espectroscopia na região do UV com soluções de cloreto de magnésio e de ácido acético indicaram um comportamento diferenciado em relação às soluções mais diluídas. Inicialmente nas soluções mais concentradas há uma forte absorção de luz UV na região de 190 nm devido à presença dos íons cloreto e acetato, que absorvem nessa região. À medida em que a concentração da solução diminui o valor da absorção cai progressivamente, chegando ao limite de absorção da água desionizada. Surpreendentemente, após essa queda na absorção, observa-se que as soluções a partir de $\sim 10^{-7}$ mol L^{-1} apresentam uma absorção superior à média da água controle. Como o íon magnésio é um íon bastante estruturador da solução é possível que um determinado tamanho de *cluster* de água formado ao redor deste íon absorva maior quantidade de luz UV em relação aos demais tamanhos de *clusters* formados. Quando há um grande número de sítios estruturados em solução, possivelmente, esses sítios tenham uma limitação de tamanho devido à vizinhança que também impõem uma estruturação do solvente ao seu redor. Em uma determinada faixa de concentração as soluções devem apresentar um determinado número de sítios estruturados que talvez possam se expandir sem que haja uma limitação de espaço ao seu redor e que, por outro lado, estejam em quantidade suficiente em

solução para absorverem a luz UV. Quando essa faixa de concentração das soluções (provavelmente entre $\sim 10^{-7}$ mol L⁻¹ e $\sim 10^{-11}$ mol L⁻¹), favorecida por um determinado tamanho de sítios estruturados é progressivamente diluída, esses sítios vão diminuindo em quantidade e, conseqüentemente, a intensidade da absorção de luz UV também diminui.

Podemos ressaltar que as soluções com concentrações abaixo de $\sim 10^{-9}$ mol L⁻¹ poderiam ser consideradas simplesmente como águas estruturadas, já que a concentração de sais na água desionizada utilizada como solvente é superior às concentrações nominais indicadas.

Tanto nos testes de germinação de sementes de trigo como na hidratação do estrato córneo a solução de MgCl₂ ($1,6 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹) apresentou um resultado superior ao da água. Observa-se que, no caso da germinação, ocorre um aumento na quantidade de plântulas de trigo normais em relação às anormais, quando comparadas com o controle. Para a hidratação da pele há um incremento da hidratação quando comparada com a área de referência. Esta melhora nos dois sistemas estudados não é de todo expressiva, mas indica indiscutivelmente uma tendência favorável dos resultados com a utilização de uma solução diluída de MgCl₂ em relação à água desionizada.

É interessante notar que em medidas completamente independentes, como as de hidratação da pele (ver tabela 5, página 75) e absorção de luz UV (ver figura 12, página 46) as soluções na faixa de concentração de $\sim 10^{-7}$ mol L⁻¹ a $\sim 10^{-11}$ mol L⁻¹ se destacaram como as mais eficazes. Evidentemente, não é necessário que uma determinada distribuição de tamanho de *cluster* que absorva uma maior quantidade de luz UV seja também aquela que consiga produzir resultados biológicos de forma mais eficiente. No entanto, o valor de concentração de MgCl₂ utilizado para o intumescimento e germinação de sementes ($1,6 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹) também está nessa mesma faixa de concentração. Esses fatos parecem indicar que existe alguma relação entre a absorção de luz UV e a atividade biológica da solução de MgCl₂ em diluições extremas.

Água Resultante de Fracionamento

No caso das amostras de água obtidas por fusão fracionada observou-se que estas apresentaram comportamentos diferentes entre si e em relação ao controle. A 1ª fração apresentou um melhor resultado tanto em análises físico-químicas (espectroscopia na região do UV e condutividade elétrica) como em sistemas biológicos (intumescimento e germinação de sementes de trigo e hidratação do estrato córneo). A 2ª fração, sendo constituída do maior volume do bloco de gelo nos experimentos realizados, não apresentou resultados significativos em relação ao controle. Os resultados de 2ª fração somente foram apresentados nos espectros de absorção de UV, onde observou-se uma grande similaridade das absorções em relação ao controle e, em alguns casos, até uma superposição espectral (ver figuras 13, 14 e 15, páginas 48 e 49). A 3ª fração mostrou-se diferente das demais e em relação ao controle nas medidas realizadas, no entanto, no caso específico das medidas de hidratação da pele e de intumescimento e germinação de sementes não apresentou resultados expressivos na melhora desses sistemas.

Nesse estudo inicial de fracionamento objetivamos destacar os resultados das 1ª e 3ª frações em relação ao controle que, em princípio, poderiam apresentar as maiores diferenças de comportamento se mantivessem, em alguma extensão, as diferenças estruturais que possuíam na forma sólida.

Observou-se que quanto menor a percentagem do 1º fracionamento (na faixa de 5 % a 15 %) maior a absorção de radiação na região do UV, como indica a figura 16 na página 50, e maior o valor de condutividade elétrica, como mostrado na tabela 3 na página 56. O mesmo comportamento é observado quando o 1º fracionamento é utilizado na hidratação da pele, no qual a 1ª fração 5 % apresentou os resultados mais favoráveis, como indica a figura 30 na página 78.

Apesar da 1ª fração 5 % não ter sido testada no intumescimento e germinação de sementes de trigo devido ao grande volume de amostra necessário para esses testes, a 1ª fração 10 % ainda apresentou um desempenho muito favorável em relação ao controle. A partir de uma percentagem de fracionamento de 15 % não se observou diferenças significativas entre a 1ª fração e o controle. Vale aqui

destacar que a medida desse fracionamento não é exata, e as porcentagens indicadas são confiáveis dentro de ± 1 ponto percentual.

Com a adição do corante azul de toluidina às três frações e ao controle observou-se uma diferença na dispersão desse corante após o congelamento de cada amostra. Na amostra controle o corante se concentra mais no núcleo do gelo onde, segundo Devlin [109], as moléculas de água estão mais ordenadas, correspondendo à 3ª fração dos nossos experimentos. Como decorrência, podemos imaginar que a distribuição de tamanhos de *clusters* presentes na 3ª fração propicia uma melhor interação com as moléculas desse corante. Observou-se que nas 1ª e 2ª frações, onde a porcentagem de 3ª fração deve estar reduzida, o corante se distribuiu mais uniformemente através do sólido, não havendo uma preferência nítida pelo núcleo do gelo. Na amostra em que há um enriquecimento da 3ª fração o corante se concentrou fortemente no núcleo, ainda mais que na amostra controle, e não se observou o corante nas bordas do bloco de gelo, onde ainda poderia restar uma certa quantidade de *clusters* correspondentes às outras frações.

A adição de outros corantes nessas mesmas amostras de água provavelmente irá promover diferentes efeitos de interação soluto-solvente, em relação aos observados para o azul de toluidina. Cada substância deve interagir de uma maneira diferente com cada fração. Testes com outras substâncias foram realizados, como por exemplo, adicionando-se fluoresceína nas mesmas amostras. As soluções de fluoresceína provenientes de cada fração apresentaram dispersões do corante diferenciadas após o congelamento e o padrão observado para a 2ª fração foi equivalente ao observado para o controle.

Esse fato que se mostrou reprodutível em vários experimentos parece indicar duas evidências:

- a primeira mostra que o gelo obtido pelo congelamento de uma fração é diferente daquele obtido pelo congelamento do controle e de outra fração.
- a segunda indica que o corante pode se associar melhor a algumas estruturas na fase sólida do que a outras, fazendo pensar que o efeito de

exclusão não é suficiente para explicar o gradiente de cor observado nos experimentos.

Foram testadas outras maneiras de se obter água por fusão fracionada, como iniciando-se o congelamento a partir do núcleo do bloco de gelo, com a utilização de um dedo frio. Nesse caso o material utilizado foi de vidro e os resultados indicaram as mesmas tendências das obtidas através do congelamento feito no refrigerador doméstico. Esse fato mostra que os resultados obtidos com as frações de água não estão relacionados a contaminações do material utilizado. Segundo a norma ASTM D 4453-02, relativa aos processos de manipulação e estocagem de água ultra pura, de acordo com o tipo de análise a ser realizada deve-se utilizar determinado material, dentre os quais polietileno, polipropileno, teflon e vidro de borosilicato.

Água Exposta ao Campo Magnético

O estudo da água exposta ao campo magnético mostrou grandes alterações de comportamento da água tratada em relação ao controle. Nas medidas de condutividade elétrica e de absorção de luz UV, essas alterações podem estar associadas a um aumento de *clusters* pequenos presentes no meio após a exposição ao campo, como indicam os trabalhos de Zhou [46]. Segundo Kockmarsky [3] campos com intensidades variando entre $3 \text{ mT} < B < 1000 \text{ mT}$ são capazes de enfraquecer ou dificultar a formação das ligações de hidrogênio, causando uma diminuição da média estatística dessas ligações entre as moléculas de água. Como a intensidade do campo magnético utilizado nesse trabalho se encontra dentro da faixa citada acima, podemos supor que o campo esteja atuando nas quebras e formações das ligações de hidrogênio, possivelmente influenciando a estruturação dos *clusters* presentes no meio.

Observou-se que, apesar da montagem experimental apresentada na figura 8 (página 37) utilizar um frasco de porcelana aberto como recipiente para água durante o processo de magnetização, a ação do campo magnético não parece ter aumentado a solubilidade de oxigênio na água, já que o experimento de absorção de luz UV com e sem o borbulhamento de argônio na água tratada não mostrou

diferenças significativas entre si, como mostra a figura 19 (página 53). O borbulhamento de argônio tem como objetivo expulsar os gases dissolvidos na água, incluindo o oxigênio, e verificar se parte da absorção de luz nessa região do UV deve-se a um aumento da solubilidade desse gás durante o processo de magnetização.

Observou-se também que os valores de condutividade elétrica da água tratada são significativamente superiores aos do controle. Descartando-se a possibilidade de uma maior quantidade de gases dissolvidos na água tratada com relação ao controle, como indicado pelo experimento de absorção de luz UV com o borbulhamento de argônio, podemos supor que o campo esteja contribuindo para a formação de arranjos menores de aglomerados de água e que estes interfiram menos na trajetória dos íons transportadores de carga, aumentando assim o valor da condutividade elétrica.

Para finalidades específicas de hidratação da pele, o pólo sul se mostrou mais eficaz que os outros arranjos testados. Além disso, a água exposta ao pólo sul aumentou a cinética de intumescimento e melhorou a razão N/A de plântulas de trigo, quando comparadas ao controle. Esse último caso, a água tratada no campo apresentou uma grande eficiência quando comparada com as frações e com as soluções de $MgCl_2$ em diluições extremas, como pode ser observado comparando-se as figuras 20, 21, 22, 24 e 25.

As diversas possibilidades de arranjos magnéticos utilizados para alterar as propriedades da água indicaram que as condições experimentais, tais como intensidade do campo, tempo de exposição ao campo, repouso posterior, material dos frascos, entre outros, são de fundamental importância para se obter um determinado resultado. Não é possível falarmos em processos de magnetização sem especificações cuidadosas de todo o procedimento e materiais envolvidos.

Levando-se em consideração os modelos existentes para a estrutura da água líquida, o modelo de misturas foi o único que possibilitou uma explicação para os resultados observados. Segundo alguns autores [3,46], *clusters* compostos por um menor número de moléculas de água apresentam propriedades diferentes de

clusters constituídos por um maior número dessas moléculas. As medidas selecionadas para evidenciar as diferenças de comportamento da água com diferentes estruturas são exemplos de parâmetros que devem depender da distribuição de tamanho de *clusters* do sistema.

Os resultados experimentais nos mostram que o campo magnético, a fusão fracionada da água e a adição de solutos em diluições extremas, são métodos capazes de alterar o comportamento da água em determinados sistemas e que essas alterações provavelmente possam ser explicadas mediante uma nova estrutura da água após passar pelos processos indicados.

O conjunto de evidências experimentais obtido até o momento nos levam a pensar na água como $(\text{H}_2\text{O})_n$ e nos encorajam a formular um hidratante para a pele baseado nesse princípio.

PARTE II - APLICAÇÃO: PREPARAÇÃO DE SOLUÇÃO HIDRATANTE

Uma vez admitida a possibilidade de modificar a distribuição de tamanho dos aglomerados de água através de campos magnéticos, da fusão fracionada da água e da adição de solutos no meio, podemos imaginar uma solução hidratante para a pele baseada nesses resultados. Tal solução deveria exibir propriedades típicas de sistemas constituídos por *clusters* pequenos capazes de permear mais facilmente barreiras como a pele. Se os resultados anteriores forem aditivos é possível supor que a simples adição de $MgCl_2$ à água tratada em campo magnético ou à 1ª fração, deveria produzir uma solução hidratante com maior eficiência que as amostras isoladas.

A definição de hidratação é tratar com água ou tratar (pele) com substância que lhe devolva umidade natural ou evite que se resseque [152].

Como mencionado anteriormente, os hidratantes comerciais que atuam como oclusores dos poros não adicionam moléculas de água às camadas da pele, somente protegem-na enquanto estão efetivamente bloqueando os poros. Como exemplo temos a lanolina, a vaselina e vários óleos vegetais. Os hidratantes que possuem substâncias plastificantes atuam de forma diferente mas, também não adicionam moléculas de água às camadas da pele. Nesse caso, essas substâncias devem romper a camada bilipídica do estrato córneo e aumentar a quantidade de água livre, sem necessariamente aumentar a quantidade de água total da pele [151]. Esses mecanismos de hidratação atenderiam à segunda definição de hidratação, que trata a pele com substâncias capazes de devolver sua umidade natural, evitando seu ressecamento.

A proposta da solução hidratante apresentada neste trabalho pretende atender a primeira definição de hidratação, ou seja, tratar a pele com água. Como essa solução hidratante é bastante diluída, ela pode ser vista como uma água que apresenta novas propriedades, dentre elas a de hidratação. Atualmente não existem produtos hidratantes que sejam constituídos simplesmente de água, essa solução hidratante é inovadora.

Procedimento do Preparo da Solução Hidratante

Apesar de uma vasta quantidade de artigos na literatura que tratam de efeitos do campo magnético em diversos sistemas, não existe nenhum estudo relacionando as propriedades obtidas com as características experimentais, tais como a intensidade do campo, o material utilizado, o tempo de exposição, etc. Todos os ajustes, em todas as variáveis do sistema, foram feitos empiricamente.

Foram realizadas mais de 200 montagens experimentais diferentes variando-se arranjos geométricos, concentrações de soluções, intensidades do campo magnético, materiais utilizados, temperatura, irradiação de luz em vários comprimentos de onda, agitação, entre outros. Dentre os vários experimentos e soluções obtidas, apresentamos como proposta uma solução hidratante para a pele que se constitui basicamente de água previamente exposta ao campo magnético (como mostrado na figura 8, página 35) à qual se adicionou $0,5 \mu\text{g} / \text{mL}$ de MgCl_2 (o que corresponde a uma solução de MgCl_2 $5,3 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$). Após a adição do MgCl_2 a solução é deixada em repouso por 8 horas e em seguida pode ser aplicada diretamente na pele ou diluída a 3% em água desionizada, originando uma solução de MgCl_2 $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, sem perder suas propriedades hidratantes. Estes produtos passam a ser chamados de hidratante e hidratante 3%, respectivamente.

Para se chegar aos valores de concentração mencionados para as soluções hidratantes foram realizados experimentos específicos no sentido de otimizar os valores de hidratação da pele. Fizemos testes preliminares de hidratação com soluções de MgCl_2 na faixa de concentração entre $\sim 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ a $\sim 10^{-19} \text{ mol L}^{-1}$, como foi mostrado na tabela 5 (página 75). Apesar da solução $\sim 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ aumentar o valor de hidratação inicial do estrato córneo, ao utilizarmos esta faixa de concentração de MgCl_2 para a solução hidratante, esta não proporcionava uma sensação de conforto para a pele, ao contrário causava uma certa irritação local. Passamos então a investigar a outra faixa de concentração de MgCl_2 entre $\sim 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ e $\sim 10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$, que promoveu um aumento na hidratação da pele. Para a montagem experimental utilizada neste trabalho,

mostrada na figura 8, o maior valor de hidratação da pele foi para soluções de MgCl_2 $0,5 \mu\text{g} / \text{mL}$, preparadas a partir de água tratada no campo magnético. A partir deste valor de concentração foram feitas algumas diluições em água desionizada para verificarmos se a solução, mesmo diluída, poderia apresentar as mesmas características de hidratação da solução de partida. Novamente, otimizou-se as diluições da solução hidratante em água desionizada e verificou-se que na diluição a 3% a solução mantinha o mesmo desempenho em relação à hidratação que a solução de MgCl_2 $0,5 \mu\text{g} / \text{mL}$. Aparentemente, o hidratante 3% proporciona melhores características para a pele que a própria solução de partida, como maciez e suavidade.

Além da característica hidratante das soluções de MgCl_2 , também foram feitas aquisições de espectros de absorção no UV, medidas de condutividade elétrica e de desempenho no intumescimento e germinação de sementes de trigo. O controle utilizado para o hidratante e hidratante 3% é água desionizada do mesmo lote mantida sob as mesmas condições durante o processo de preparação do hidratante, exceto a exposição da água ao campo magnético e adição do cloreto de magnésio.

Os resultados apresentados em Medidas Experimentais para o hidratante e hidratante 3% são comparados com os resultados já apresentados para a água exposta ao campo magnético, 1ª e 3ª frações de água e solução de MgCl_2 $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.

Medidas Experimentais

Espectroscopia na Região do Ultravioleta

Os espectros de absorção na região do UV do hidratante e do controle foram obtidos tomando-se os mesmos cuidados experimentais já citados anteriormente (páginas 39 e 40). Os espectros foram obtidos no Espectrofotômetro Cary 5G, em cubeta de quartzo de 5 cm de comprimento, sempre em relação à água desionizada utilizada como linha base. A faixa de comprimentos de onda estudada foi de 190 nm a 340 nm.

A curva de absorção diferencial do hidratante é apresentada na figura 37 juntamente com as curvas de absorção da água exposta ao campo magnético e das 1ª e 3ª frações (10 %) de água já apresentadas nas figuras 13 e 18.

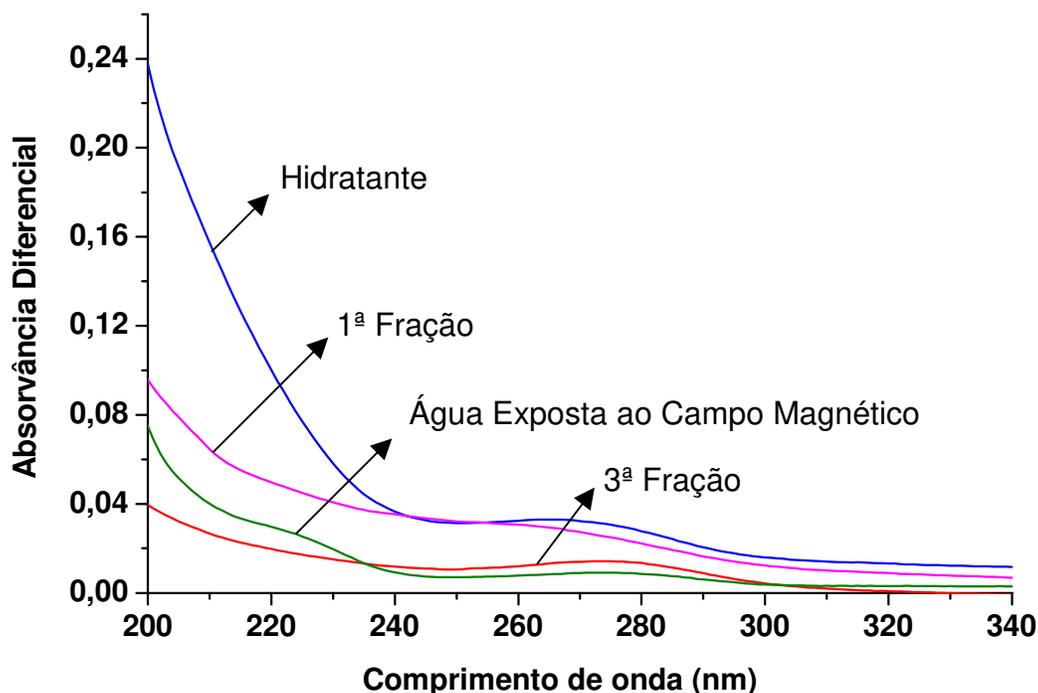


Figura 37. Espectro diferencial de absorção de luz UV das seguintes amostras em relação à água desionizada: hidratante, água exposta ao campo magnético e as 1ª e 3ª frações obtidas pela fusão fracionada da água.

A temperatura das amostras foi mantida a 20 °C durante a aquisição dos espectros e foram feitas 8 repetições de amostras preparadas em dias diferentes. A faixa de flutuação das intensidades de absorção de cada curva é de $\pm 0,01$ na escala de absorvância apresentada na figura 37.

Observa-se claramente que a intensidade de luz UV absorvida pelo hidratante em relação à água desionizada é bastante superior à absorvida pelas demais amostras estudadas. Na região entre 260 nm e 280 nm observa-se um aumento de absorção de luz UV pelas amostras em relação à água desionizada, no entanto, não pudemos atribuir este aumento de absorção a nenhuma substância presente nas amostras. Talvez a absorção de luz nesta região também esteja relacionada a alguma faixa de tamanho de *cluster* preferencialmente formado após o processo de preparação do hidratante.

Este resultado de absorção de luz UV é consistente com os obtidos em condutividade elétrica, intumescimento e germinação de sementes de trigo e hidratação da pele humana. A solução hidratante apresenta um comportamento nas medidas estudadas que nos faz supor uma maior quantidade de *clusters* pequenos no meio, quando comparada à água exposta ao campo magnético e à 1ª fração obtida por fusão fracionada da água.

Condutividade Elétrica

Os valores de condutividade elétrica obtidos para as amostras apresentam, em geral, uma correlação com os dados de espectroscopia na região do UV. Ou seja, as soluções que apresentam maior absorção de luz UV são aquelas que também possuem maior condutividade elétrica em relação aos respectivos controles.

A tabela 6 mostra os valores médios de 8 medidas de condutividade elétrica (k) do hidratante e hidratante 3 %, em temperaturas na faixa de 22 °C a 24 °C. Apresentamos também os valores de condutividade elétrica para soluções de MgCl₂ na mesma concentração do hidratante e hidratante 3 %, já que a adição de

MgCl₂ à água promove um aumento na condutividade elétrica, independente do tratamento em campo magnético.

Tabela 6. Condutividade elétrica média (k) e as respectivas estimativas de desvio padrão do hidratante, hidratante 3 %, soluções de MgCl₂ e controle.

Amostras	k / $\mu\text{S cm}^{-1}$
Hidratante (sol. MgCl ₂ 5,3 x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹)	7,72 ± 0,30
Hidratante 3 % (sol. MgCl ₂ 1,6 x 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹)	2,06 ± 0,10
Controle	1,50 ± 0,18
Solução de MgCl ₂ (5,3 x 10 ⁻⁶ mol L ⁻¹)	2,63 ± 0,23
Solução de MgCl ₂ (1,6 x 10 ⁻⁷ mol L ⁻¹)	1,04 ± 0,15
Água Desionizada	0,60 ± 0,10

Observa-se que os valores médios de condutividade elétrica do hidratante e hidratante 3% são muito superiores aos do controle. Se imaginarmos a água como um meio descontínuo, os *clusters* transportadores de carga (íons solvatados) devem ter sua trajetória perturbada pela presença dos *clusters* não carregados (*clusters* de água). Sendo assim, a equação de Stokes (equação 11, página 55) deve descrever o atrito friccional entre duas perturbações, que alteram a trajetória do transportador de carga. Nesse cenário, a diminuição do tamanho dos *clusters* de água poderia facilitar o transporte da carga, interferindo menos na trajetória do transportador. Se esse raciocínio estiver correto, podemos imaginar que no hidratante há o favorecimento da estruturação de *clusters* menores em relação às demais amostras, visto que seu valor de condutividade aumenta substancialmente frente ao controle.

Até o momento, o único modelo capaz de explicar as alterações observadas nas medidas físico-químicas das amostras de água e soluções estudadas é o modelo de misturas, que descreve a estrutura da água líquida como sendo

constituída por *clusters* de diversos tamanhos e formas. O modelo contínuo não parece adequado para explicar tais comportamentos.

Intumescimento e Germinação de Sementes de Trigo

Os testes de intumescimento e germinação de sementes de trigo feitos com as soluções hidratantes apresentaram resultados muito significativos quando comparados com o controle. Os procedimentos utilizados nestes testes são os mesmos já descritos anteriormente (páginas 56 a 59). O controle utilizado nos testes de intumescimento e germinação de sementes foi água desionizada do mesmo lote usado para a preparação de cada amostra.

Os resultados apresentados nos testes de intumescimento e germinação de sementes de trigo são relativos ao hidratante 3 % já que este promoveu melhores efeitos que o hidratante, quando comparados com o controle.

Observou-se um intenso aumento na velocidade de intumescimento das sementes nas primeiras 5 horas quando essas eram imersas no hidratante 3 % se comparadas com as sementes imersas na água controle. A figura 38 indica o aumento de massa de água absorvida (%) em relação ao controle em função do tempo de imersão das sementes nas amostras estudadas. As curvas relativas às 1^a e 3^a frações e à água exposta ao campo magnético são as mesmas apresentadas nas figuras 21 e 24. Essas curvas são apresentadas novamente no intuito de se fazer uma comparação entre os resultados obtidos com cada amostra e com o hidratante 3 %. A solução $1,6 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹ de MgCl₂ não proporcionou alteração significativa na cinética de intumescimento das sementes de trigo.

Observa-se que o hidratante e a água exposta ao campo magnético foram mais rapidamente absorvidos pelas sementes nos tempos iniciais. No entanto, as curvas tendem ao valor do controle a partir dos 300 minutos (5 h), o que indica que a diferença observada no intumescimento é de ordem cinética. As 1^a e 3^a frações também são absorvidas mais rapidamente pelas sementes do que o controle, sendo a primeira mais acentuada que a última fração.

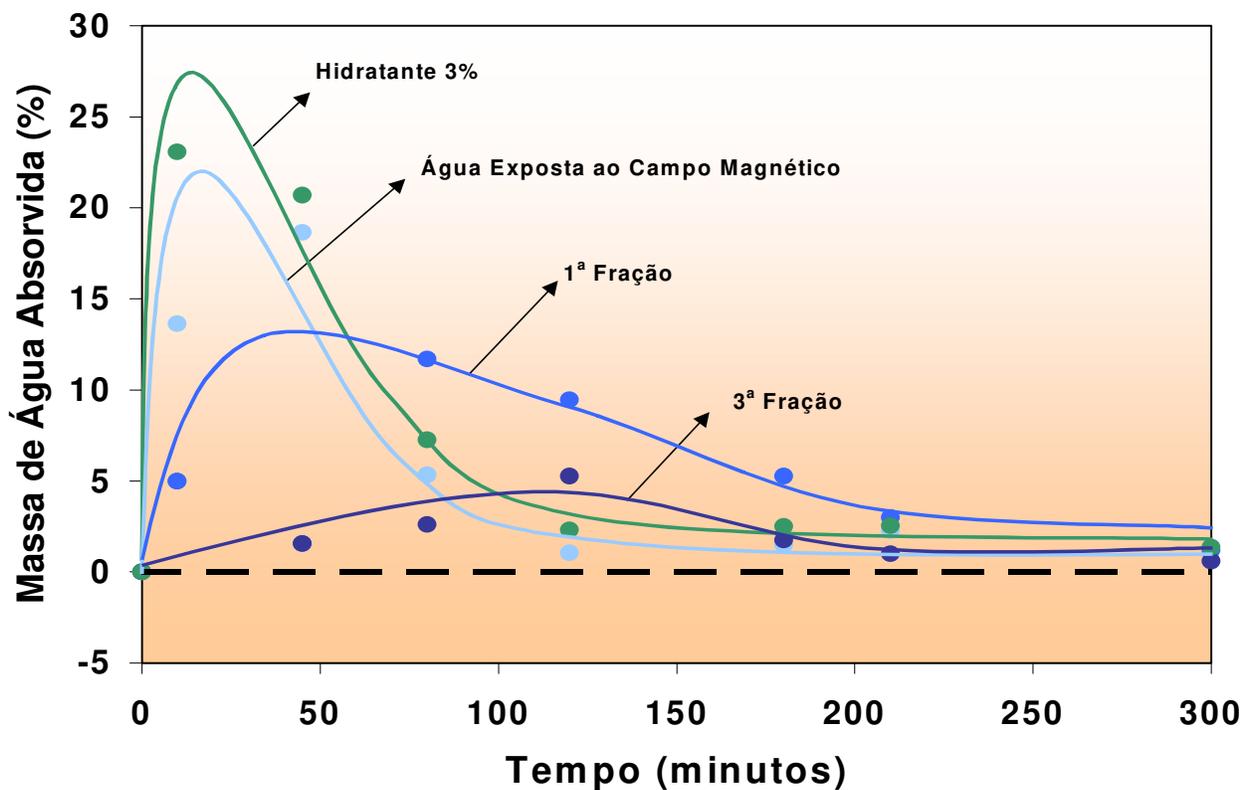


Figura 38. Aumento de massa de água absorvida (%) em relação ao controle das seguintes amostras: hidratante 3 %, água exposta ao campo magnético e 1ª e 3ª frações de água obtidas por fusão fracionada.

A partir de cálculos matemáticos [46,153] foi demonstrado que a interação do momento magnético de spin da água com determinados valores de campo magnético pode enfraquecer ou quebrar parcialmente as ligações de hidrogênio do sistema, possibilitando um novo arranjo dos aglomerados de água. Se essa nova distribuição de tamanho dos aglomerados conseguir penetrar mais facilmente nas membranas celulares, a água tratada em campo magnético (e neste caso também o hidratante) deve acelerar o intumescimento das sementes e o posterior desenvolvimento das plantas. No caso da 1ª fração, que também é absorvida mais rapidamente pelas sementes se comparada com o controle, este comportamento pode ser explicado pela provável retenção de algumas estruturas *ice-like* semelhantes às encontradas no cristal de gelo, após a fusão da água [7,8]. Como a 1ª fração corresponde à camada superficial do gelo, menos ordenada, podemos imaginar que ela possua uma maior percentagem de *clusters* pequenos com relação às demais frações. Estes resultados sugerem, mais uma vez, que a

água deve ser formada por uma distribuição de *clusters* e que estes quando alterados ou preferencialmente selecionados são capazes de produzir comportamentos diferenciados com relação à distribuição de *clusters* normalmente encontrada na água.

Na etapa de germinação, observa-se que a razão N/A para o hidratante 3% e para a água exposta ao campo magnético é muito superior ao valor dessa mesma razão para a 1ª fração e para a solução de MgCl_2 $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, todos em relação ao controle, como mostra a figura 39.

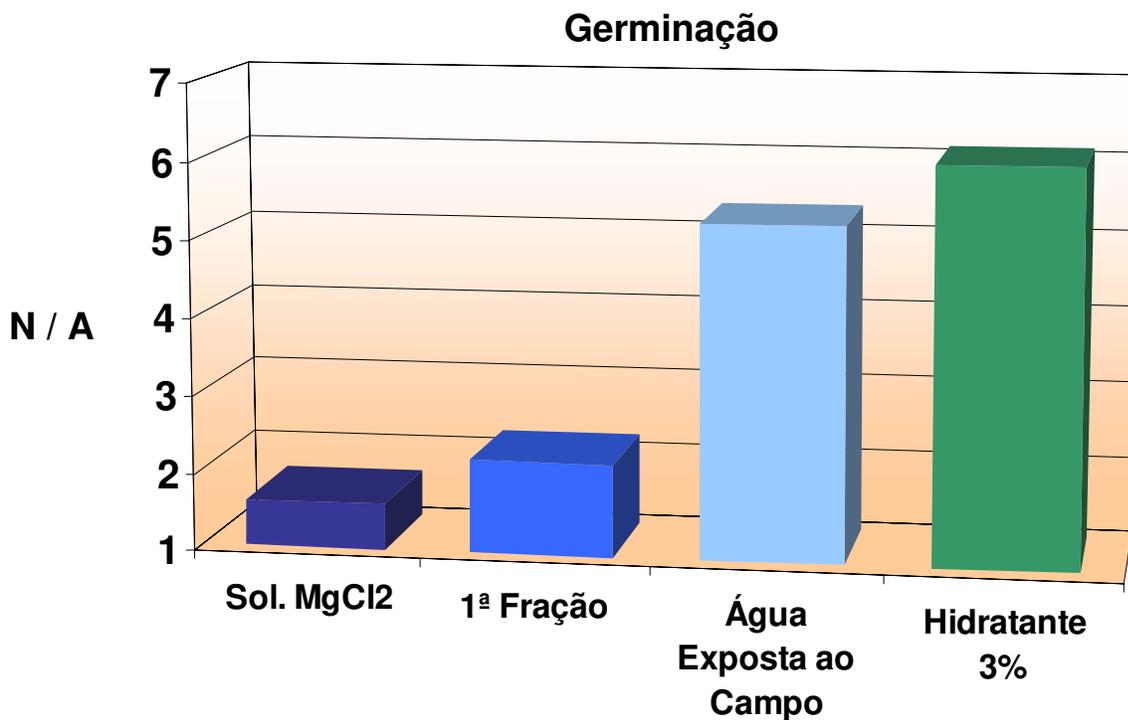


Figura 39. Razão entre o número de plântulas de trigo normais (N) e o de anormais (A) no 4º dia de germinação, quando irrigadas com: solução de MgCl_2 $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, 1ª fração obtida por fusão fracionada da água, água exposta ao campo magnético e hidratante 3 %, em relação ao controle.

Fez-se o teste de Distribuição t de Student para cada amostra em relação ao controle, separando-se as sementes em dois grupos classificados como sementes normais e sementes anormais. Tanto o grupo de sementes normais como o grupo

de sementes anormais para cada amostra são estatisticamente diferentes do controle num intervalo de 99 % de confiança.

A razão N/A para o hidratante 3 % é de 6,1; para a água exposta ao campo é 5,3; para a 1ª fração é 2,2; e para a solução de MgCl_2 $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ é 1,6. A 3ª fração não apresenta resultado significativo no teste de germinação. Esses resultados, exceto o do hidratante, já foram apresentados nas figuras 20, 22 e 25 e quando colocados conjuntamente pretendem fornecer uma visão global do desempenho relativo das amostras estudadas.

Os resultados da germinação das sementes de trigo parecem seguir a mesma tendência daqueles obtidos no intumescimento. A partir das figuras 38 e 39 observamos que o aumento da absorção de água pelas sementes e a melhora do processo germinativo utilizando-se a solução de MgCl_2 e as frações de água são muito inferiores aos encontrados para a água exposta ao campo e para o hidratante 3 %. Por esse motivo, ao detalharmos esse experimento com a contagem do tamanho médio das plântulas em cada lote iremos focar os resultados obtidos para as amostras de água exposta ao campo magnético e para o hidratante 3 %, comparadas com o controle.

O tamanho médio das plântulas de trigo foi bastante diferente entre os lotes irrigados com a água exposta ao campo e com o hidratante 3 %, em relação ao controle. As figuras 40, 41 e 42 mostram estas diferenças no 4º dia de germinação.

Para a água controle, observa-se que no 4º dia de germinação há uma grande quantidade de plântulas de trigo com tamanhos médios entre 0,5 e 1,0 cm. Plântulas de tamanhos maiores são encontradas com frequência menor no lote controle, atingindo um tamanho máximo de 3,0 cm. Já as sementes irrigadas com água exposta ao campo apresentam uma quantidade menor de plântulas com tamanho médio entre 0,5 e 1,5 cm e uma quantidade maior das que atingiram um tamanho entre 2,0 e 3,0 cm. Para as sementes irrigadas com o hidratante 3 % notamos que algumas plântulas chegam a alcançar um tamanho de até 3,5 cm durante o mesmo período de germinação.

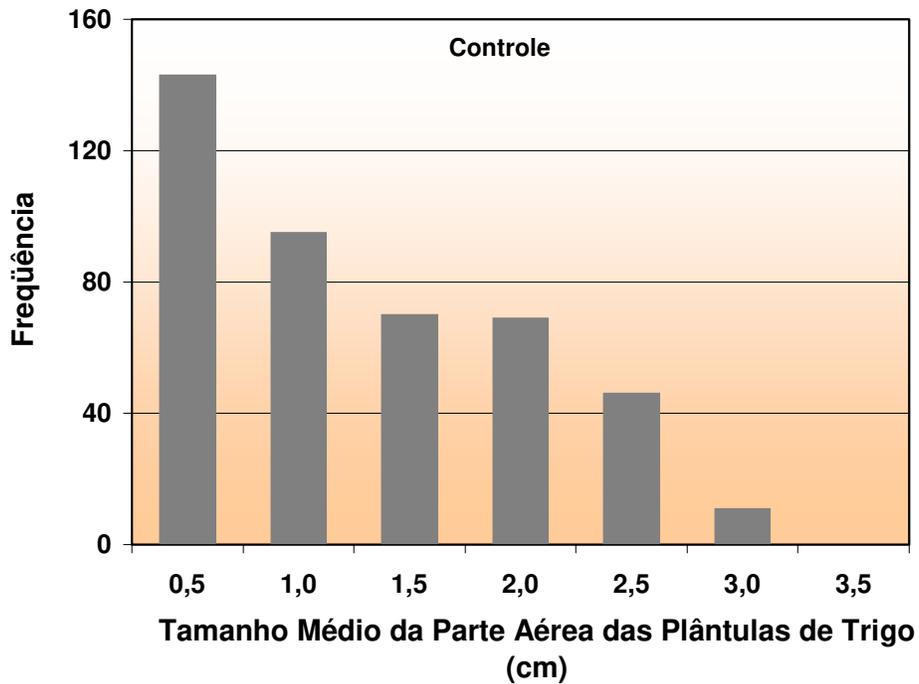


Figura 40. Tamanho médio da parte aérea das plântulas de trigo (cm) do lote controle, no 4º dia de germinação.

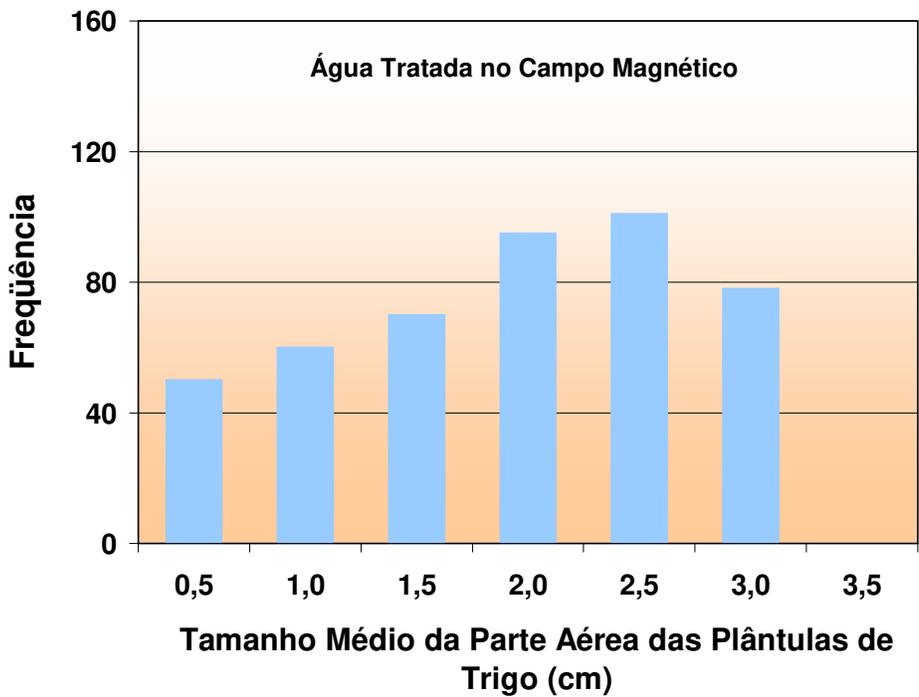


Figura 41. Tamanho médio da parte aérea das plântulas de trigo (cm) do lote irrigado com água exposta ao campo magnético, no 4º dia de germinação.

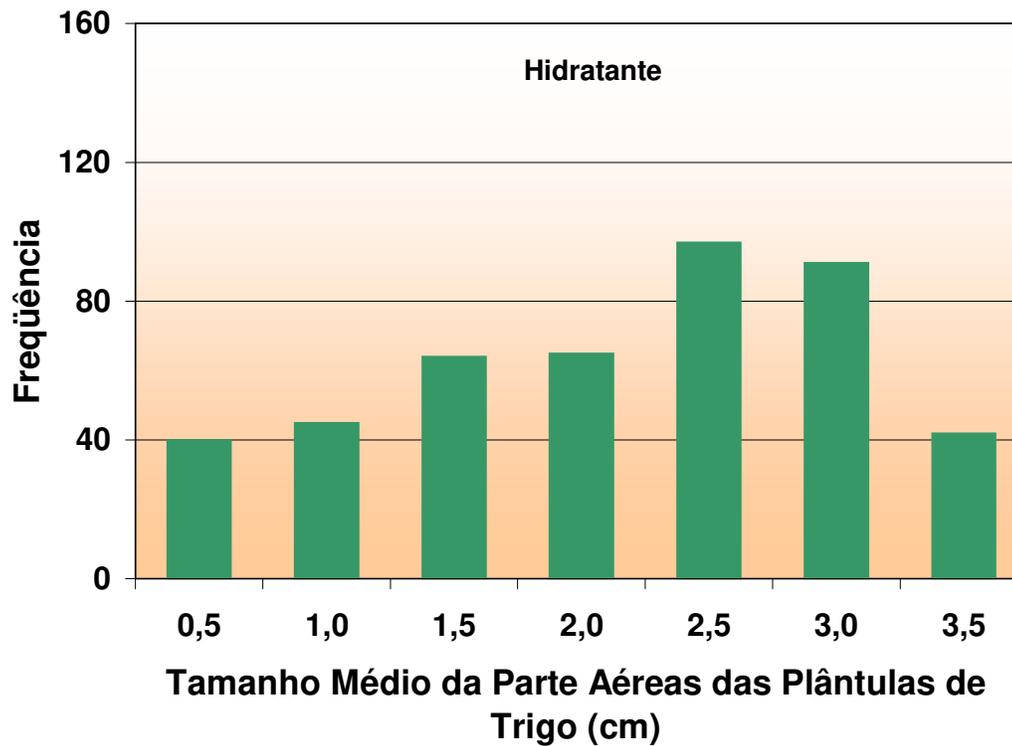


Figura 42. Tamanho médio da parte aérea das plântulas de trigo (cm) do lote irrigado com o hidratante 3 %, no 4º dia de germinação.

A figura 43 apresenta a tendência do tamanho médio da parte aérea das plântulas de trigo dos três lotes, mostrados separadamente nas figuras 40, 41 e 42.

Estas tendências podem ser visualizadas nas fotos da figura 44. Observamos uma grande diferença entre o tamanho das plântulas irrigadas com o hidratante 3 %, com a água exposta no campo magnético e com o controle.

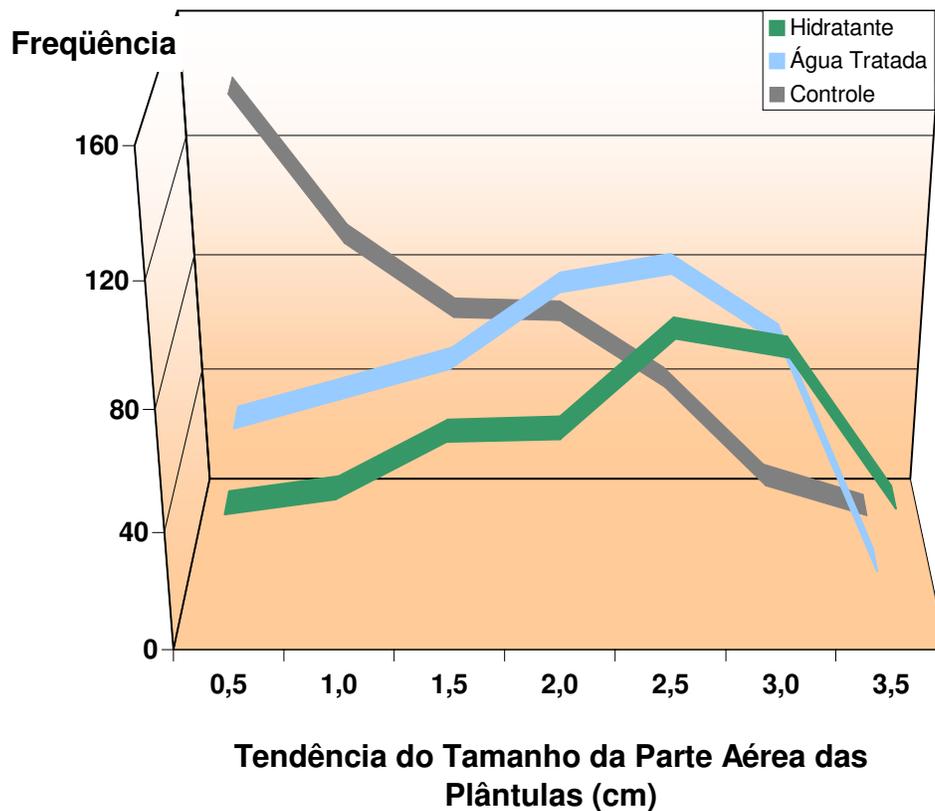


Figura 43. Curvas de tendência do tamanho da parte aérea das plântulas de trigo dos lotes irrigados com água exposta ao campo magnético, hidratante 3 % e controle, no 4º dia de germinação.

O aumento na velocidade de permeação do líquido nas sementes e a conseqüente mudança observada no processo germinativo também só podem ser explicados se pensarmos em termos de *clusters* em solução, pois o modelo contínuo não possibilita uma compreensão para as alterações de comportamento observadas.

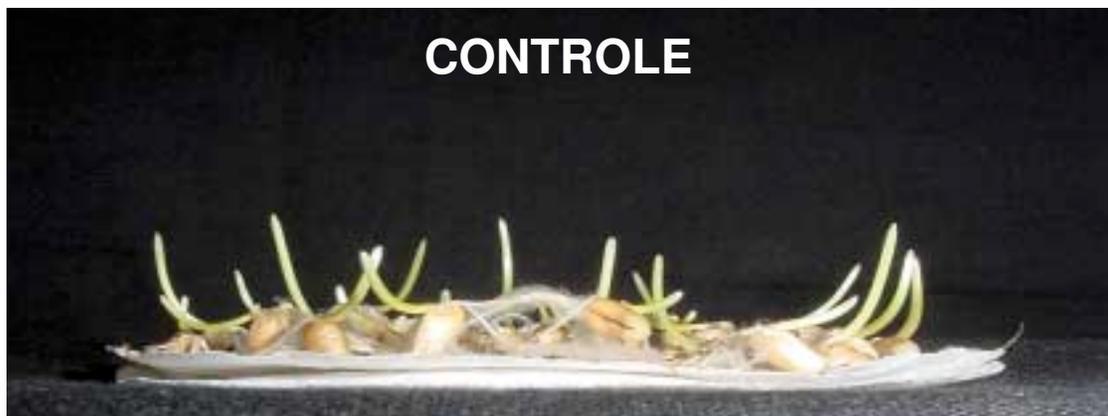


Figura 44. Fotos do 4º dia de germinação das plântulas de trigo intumescidas e regadas com água tratada em campo magnético, hidratante 3 % e controle.

Hidratação do Estrato Córneo

Os critérios adotados para a aplicação das soluções hidratantes e para as medidas de hidratação do estrato córneo são equivalentes aos descritos nos estudos anteriores (páginas 73 e 74). A figura 45 apresenta os valores de hidratação para soluções com diferentes concentrações de $MgCl_2$ feitas a partir da água exposta ao campo magnético (figura 8, página 37). Observa-se que a concentração da solução de $MgCl_2$ que promoveu maior hidratação no estrato córneo foi a de $5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

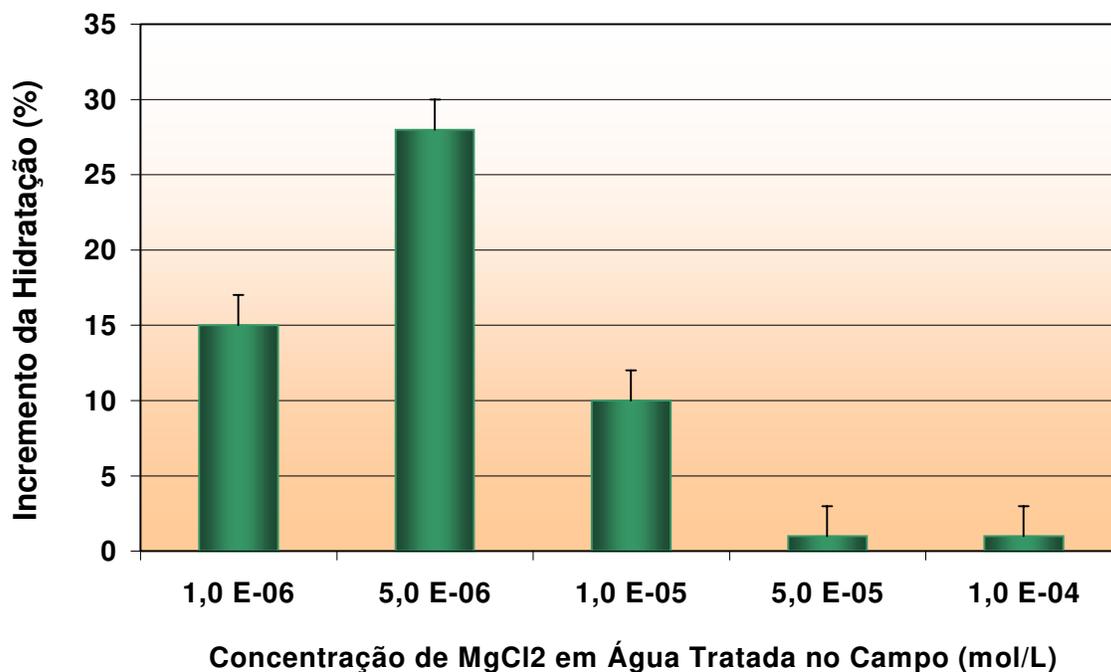


Figura 45. Aumento da hidratação do estrato córneo após a aplicação de hidratantes preparados a partir de água tratada no campo magnético, com a adição de diferentes quantidades de $MgCl_2$.

A figura 46 apresenta o aumento de hidratação do estrato córneo para diferentes percentagens de diluição do hidratante em água desionizada. Observamos que o hidratante 3 % alcança um valor de hidratação de 28 % em relação ao controle, valor igual ao obtido pelo hidratante ($5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$). Por

este motivo fizemos as demais medidas físico-químicas e biológicas incluindo esta solução diluída.

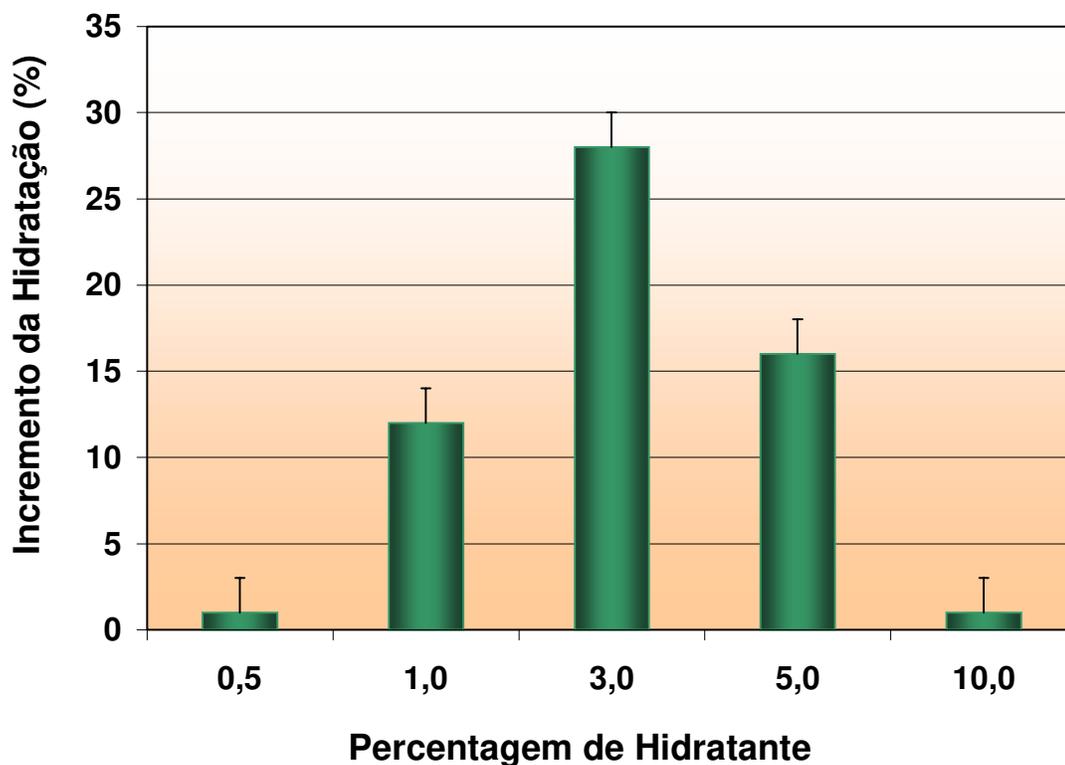


Figura 46. Aumento da hidratação no estrato córneo após a aplicação do hidratante ($5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$) diluído em água desionizada em diferentes percentagens de volume.

A figura 47 mostra a faixa de aumento de hidratação, em percentagem, da área onde foram aplicadas as amostras hidratantes em relação à área de referência. Esta faixa é apresentada em intervalos de 2, 5 e 8 horas após a aplicação das amostras na pele. As amostras de água e soluções que apresentaram hidratação na pele foram a 1ª fração 5 %, a água exposta ao campo magnético, o hidratante e o hidratante 3 %. As medidas de hidratação foram repetidas mais de 10 vezes com cada amostra.

Observa-se claramente que a água exposta ao campo magnético e a 1ª fração 5 % aumentaram a hidratação do estrato córneo com relação à área de referência, porém numa faixa de hidratação inferior à dos hidratantes. As soluções hidratantes elevam a faixa de hidratação da pele além de, normalmente, apresentarem maior retenção do efeito hidratante. Este efeito prolongado de hidratação é denominado de *long-lasting effect* e muitas vezes é verificado para o hidratante e hidratante 3 % 24 horas após a aplicação.

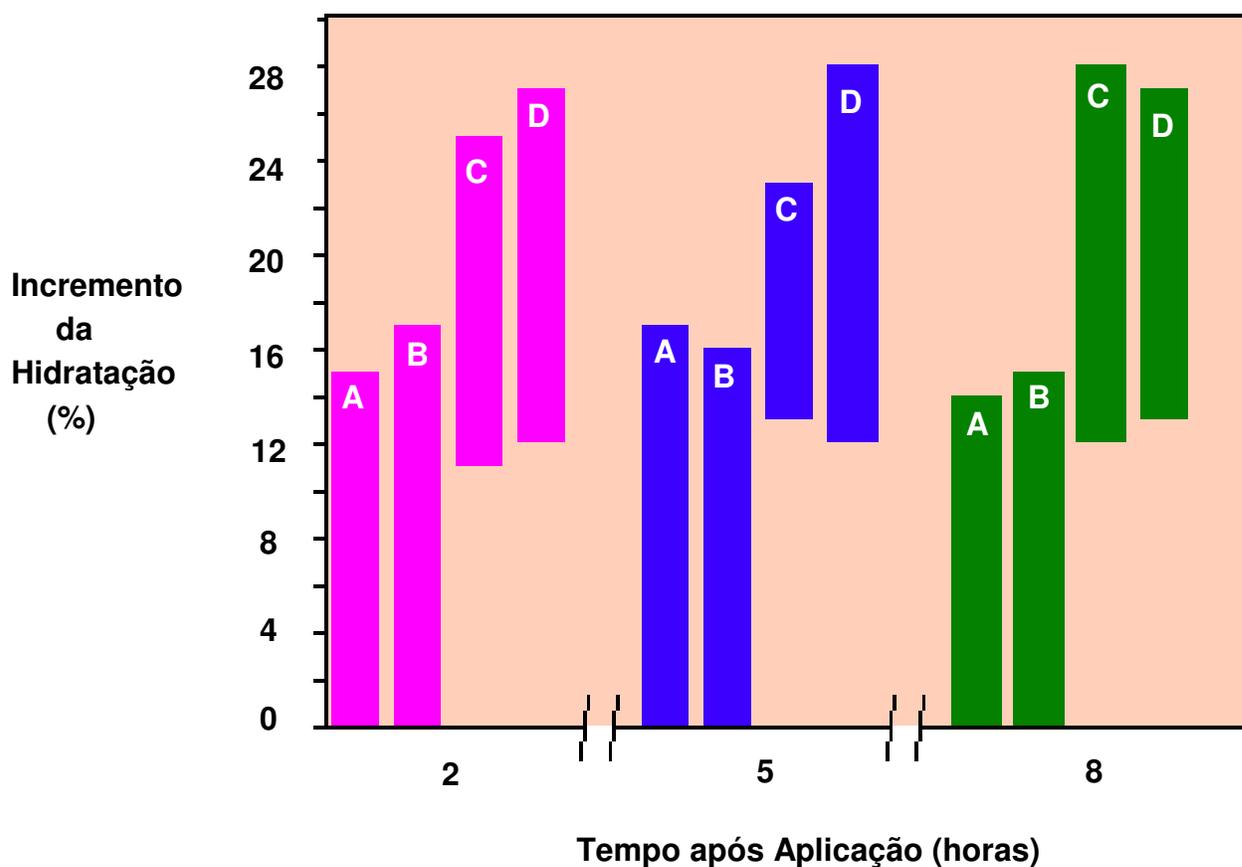


Figura 47. Percentagem de aumento da hidratação da pele após a aplicação das amostras nos intervalos de 2, 5 e 8 horas: (A) água exposta ao campo magnético, (B) 1ª fração 5 %, (C) hidratante e (D) hidratante 3 %.

É importante destacar que o aumento de 28 % na hidratação do estrato córneo promovido pelos hidratante e hidratante 3 % não está relacionado com o uso de substâncias oclusivas ou de substâncias plastificantes [148] que podem atingir valores de hidratação superiores a este (ver figura 27, página 72).

No entanto, os mecanismos de hidratação associados à oclusão dos poros (uso de substâncias oclusivas) e à transferência de moléculas de água da derme para a epiderme (uso de substâncias plastificantes) não aumenta a quantidade total de água da pele, o que se propõe com o uso do hidratante e hidratante 3 %. Nesse caso, portanto, um aumento de 28 % de hidratação do estrato córneo é bastante expressivo.

Além de aumentar a hidratação do estrato córneo, as soluções hidratantes promovem características sensoriais na pele ligadas ao toque como, por exemplo, maciez e suavidade. Estas propriedades sensoriais são muitas vezes confundidas pelo usuário com a ação hidratante, o que não se confirma através das medidas no Corneometer; produtos de toque agradável muitas vezes apresentam valores baixos de hidratação do estrato córneo e vice-versa. Estas características sensoriais do hidratante freqüentemente persistem após o uso de produtos agressivos para a pele, como detergentes e produtos de limpeza domésticos, e não podem ser facilmente explicadas em função do tamanho dos aglomerados de água.

O possível mecanismo de hidratação da pele promovido pelo hidratante deve estar relacionado a dois fatores principais: diminuição do tamanho dos *clusters* de água, que facilitam a penetração desta substância através do estrato córneo, e o favorecimento de ligações do cátion Mg^{2+} hidratado às proteínas que compõem a camada córnea, aumentando assim a quantidade de água ligada a estas células e, conseqüentemente, sua hidratação. Vale lembrar aqui que cada cátion Mg^{2+} pode aportar até 5 moléculas de água e ligá-las a um sítio proteico.

Comentários Gerais

As medidas biológicas eleitas para evidenciar o desempenho das amostras de água tratadas pelos processos utilizados nesse trabalho apresentaram uma correlação entre si. A água tratada que promoveu a maior cinética de intumescimento e melhor germinação das sementes de trigo também foi a que desempenhou a melhor hidratação do estrato córneo, como pode ser visto nas figuras 44 e 47 (páginas 109 e 113). Esse fato nos remete à hipótese inicial de que ao estudarmos a permeação da água através da casca e película das sementes poderíamos ter indícios da sua atuação no estrato córneo, e vice-versa.

As medidas físico-químicas também revelaram um melhor desempenho da solução hidratante em relação às demais amostras estudadas, tanto em espectroscopia na região do UV quanto nos valores de condutividade elétrica. Apesar da solução hidratante conter uma pequena quantidade de $MgCl_2$ que acarreta um aumento dos valores dessas propriedades, observamos que esse incremento se torna ainda maior quando essa quantidade de $MgCl_2$ é adicionada à água exposta ao campo.

De maneira geral, o hidratante 3 % apresenta melhor desempenho nas medidas biológicas, enquanto o hidratante é favorecido nas medidas físico-químicas. Em princípio, podemos explicar tais comportamentos devido ao fato do hidratante possuir uma maior concentração de $MgCl_2$ e por utilizar como solvente apenas água exposta ao campo, que possui suas propriedades alteradas. O hidratante 3 % é preparado a partir do hidratante e mantém características semelhantes a este nas medidas biológicas, já que nesse caso podem desenvolver efeitos acumulativos, o que não ocorre com as medidas físico-químicas.

O elenco de experimentos escolhido para evidenciar o comportamento da água obtida por diferentes processos foi consistente e revelou, sem sombra de dúvida, que as amostras de água não são iguais. Possivelmente, cada amostra de água deve apresentar uma determinada estruturação que irá determinar suas propriedades biológicas e físico-químicas.

Foi possível alterar o comportamento da água a partir de diversas técnicas, desde a adição de solutos no meio, como pela exposição ao campo magnético. Pelo processo de fusão fracionada pudemos selecionar várias frações de água com características diferentes. Essas diferenças podem estar associadas às diferenças de ordenação das moléculas de H₂O quando no estado sólido, produzindo comportamentos diferenciados em cada uma das frações de água líquida.

Ressaltamos, mais uma vez, que a solução hidratante desenvolvida neste trabalho é uma solução aquosa de MgCl₂ e, portanto, não fará a oclusão mecânica dos poros nem atuará como um plastificante para promover o aumento da quantidade de água local, como ocorre nas soluções hidratantes comerciais .

Esta solução hidratante foi desenvolvida baseada na hipótese da água apresentar diversas propriedades de acordo com o arranjo de aglomerados de moléculas de água no meio.

O mecanismo envolvido no processo de hidratação do estrato córneo a partir desta solução provavelmente deve estar relacionado à maior quantidade de aglomerados menores, capazes de penetrar mais facilmente na pele e ao aporte de moléculas de água ligadas ao cátion Mg⁺², capaz de se ligar às proteínas que compõem a camada córnea.

“ O essencial é invisível aos olhos”
A.S. Éxupery

CAPÍTULO III

ESTUDOS TEÓRICOS

Introdução

Aglomerados ou *clusters* de moléculas de água têm sido foco de considerável interesse nesses últimos anos dentro do mundo acadêmico. Um dos objetivos é entender quais as propriedades do *cluster* de $(\text{H}_2\text{O})_n$ na fase condensada [154]. *Clusters* pequenos de água permitem o estudo detalhado, teórico e experimental, da estrutura e da dinâmica das ligações de hidrogênio que determinam as propriedades da água líquida.

Por um lado, novas técnicas experimentais têm permitido a obtenção de constantes rotacionais para *clusters* pequenos e até a detecção vibracional do estiramento da ligação de hidrogênio para o trímero de água, através da espectroscopia de tunelamento roto-vibracional [18,19]. Do lado teórico há um empenho para se conseguir potenciais água-água mais precisos [154], mas a medida em que o número de moléculas de água aumenta os cálculos se tornam mais difíceis devido à complexidade da superfície de potencial e a pequenas diferenças entre *clusters* estáveis.

Na literatura recente encontramos alguns trabalhos teóricos [10,11,21,25, 46] que tratam de *clusters* de água de diversos tamanhos, com suas respectivas energias, geometrias otimizadas e em alguns casos previsões de espectros eletrônicos [11] para *clusters* de até 6 moléculas de água. Tais estudos, que direta ou indiretamente se vinculam ao modelo de misturas de Frank e Wen [7], admitem como possível a existência de *clusters* na estrutura da água líquida.

Outros trabalhos prevêm através de cálculos matemáticos variações em algumas propriedades da água quando exposta a campos magnéticos de diferentes intensidades. A figura 48 mostra essas alterações da energia interna (E) e da função de distribuição radial (g) da água para várias intensidades de fluxo magnético [46].

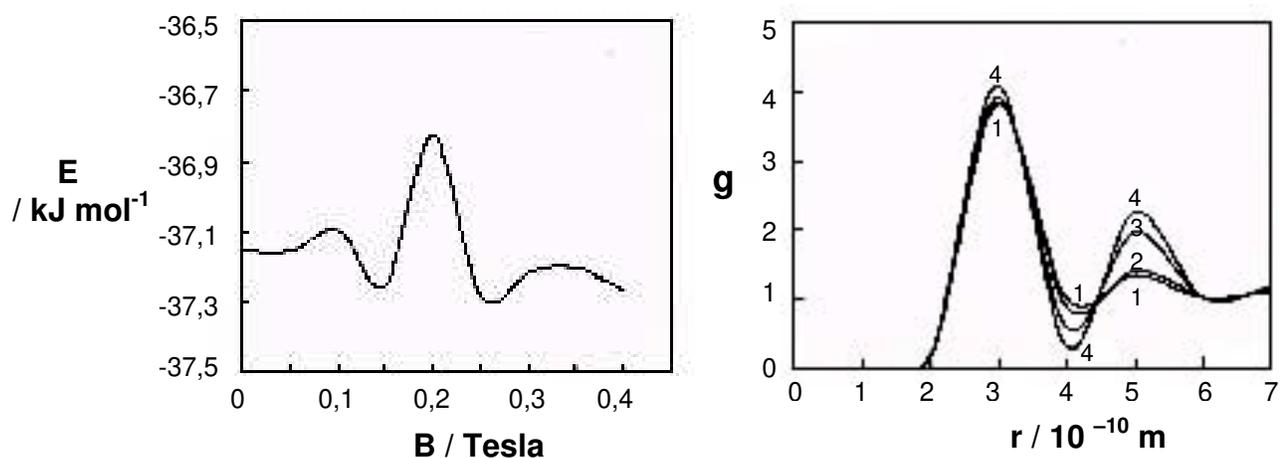


Figura 48. Variação da Energia Interna (E) da água em função do fluxo magnético (B) e Função de Distribuição Radial (g) da molécula de água sob várias intensidades de campo magnético aplicado: 1 - sem campo; 2 – 0,0500 Tesla; 3 – 0,1000 Tesla; 4 – 0,2000 Tesla (T = 300 K) [46].

Cálculos

Na tentativa de abordar este tema iniciamos estudos teóricos de aplicação de métodos *ab initio* no cálculo de *clusters* de água $(\text{H}_2\text{O})_n$ ($1 \leq n \leq 12$). O termo *ab initio* significa “a partir do início” em latim, sendo usado para designar os métodos computacionais derivados de princípios quanto-mecânicos, sem a inclusão de dados experimentais. Os únicos dados admitidos são constantes fundamentais, tais como, massa do elétron, carga do elétron, constante de Planck, etc.

Neste trabalho realizamos cálculos em nível Hartree-Fock. O método Hartree-Fock tem como idéia fundamental reduzir o problema de N elétrons para N problemas de um elétron, que interagem com os núcleos e entre si através de um modelo de campo médio. Os cálculos *ab initio* mais comuns são os cálculos Hartree-Fock, cujas funções de onda são geralmente obtidas através de funções orbitais representadas através de combinações lineares de funções do tipo Slater (STO) ou do tipo Gaussiana (GTO).

Os conjuntos de base são nomeados conforme o número de funções de base para cada orbital atômico. Uma função de base com apenas uma função de Slater ou Gaussiana ou uma única combinação destas funções para cada orbital atômico é denominada base mínima. Uma função de base com duas ou três funções ou conjuntos contraídos para cada orbital é denominada de duplo zeta e triplo zeta, respectivamente. Como, em geral, as camadas internas dos átomos não sofrem alteração significativa com a mudança do ambiente molecular, utiliza-se muitas vezes um conjunto contraído para representar as camadas internas e dois ou três conjuntos para representarem a camada de valência, obtendo-se assim as funções de base chamadas de duplo zeta de valência (VDZ) e triplo zeta de valência (VTZ).

Na etapa inicial deste trabalho utilizou-se conjuntos de base do tipo: STO-3G¹, 6-31G² e SBK³ [155-158]. Este último caso corresponde a cálculos *ab initio* em que os elétrons internos são substituídos por um pseudopotencial que simula a blindagem desses elétrons sobre os de valência. Para o conjunto de base SBK também foram acrescentadas funções de polarização (d nos oxigênios e p nos hidrogênios) e o conjunto de base resultante é denominado SBK(d,p). As coordenadas iniciais dos *clusters* foram obtidas da literatura [158]. Os cálculos foram realizados utilizando-se os programas Gamess [159] e Gaussian/98 [160]. Os cálculos realizados não consideraram vibrações moleculares.

A partir das coordenadas iniciais, otimizou-se as geometrias em relação à energia total para cada *cluster* de água (H₂O)_n, sendo [1 ≤ n ≤ 12], utilizando-se os referidos conjuntos de base.

¹ STO-nG : conjunto de base do tipo “single zeta”, com combinações lineares de n gaussianas primitivas simulando a constituição de funções do tipo Slater.

² 6-31G : conjunto de base de Pople, do tipo “double-zeta”, ou seja, com dois conjuntos de gaussianas para cada orbital de valência e um único conjunto para as camadas mais internas. Neste caso, os orbitais das camadas mais internas são a contração de 6 gaussianas primitivas; os orbitais de valência são a contração de 3 gaussianas primitivas para a parte interna de valência e uma gaussiana primitiva para a parte externa de valência (6-31G).

³ SBK ou CEP-31G: Stevens, Bash, Krauss ou Condensed Effective Potential. Conjunto de base em que é criado um potencial efetivo (pseudopotencial) que reproduz os efeitos dos núcleos e dos elétrons internos sobre os elétrons de valência. A aplicação do pseudopotencial reduz drasticamente o número de funções de base necessárias para o cálculo, requerendo somente funções para os elétrons de valência (31G).

Com os valores de mínimo de energia para a geometria otimizada determinou-se a energia de interação intermolecular por molécula de água para cada *cluster*, segundo a equação 14:

$$\Delta E = [E (\textit{cluster}) - n E (\textit{monômero})] / n \quad \text{equação 14}$$

em que, ΔE é a energia de interação por molécula de água do *cluster* em questão; $E (\textit{cluster})$ é a energia total calculada para a geometria otimizada do *cluster*; n é o número de moléculas de água do *cluster* e $E (\textit{monômero})$ é a energia correspondente à geometria otimizada do monômero para o mesmo conjunto de base.

Os valores de mínimo de energia obtidos para cada *cluster* de água e os valores de ΔE calculados posteriormente estão apresentados nas tabelas 1 e 2 do apêndice II.

Os valores da energia de interação por molécula quando $n \rightarrow \infty$ foram comparados ao valor de energia da água a 0K obtido na literatura [25,143], que corresponde a $-11,3 \text{ kcal mol}^{-1}$, como mostra a tabela 7. Esse valor de energia corresponde à variação de entalpia de fusão da água. Dentre os conjuntos de base utilizados até então, o valor de energia mínima que mais se aproximou do valor experimental foi o obtido para a base SBK (d,p).

Tabela 7. Energia de interação por molécula de água quando $n \rightarrow \infty$, para as bases STO-3G, 6-31G, SBK e SBK(d,p). (n = número de moléculas de água do *cluster*)

CONJUNTOS DE BASE	ENERGIA / kcal mol ⁻¹
STO-3G	- 16,0
6-31G	- 15,8
SBK	- 13,6
SBK(d,p)	- 9,4
EXPERIMENTAL ^[143]	-11,3

Os valores de energia apresentados na tabela 7 foram obtidos através de um ajuste das curvas de energia de interação por molécula em função do número de moléculas de H₂O que compõem o *cluster*, a partir da equação 15:

$$\Delta E = a/n + b \quad \text{equação 15}$$

em que, ΔE é a Energia de interação por molécula; n corresponde ao número de moléculas de H₂O do *cluster*; a e b são constantes ajustáveis .

As energias de interação calculadas em níveis mais elaborados de teoria, incluindo efeitos de correlação eletrônica, com conjuntos de base de valência duplo zeta, mesmo de tamanhos moderados, usualmente são muito grandes. As energias superestimadas de interação podem ter como causa o uso de um conjunto de base finito (portanto, incompleto) que gera uma estabilização adicional, devido ao fato de uma molécula utilizar os conjuntos de base de outras para melhorar a sua própria distribuição eletrônica. Esta estabilização “não física” é conhecida como Erro de Superposição de Base (BSSE - *Basis Set Superposition Error*) [161].

Se a energia da molécula A é diminuída, em alguma extensão, pela presença apenas dos conjuntos de base da molécula B e vice-versa, obtém-se uma estabilização artificial do sistema AB, que em geral é maior se utilizamos conjuntos de base pequenos.

Para tentar excluir parte desse erro, utilizamos energias modificadas para a molécula A, E_A^{AB} , e para a molécula B, E_B^{AB} , nos cálculos da energia de interação intermolecular por molécula de água, ΔE [161] :

$$\Delta E' = [E_{AB} - E_A^{AB} - E_B^{AB}] / n \quad \text{equação 16.a}$$

ou

$$\Delta E' = [E(\text{cluster}) - E(\text{H}_2\text{O}^{(1)}) - E(\text{H}_2\text{O}^{(2)}) - \dots - E(\text{H}_2\text{O}^{(i)})] / n \quad \text{equação 16.b}$$

em que, $\Delta E'$ é a energia de interação intermolecular por molécula de água considerando o BSSE ; E_A^{AB} , E_B^{AB} ou $E(\text{H}_2\text{O}^{(1)})$, $E(\text{H}_2\text{O}^{(2)})$ $E(\text{H}_2\text{O}^{(i)})$ é a energia calculada para a molécula de água A, B ou 1, 2 ... i, que compõe o *cluster*, deixando todas as funções de base das outras moléculas, mas eliminando seus núcleos e elétrons (moléculas fantasmas). Estas energias são calculadas separadamente para cada molécula de água que compõe o *cluster*.

A tabela 8 apresenta os valores de energia de interação por molécula de água quando $n \rightarrow \infty$, para as bases STO-3G, 6-31G, SBK e SBK(d,p), considerando-se a correção do erro de superposição de base, BSSE.

Tabela 8. Energia de interação por molécula de água quando $n \rightarrow \infty$, para os conjuntos de base STO-3G, 6-31G, SBK e SBK(d,p), considerando-se a correção do erro BSSE. (n = número de moléculas de água do *cluster*).

BASES // BSSE	ENERGIA / kcal mol ⁻¹
STO-3G	- 0,6
6-31G	- 14,1
SBK	- 7,8
SBK(d,p)	- 5,2
EXPERIMENTAL ^[143]	-11,3

Esses valores de energia juntamente com aqueles que não consideram a correção do erro BSSE apresentados na tabela 9, são mostrados na figura 49, em comparação com o valor experimental de entalpia de fusão da água [25].

A figura 50 mostra os valores de mínimo de energia de interação por molécula de água obtidos com os conjuntos de base 6-31G, SBK e SBK(d,p), com os respectivos ajustes das curvas utilizando-se da equação 15.

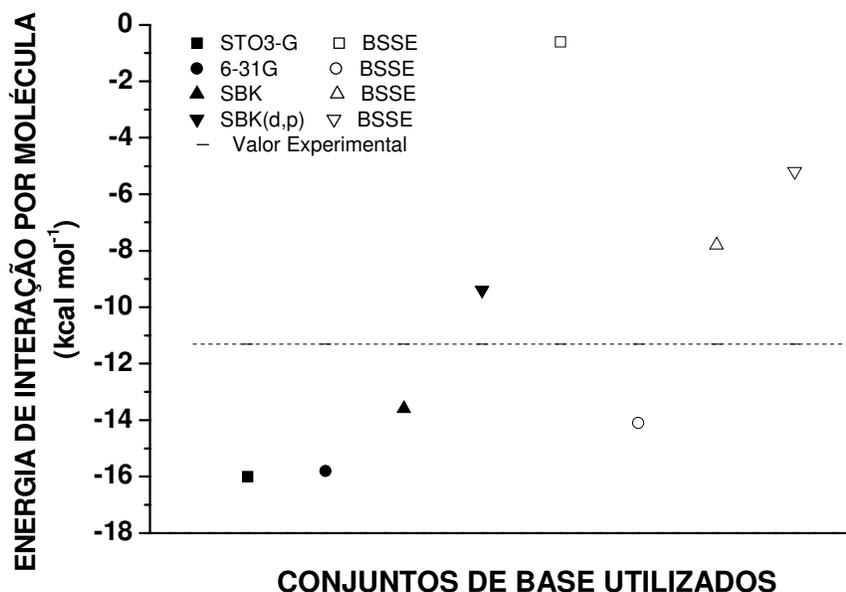


Figura 49. Energia de interação por molécula quando $n \rightarrow \infty$, para as bases STO-3G, 6-31G, SBK e SBK(d,p), com e sem a correção do BSSE. Símbolos vazios representam o mesmo conjunto de base considerando a correção do BSSE.

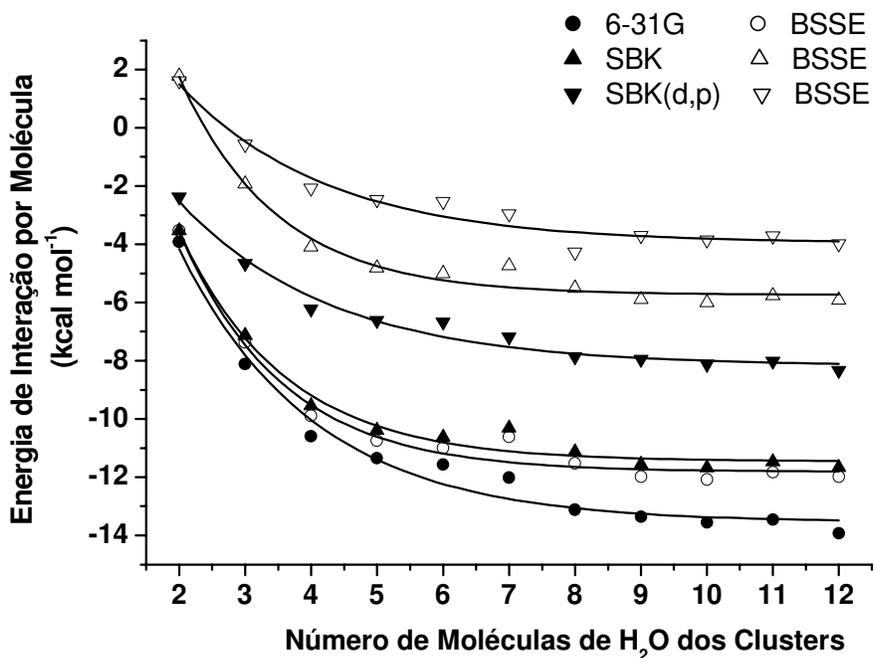


Figura 50. Curvas dos valores de energia de interação por molécula de água (ΔE e $\Delta E'$) utilizando-se os conjuntos de base 6-31G, SBK e SBK(d,p). Símbolos vazios representam o mesmo conjunto de base considerando a correção do BSSE.

Observa-se claramente através das curvas da figura 50 que o valor de energia de interação por molécula de H₂O em cada *cluster* diminui quando se considera a correção do erro de superposição de base, indicando que havia uma estabilização adicional das energias para os conjuntos de base utilizados.

Os valores de mínimo de energia para os conjuntos de base STO-3G não foram apresentados pois esses valores estão muito dispersos quando se considera a correção do BSSE e não se conseguiu um bom ajuste para a curva que representa essas energias.

Os valores de energia e o cálculo de $\Delta E'$ para os *clusters* (H₂O)_n, considerando a correção do BSSE, estão apresentados nas tabelas 3 a 7 do apêndice II.

Ao considerarmos os valores de energia obtidos através da correção do BSSE verificamos que para todos os conjuntos de base utilizados até o momento, o valor de energia de interação por molécula quando $n \rightarrow \infty$ (equação 15) é distante do valor experimental, como mostra a figura 49.

A partir desses resultados passamos então a utilizar a Teoria do Funcional de Densidade (DFT) ao invés da Hartree-Fock (HF), com conjuntos de base duplo zeta de valência e triplo zeta de valência, para a otimização das energias dos *clusters* de água a partir das mesmas coordenadas iniciais.

A DFT é um método de cálculo criado em 1964 [162] e afirma que a energia eletrônica do estado fundamental e outras propriedades moleculares eletrônicas são determinadas pela densidade de probabilidade eletrônica ρ . Portanto, a energia do estado fundamental E_0 é um funcional de ρ . Esta teoria é uma alternativa aos métodos de correlação eletrônica que dependem do método Hartree-Fock (HF). Sua principal vantagem é o custo computacional inferior em relação aos métodos de correlação baseados no modelo HF [155,156].

Os efeitos de troca e correlação podem ser corrigidos através de vários métodos de Funcional de Densidade (DFT) que, em geral, são denominados segundo a combinação do funcional de troca (exchange functional) e do funcional de correlação (correlation functional). Um detalhamento dos funcionais de troca e correlação é mostrado no apêndice I.

Os métodos DFT utilizados foram: BLYP⁴, B3LYP⁵ e BPW91⁶. Os conjuntos de base usados para os métodos BLYP, B3LYP e BPW91 foram cc-pVDZ e cc-pVTZ chamados de conjuntos de base de correlação consistente de Dunning, com duplo e triplo zeta de valência. Estes conjuntos de base incluem funções de polarização por definição. As funções de polarização atribuídas à cada átomo nas bases utilizadas estão relacionadas na tabela 9 [161].

Tabela 9. Funções de polarização atribuídas aos átomos nas funções de base duplo zeta de valência (cc-pVDZ) e triplo zeta de valência (cc-pVTZ).

Átomo	cc-pVDZ	cc-pVTZ
H	2s,1p	3s,2p,1d
He	2s,1p	3s,2p,1d
B – Ne	3s,2p,1d	4s,3p,2d,1f
Al – Ar	4s,3p,1d	5s,4p,2d,1f

Mas, a utilização desses métodos e conjuntos de base não permitiu encontrar a conformação de mínima energia de cada arranjo, pois os cálculos para a otimização de geometria não convergiram. Com as coordenadas iniciais obtidas na literatura [158] fez-se então o cálculo de energia para cada *cluster*, sem posterior otimização, utilizando-se os conjuntos de base mencionados anteriormente. A partir dos valores de energia obtidos com os métodos BLYP, B3LYP e BPW91 e os conjuntos de base cc-pVDZ e cc-pVTZ, calculou-se os valores de ΔE para cada *cluster* (equação 14). Os valores de energia e de ΔE para os métodos DFT estão relacionados nas tabelas 8 e 9 do apêndice II.

⁴ BLYP : Funcional de troca de Becke (1988) – B ; Funcional de correlação de Lee, Yang e Parr – LYP.

⁵ B3LYP : Funcional de troca de Becke com 3 parâmetros híbridos – B3 ; Funcional de correlação de Lee, Yang e Parr – LYP.

⁶ BPW91 : Funcional de troca de Becke (1988) – B ; Funcional de correlação de Perdew e Wang (1991) – PW91.

Dentre os métodos DFT utilizados, o valor de energia de interação por molécula (ΔE) mais concordante com o valor experimental [143], calculado a partir da equação 15, foi aquele obtido para o BLYP com as funções de base triplo zeta de valência (pVTZ), como mostra a tabela 10.

Tabela 10. Energia de interação por molécula de água quando $n \rightarrow \infty$, para os métodos BLYP, B3LYP e BPW91, e os conjuntos de base cc-pVDZ e cc-pVTZ. (n = número de moléculas de água do *cluster*)

MÉTODO / BASE	ENERGIA / kcal mol ⁻¹
BLYP / cc-pVDZ	- 17,0
BLYP / cc-pVTZ	- 11,7
B3LYP / cc-pVDZ	- 16,6
B3LYP / cc-pVTZ	- 12,1
BPW91 / cc-pVDZ	-14,7
BPW91 / cc-pVTZ	-10,2
EXPERIMENTAL ^[143]	-11,3

Esses dados podem ser melhor visualizados através da figura 51.

A figura 52 apresenta as curvas de energia de interação por molécula de água em cada *cluster* com os métodos e funções de base duplo zeta de valência (cc-pVDZ) e triplo zeta de valência(cc-pVTZ).

Também foram realizados os cálculos considerando-se a correção do BSSE para esses métodos no intuito de se verificar o quanto os valores de energia obtidos poderiam estar superestimados, no sentido de uma estabilização artificial do sistema, como mostra a tabela 11.

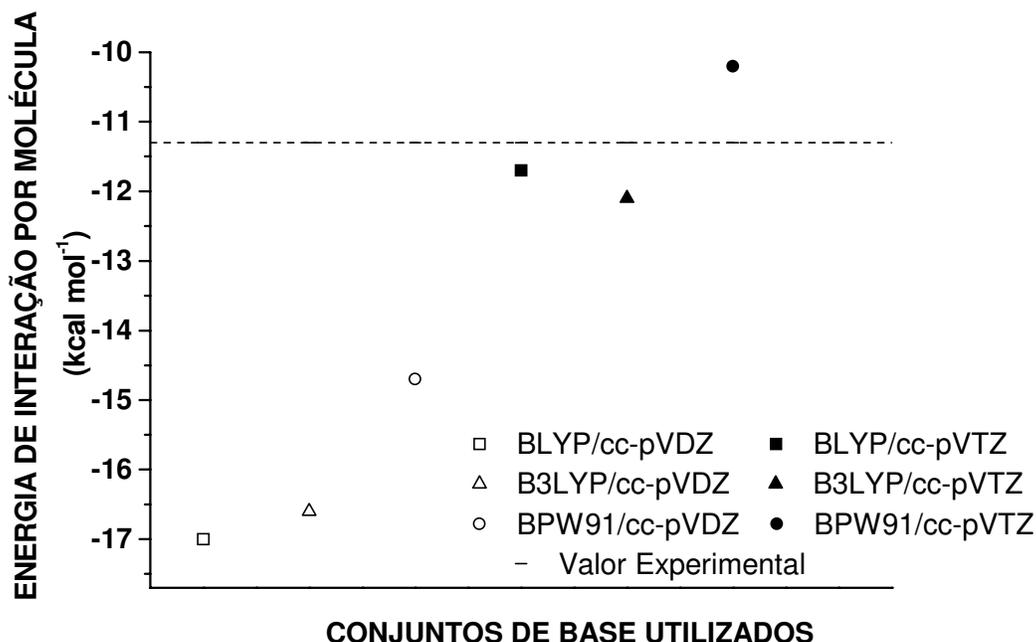


Figura 51. Energia de interação por molécula quando $n \rightarrow \infty$, utilizando-se os métodos BLYP, B3LYP e BPW91, com funções de base duplo (cc-pVDZ) e triplo zeta de valência (cc-pVTZ).

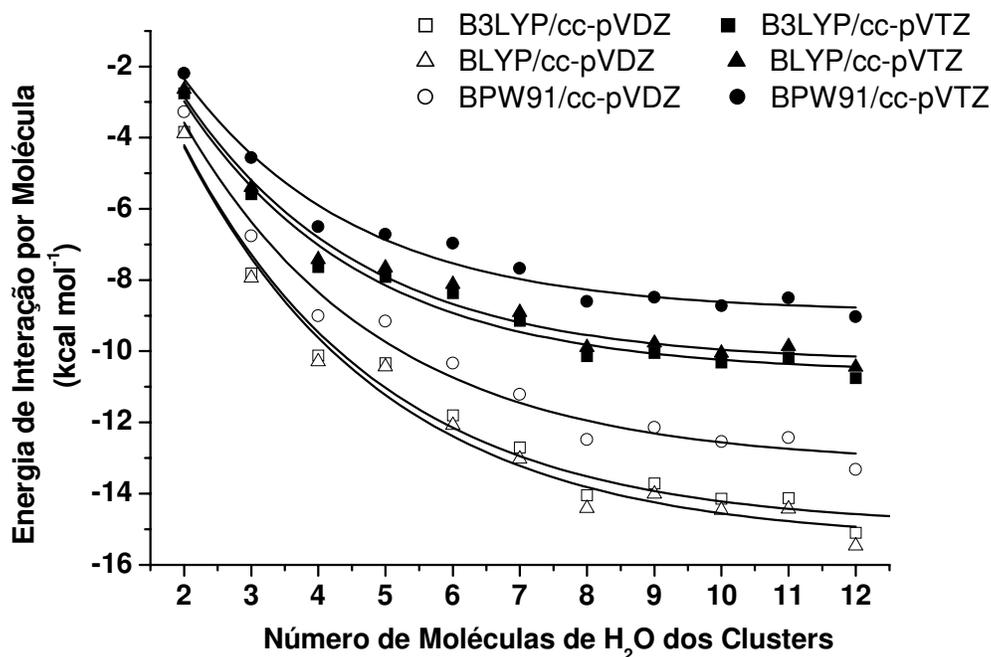


Figura 52. Curvas dos valores de energia de interação por molécula de água (ΔE) utilizando-se os métodos BLYP, B3LYP e BPW91, com funções de base duplo (cc-pVDZ) e triplo zeta de valência (cc-pVTZ).

Tabela 11. Energia de interação por molécula de água quando $n \rightarrow \infty$, utilizando-se os métodos BLYP, B3LYP e BPW91, nas bases cc-pVDZ e cc-pVTZ, considerando-se a correção do erro BSSE. (n = número de moléculas de água do *cluster*)

MÉTODO / BASE // BSSE	ENERGIA / kcal mol ⁻¹
BLYP / cc-pVDZ	- 8,6
BLYP / cc-pVTZ	- 8,2
B3LYP / cc-pVDZ	- 9,6
B3LYP / cc-pVTZ	- 9,2
BPW91 / cc-pVDZ	- 7,8
BPW91 / cc-pVTZ	- 7,3
EXPERIMENTAL ^[143]	-11,3

Os valores de interação de cada molécula no *cluster* calculados a partir da DFT e dos métodos BLYP, B3LYP E BPW91, considerando-se a correção do erro de superposição de base BSSE e o $\Delta E'$ calculado a partir da equação 16.b são mostrados nas tabelas 10 a 16 do apêndice II.

Apresentamos nas figuras 53 e 54 a comparação entre os valores de energia de interação por molécula para $n \rightarrow \infty$, para as funções cc-pVDZ e cc-pVTZ, com e sem a correção do BSSE.

As figuras 55 e 56 mostram as respectivas curvas ajustadas a partir da equação 15 para os valores de energia de interação por molécula de água, utilizando-se dos mesmos métodos e funções anteriores.

Observa-se que a correção do erro BSSE é maior para as bases menores duplo zeta de valência (cc-pVDZ) do que para as bases maiores triplo zeta de valência (cc-pVTZ), como esperado. As bases mais completas não utilizam tanto o artifício da superposição de base e por isso a correção do BSSE não é tão drástica quanto em bases menores.

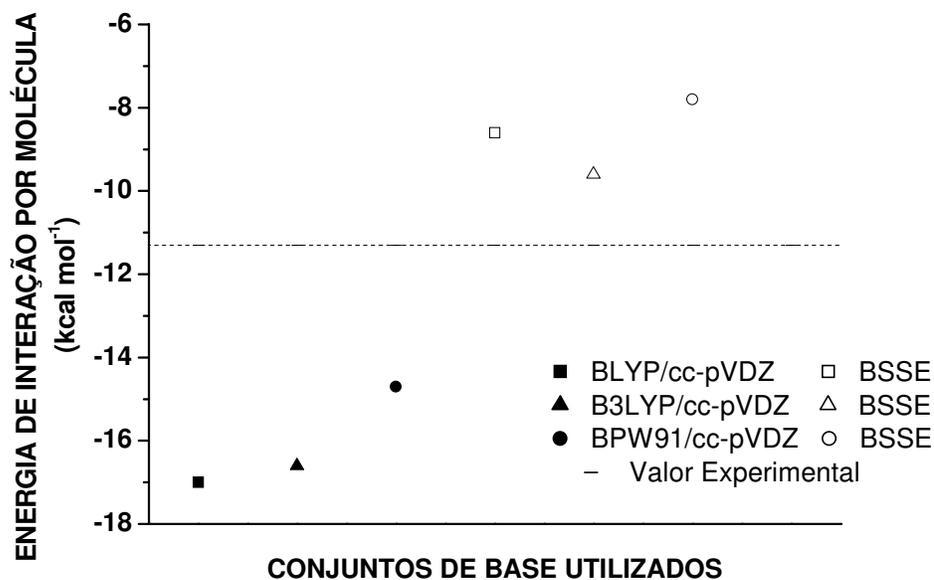


Figura 53. Energia de interação por molécula quando $n \rightarrow \infty$ utilizando-se os métodos BLYP, B3LYP e BPW91 com funções de base duplo zeta de valência (cc-pVDZ), com e sem a correção do erro BSSE.

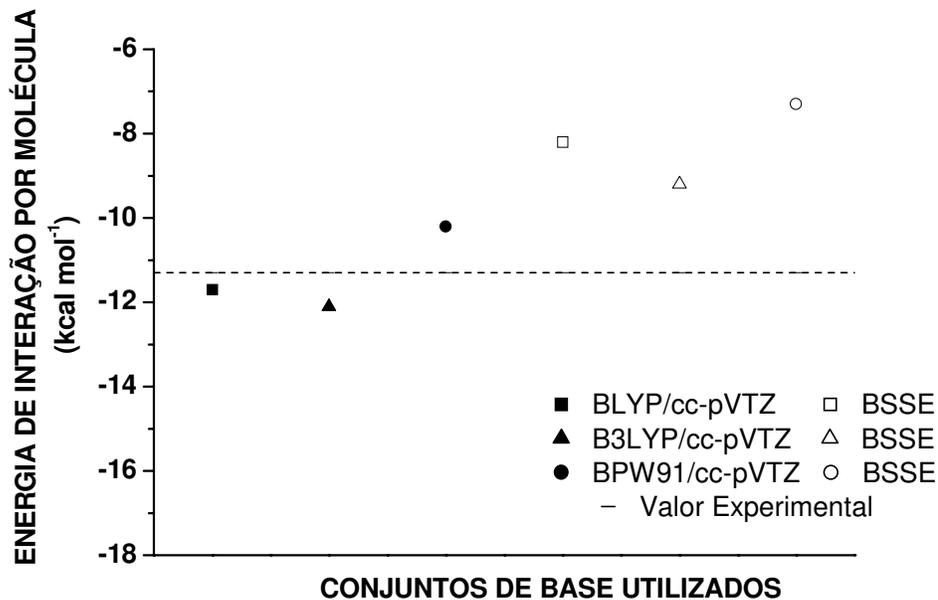


Figura 54. Energia de interação por molécula quando $n \rightarrow \infty$ utilizando-se os métodos BLYP, B3LYP e BPW91 com funções de base triplo zeta de valência (cc-pVTZ), com e sem a correção do erro BSSE.

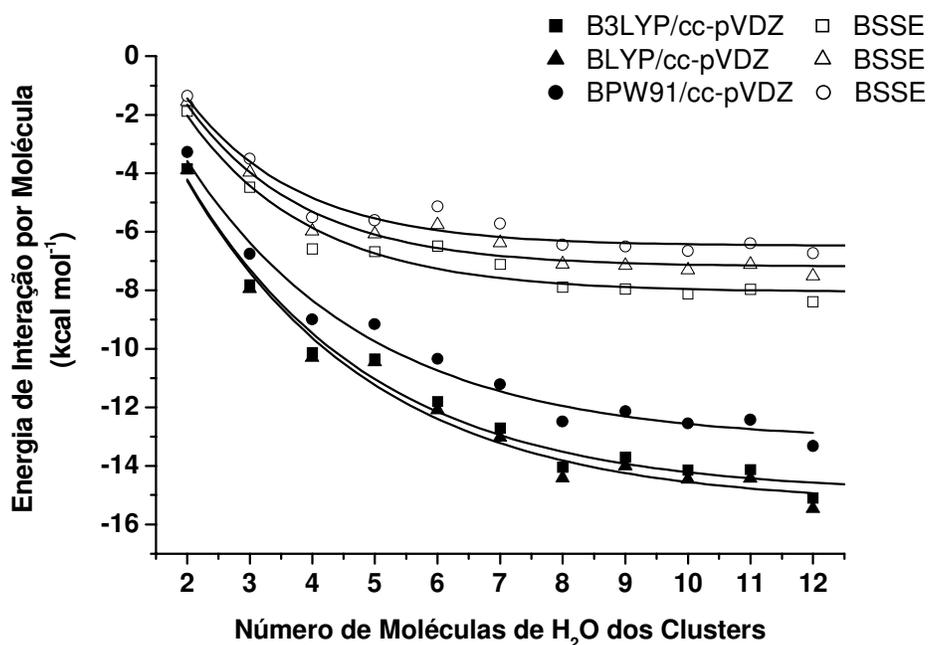


Figura 55. Curvas dos valores de energia de interação por molécula de água (ΔE e $\Delta E'$) utilizando-se os métodos BLYP, B3LYP e BPW91 e bases duplo zeta de valência (cc-pVDZ), com e sem a correção do erro BSSE.

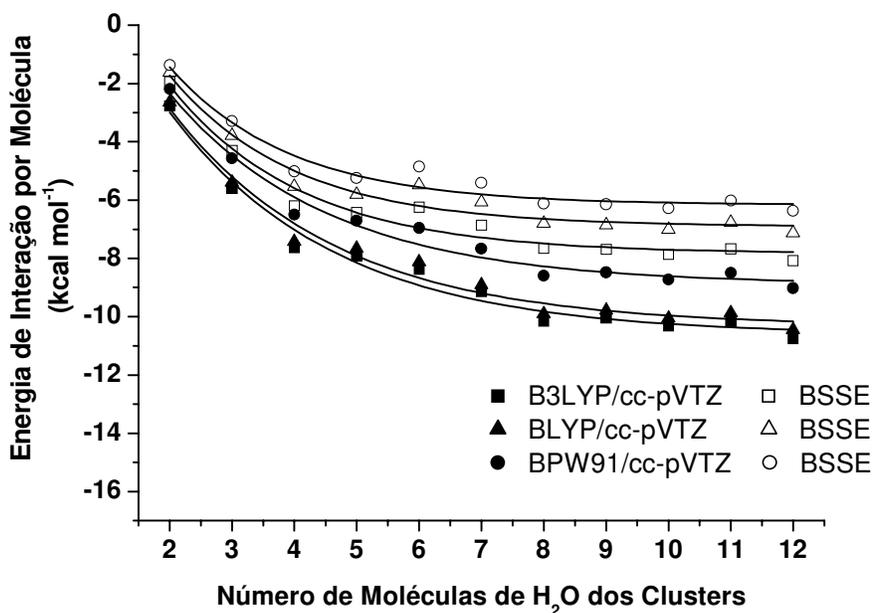


Figura 56. Curvas dos valores de energia de interação por molécula de água (ΔE e $\Delta E'$) utilizando-se os métodos BLYP, B3LYP e BPW91 e bases triplo zeta de valência (cc-pVTZ), com e sem a correção do erro BSSE.

Entretanto, observa-se na figura 54 que os valores de energia obtidos para a base triplo zeta de valência (cc-pVTZ), sem a correção do erro BSSE se aproximaram mais do valor experimental do que aqueles que levaram em consideração a correção desse erro. Provavelmente por isso muitos autores desconsideraram o erro de superposição de base e apresentam os resultados dos valores de energia obtidos de forma menos rigorosa.

Lee e colaboradores [25], que realizaram este mesmo tipo de cálculo utilizando a DFT a partir dos métodos BLYP, BP⁷ e VWN⁸, com função de base triplo zeta de valência com funções de polarização (pVTZ), chegaram à conclusão de que os métodos BP e BLYP são os que apresentam os valores de energia mais próximos ao valor experimental. Esses métodos previram energias de interação para as moléculas de água na fase sólida de $-11,98$ e $-11,38$ kcal mol⁻¹, contra o valor experimental de $-11,3$ kcal mol⁻¹. Nesse caso, os autores não consideraram a correção do erro de superposição de base BSSE.

Lee [25] também concluiu que os aglomerados com $n = 4, 8$ e 12 moléculas apresentam valores de energia de interação sempre mais baixos com relação ao esperado. Estes números (4, 8 e 12) correspondentes aos *clusters* com geometria mais estável são chamados de números mágicos.

Observamos em nossos cálculos, no nível de teoria DFT, principalmente com funções de base triplo zeta de valência (cc-pVTZ), que esses *clusters* constituídos por 4, 8 e 12 moléculas de água tendem a apresentar valores de energia abaixo da curva de ajuste. Para uma melhor visualização dos valores de energia mencionados apresentamos na figura 57 apenas duas curvas, com funções de base triplo zeta de valência (cc-pVTZ), onde observa-se claramente que os valores de energia dos *clusters* com $n = 4, 8$ e 12 moléculas de água estão abaixo da curva de ajuste, que segundo Lee [25] indicaria *clusters* mais estáveis que a tendência indicada pelos demais *clusters* estudados.

⁷ BP : Funcional de troca de Becke (1988) – B ; Funcional de correlação de Perdew – P.

⁸ VWN : Aproximação de densidade local padrão que utiliza o funcional de troca de Dirac e Funcional de Correlação de Vosko, Wilk e Nusair – VWN.

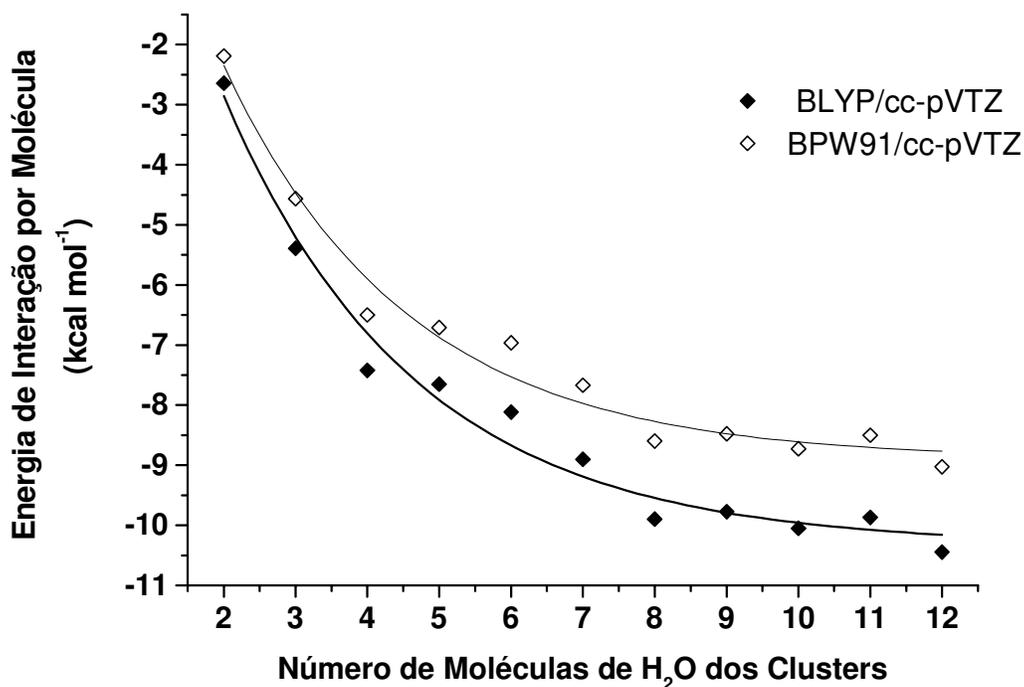


Figura 57. Curvas dos valores de energia de interação por molécula de água (ΔE), utilizando-se os métodos BLYP e BPW91, com funções de base triplo zeta de valência (cc-pVTZ). Os valores de energia para $n = 4, 8$ e 12 moléculas de H_2O no *cluster* estão abaixo da curva de ajuste, indicando segundo Lee [25] uma estabilização adicional desses aglomerados.

Apresentamos a seguir, nas figuras 58, 59 e 60, ilustrações das geometrias dos *clusters* com até 12 moléculas de água, obtidas a partir dos cálculos de energia para o método BLYP, com função de base triplo zeta de valência e funções de polarização (cc-pVTZ). Através desses resultados foi possível estimar um valor de energia para $n \rightarrow \infty$ de $-11,7 \text{ kcal mol}^{-1}$, próximo ao valor experimental da entalpia de fusão da água de $-11,3 \text{ kcal mol}^{-1}$. Esse valor de energia foi obtido sem a correção do erro BSSE, o que conceitualmente não é o mais indicado.

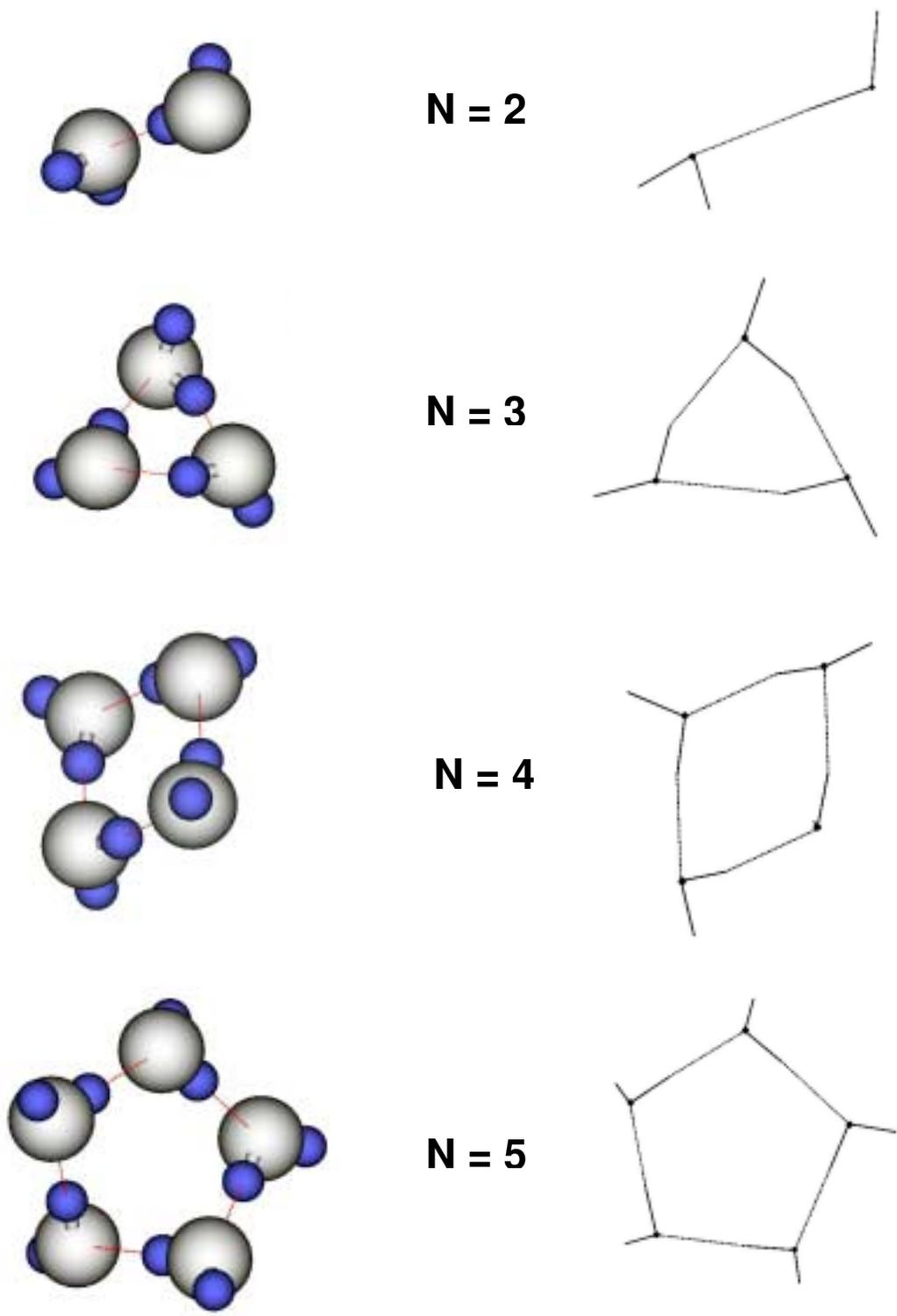


Figura 58. Clusters de água (H₂O)_n (n = 2 a 5) obtidos pelo cálculo de energia dessas estruturas utilizando-se da Teoria do Funcional de Densidade com método e funções de base BLYP/cc-pVTZ.

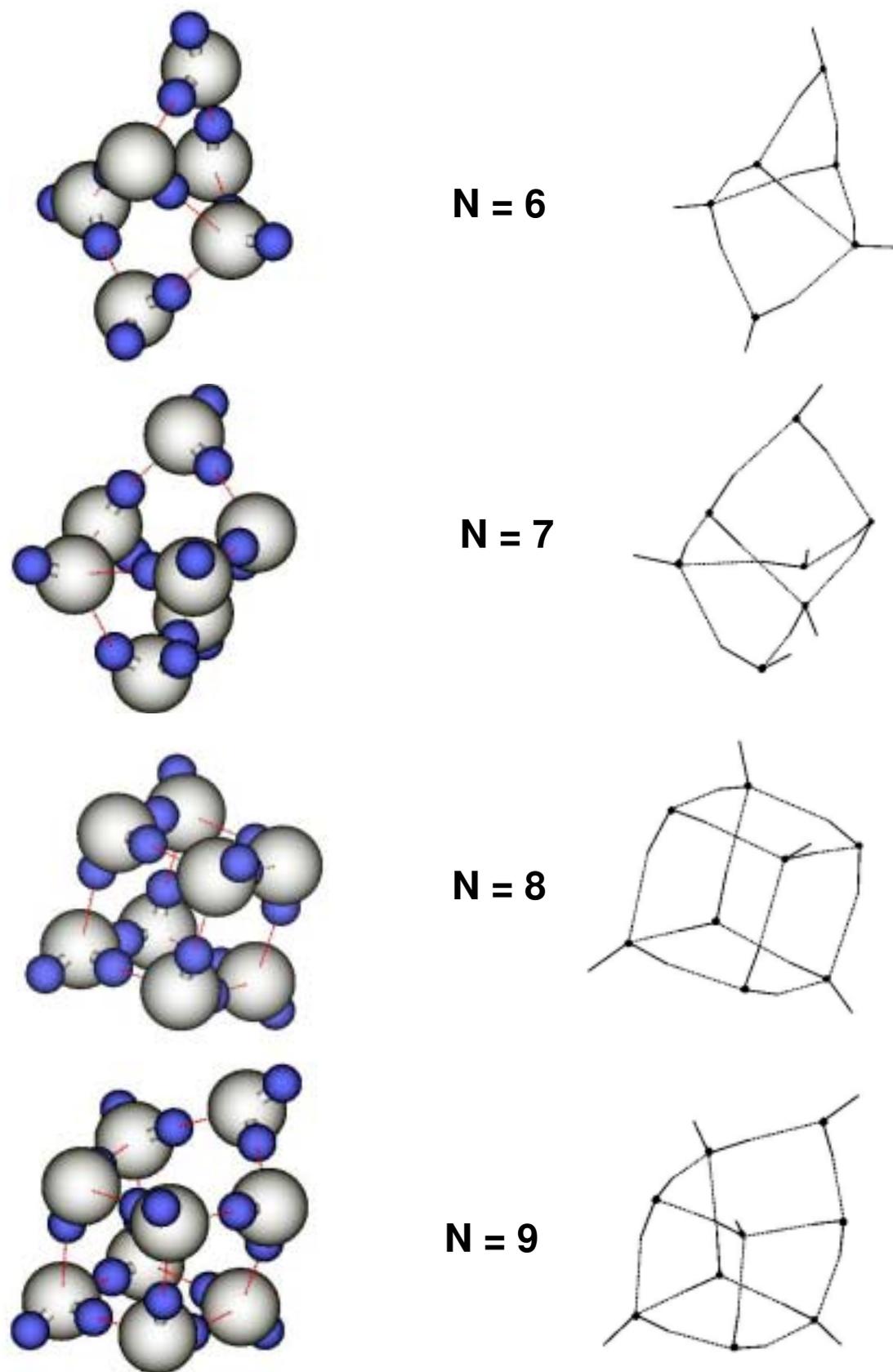
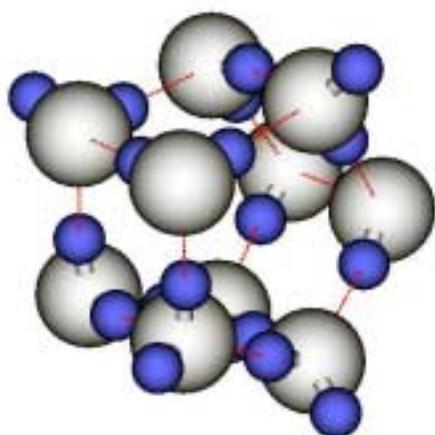
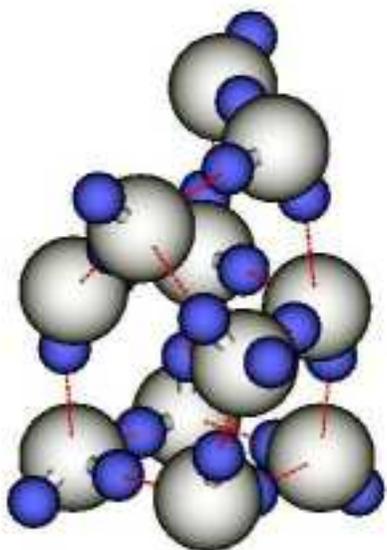
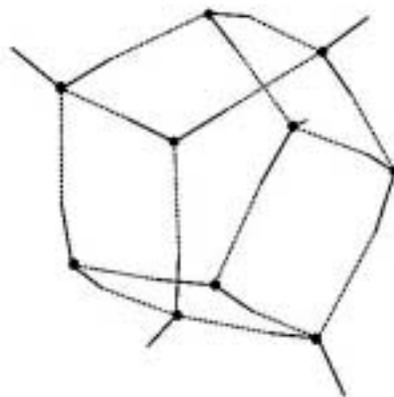


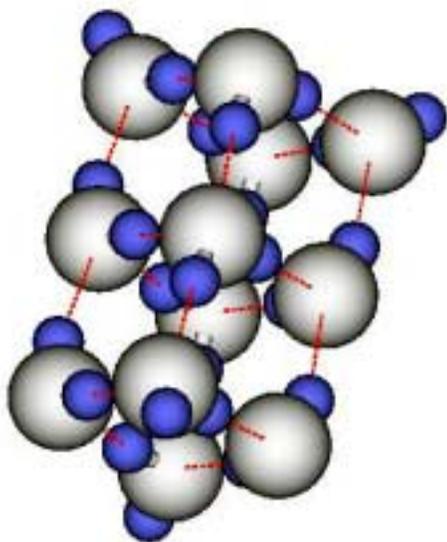
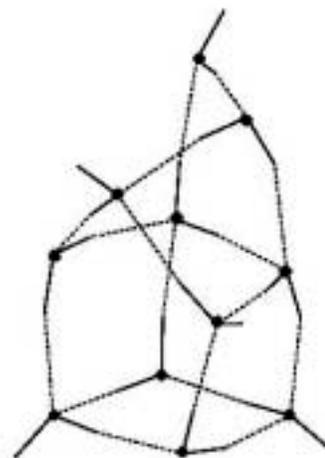
Figura 59. *Clusters* de água $(\text{H}_2\text{O})_n$ ($n = 6$ a 9) obtidos pelo cálculo de energia dessas estruturas utilizando-se da Teoria do Funcional de Densidade com método e funções de base BLYP/cc-pVTZ.



N = 10



N = 11



N = 12

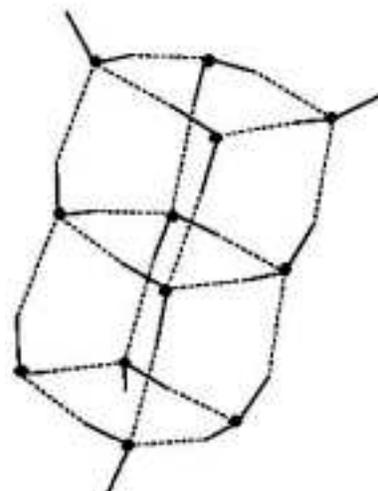


Figura 60. Clusters de água $(\text{H}_2\text{O})_n$ ($n = 10$ a 12) obtidos pelo cálculo de energia dessas estruturas utilizando-se da Teoria do Funcional de Densidade com método e funções de base BLYP/cc-pVTZ.

Comentários Gerais

Verificou-se ao longo desse trabalho que os cálculos de energia para *clusters* de água não são tão simples, como em princípio nos pareciam. Ao passarmos para o nível de teoria DFT e conjuntos de base mais completos os cálculos computacionais se tornaram mais difíceis e não se conseguiu uma otimização da geometria para os aglomerados de até 12 moléculas de água. Apesar disso, fez-se o cálculo da energia para cada *cluster* de água $(\text{H}_2\text{O})_n$ ($1 \leq n \leq 12$), com e sem a correção do erro de superposição de base - BSSE.

O cálculo das energias levando-se em consideração a correção do BSSE mostrou que os conjuntos de base utilizados alteram os valores de energia com uma estabilização adicional. Essa correção é mais significativa em conjuntos de base menores do que em conjuntos de base mais completos. No entanto, quando comparamos os valores de energia obtidos com e sem a correção do BSSE constatamos que, em alguns casos, os cálculos que não corrigem esse erro apresentam valores mais concordantes com o valor experimental de entalpia de fusão da água. Como o efeito causado pela superposição de bases existe nesse tipo de cálculo e deve ser sempre considerado, necessitaríamos aprimorar o nível de teoria para verificarmos se a energia de interação das moléculas dos *clusters* se aproximaria mais do valor experimental. À medida em que o nível de teoria é mais elevado e os conjuntos de base são mais completos não deve ocorrer tanto a superposição de bases para a realização dos cálculos de energia. Por isso, nesses casos, os valores de energia calculados para os *clusters* com e sem a correção do BSSE provavelmente seriam bem parecidos. No entanto, para níveis mais elaborados de teoria e conjuntos de base maiores o custo computacional aumenta muito e muitas vezes não é possível realizar os cálculos nos computadores disponíveis.

Os cálculos de energia para os diversos *clusters* de água utilizando-se bases e métodos diferentes sempre apontam para uma estabilização energética do sistema e, em alguns casos, extrapolam para um valor de entalpia de fusão bastante próximo do experimental, para *clusters* de tamanho infinito. Esse fato

demonstra que a adoção do modelo de *clusters*, que é o único disponível para explicar alguns comportamentos experimentais da água, não compromete os requisitos essenciais de estabilização do sistema, pelo menos no que respeita aos cálculos de energia. Do ponto de vista entrópico, não existem cálculos disponíveis comparando a restrição imposta a cada molécula na formação de um *cluster* com uma mesma restrição na rede tridimensional, também chamada de *network*.

Os cálculos realizados para os diversos tamanhos de *clusters* pressupõem a estrutura isolada no vácuo; o valor de energia de interação por molécula em cada *cluster* é um valor extrapolado para $n \rightarrow \infty$ e por isso pode ser comparado com o valor de entalpia de fusão da água.

“Aqueles que não gostam de pensar pelo menos deveriam reajustar de tempos em tempos seus preconceitos.”

L. Burbank

CAPÍTULO IV

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Discussão Geral

As medidas experimentais selecionadas nesse trabalho tiveram como objetivo evidenciar propriedades que pudessem estar associadas a mudanças na distribuição de tamanho de *clusters* da água líquida. As medidas selecionadas foram espectroscopia na região do UV, condutividade elétrica, intumescimento e germinação de sementes e hidratação da pele humana.

Os espectros de água obtidos na região do UV acima de 190 nm mostram apenas a cauda do pico máximo de absorção da água que ocorre em 147 nm, que corresponde à transição $n \rightarrow \sigma^*$ [139,144]. Por esse motivo fica muito difícil qualquer interpretação conclusiva no que tange às alterações das transições eletrônicas da água tratada pelos processos propostos – soluções em diluições extremas, fusão fracionada da água e exposição da água ao campo magnético.

Entretanto, mediante repetições cuidadosas das medidas realizadas e da obtenção de dados consistentes no que se refere à absorção de luz UV pelas amostras de água tratada, evidenciou-se que os processos propostos alteraram o perfil da curva de absorção de luz das amostras. Segundo Harvey [11], que previu teoricamente diferenças nos espectros de absorção de luz UV para *clusters* de água de diversos tamanhos, existe uma dependência da posição do pico de absorção dos *clusters* com o tamanho dos mesmos: *clusters* menores absorvem em comprimentos de onda maiores. Sendo assim, podemos imaginar que os processos utilizados nos tratamentos de água alteraram de forma significativa a distribuição de tamanho de *clusters*, favorecendo a formação de aglomerados que absorvem na região do UV entre 190 nm e 300 nm.

As medidas de absorção de luz UV e de condutividade elétrica obtidas para as amostras de água tratada revelam uma certa correlação entre si, já que um aumento na intensidade de absorção de luz, em geral, também indica um aumento nos valores de condutividade elétrica em relação ao controle. Também observou-se que, pelo menos no caso de soluções ultradiluídas de $MgCl_2$, os dados de absorção de luz UV correlacionam-se com os de hidratação do estrato córneo.

Se as propriedades selecionadas realmente expressam uma dependência com o tamanho de *clusters* das amostras é possível correlacioná-las, como mostra a tabela 12. Ao analisarmos a tabela 12 – que foi chamada de tabela de coerência, uma vez que revela um nexu entre as diversas propriedades estudadas – teremos uma síntese do desempenho das amostras nas medidas físico-químicas e biológicas.

Tabela 12. Tabela de Coerência : desempenho das amostras estudadas frente às medidas físico-químicas e biológicas realizadas. Os melhores resultados seguem o ranking de cores, com numeração de 1 a 5, sendo o melhor desempenho = 1 e o pior = 5.

	Medidas Físico-Químicas		Medidas Biológicas		
	UV	Cond.	Intum.	Germ.	Hidr.
Hidratante ou Hidratante 3%	1	1	1	1	1
Água Tratada no Campo	3	2	2	2	2
1ª Fração	2	3	3	3	3
3ª Fração	4	4	4	5	5
Solução MgCl ₂	5	5	5	4	4

1
 2
 3
 4
 5

Ao correlacionarmos o desempenho das amostras de água tratadas frente às propriedades selecionadas temos uma forte evidência de que o modelo de misturas é verossímil.

A utilização de água tratada no intumescimento e germinação de sementes de trigo evidenciou que essas amostras possuem um comportamento diferente da água controle, aumentando a velocidade de intumescimento e melhorando diversos aspectos do processo germinativo das sementes. A solução hidratante e

a água exposta ao campo magnético propiciaram um forte aumento no tamanho médio, na homogeneidade e no vigor das plântulas, quando comparadas com o trigo irrigado com o controle. A 1ª fração de água também estimulou o crescimento das plântulas em relação ao controle, mas de forma menos intensa que as amostras anteriores. Já a solução de MgCl_2 $1,6 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ não desempenhou uma melhora muito substancial no processo germinativo das plântulas em relação ao controle. Esse fato reforça a idéia de que o campo magnético produz alterações substanciais na água adicionada à solução de MgCl_2 , quando da produção do hidratante.

Nos testes de hidratação da pele as amostras de água que passaram pelos processos já citados se revelaram capazes de hidratar o estrato córneo com apenas uma aplicação.

Não é lógico imaginarmos que a água não hidrate a pele. Na verdade essa afirmação só é válida para os tempos de residência usuais da água sobre o estrato córneo. Medidas de hidratação da pele, em uma região que ficou em contato com um tecido embebido em água desionizada por 4 horas, revelam uma hidratação local em torno de 10%, até 5 horas depois de retirado o tecido da pele. Portanto, quando não se observa qualquer hidratação após a aplicação de água na pele em condições usuais é devido à sua rápida evaporação. Esse fato sugere que a ação hidratante observada em amostras de água que sofreram algum tipo de tratamento deva-se principalmente a um efeito cinético, que permite a permeação da água através da barreira da pele antes de sua evaporação. Por isso, o efeito cinético observado no intumescimento das sementes é de extrema importância para avaliar a quantidade de água tratada absorvida ao longo do tempo. Esse fato é também compatível com a hipótese de que *clusters* menores permeiem a pele com mais facilidade. Os processos utilizados podem estar enriquecendo o meio em *clusters* pequenos, o que aumentaria a velocidade de permeação.

Frente às evidências experimentais apontadas pelas medidas físico-químicas e biológicas das amostras de água tratada em relação ao controle, que modelo podemos adotar para a água líquida? Dentre os modelos existentes, que podem

ser divididos basicamente em modelo contínuo e modelo de misturas, o segundo parece explicar melhor as alterações do comportamento da água quando submetida aos processos examinados nesse trabalho. Nesse modelo, a água sendo composta por *clusters* de diferentes tamanhos poderia sofrer alterações na sua distribuição populacional promovida pela ação do campo magnético, pelo fracionamento das camadas do cristal de gelo ou mesmo pela estruturação do solvente mediante a adição de um soluto.

Os resultados obtidos com as amostras de água tratada nos estimularam a desenvolver uma solução hidratante para a pele humana baseada nesses princípios, no qual enxergamos a água como $(H_2O)_n$, sendo o n responsável por diversas propriedades dessa substância.

A solução hidratante desenvolvida a partir da água tratada em campo magnético e posterior adição de $0,5 \mu\text{g} / \text{mL}$ de MgCl_2 apresentou um desempenho superior ao das demais amostras em todas as medidas realizadas, como mostrado na tabela 12. Essa solução hidratante pode ser diluída a 3 % em água desionizada sem perder suas características hidratantes. A solução hidratante diluída a 3 % teve um ótimo desempenho nos testes biológicos, provavelmente, devido a um efeito acumulativo de suas propriedades, o que não se verifica no caso das medidas físico-químicas.

Os resultados de hidratação do estrato córneo apresentados com a nossa solução hidratante não incluem qualquer tipo de oclusão dos poros e se devem simplesmente a um aumento da quantidade de água capaz de permear a pele. Além do aumento da quantidade de água local, inferido pelos valores obtidos no Corneometer, o hidratante e hidratante 3 % foram capazes de promover uma sensação de bem estar, suavidade e maciez da pele.

Novamente, a hipótese plausível para explicar o desempenho da água como um hidratante para a pele seria supor que após passar por um dos processos utilizados nesse trabalho, a água sofre uma mudança na sua distribuição de tamanho de *clusters* apresentando a partir de então novas propriedades não conhecidas para a água ordinária. Essas propriedades poderiam estar associadas a uma maior velocidade de permeação da água na pele, obtida pelo aumento do

número de aglomerados de água de tamanho menor, resultantes da quebra dos aglomerados de água originais. Lorenzen, autor da patente de um processo de obtenção de água microclusterizada [40], sugere que esta água seja um “transportador” (deliver) de alguns princípios ativos, indicando uma melhor permeação desta através da pele.

Esses resultados abrem novas perspectivas para o uso da água estruturada, se assim podemos chamá-la, em diversos sistemas. Para cada finalidade específica é necessário um estudo de novos arranjos magnéticos, fracionamentos ou solutos estruturadores que promovam as características desejadas na água.

Os estudos teóricos com *clusters* de até 12 moléculas de água mostraram que há uma estabilização energética na formação dos *clusters* em relação às moléculas isoladas. Esses estudos permitiram uma otimização da geometria dos *clusters*, com valores de distâncias de ligação compatíveis com a literatura.

Conclusão

A adição de solutos ao meio aquoso em diluições extremas, a fusão fracionada da água e a exposição ao campo magnético não somente alteraram o comportamento da água em algumas medidas físico-químicas, como evidenciaram que após esses processos a água pode apresentar novas propriedades biológicas. As diferenças de propriedades apresentadas pela água antes e depois de submetida aos processos estudados, mesmo sem alteração de composição em alguns casos, tornam difícil admitir que a melhor maneira de expressar a fórmula da água líquida seja H_2O . Talvez a forma $(H_2O)_n$ seja mais adequada, onde n indica o número de moléculas de água que participam de um aglomerado. Provavelmente, o valor médio de n se altere nos processos estudados. Sendo assim, dentre os modelos existentes, o modelo de misturas é o mais consistente com os resultados experimentais obtidos e é o que permite sugerir a relação entre as alterações do comportamento da água com possíveis mudanças na distribuição de tamanho de *clusters* após os processos físicos e químicos aos quais foi submetida.

Os resultados teóricos indicam uma estabilização energética do sistema quando em arranjos de *clusters* e não contrariam a idéia de que a água pode ser um meio formado por descontinuidades locais.

Sendo a água uma substância de extrema importância em sistemas químicos, físicos e biológicos, uma nova visão de suas possibilidades de atuação abre novos caminhos para o estudo de alterações de sua estruturação, com perspectivas de uso comercial em diversas áreas.

“Se queremos progredir não devemos repetir a história mas fazer uma história nova a cada dia.”

M. Ghandi

CAPÍTULO V

COMPLEMENTAÇÃO

Adendo

Ao longo do estudo das alterações de propriedades da água por processos físicos e químicos muitos fatos interessantes foram observados em sistemas que, por razões diversas, não fizeram parte do contexto abordado neste trabalho. Por esse motivo a maioria dessas medidas não se constituiu num estudo sistemático e não foi apresentada no texto. Entretanto, algumas delas merecem ser brevemente relatadas com o intuito de expor outras possibilidades de estudo e utilização da água tratada. Esse capítulo se propõe a dar uma visão geral de diversos resultados obtidos com água modificada por um dos processos propostos, mesmo que saiam do contexto de uma metodologia rigorosa e de medidas coerentes.

Foi investigada a utilização da técnica de espectroscopia de infravermelho próximo (Near Infrared) para a caracterização da água tratada em campo magnético. Utilizando o equipamento FT-IR (Fourier-Transformer InfraRed) da Perkin Elmer – modelo 16 PC , pudemos obter espectros na região de 7800 cm^{-1} a 5000 cm^{-1} . Para a realização das medidas foi necessário a construção e otimização de celas portadoras de amostras, que não absorvessem nesta região. Estas celas foram confeccionadas com lamínulas de vidro e capacidades de volume diferentes, para um estudo da resolução das absorções em função da quantidade de amostra. A dificuldade de utilização dessa técnica se revelou durante a obtenção dos espectros das amostras, que a cada momento deveriam ser feitos contra um espectro de fundo. Como não possuíamos duas celas idênticas, uma que servisse como portadora da amostra e outra vazia para a obtenção do espectro de fundo, havia uma flutuação grande da linha base com o passar do tempo que nos impossibilitou interpretar as diferenças espectrais obtidas.

Ainda abordando a área de espectroscopia na região do infravermelho, foram realizados estudos de refletância no Espectrômetro FT-IR BOMEM MB-101, Hartmann & Braun. Utilizou-se o acessório SPECAC para refletância especular com ângulo de incidência variável e detetor de DTGS. Os espectros de refletância especular foram obtidos em relação a um espelho de alumínio no lugar da

amostra, tomado como referência. A partir dos espectros de refletância foi possível decompô-los matematicamente através da relação de Kramers-Krönig e obter espectros dos índices de refração n e de absorção k das amostras [163].

$$n = (1 - R) / (1 - 2 \sqrt{R \cos \delta + R}) \quad \text{equação 17}$$

$$k = (2 \sqrt{R \sin \delta}) / (1 - 2 \sqrt{R \cos \delta + R}) \quad \text{equação 18}$$

Foram feitas medidas de refletância para mais de 5 conjuntos de amostras, incluindo cada uma delas uma solução hidratante, uma solução de MgCl_2 na mesma concentração do hidratante e água desionizada como controle. A seguir apresentamos espectros típicos dos índices k e n para as seguintes amostras: hidratante diluído a 4 % (solução de MgCl_2 $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), solução de MgCl_2 $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e água desionizada. Essas curvas são uma média de 3 aquisições para cada amostra.

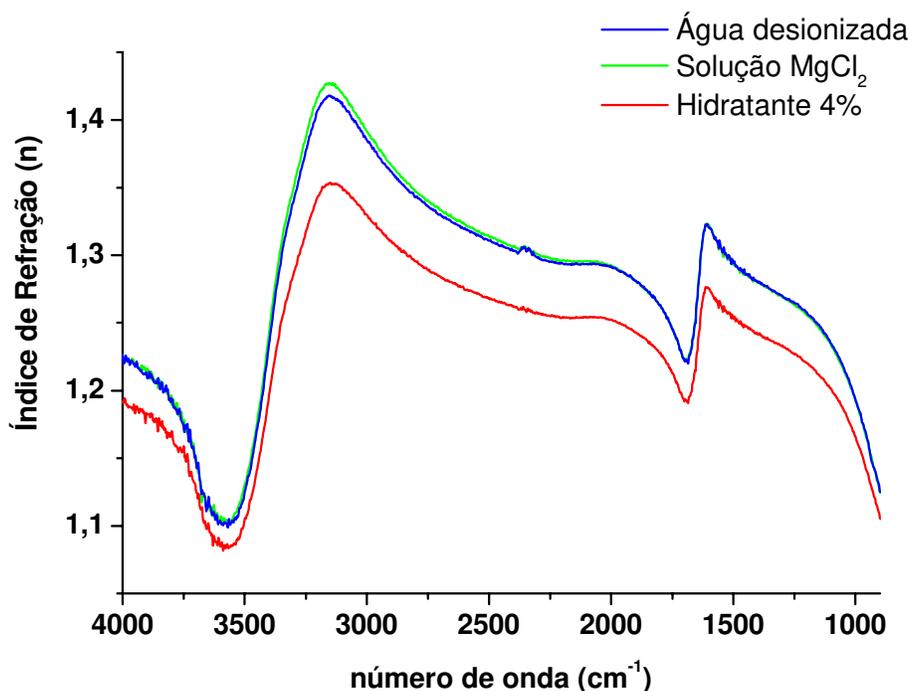


Figura 61. Espectros do índice de refração em vários números de onda para as amostras: hidratante 4 % (solução de MgCl_2 $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), solução de MgCl_2 $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e água desionizada.

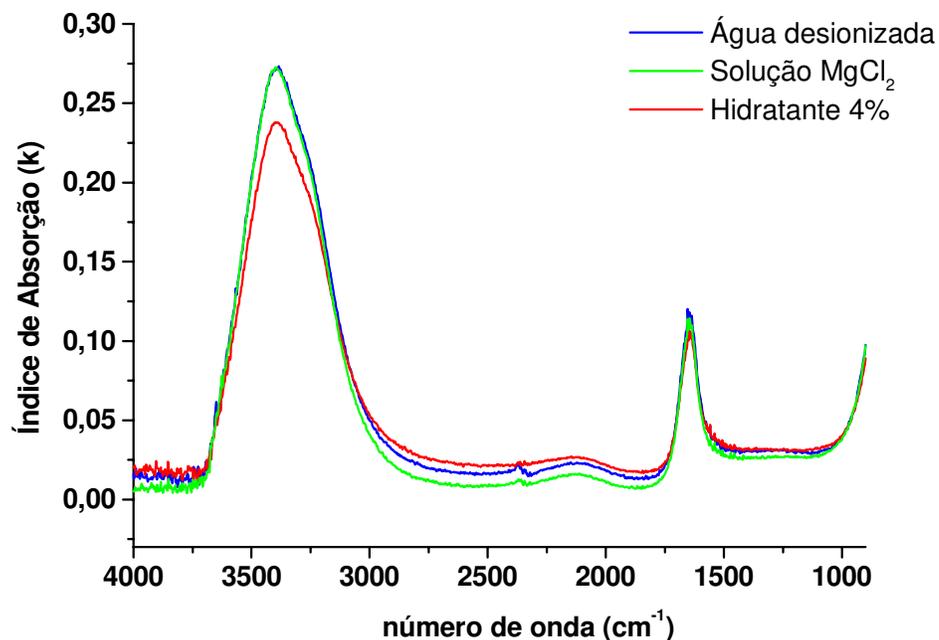


Figura 62. Espectros do índice de absorção em vários números de onda para as amostras: hidratante 4 % (solução de MgCl_2 $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$), solução de MgCl_2 $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ e água desionizada.

Observa-se nas figuras 61 e 62 que os espectros médios tanto do índice de refração como do índice de absorção da solução de MgCl_2 são muito parecidos com os da água desionizada. No entanto, percebe-se uma diferença entre os espectros médios do hidratante 4 % e dos demais.

É interessante mencionar que a amostra hidratante que apresentou o resultado mais relevante em refletância também proporcionou a melhor hidratação na pele. Entretanto, até o momento não foi possível correlacionar de maneira sistemática os valores de hidratação da pele com os espectros obtidos por esta técnica.

A técnica de refletância especular quando utilizada para amostras líquidas requer cuidados fundamentais como, por exemplo, o alinhamento do espelho para a obtenção do espectro de referência e o nivelamento da superfície do líquido sempre na mesma altura do porta-amostra, preferencialmente na altura equivalente à posição do espelho. O porta amostra utilizado não possuía um sistema que garantisse um preenchimento equivalente para todas as amostras

líquidas e com isso o desvio padrão dos espectros foi muito elevado. Uma possibilidade de se obter resultados com menor variabilidade nas medidas seria desenvolver um programa que fizesse a deconvolução matemática de Kramers-Krönig a partir de espectros obtidos com a técnica de ATR (Attenuated Total Reflection) que não requer tais cuidados. Por outro lado a técnica de ATR tem uma atenuação que talvez não nos permitisse visualizar as diferenças espectrais entre as amostras de água.

Para tentarmos inferir possíveis alterações de estrutura da água e soluções, antes e após a exposição ao campo magnético, fizemos testes especulativos em espectroscopia na região do UV/Vis com soluções aquosas de iodo. Havendo alteração na estrutura da água a forma como o iodo interage com o meio também deve ser alterada, o que deve produzir reflexos no espectro de absorção da solução. Após três repetições com amostras preparadas em dias diferentes observou-se desdobramentos do pico de absorção do iodo após a exposição ao pólo norte e ao pólo sul, como mostram os espectros da figura 63.

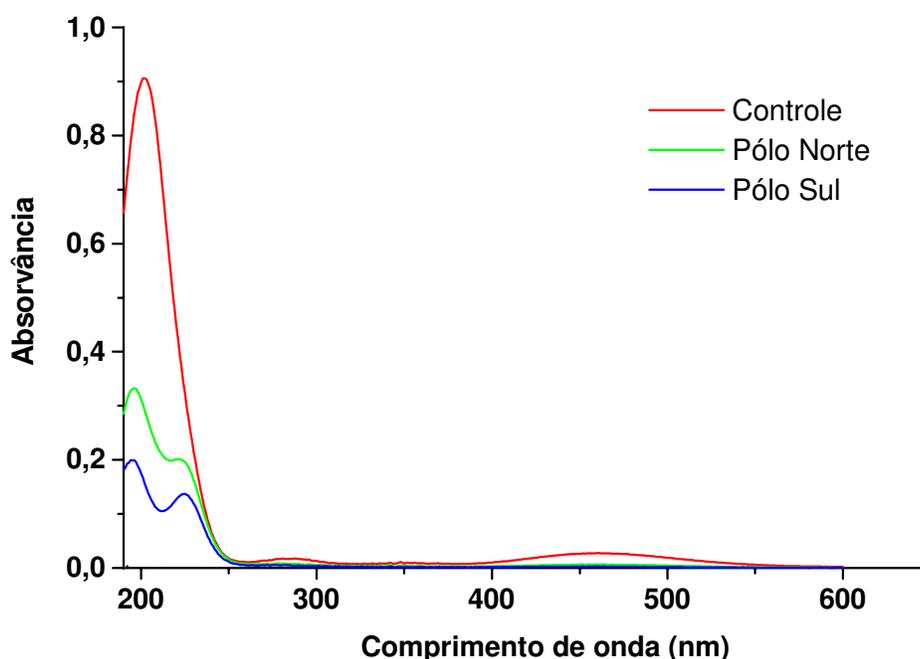


Figura 63. Curvas de absorção de luz UV/Vis das soluções aquosas de iodo expostas aos pólos norte e sul e do controle.

Apesar dos resultados apresentados na figura 63 se mostrarem muito interessantes não levamos adiante uma interpretação desses resultados pois seria necessário um estudo específico da alteração de absorção de luz UV por essas soluções.

Um aspecto que sempre nos chamou a atenção durante as preparações das águas tratadas em campo magnético foi o material do frasco que continha a água. Muitas vezes a simples mudança de um frasco de polietileno para um de vidro era determinante quanto aos efeitos observados, tanto físico-químicos quanto biológicos. Evidentemente o controle era mantido nas mesmas condições que a água tratada, inclusive no mesmo tipo de frasco. Essas observações nos levaram a investigar o efeito de superfície durante o processo de exposição da água ao campo magnético. Observou-se que a água continuava sofrendo alterações de comportamento, principalmente de condutividade elétrica e absorção de luz UV, após sua retirada do campo. Ao aumentarmos a superfície de vidro, adicionando micro esferas de vidro ou pedaços de vidro pyrex dentro do frasco, observamos alterações físico-químicas pouco intensas na água. Mas se além do aumento de superfície a água fosse submetida à ação do campo magnético, as alterações eram bem mais intensas e o processo não tendia a continuar ocorrendo fora do campo.

Além disso, em estudos paralelos, buscou-se induzir um tipo específico de alteração na água que se trata em campo magnético pela presença de outra substância (solução aquosa) colocada em frasco separado sob a ação do mesmo campo. Esses efeitos já foram estudados anteriormente em medidas como pressão de vapor, espectroscopia na região do infravermelho, condutividade elétrica, tensão superficial e alguns testes biológicos [134]. Medidas de condutividade elétrica, bem como a absorção de luz na região do UV também revelaram alterações de comportamento dessas águas, como mostram a tabela 13 e a figura 64.

Tabela 13. Condutividade elétrica média e as respectivas estimativas de desvio padrão para as amostras: água desionizada; água desionizada + superfície de vidro; água desionizada + superfície de vidro + campo magnético; água desionizada + superfície de vidro + campo magnético + solução de NaHCO₃ ou de H₂O₂ sob a influência do mesmo campo.

AMOSTRAS	CONDUTIVIDADE (μS/cm)
Água Desionizada	0,83 ± 0,09
Água Desionizada + Superfície de Vidro	1,73 ± 0,17
Água Desionizada + Superfície de Vidro + Campo Magnético	1,80 ± 0,16
Água Desionizada + Superfície de Vidro + Campo Magnético + Solução NaHCO ₃	3,28 ± 1,69
Água Desionizada + Superfície de Vidro + Campo Magnético + Solução H ₂ O ₂	2,43 ± 0,46

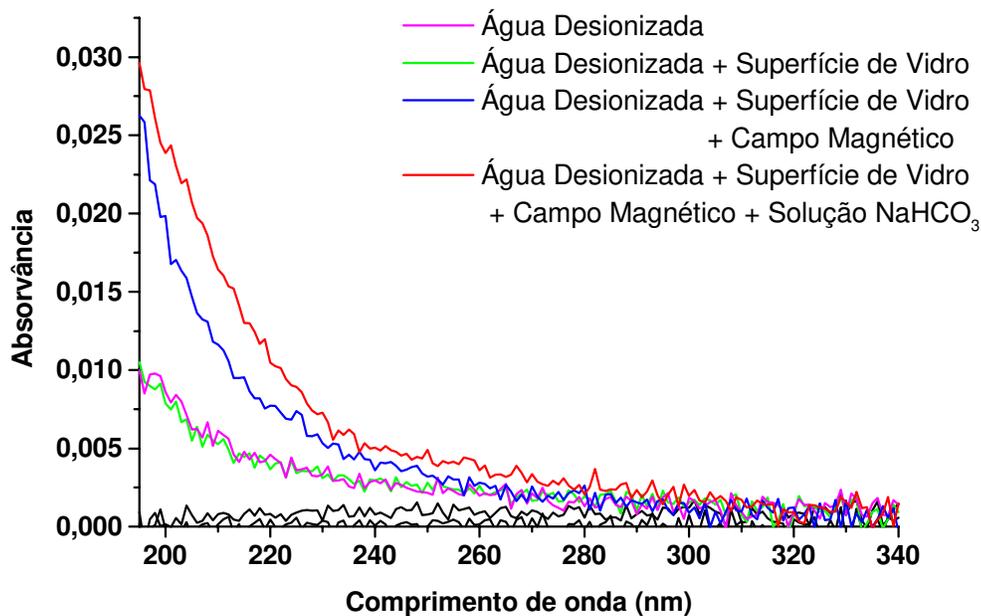


Figura 64. Curvas de absorção de luz UV pelas amostras indicadas no gráfico.

Observa-se claramente que o aumento da superfície de vidro eleva o valor da condutividade elétrica mas não modifica significativamente o espectro de absorção de luz UV dessa amostra em relação à água desionizada. Quando a amostra contendo maior quantidade de superfície de vidro é submetida ao campo magnético os valores de condutividade não se elevam tanto, mas a absorção de luz UV aumenta muito nessa região com relação à mesma amostra que não foi exposta ao campo magnético. Finalmente, a colocação de uma solução aquosa dentro do mesmo campo altera significativamente os parâmetros estudados.

Ao observarmos o comportamento da água após ter sido tratada por algum dos processos citados nesse trabalho e a possível alteração da sua macro estrutura (arranjos de aglomerados no meio aquoso) imaginamos que a interação dessa água modificada com solutos poderia ser diferente quando comparada com a água ordinária. Estudos da interação da água tratada em campo magnético com alguns solutos, através de medidas de tensão superficial, possibilitaram alterar os valores de CMC (concentração micelar crítica) do SDS (dodecil sulfato de sódio) no meio aquoso. Nesse caso, a presença de outra solução em frasco separado sob a ação do mesmo campo magnético induziu determinados comportamentos na água tratada, alterando os valores de CMC positiva ou negativamente em relação ao controle.

Esses resultados nos fazem imaginar que cada água exposta ao campo sob a presença de outra substância teria um tipo de distribuição de aglomerados de H₂O que poderia favorecer ou inibir a formação de micelas de SDS no meio. Uma curva típica de tensão superficial em função da concentração de SDS é apresentada na figura 65.

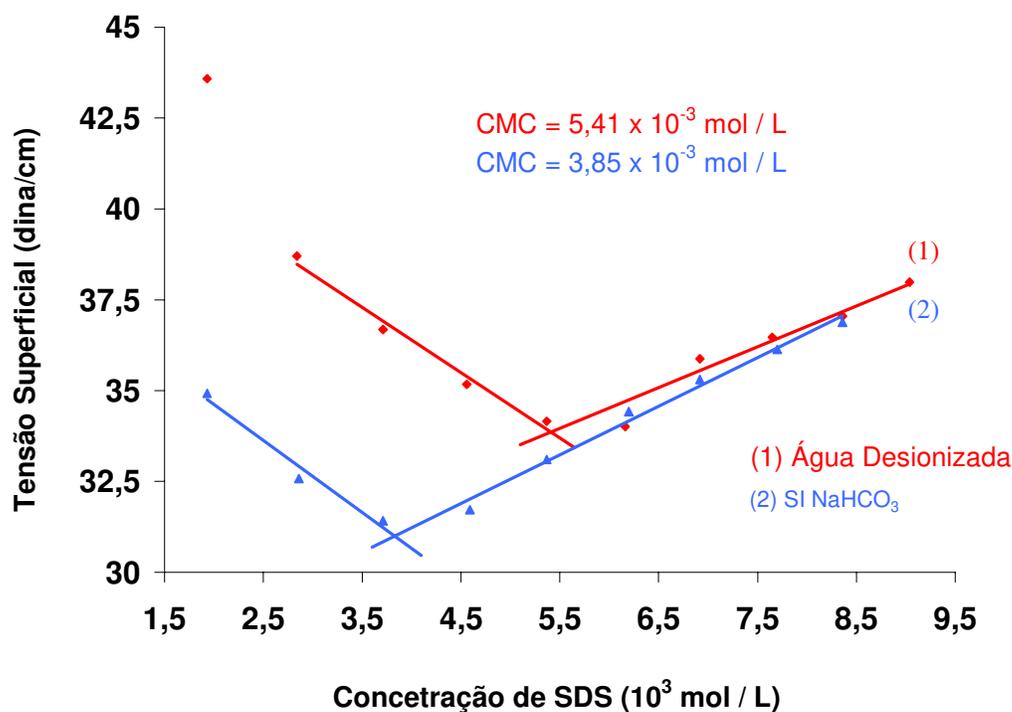


Figura 65. Curvas de tensão superficial em função da concentração de SDS para os solventes água desionizada e água desionizada exposta ao campo magnético sob a influência de uma solução de NaHCO₃.

Ainda com enfoque nas possíveis diferenças de interação da água tratada em campo magnético e da água controle com outras substâncias fizemos várias medidas de ascensão capilar em papel cromatográfico. A interação estudada foi entre as amostras de água e a celulose. Essas medidas foram feitas 6 vezes com cada amostra e o aumento da velocidade de ascensão capilar das amostras de água tratada em campo magnético em relação à água desionizada é mostrado na figura 66. O papel utilizado foi cortado em tiras de 2,5 cm de largura por 15,0 cm de altura.

Percebe-se claramente que existe uma diferença relevante nos tempos necessários para a água tratada e para o controle percorrerem a mesma extensão do papel cromatográfico. A água tratada tem uma ascensão média de $(10,20 \pm 1,98)$ % mais rápida que o controle. A partir desses experimentos foi possível

concluir que a água tratada em determinados arranjos de campo magnético passa a apresentar diferenças na interação com outras substâncias.

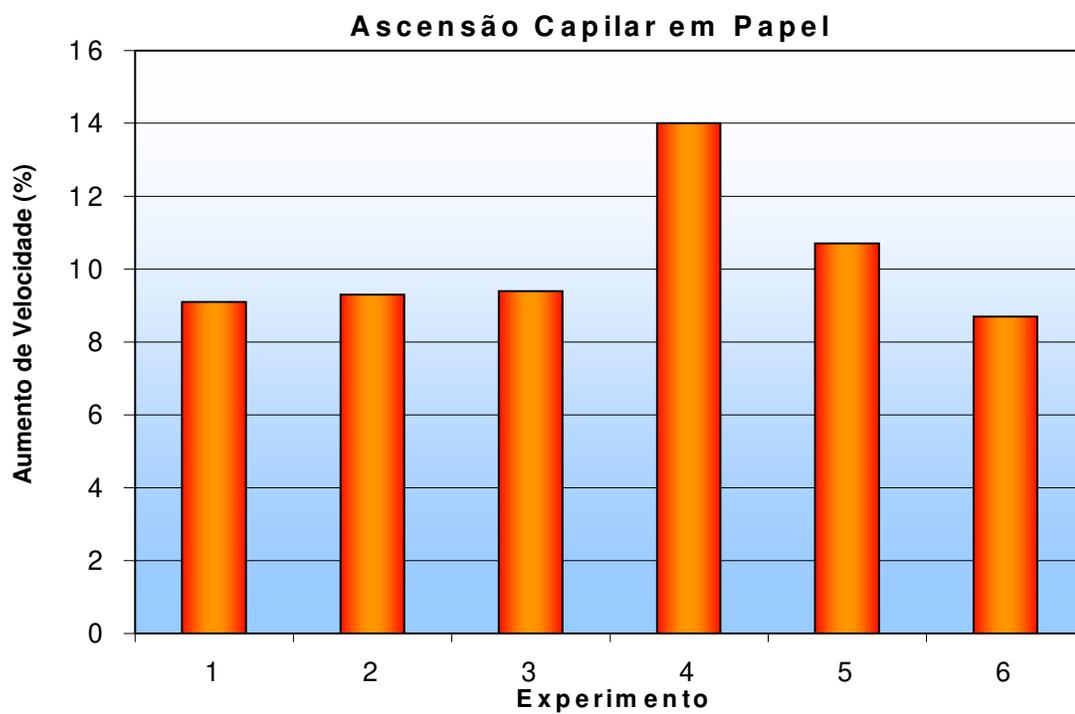


Figura 66. Aumento da velocidade de ascensão capilar em papel cromatográfico da água tratada em campo magnético em relação ao controle.

Na área de intumescimento de sementes fizemos alguns testes com sementes de cevada. Uma mesma massa de sementes foi colocada cuidadosamente em buretas iguais, atingindo um mesmo volume de sementes secas, que depois foram intumescidas simultaneamente com água tratada em campo magnético e com água controle. As sementes imersas na água tratada absorveram o líquido mais rapidamente, expandindo o volume total das sementes e diminuindo o volume de líquido presente na bureta em relação ao controle. Este efeito foi observado até 46 horas depois. Nesse caso, não foi feito um número de repetições suficiente do experimento que garantisse a repetibilidade dos resultados obtidos.

Ao longo desse trabalho testou-se muitas formulações de soluções hidratantes para a pele, não somente através das medidas do Corneometer, mas

também aplicando-as em lesões cutâneas como irritações, cortes, manchas, etc., observando-se muitas vezes uma melhora na lesão ou até um clareamento nas manchas. Esses testes foram apenas especulativos, sem nenhum tipo de metodologia ou equipamentos de medidas que pudessem aferir esses efeitos.

Um dos testes realizado com sucesso foi a utilização da água tratada em campo magnético como colírio. A água foi aplicada durante uma forte crise de irritação e desempenhou um efeito imediato de alívio e conforto aos olhos.

Este efeito foi comprovado clinicamente por um oftalmologista mediante a observação do tempo necessário para que a camada de proteção da córnea se rompa. Esse tempo foi quintuplicado após a aplicação da água tratada nos olhos do paciente, evidenciando uma eficácia no combate à irritação provocada pela ruptura prematura dessa camada de proteção. Essa água tratada está sendo usada como colírio há aproximadamente um ano, com novas preparações a cada dois meses por não utilizarmos qualquer tipo de conservante.

Além dessa água exposta ao campo magnético ser muito eficaz para irritação dos olhos, seu efeito também é mais duradouro. A utilização da água tratada no lugar do colírio comercial reduziu as aplicações de 3 vezes ao dia para 2 a 3 vezes por semana. Esse efeito ainda não pode ser explicado pois necessita de um estudo bioquímico da ação dessa água sobre os olhos e mucosas em geral. Nesse momento, alguns protocolos estão sendo selecionados por colaboradores da área biológica para o estudo deste produto.

Acreditamos que os relatos dos efeitos da água tratada selecionados são suficientes para uma visão global das possibilidades de utilização de uma água modificada. Cada processo poderá ser otimizado no sentido de induzir um determinado comportamento na água, que passará a ter novas propriedades de acordo com o objetivo a ser alcançado.

APÊNDICES

APÊNDICE I

FUNCIONAIS DE TROCA E DE CORRELAÇÃO

1. Teorema de Hohenberg-Kohn e as equações de Kohn-Sham [155]

O teorema de Hohenberg-Kohn estabelece que se N elétrons movem-se num potencial externo $V_{\text{ext}}(r)$, a densidade eletrônica do estado fundamental $\rho_0(r)$ que minimiza o funcional de energia pode ser expresso por:

$$E[\rho(r)] = F[\rho(r)] + \int \rho(r) V_{\text{ext}}(r) dr \quad \text{equação 19}$$

em que, F é um funcional universal de ρ e o valor mínimo do funcional E é E_0 , a energia eletrônica do estado fundamental. Kohn e Sham separaram $F[\rho(r)]$ em três partes distintas:

$$F[\rho(r)] = T_s[\rho(r)] + \frac{1}{2} \iint (\rho(r) \rho(r') / |r - r'|) dr dr' + E_{\text{xc}}[\rho(r)] \quad \text{equação 20}$$

em que $T_s[\rho(r)]$ é a energia cinética de um sistema de elétrons não interagentes, dada por:

$$T_s[\rho(r)] = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \int \psi_i^*(r) \nabla^2 \psi_i(r) dr \quad \text{equação 21}$$

e E_{xc} é a energia de troca e correlação de um sistema de elétrons interagentes com a mesma densidade. Na representação Kohn-Sham, o potencial de troca é definido como a derivada do funcional da energia total de troca-correlação:

$$V_{\text{xc}}(r) = \partial E_{\text{xc}}[n(r)] / \partial n(r) \quad \text{equação 22}$$

e as ψ 's satisfazem as equações de Kohn-Sham:

$$\{ -1/2 \nabla^2 + V_{\text{ext}}(r) \} \psi_i = \varepsilon_i \psi_i \quad \text{equação 23}$$

proporcionando a função de densidade de primeira ordem através da equação:

$$\rho(r) = \sum_{i=1}^N |\psi_i(r)|^2 \quad \text{equação 24}$$

As soluções das equações de Kohn-Sham (equação 23) geram a energia e a densidade eletrônica para o estado fundamental e todas as quantidades podem ser derivadas a partir dela. A qualidade dos resultados obtidos é função principalmente do potencial $V_{\text{xc}}(r)$ empregado.

Aproximação de densidade local [155]

Uma aproximação empregada na DFT é a aproximação de densidade local (LDA, Local Density Approximation). Esta aproximação assume que a energia de correlação e a troca por elétron num ponto r é igual a energia de correlação e troca por elétron do gás eletrônico homogêneo que tem a mesma densidade $\rho(r)$, dada por:

$$E_{\text{xc}}^{\text{LDA}}[\rho] = \int \rho(r) \varepsilon_{\text{xc}} dr \quad \text{equação 25}$$

em que, $\varepsilon_{\text{xc}}(\rho)$ é a energia de correlação e troca para um gás eletrônico uniforme de densidade ρ .

O modelo LDA tem suas limitações, principalmente por considerar um gás de elétrons uniforme. Uma aproximação utilizada para melhorar o modelo LDA é considerar um gás de elétrons não-uniforme. Para isso existem alguns métodos que tornam a energia de troca e correlação dependentes não somente da densidade eletrônica, mas também da derivada da densidade. Tais métodos são conhecidos como Corrected Gradient ou Generalized Gradient Approximation (GGA). Diferentes autores (Perdew 1985; Perdew e Yue 1986; Lee, Yang e Parr, 1988; Perdew e Wang 1991) propõem aproximações baseadas nas GGAs, que usam formas empíricas para incluir o gradiente no gás de elétrons.

APÊNDICE II

Tabela 1. Valores das energias mínimas (u.a.) obtidas para as geometrias otimizadas dos *clusters* $(\text{H}_2\text{O})_n$ ($1 \leq n \leq 12$), com os conjuntos de base STO-3G, 6-31G, SBK e SBK (d,p).

	STO-3G	6-31G	SBK	SBK (d,p)
1	-74,96590	-75,98536	-16,81934	-16,85560
2	-149,94124	-151,98322	-33,64993	-33,71876
3	-224,92560	-227,99485	-50,49206	-50,58908
4	-299,92917	-304,00898	-67,33821	-67,46208
5	-374,92110	-380,01720	-84,17937	-84,33074
6	-449,90433	-456,02281	-101,01762	-10,19744
7	-524,89177	-532,03166	-117,85028	-118,06931
8	-599,89134	-608,05018	-134,69660	-134,94499
9	-674,88599	-684,05979	-151,53982	-151,81446
10	-749,87969	-760,06952	-168,37951	-168,68531
11	-824,85931	-836,07478	-185,21371	-185,55212
12	-899,84139	-912,09076	-202,05513	-202,42659

Tabela 2. Valores de ΔE (kcal mol⁻¹) calculados através da equação 14 (página 113) para *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), com os conjuntos de base STO-3G, 6-31G, SBK e SBK (d,p).

	STO-3G	6-31G	SBK	SBK (d,p)
2	-5,9	-7,8	-7,1	-4,7
3	-17,5	-24,3	-21,4	-14,0
4	-41,1	-42,4	-38,2	-24,9
5	-57,5	-56,7	-51,9	-33,1
6	-68,3	-69,4	-63,8	-40,1
7	-81,9	-84,2	-72,1	-50,3
8	-103,0	-105,0	-89,1	-62,9
9	-121,0	-120,2	-104,0	-71,6
10	-138,5	-135,5	-116,8	-81,2
11	-147,1	-148,0	-126,1	-88,2
12	-157,2	-167,2	-140,0	-100,0

Tabela 3. Valores de $\Delta E'$ (kcal mol L⁻¹) calculados através da equação 16.b (página 114) para *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), com os valores de energia apresentados nas tabelas 4, 5, 6 e 7.

	STO-3G	6-31G	SBK	SBK (d.p)
2	-1,8	-3,5	1,8	1,6
3	-3,6	-7,4	-1,9	-0,6
4	-6,4	-9,9	-4,1	-2,1
5	-7,6	-10,7	-4,8	-2,5
6	-6,4	-11,0	-5,0	-2,5
7	-6,1	-10,6	-4,7	-2,9
8	-6,2	-11,5	-5,5	-4,3
9	-7,1	-12,0	-5,9	-3,7
10	-7,0	-12,1	-6,0	-3,8
11	-6,8	-11,8	-5,8	-3,7
12	-6,0	-12,0	-5,9	-4,0

Tabela 4. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), com o conjunto de base STO-3G.

N	2	3	4	5	6	7
H₂O (1)	-74,96316	-74,96959	-74,97212	-74,97218	-74,96930	-74,97104
H₂O (2)	-74,97223	-74,96845	-74,97212	-74,97104	-74,97471	-74,97795
H₂O (3)		-74,97037	-74,97212	-74,97246	-74,97638	-74,97578
H₂O (4)			-74,97212	-74,97236	-74,97722	-74,97484
H₂O (5)				-74,97235	-74,97426	-74,97456
H₂O (6)					-74,97159	-74,97430
H₂O (7)						-74,97484

N	8	9	10	11	12
H₂O (1)	-74,97839	-74,97103	-74,97915	-74,97959	-74,97815
H₂O (2)	-74,97839	-74,97432	-74,97918	-74,97439	-74,97815
H₂O (3)	-74,97839	-74,97423	-74,97466	-74,97030	-74,97815
H₂O (4)	-74,97466	-74,97973	-74,97972	-74,97740	-74,97439
H₂O (5)	-74,97466	-74,97827	-74,97448	-74,97396	-74,97926
H₂O (6)	-74,97466	-74,97432	-74,97441	-74,97939	-74,97926
H₂O (7)	-74,97839	-74,97903	-74,97317	-74,97386	-74,97926
H₂O (8)	-74,97466	-74,97903	-74,97916	-74,97986	-74,97926
H₂O (9)		-74,97471	-74,97442	-74,97869	-74,97440
H₂O (10)			-74,97924	-74,97474	-74,97439
H₂O (11)				-74,97814	-74,97815
H₂O (12)					-74,97439

Tabela 5. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), com o conjunto de base 6-31G.

N	2	3	4	5	6	7
H₂O (1)	-75,98530	-75,98644	-75,98649	-75,98643	-75,98611	-75,98613
H₂O (2)	-75,98535	-75,98633	-75,98649	-75,98619	-75,98647	-75,98705
H₂O (3)		-75,98684	-75,98650	-75,98642	-75,98640	-75,98615
H₂O (4)			-75,98649	-75,98636	-75,98620	-75,98877
H₂O (5)				-75,98616	-75,98626	-75,98891
H₂O (6)					-75,98618	-75,98872
H₂O (7)						-75,98743

N	8	9	10	11	12
H₂O (1)	-75,98689	-75,98587	-75,98719	-75,98931	-75,98704
H₂O (2)	-75,98689	-75,98865	-75,98678	-75,98872	-75,98704
H₂O (3)	-75,98689	-75,98852	-75,98856	-75,98618	-75,98704
H₂O (4)	-75,98891	-75,98666	-75,98684	-75,98911	-75,98900
H₂O (5)	-75,98891	-75,98681	-75,98863	-75,98911	-75,98932
H₂O (6)	-75,98890	-75,98865	-75,98858	-75,98642	-75,98932
H₂O (7)	-75,98689	-75,98687	-75,98841	-75,98862	-75,98932
H₂O (8)	-75,98891	-75,98688	-75,98677	-75,98727	-75,98932
H₂O (9)		-75,98897	-75,98864	-75,98691	-75,98900
H₂O (10)			-75,98658	-75,98898	-75,98901
H₂O (11)				-75,98677	-75,98704
H₂O (12)					-75,98900

Tabela 6. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), com o conjunto de base SBK.

N	2	3	4	5	6	7
H₂O (1)	-16,81928	-16,82003	-16,82020	-16,82024	-16,82013	-16,81983
H₂O (2)	-16,81932	-16,82001	-16,82020	-16,82013	-16,82030	-16,82043
H₂O (3)		-16,82007	-16,82020	-16,82026	-16,82026	-16,81985
H₂O (4)			-16,82020	-16,82020	-16,82008	-16,82142
H₂O (5)				-16,82016	-16,82012	-16,82118
H₂O (6)					-16,82019	-16,82102
H₂O (7)						-16,82060

N	8	9	10	11	12
H₂O (1)	-16,82745	-16,82778	-16,82820	-16,82892	-16,82745
H₂O (2)	-16,82745	-16,82922	-16,82769	-16,82926	-16,82746
H₂O (3)	-16,82745	-16,82924	-16,82892	-16,82757	-16,82746
H₂O (4)	-16,82914	-16,82795	-16,82758	-16,82871	-16,82921
H₂O (5)	-16,82914	-16,82752	-16,82937	-16,82893	-16,82884
H₂O (6)	-16,82914	-16,82922	-16,82921	-16,82724	-16,82884
H₂O (7)	-16,82745	-16,82763	-16,82872	-16,82938	-16,82884
H₂O (8)	-16,82914	-16,82763	-16,82758	-16,82855	-16,82884
H₂O (9)		-16,82910	-16,82927	-16,82758	-16,82921
H₂O (10)			-16,82741	-16,82914	-16,82921
H₂O (11)				-16,82737	-16,82746
H₂O (12)					-16,82921

Tabela 7. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), com o conjunto de base SBK (d,p).

N	2	3	4	5	6	7
H₂O (1)	-16,85558	-16,85637	-16,85651	-16,85648	-16,85641	-16,85651
H₂O (2)	-16,85559	-16,85634	-16,85651	-16,85641	-16,85642	-16,85672
H₂O (3)		-16,85643	-16,85651	-16,85649	-16,85642	-16,85661
H₂O (4)			-16,85651	-16,85648	-16,85630	-16,85700
H₂O (5)				-16,85647	-16,85635	-16,85697
H₂O (6)					-16,85647	-16,85680
H₂O (7)						-16,85677

N	8	9	10	11	12
H₂O (1)	-16,86219	-16,86204	-16,86236	-16,86273	-16,86220
H₂O (2)	-16,86219	-16,86263	-16,86223	-16,86264	-16,86220
H₂O (3)	-16,86219	-16,86253	-16,86247	-16,86210	-16,86220
H₂O (4)	-16,86263	-16,86237	-16,86219	-16,86264	-16,86269
H₂O (5)	-16,86263	-16,86219	-16,86261	-16,86258	-16,86270
H₂O (6)	-16,86263	-16,86263	-16,86259	-16,86214	-16,86270
H₂O (7)	-16,86220	-16,86225	-16,86248	-16,86259	-16,86270
H₂O (8)	-16,86263	-16,86226	-16,86222	-16,86248	-16,86270
H₂O (9)		-16,86262	-16,86260	-16,86224	-16,86269
H₂O (10)			-16,86216	-16,86267	-16,86269
H₂O (11)				-16,86212	-16,86220
H₂O (12)					-16,86269

Tabela 8. Valores das energias (u.a.) obtidas para os *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), calculados para os métodos BLYP, B3LYP e BPW-91.

	BLYP	BLYP	B3LYP	B3LYP	BPW91	BPW91
	cc-pVDZ	cc-pVTZ	cc-pVDZ	cc-pVTZ	cc-pVDZ	cc-pVTZ
1	-76,39791	-76,44111	-76,42034	-76,45982	-76,41212	-76,45093
2	-152,80819	-152,89064	-152,85293	-152,92843	-152,83468	-152,90883
3	-229,23169	-229,3491	-229,29835	-229,4062	-229,26867	-229,37461
4	-305,65724	-305,81174	-305,74591	-305,88794	-305,70585	-305,84514
5	-382,07275	-382,26652	-382,1841	-382,36212	-382,13354	-382,30812
6	-458,50295	-458,72424	-458,63486	-458,83894	-458,57161	-458,77213
7	-534,93068	-535,18705	-535,08416	-535,32071	-535,00994	-535,24203
8	-611,36704	-611,65506	-611,54181	-611,80789	-611,45610	-611,71702
9	-687,78207	-688,11013	-687,97978	-688,28252	-687,88326	-688,17999
10	-764,20953	-764,57125	-764,42876	-764,76266	-764,32111	-764,64836
11	-840,63000	-841,02521	-840,87135	-841,23641	-840,75113	-841,10926
12	-917,07070	-917,49311	-917,33279	-917,72356	-917,20025	-917,58376

Tabela 9. Valores de ΔE (kcal mol⁻¹) calculados através da equação 14 (página 113) para *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), para os métodos BLYP, B3LYP e BPW91.

	BLYP cc-pVDZ	BLYP cc-pVTZ	B3LYP cc-pVDZ	B3LYP cc-pVTZ	BPW91 cc-pVDZ	BPW91 cc-pVTZ
2	-3,9	-2,6	-3,8	-2,8	-3,3	-2,2
3	-7,9	-5,4	-7,8	-5,6	-6,8	-4,6
4	-10,3	-7,4	-10,1	-7,6	-9,0	-6,5
5	-10,4	-7,6	-10,3	-7,9	-9,1	-6,7
6	-12,1	-8,1	-11,8	-8,4	-10,3	-7,0
7	-13,0	-8,9	-12,7	-9,1	-11,2	-7,7
8	-14,4	-9,9	-14,0	-10,1	-12,5	-8,6
9	-14,0	-9,8	-13,7	-10,0	-12,1	-8,5
10	-14,5	-10,0	-14,1	-10,3	-12,5	-8,7
11	-14,4	-9,9	-14,1	-10,2	-12,4	-8,5
12	-15,5	-10,4	-15,1	-10,6	-13,3	-9,0

Tabela 10. Valores de $\Delta E'$ (kcal mol⁻¹) calculados através da equação 16.b (página 114) para *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), com os valores de energia apresentados nas tabelas 11, 12, 13, 14, 15 e 16,

	BLYP cc-pVDZ	BLYP cc-pVTZ	B3LYP cc-pVDZ	B3LYP cc-pVTZ	BPW91 cc-pVDZ	BPW91 cc-pVTZ
2	-3,9	-2,6	-3,8	-2,8	-3,3	-2,2
3	-7,9	-5,4	-7,8	-5,6	-6,8	-4,6
4	-10,3	-7,4	-10,1	-7,6	-9,0	-6,5
5	-10,4	-7,6	-10,3	-7,9	-9,1	-6,7
6	-12,1	-8,1	-11,8	-8,4	-10,3	-7,0
7	-13,0	-8,9	-12,7	-9,1	-11,2	-7,7
8	-14,4	-9,9	-14,0	-10,1	-12,5	-8,6
9	-14,0	-9,8	-13,7	-10,0	-12,1	-8,5
10	-14,5	-10,0	-14,1	-10,3	-12,5	-8,7
11	-14,4	-9,9	-14,1	-10,2	-12,4	-8,5
12	-15,5	-10,4	-15,1	-10,8	-13,3	-9,0

Tabela 11. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), com o método BLYP / cc-pVDZ.

n	2	3	4	5	6	7
H ₂ O (1)	-76,39897	-76,40424	-76,40479	-76,40502	-76,40436	-76,40507
H ₂ O (2)	-76,40429	-76,40357	-76,40478	-76,40415	-76,40937	-76,40973
H ₂ O (3)		-76,40494	-76,40479	-76,40513	-76,40907	-76,40871
H ₂ O (4)			-76,40479	-76,40514	-76,40987	-76,40892
H ₂ O (5)				-76,40490	-76,40970	-76,40976
H ₂ O (6)					-76,40551	-76,40881
H ₂ O (7)						-76,40862

n	8	9	10	11	12
H ₂ O (1)	-76,41007	-76,40462	-76,40999	-76,41237	-76,41008
H ₂ O (2)	-76,41006	-76,40847	-76,41012	-76,40860	-76,41009
H ₂ O (3)	-76,41006	-76,40836	-76,40853	-76,40472	-76,41008
H ₂ O (4)	-76,40904	-76,41002	-76,41068	-76,41134	-76,40923
H ₂ O (5)	-76,40906	-76,40997	-76,40844	-76,40945	-76,41246
H ₂ O (6)	-76,40906	-76,40846	-76,40842	-76,41040	-76,41246
H ₂ O (7)	-76,41006	-76,41014	-76,40808	-76,40850	-76,41246
H ₂ O (8)	-76,40907	-76,41016	-76,41020	-76,41043	-76,41244
H ₂ O (9)		-76,40922	-76,40837	-76,41014	-76,40923
H ₂ O (10)			-76,41020	-76,40932	-76,40925
H ₂ O (11)				-76,40997	-76,41007
H ₂ O (12)					-76,40924

Tabela 12. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), com o método BLYP / cc-pVTZ.

n	2	3	4	5	6	7
H ₂ O (1)	-76,44189	-76,44363	-76,44411	-76,44416	-76,44368	-76,44409
H ₂ O (2)	-76,44363	-76,44333	-76,44411	-76,44357	-76,44608	-76,44584
H ₂ O (3)		-76,44404	-76,44411	-76,44423	-76,44561	-76,44550
H ₂ O (4)			-76,44413	-76,44423	-76,44590	-76,44609
H ₂ O (5)				-76,44402	-76,44629	-76,44623
H ₂ O (6)					-76,44433	-76,44608
H ₂ O (7)						-76,44549

n	8	9	10	11	12
H ₂ O (1)	-76,44597	-76,44384	-76,44598	-76,44706	-76,44602
H ₂ O (2)	-76,44597	-76,44599	-76,44601	-76,44604	-76,44602
H ₂ O (3)	-76,44596	-76,44597	-76,44590	-76,44397	-76,44603
H ₂ O (4)	-76,44611	-76,44600	-76,44615	-76,44673	-76,44622
H ₂ O (5)	-76,44613	-76,44592	-76,44596	-76,44625	-76,44699
H ₂ O (6)	-76,44613	-76,44598	-76,44593	-76,44612	-76,44701
H ₂ O (7)	-76,44597	-76,44602	-76,44580	-76,44606	-76,44700
H ₂ O (8)	-76,44615	-76,44603	-76,44603	-76,44614	-76,44697
H ₂ O (9)		-76,44617	-76,44592	-76,44603	-76,44622
H ₂ O (10)			-76,44603	-76,44622	-76,44623
H ₂ O (11)				-76,44596	-76,44601
H ₂ O (12)					-76,44623

Tabela 13. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), com o método B3LYP / cc-pVDZ.

n	2	3	4	5	6	7
H ₂ O (1)	-76,42122	-76,42565	-76,42599	-76,42631	-76,42575	-76,42634
H ₂ O (2)	-76,42571	-76,42510	-76,42598	-76,42558	-76,43000	-76,43027
H ₂ O (3)		-76,42624	-76,42599	-76,42640	-76,42970	-76,42939
H ₂ O (4)			-76,42599	-76,42641	-76,43039	-76,42962
H ₂ O (5)				-76,42621	-76,43029	-76,43037
H ₂ O (6)					-76,42673	-76,42952
H ₂ O (7)						-76,42934

n	8	9	10	11	12
H ₂ O (1)	-76,43056	-76,42598	-76,43050	-76,43253	-76,43057
H ₂ O (2)	-76,43055	-76,42922	-76,43061	-76,42935	-76,43059
H ₂ O (3)	-76,43056	-76,42913	-76,42928	-76,42606	-76,43058
H ₂ O (4)	-76,42972	-76,43052	-76,43109	-76,43163	-76,42988
H ₂ O (5)	-76,42973	-76,43048	-76,42920	-76,43007	-76,43261
H ₂ O (6)	-76,42973	-76,42921	-76,42919	-76,43085	-76,43261
H ₂ O (7)	-76,43056	-76,43063	-76,42889	-76,42925	-76,43261
H ₂ O (8)	-76,42974	-76,43064	-76,43068	-76,43087	-76,43260
H ₂ O (9)		-76,42987	-76,42914	-76,43063	-76,42989
H ₂ O (10)			-76,43067	-76,42996	-76,42990
H ₂ O (11)				-76,43048	-76,43057
H ₂ O (12)					-76,42990

Tabela 14. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), com o método B3LYP / cc-pVTZ.

n	2	3	4	5	6	7
H ₂ O (1)	-76,46042	-76,46184	-76,46211	-76,46228	-76,46189	-76,46222
H ₂ O (2)	-76,46185	-76,46161	-76,46211	-76,46181	-76,46382	-76,46364
H ₂ O (3)		-76,46217	-76,46211	-76,46233	-76,46345	-76,46336
H ₂ O (4)			-76,46213	-76,46234	-76,46368	-76,46383
H ₂ O (5)				-76,46217	-76,46399	-76,46394
H ₂ O (6)					-76,46242	-76,46381
H ₂ O (7)						-76,46335

n	8	9	10	11	12
H ₂ O (1)	-76,46374	-76,46203	-76,46376	-76,46462	-76,46379
H ₂ O (2)	-76,46374	-76,46375	-76,46378	-76,46379	-76,46379
H ₂ O (3)	-76,46373	-76,46374	-76,46368	-76,46212	-76,46379
H ₂ O (4)	-76,46384	-76,46378	-76,46389	-76,46436	-76,46394
H ₂ O (5)	-76,46385	-76,46370	-76,46372	-76,46397	-76,46457
H ₂ O (6)	-76,46385	-76,46374	-76,46370	-76,46386	-76,46458
H ₂ O (7)	-76,46374	-76,46378	-76,46359	-76,46381	-76,46457
H ₂ O (8)	-76,46387	-76,46380	-76,46379	-76,46389	-76,46455
H ₂ O (9)		-76,46389	-76,46369	-76,46379	-76,46393
H ₂ O (10)			-76,46379	-76,46393	-76,46394
H ₂ O (11)				-76,46373	-76,46377
H ₂ O (12)					-76,46394

Tabela 15. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), com o método BPW-91 / cc-pVDZ.

n	2	3	4	5	6	7
H ₂ O (1)	-76,41304	-76,41729	-76,41770	-76,41791	-76,41739	-76,41798
H ₂ O (2)	-76,41729	-76,41673	-76,41769	-76,41716	-76,42168	-76,42177
H ₂ O (3)		-76,41789	-76,41770	-76,41801	-76,42121	-76,42091
H ₂ O (4)			-76,41770	-76,41801	-76,42191	-76,42129
H ₂ O (5)				-76,41781	-76,42199	-76,42203
H ₂ O (6)					-76,41835	-76,42122
H ₂ O (7)						-76,42090

n	8	9	10	11	12
H ₂ O (1)	-76,42207	-76,41756	-76,42198	-76,42408	-76,42208
H ₂ O (2)	-76,42206	-76,42091	-76,42210	-76,42102	-76,42210
H ₂ O (3)	-76,42206	-76,42082	-76,42095	-76,41768	-76,42209
H ₂ O (4)	-76,42140	-76,42199	-76,42256	-76,42321	-76,42156
H ₂ O (5)	-76,42142	-76,42198	-76,42088	-76,42177	-76,42416
H ₂ O (6)	-76,42141	-76,42090	-76,42086	-76,42233	-76,42417
H ₂ O (7)	-76,42207	-76,42212	-76,42060	-76,42093	-76,42417
H ₂ O (8)	-76,42143	-76,42214	-76,42217	-76,42234	-76,42415
H ₂ O (9)		-76,42156	-76,42082	-76,42213	-76,42156
H ₂ O (10)			-76,42216	-76,42164	-76,42158
H ₂ O (11)				-76,42198	-76,42208
H ₂ O (12)					-76,42158

Tabela 16. Valores das energias (u.a.) obtidas através do cálculo de BSSE para os *clusters* (H₂O)_n (1 ≤ n ≤ 12), com o método BPW-91 / cc-pVTZ.

n	2	3	4	5	6	7
H₂O (1)	-76,45155	-76,45294	-76,45328	-76,45336	-76,45300	-76,45332
H₂O (2)	-76,45293	-76,45271	-76,45328	-76,45290	-76,45489	-76,45471
H₂O (3)		-76,45325	-76,45328	-76,45342	-76,45452	-76,45445
H₂O (4)			-76,45330	-76,45342	-76,45476	-76,45491
H₂O (5)				-76,45325	-76,45508	-76,45502
H₂O (6)					-76,45351	-76,45491
H₂O (7)						-76,45445

n	8	9	10	11	12
H₂O (1)	-76,45481	-76,45312	-76,45482	-76,45571	-76,45485
H₂O (2)	-76,45481	-76,45485	-76,45484	-76,45488	-76,45485
H₂O (3)	-76,45480	-76,45484	-76,45476	-76,45323	-76,45486
H₂O (4)	-76,45492	-76,45483	-76,45494	-76,45546	-76,45502
H₂O (5)	-76,45494	-76,45477	-76,45482	-76,45506	-76,45566
H₂O (6)	-76,45494	-76,45483	-76,45479	-76,45492	-76,45567
H₂O (7)	-76,45481	-76,45485	-76,45470	-76,45494	-76,45566
H₂O (8)	-76,45497	-76,45487	-76,45486	-76,45494	-76,45563
H₂O (9)		-76,45497	-76,45478	-76,45485	-76,45502
H₂O (10)			-76,45486	-76,45501	-76,45502
H₂O (11)				-76,45480	-76,45484
H₂O (12)					-76,45503

BIBLIOGRAFIA

1. Vinogradov, S.N. e Linell, R.H.; *Hydrogen Bonding*, Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1971.
2. Plumridge, T.H. e Waigh, R.D.; *J. Pharm. Pharmacol.*, **54**, 1155 (2000).
3. Kochmarsky, V.; *Mag. Electrical Sep.* **7**, 77 (1996).
4. Bernal, J.D. e Fowler, R.H.; *J. Chem. Phys.*, **1** (5), 515 (1933).
5. Pople, J.A.; *Proc. Roy. Soc. (London)*, 323 (1950).
6. Pople, J.A.; *Proc. Roy. Soc. (London)*, 163 (1951).
7. Frank, H.S. e Wen, W-Y; *Disc. Faraday Soc.*, 133 (1957).
8. Macedo, H.; *Físico-Química I*, Editora Guanabara Dois S.A., Rio de Janeiro, capítulo 4 (1981).
9. Bernal, J.D., *Proc. Roy. Soc.*, **A 280**, 299 (1964).
10. Zvereva, N.A.; *Russ. Phys. J.*, **42** (9), 860 (1999).
11. Harvey, J.N.; Jung, J.O. e Gerber, R.B.; *J. Chem. Phys.*, **109**, 8747 (1998).
12. Dougherty, R.C. e Howard, L.N.; *J. Chem. Phys.*, **109** (17), 7370-7393 (1998).
13. Chaplin, M.F.; *Biophys. Chem.*, **83**, 211 (1999).
14. Cruzan, J.D.; Braly, L.B.; Liu, K.; Brown, M.G.; Loeser, J.G. e Saykally, R.J.; *Science*, **271**, 59 (1996).
15. Liu, K.; Brown, M.G.; Cruzan, J.D. e Saykally, R.J.; *Science*, **271**, 62 (1996).
16. Liu, K.; Brown, M.G.; Carter, C.; Saykally, R.J.; Gregory J.K. e Clary, D.C.; *Nature*, **381**, 501 (1996).
17. Liu, K.; Cruzan, J.D. e Saykally, R.J.; *Science*, **271**, 929 (1996).
18. Keutsch, F.N.; Brown, M.G.; Petersen, P.B.; Saykally, R.J.; Geleijns, M. e van der Avoird, A.; *J. Chem. Phys.*, **114** (9), 3994 (2001).
19. Keutsch, F.N.; Fellers, R.S.; Viant, M.R. e Saykally, R.J.; *J. Chem. Phys.*, **114** (9), 4005 (2001).
20. Arteca, G.A.; Cachau, R.E. e Veluri, K.; *Chem. Phys. Letters*, **319**, 719 (2000).
21. Gonzalez, E.H.; Poltev, V.I.; Teplukhin, A.V. e Malenkov, G.G.; *J. Struc. Chem.*, **35** (6), 851 (1994).
22. Gregory, J.K.; Clary, D.C.; Liu, K.; Brown, M.G. e Saykally, R.J.; *Science*, **275**, 814 (1997).
23. Luck, W.A.P.; *J. Mol. Struc.*, **448**, 131 (1998).
24. Bernas, A.; Ferradini, C. e Jay-Gerin, J.P.; *Chem. Phys.*, **222**, 151 (1997).
25. Lee, C.; Chen, H. e Fitzgerald, G.; *J. Chem. Phys.*, **102**, 1266 (1995).
26. Masella, M.; Lefour, J.M. e Flament, J.P.; *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **132**, 224 (1995).
27. Briant, C.L. e Burton, J.J.; *J. Chem. Phys.*, **63** (8), 3327 (1975).
28. Kirov, M.V.; *J. Struc. Chem.*, **35** (1), 57 (1994).
29. Shi, Z.; Ford, J.V.; Wei, S. e Castleman Jr., A.W.; *J. Chem. Phys.*, **99** (10), 8009 (1993).
30. Kim, J.; Mhin, B.J.; Lee, S.J. e Kim, K.S.; *Chem. Phys. Lett.*, **219**, 243 (1994).
31. Wales, D.J. e Ohmine, I.; *J. Chem. Phys.*, **98** (9), 7245 (1993).
32. Wales, D.J. e Ohmine, I.; *J. Chem. Phys.*, **98** (9), 7257 (1993).
33. Erkoç, S.; Kökten, H. e Güvenç, Z.; *Eur. Phys. J. D*, **13**, 361 (2001).
34. Ohmine, I. e Tanaka; *Chem. Rev.*, **93**, 2545 (1993).
35. Sharp, K.A. e Madan, B.; *J. Phys. Chem. B*, **101**, 4343 (1997).

36. Libnau, F.O.; Toft, J.; Christy, A.A. e Kvalheim, O.M.; *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 8311 (1994).
37. Rossi, A.V.; Davanzo, C.U. e Tubino, M.; *J. Braz. Chem. Soc.*, **7** (6), 403 (1996).
38. Samal, S. e Geckeler, K.E.; *Chem. Commun.*, **21**, 2224 (2001).
39. Symons, M.C.R.; *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, **272**, 13-28 (1975).
40. Lorenzen, L.H.; Patente US 5.711.950 A, "Process for Preparing Microclustered Water", (1998).
41. Hattori, T. e Matsushita, K.; Patente JP 11128951 A2, "Water Having Good Property for Dispersing Oils and Fats" (1999).
42. Tsuzaki, S.; Kakino, K.; Takagani, K.; Kaneko, M.; Kuwahara, T.; Hattori, T.; Matsushita, K.; Ishizaki, A. e Kawamura, T.; *Nippon Keshohin Gijyutsusha Kaishi*, **33** (2), 170 (1999).
43. La Jolla Diagnostics Inc., 7777 Fay Ave. Suite 160 La Jolla, CA 92037, "Cluster Water™" [<http://www.lajd.com/>] (Out. 2003).
44. La Mer, Cosmetic Research - USA News, (Out. 2003).
45. Berezin, M.V.; Levshin, L.V. e Saletsky, A.M.; *SPIE - Laser Applications in Life Sciences*, **1403**, 335 (1990).
46. Zhou, K.X.; Lu, G.W.; Zhou, Q.C.; Song, J.H.; Jiang, S.T. e Xia, H.R.; *J. Appl. Phys.*, **88** (4), 1802 (2000).
47. Zhao, Y.; Zhao, L.A.; Wei, X.; Han, B.X. e Yan, H.K.; *J. Therm. Anal.*, **45**, 13 (1995).
48. Ozeki, S.; Miyamoto, J.; Ono, S.; Wakai, C. e Watanabe, T.; *J. Phys. Chem.*, **100**, 4205 (1996).
49. Katsuki, A.; Tokunaga, R.; Watanabe, S. e Tanimoto, Y.; *Chem. Lett.*, **8**, 607 (1996).
50. Kronenberg, K.J.; *IEEE Trans. Magn.*, **21** (5), 2059 (1985).
51. Hasson, D. e Bramson, D.; *Ind. Eng. Chem. Process Des. Dev.*, **24**, 588 (1985).
52. Herzog, R.E.; Shi, Q.; Patil, J.N. e Katz, J.L.; *Langmuir*, **5**, 861 (1989).
53. Bogatin, J.; Bodarenko, N.P.H.; Gak, E.Z.; Rokhinson, E.E. e Ananyev, I.P.; *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 1280 (1999).
54. Gehr, R.; Zhai, Z.A.; Finch, J.A. e Rao, S.R.; *Wat. Res.*, **29** (3), 933 (1995).
55. Lazarenko, L.N. e Zhuravlev, P.D.; *Sov. Surf. Engng. Appl. Electro-chem.*, **1**, 101 (1985).
56. Joshi, K.M. e Kamat, P.V.; *J. Ind. Chem. Soc.*, **43**, 620 (1966).
57. Iwasaka, M. e Ueno, S.; *J. Appl. Phys.*, **83** (11), 6459 (1998).
58. Iwasaka, M. e Ueno, S.; *J. Appl. Phys.*, **75**, 7177 (1994).
59. Iwasaka, M. e Ueno, S.; *IEEE Trans. Magn.*, **30**, 4698 (1994).
60. Hirota, N.; Homma, T.; Sugawara, H.; Kitazawa, K.; Iwasaka, M.; Ueno, S.; Yokoi, H.; Kakudate, Y.; Fujiwara, S. e Kawamura, M.; *Japan J. Appl. Phys. Part 2-Letters*, **34**, L991 (1995).
61. Beaunon, E. e Tournier, R.; *Nature*, **349**, 470 (1991).
62. Industrial Water Society News; *Waterline*, 98 (1994).
63. (a) Raisen, E.; Paper no. 117, Corrosion 84, *National Association of Corrosion Engineers*, New Orleans (1984). (b) Grutsch, J.F. e McClintock, J.W.; Paper no. 330, Corrosion 84, *National Association of Corrosion Engineers*, New Orleans (1984).
64. Aqua-Doc, Redbud Lane, Yuba City, CA 95993, USA (aquadoc@otn.net).

65. Mundimex Companies Inc., 5209 N.W. 74th Ave., Ste. 21, Miami, FL33166, USA; "The Magnetizer & Water" [<http://www.mundi.com/water.html>] (Sep. 1998).
66. Duffy, E.A.; *Investigations of water treatment devices*. Ph.D. thesis at Clemson University, Clemson, S.C. (1977).
67. Vieira, L.C.; Rocha, N.O. e Dittz, C.H.S.; *Boletim técnico PETROBRÁS*, Rio de Janeiro, **43** (1), 1 (2000).
68. Lin, I.J. e Yovat, J.; *J. Magn. Magn. Mater.*, **83** (1-3), 525 (1990).
69. Levy, D.; Holzer, Z.; Brosh, A. e Ilan, D.; *Bet Dagan, Israel, Agricultural Research Organization*; The Volcani Center, Israel, no. 3057-E, 23 (1990).
70. Harari, M. e Lin, I.; *Wat. Irrig. Rev.*, **9**, 4 (1989).
71. Bogatin, J.; *Env. Sci. Tech.*, **33**, 1280 (1999).
72. Moon, J.D. e Chund, H.S.; *J. Electros.*, **48**, 103 (2000).
73. Barboza, M.A.; Dissertação de Mestrado – "Ação de Campos Magnéticos em Alguns Sistemas Químicos e Biológicos", Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas (2002).
74. Davies, M.S.; *Bioelectromag.*, **17**, 154 (1996).
75. Reina, F.G. e Pascual, L.A.; *Bioelectro*, **22**, 589 (2001).
76. Reina, F.G.; Pascual, L.A. e Fundora, I.A.; *Bioelectro*, **22**, 596 (2001).
77. Camargo Jr., J.N.; *Rev. Bras. Ortp.*, **26** (10), 373 (1991).
78. Kolosova, L.I.; Akoev, G.N.; Avelev, V.D.; Riabchikova, O.V. e Babu, K.S.; *Bioelectromag.*, **17**, 44 (1996).
79. Ossenkopp, K.P. e Kavaliers, M.; *Brain Res.*, **418**, 356 (1987).
80. Takeuchi, T.; Mizuno, T.; Higashi, T.; Yamagishi, A. e Date, D.; *J. Magn. Magn. Mater.*, **140-144**, 1462 (1995).
81. Blank, M. e Goodman, R.; *Bioelectromag.*, **18**, 111 (1997).
82. Azanza, M.J. e Moral, A.; *J. Magn. Magn. Mater.*, **140-144**, 1464 (1995).
83. Garg, T.K.; Agarwal, N. e Rai, S.; *Elect. Magnet. Biol.*, **14** (2), 107 (1995).
84. Nakagawa, M.; *Physica B*, **164**, 213-216 (1990).
85. Del Giudice, E.; Doglia, S.; Milani, M.; Smith, C.W. e Vitiello, G.; *Phys. Scrip.*, **40**, 786 (1989).
86. Vladimirovsky, M.A.; Kuznetsov, A.A. e Philippov, V.I.; *J. Magn. Magn. Mater.*, **122**, 371 (1993).
87. Zastrow, L.; Klopp, R.; Golz, K.; Doucet, O.; Herrling, T.H. e Groth, N.; "20th IFSCC Congress CANNES", **3**, Paper no. 34, 127 (1998).
88. Stryer, L.; *Bioquímica*, Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro (1992).
89. Moran, L.A.; Scrimgeour, K.G.; Horton, H.R.; Ochs, R.S. e Rawn, J.D.; *Biochemistry*, Neil Patterson Publishers - Prentice Hall Inc., New Jersey (1994).
90. Melton, L.; *Scientific American*, **283** (1), 12 (2000).
91. Courbebaisse, Y.; Lacarriere, C. e Nicolay, J.F.; "20th IFSCC Congress CANNES", **1**, Paper no. 2, 21 (1998).
92. Bailey, A.J.; *Mech. Ageing Dev.*, **122** (7), 735 (2001).
93. Pageon, H.; Bakala, H.; Friguet, B.; Monnier, V.M. e Asselineau, D.; *J. Invest. Dermatol.*, **115** (3), 520 (2000).
94. Krajcovicova-Kudlackova, M.; Sebekova, K.; Schinzel, R. e Klvanova, J.; *Physiol. Res.*, **51**, 313 (2002).

95. Wondrak, G.T.; Roberts, M.R.; Jacobson, M. e Jacobson, E.L.; *J. Invest. Dermatol.*, **119** (2), 489 (2002).
96. Verzijl, N.; DeGroot, J.; Oldehinkel, E.; Bank, R.A.; Thorpe, S.R.; Baynes, J.W.; Bayliss, M.T.; Bijlsma, J.W.J.; Lafeber, F.P.J.G. e TeKoppele, J.M.; *Biochem. J.*, **350**, 381 (2000).
97. Meng, J.; Sakata, N.; Takebayashi, S.; Asano, T.; Futata, T.; Araki, N. e Horiuchi, S.; *Diabetes*, **45**, 1037 (1996).
98. Stadtman, E.R.; *Science*, **257**, 1220 (1992).
99. Pfund, D.M.; Darab, J.G. e Fulton, J.L. ; *J. Phys. Chem.*, **98**, 13102 (1994).
100. Anikeev, V.I.; Menion, D. e Ermakova, A.; *Russ. J. Phys. Chem.*, **75** (8), 1259 (2001).
101. Tassaing, T.; Danten, Y. e Besnard, M.; *J. Mol. Liq.*, **101** (1-3), 149 (2002).
102. DeSimone, J.M.; *Science*, **297**, 799 (2002).
103. Flanagan, L.W.; Balbuena, P.B., Johnston, K.P. e Rossky, P.J.; *J. Phys. Chem.*, **99**, 5196 (1995).
104. Okada, K.; Imashuku, Y. e Yao, M.; *J. Phys. Chem.*, **107** (22), 9302 (1997).
105. Matubayasi, N.; Wakai, C. e Nakahara, M.; *Phys. Rev. Letters*, **78** (13), 257 (1997).
106. ISOFLUX, Condicionador Magnético de Água, Marca STA, C.G.C. 66.680.448/0001-01.
107. Elia, V. e Niccoli, M.; *J. Therm. Anal. Calor.*, **61**, 527 (2000).
108. Anagnostatos, G.S.; Viras, K.; Soutzidou, M. e Pissis, P.; *Cond. Matt. Theo.*, **12**, 451 (1997).
109. Devlin, J.P., Joyce, C. e Buch, V.; *J. Phys. Chem. A*, **104**, 1974 (2000).
110. Franks, F.; *Water*, The Royal Society of Chemistry, Burlington House Ed., London (1984).
111. Speakman, J.C; *The Hydrogen Bond and Other Intermolecular Forces*, The Chemical Society, London (1975).
112. Pimentel, G.C. e McClellan, A.L.; *The Hydrogen Bond*, W.H. Freeman and Company, New Yprk (1960).
113. Reichardt, C.; *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*, VCH, Weinheim (1988).
114. Faigle, J.F.G.; Porto, M.E.G. e Barboza, M.A.; *Revista de Homeopatia da AMHB*, Editora da Associação Médica Homeopática Brasileira, **4**, 6 (2002).
115. Murrathev, V.M.; Tradução para o português: Água Viva, Academia de Ciências da URSS, Editora Ciências, Moscou, 1975.
116. Saito, A.; Miyawaki, O. e Nakamura, k.; *Biosci. Biotech. Biochem.*, **61** (11), 1831 (1997).
117. Lamanna, R. e Cannistraro, S.; *Chem. Phys.*, **213**, 95 (1996).
118. Frank, H.S. e Franks, F.; *J. Chem. Phys.* **48** (10), 4746 (1968).
119. Feng, Y.; Yu, Z.W. e Quinn, P.J.; *Chem. Phys. Lipids*, **114**, 149 (2002).
120. Herskovits, T.T. e Kelly, T.M.; *J. Phys. Chem.*, **77** (3), 381 (1973).
121. Marcus, Y.; *J. Sol. Chem.*, **23** (7), 831 (1994).
122. Marcus, Y.; *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, **82**, 233 (1986).
123. Mizuno, K.; Oda, K.; Shindo, Y. e Okumura, A.; *J. Phys. Chem.*, **100**, 10310 (1996).
124. Hasted, J.B.; Ritson, D.M. e Collie, C.H.; *J. Chem. Phys.*, **16** (1), 1 (1948).

125. Haggis,G.H.; Hasted,J.B. e Buchanan,T.J.; *J. Chem. Phys.*, **20** (9), 1452 (1952).
126. Hasted,J.B. e Roderick,G.W.; *J. Chem. Phys.*, **29** (1), 17 (1958).
127. Hecht,D; Tadesse,L. e Walters,L.; *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 4336 (1992).
128. Novikov,A.G.; Rodnikova,M.N.; Savostin,V.V. e Sobolev,O.V.; *Chem. Phys. Letters*, **259**, 391 (1996).
129. Idrissi,A.; Longelin,S. e Sokolié,F.; *J. Phys. Chem. B*, **105**, 6004 (2001).
130. Theophanides,T.; Angiboust,J.F.; Polissiou,M.; Anastassopouloi,J. e Manfait,M.; *Magnesium Res.* , **3** (1), 5 (1990).
131. Atkins,P.W.; *Physical Chemistry*, 5^a edição, Oxford University Press (1994).
132. Dean,J.A.; *Lange's Handbook of Chemistry*, 13th edition, Mc Graw-Hill Book Company (1972).
133. Barboza,M.A. e Faigle,J.F.G.; *52^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência – SBPC*, “Modificação das Propriedades Físico-químicas da Água Devido a Ação de Campos Magnéticos” (Jul. 2000).
134. Porto, M. E. G.; Dissertação de Mestrado – “Alterações de Propriedades Biológicas e Físico-químicas da Água Induzidas por Campos Magnéticos”, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas (1998).
135. Canellas,J.M.; Porto,M.E.G. e Faigle,J.F.G.; *52^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência – SBPC*, “Alteração dos Valores de CMC de Soluções Aquosas de SDS (Dodecil Sulfato de Sódio) Utilizando Água Tratada Magneticamente”, (Jul. 2000)
136. Canellas,J.M.; Porto,M.E.G. e Faigle,J.F.G.; *VIII Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp*, “Evidências de Restruturação da Água Através de Medidas de Tensão Superficial”, (Set. 2000).
137. Barboza,M.A. e Faigle,J.F.G.; *II Seminário Brasileiro sobre Homeopatia na Agricultura Orgânica – “Alterações no Desenvolvimento de Vegetais Provocadas por Água Previamente Expostas a Campos Magnéticos”* (Jul. 2000).
138. *Regras para Análise de Sementes*; Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Brasília,D.F. (1992).
139. Calvert,J.G. e Pitts Jr.,J.N.; *Photochemistry*, John Wiley & Sons,Inc., N.Y. (1966).
140. Adamson,A.W. e Fleischauer,P.D. (editors); *Concepts of Inorganic Photochemistry* , John Wiley & Sons, Inc., cap. 8 por Malcolm Fox (1975).
141. Jaffé,H.H. e Orchin,M.; *Theory and Applications of Ultraviolet Spectroscopy*, John Wiley and Sons, Inc., 5^a edição (1970).
142. Sommer,L.; *Analytical Absorption Spectrophotometry in the Visible and Ultraviolet – The Principles*, Elsevier, New York (1989).
143. Eisenberg,E. e Kauzmann,W.; *The Structure and Properties of Water*, 2^a edição, Oxford University Press (1969).
144. Irvin,J.A. e Quickenden,T.I. ; *J. Chem. Phys.*, **72**, 4416 (1980).
145. Ruderman,G.; Caffarena,E.R.; Mogilner,I.G. e Tolosa,E.J.; *J. Sol. Chem.*, **27** (10), 935 (1998).
146. Pettersen,L.K. e Jemec,G.B.E.; *J. Derm. Scie.*, **19**, 48 (1999).
147. Batt,M.D. e Fairhurst,E.; *Inter. J. Cosm. Scie.*, **8**, 253 (1986).

148. Elsner,P., Barel,A.O., Berardesca,E., Gabard,B. e Serup,J.(eds); Skin Bioengineering Techniques and Applications in Dermatology and Cosmetology, Curr. Probl. Dermatol. Basel, Karger, vol. 26, 38-47 (1998).
149. Malmstadt,H.V. e Enke,C.G.; Electronics for Scientists – Principles and Experiments for Those Who Use Instruments, W.A. Benjamim Inc., New York (1962).
150. Halliday,D e Resnick,R. ; Física (Parte II), Ao Livro Técnico S.A., Rio de Janeiro, cap.30 (1968).
151. Lodén,M e Maibach, M.D. (Editors); Dry Skin and Moisturizers - Chemistry and Function; CRC Press, USA (2000).
152. Ferreira, A.B.H., Novo Dicionário da Língua Portuguesa, 1ª Edição (4ª Impressão), Editora Nova Fronteira S.A., (1981).
153. Binder,K.; Applications of the Monte Carlo Method in Statistical Physics, Springer, New York (1984). Citado na referência [44]
154. Lüchow,A. e Anderson,J.B.; *Annu. Rev. Chem.* ,**51**, 501 (2000).
155. de Souza, H.F.; Tese de Doutorado, “Aspectos Estruturais e Eletrônicos de Clusters de Silício e Germânio Dopados com Nitrogênio”, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas (2001).
156. de Souza, H.F.; *Introdução à Química Computacional*, apostila do curso realizado no CENAPAD, Unicamp, (Nov. 2001).
157. Foresman,J.B. e Frisch,AE.; *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*, Gaussian Inc., 2ª Edição (1996).
158. The Cambridge Cluster Database, [<http://brian.ch.cam.ac.uk/~wales/CCD/TIP4P-water.html>], (Fev. 2002).
159. Gordon Research Group – Iowa State University (1998), “GAMESS98” : <http://www.msg.ameslab.gov/GAMESS/GAMESS.html>
160. Gaussian, Inc. (1998) “GAUSSIAN98” : <http://www.gaussian.com>
161. Schleyer,P.V.R. (Editor-in-chief); Encyclopedia of Computational Chemistry, John Wiley & Sons, N.Y., vols. 1,2,3,4 e 5 (1998).
162. Hohenberg,P. e Kohn,W.; *Phys. Rev.*, **136**, B864 (1964).
163. Trasferti,B.C.; Dissertação de Mestrado: “Obtenção de Constantes Ópticas no Infravermelho a partir de Medidas de Reflectância Especular via Análise de Kramers-Krönig”, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas, **1998**.