

**Universidade Estadual de Campinas**

**Dissertação de Mestrado**

**Alterações de propriedades biológicas e  
físico-químicas da água induzidas  
por campos magnéticos**

**autora: Maria Eugênia Garcia Porto**

**orientador: Prof.Dr. José Fernando Gregori Faigle**

**Instituto de Química / Departamento de Físico-Química**

**Dezembro / 1998**

## **RESUMO**

### **Alterações de propriedades biológicas e físico-químicas da água induzidas por campos magnéticos**

**Autora :** Maria Eugênia Garcia Porto

**Orientador :** Prof. Dr. José Fernando Gregori Faigle

Neste trabalho estuda-se os efeitos produzidos pela ação de campos magnéticos em água na presença de soluções reais sob o mesmo campo. Diferentes intensidades de campo aplicado e de concentrações de soluções foram investigados, com efeitos reprodutíveis utilizando-se intensidade de campo magnético na faixa de 180 Oe, com soluções em concentrações entre 2,0 e 2,5 mol.L<sup>-1</sup>. Em adição às variações de tensão superficial já reportadas na literatura (para campos muito intensos), outras propriedades físico-químicas são alteradas, como a condutividade elétrica, pressão de vapor, temperaturas de ebulição e congelamento, e absorção na região de infravermelho (ATR). Não se observa variação de viscosidade e índice de refração da água. Os efeitos mais surpreendentes se revelam com sensores vivos, onde a resposta biológica à aplicação da água, após ter sido submetida a estes arranjos experimentais, parece reproduzir qualitativamente as respostas esperadas pela solução real utilizada como referência dentro do campo. Várias técnicas foram estudadas para intensificar a ação do campo magnético, com fortes evidências de que processos de superfície devem contribuir fortemente para os resultados observados.

## **ABSTRACT**

### **Alterations of biological and physico-chemical properties of water induced by magnetic fields.**

**Author:** Maria Eugênia Garcia Porto

**Advisor:** Prof. Dr. José Fernando Gregori Faigle

This study deals with the effects produced by the action of magnetic fields simultaneously on water and real solutions. Many values of applied fields and solution concentrations were investigated, with reproducible effects observed using magnetic field intensities of about 180 Oe, and solutions with concentrations ranging between 2,0 and 2,5 mol.L<sup>-1</sup>. In addition to the study of surface tension variations, complementing others already reported in the literature (for very intense fields), other properties were studied, such as electrical conductivity, vapor pressure, viscosity, refractive index, boiling and freezing temperatures, and infrared spectroscopic (ATR) behaviors. The most surprising effect was observed in biological sensors, whose responses to water treated by this method seems to reproduce qualitatively the same results obtained with the reference solution used in the magnetic field. Different experimental arrangements were tested in order to intensify the action of the applied field indicating that surface processes strongly contribute to the observed results.

## **Agradecimentos**

Meus primeiros agradecimentos são ao Prof. Nadim F. Heluany e Prof. João R.O. Muniz, responsáveis pela realização dos experimentos na Faculdade de Ciências Médicas - obrigada pelo apoio durante o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço também ao CNPq, pela bolsa de estudo; a todos do laboratório Phoenix e do laboratório de ensino, pela ajuda e empréstimo de equipamentos; ao Prof. Antonio Luiz Pires Valente, pelas microesferas de vidro; ao Prof. Marcelo Knobel, pelas medidas de intensidade do campo magnético; à Prof<sup>a</sup>. Adriana V. Rossi, por toda orientação na técnica de ATR; aos Profs. Pedro Faria e Pedro Volpe, pelas sugestões e orientação dada no exame de qualificação; à Ana Marta Tucci, pelas microfilmagens, referências bibliográficas, sua atenção e dedicação.

A minha mais profunda gratidão ao meu orientador, Prof. Fernando Faigle, por me proporcionar, além de uma rica experiência científica, uma visão mais ampla e crítica da vida. Obrigada pelo seu exemplo, pela coragem de romper com conceitos pré-estabelecidos e provar suas convicções.

Dedico este trabalho a todos aqueles - personagens da história ou não - que um dia tiraram o seu olhar do conhecimento conquistado em sua época e tentaram estabelecer novas conexões. Possibilitaram assim, uma melhor conformidade da inteligência ao real - libertando a mente humana de dogmas, medos, crenças e opiniões - nos deixando valiosas lições.

## ÍNDICE

### Capítulo I .

1. Introdução	01
2. Objetivo do trabalho	18
3. Argumentação teórica	20

### Capítulo II .

4. Arranjos experimentais de preparação da solução imagem	24
---	----

### Capítulo III .

5. Aplicação de soluções imagem a sistemas biológicos	31
---	----

### Capítulo IV .

6. Estudo físico-químico de soluções imagem	60
---	----

Conclusão	90
-----------	----

Bibliografia	91
--------------	----

## **Capítulo I**

“Sem a convicção de uma harmonia íntima do Universo, não poderia haver ciência. Esta convicção é, e continuará a ser, a base de toda a criação científica. Em toda a extensão dos nossos esforços, nas lutas dramáticas entre as velhas e as novas concepções, entrevemos a ânsia eterna de compreensão, a intuição inabalável da harmonia universal, que se robustece na própria multiplicidade dos obstáculos que se oferecem ao nosso entendimento.”

**Einstein.**

## 1. Introdução

“A água é esquisita. É um líquido quando deveria ser um gás, expande quando deveria contrair e dissolve quase tudo que toca, tendo tempo suficiente. No entanto, sem a esquisitice da água, a Terra deveria ser mais uma bola de gelo sem vida no espaço.” - Yuan Lee, prêmio Nobel em química (1986).<sup>[1]</sup>

Apesar da água ser uma substância diamagnética, a literatura corrente reporta diversas alterações de suas propriedades quando submetida a campos magnéticos intensos. Podemos observar esses efeitos em áreas abrangentes como a medicina, química, física, biologia, engenharias, agronomia - incluindo agricultura e pecuária - e processos industriais.<sup>[2-28]</sup>

O estudo da interação de materiais ferrosos e ferromagnéticos com o campo magnético é fortemente abordado na literatura científica clássica. Este tipo de interação é hoje relativamente bem compreendido e quantificado através de instrumentos padronizados de medida direta dos efeitos.<sup>[29]</sup>

Por outro lado, a interação menos óbvia de campos magnéticos com outros materiais só passou a merecer atenção em trabalhos mais recentes. A ação dos campos estáticos sobre a matéria e os efeitos residuais que dela resultam, não são bem compreendidos. Um número crescente de trabalhos que abordam interações de campos magnéticos com materiais diamagnéticos vem sendo investigado com resultados intrigantes e surpreendentes, ainda não explicados.

Atualmente, esta linha de pesquisa ainda está muito mais voltada para a catalogação de efeitos do que para a construção de modelos que justifiquem os comportamentos. Nesta etapa, a aplicação de campos nas mais diversas áreas e materiais, assim como a observação dos resultados, são de grande importância, já que um amplo conjunto de dados experimentais poderá, eventualmente, fornecer diretrizes para uma compreensão dos comportamentos observados. A seguir, citamos alguns exemplos no intuito de mostrar a amplitude destas aplicações em pesquisas recentes.

## **1.a - Alterações do comportamento da água tratada magneticamente em diversos sistemas**

O tratamento magnético da água é um recurso simples no qual a água passa através de um campo magnético e altera algumas de suas propriedades físico-químicas. Este tratamento magnético, utilizado na prevenção de sedimentação e remoção de sedimentos acumulados na água, foi primeiramente patenteado por Vermeiren na Bélgica em 1945, sendo então reconhecido como descobridor do fato de que campos magnéticos afetam as propriedades da água.<sup>[2]</sup>

Gehr et al.<sup>[3]</sup> fizeram um estudo criterioso da solubilidade de  $\text{CaSO}_4$  em água quando estas soluções eram expostas a um campo magnético de 4.75T, produzido por um espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear - Varian Supercon 200MHz. Foram utilizados vários parâmetros de medida e observação - dissolução de  $\text{Ca}^{2+}$ , suspensão total de sólidos em solução, condutividade, potencial zeta, temperatura e pH. Dentro das condições específicas do experimento, o tratamento magnético induziu a precipitação dos cristais de gipsita - sulfato de cálcio. Os resultados de todos os parâmetros estudados confirmam esta medida e todos eles são estatisticamente significantes. Os autores concluem que tratamentos magnéticos podem ser eficientes na prevenção de sedimentação, agindo para promover uma cristalização no lugar da precipitação que ocorre em superfícies sólidas.

Katsuki et al.<sup>[4]</sup> estudaram a influência de um campo magnético forte (8T) no crescimento de cristais de um composto diamagnético - a benzofenona. A direção do eixo longitudinal das agulhas dos cristais tende a se alinhar perpendicularmente à direção do campo aplicado e o grau de orientação depende da sua intensidade. Na ausência do campo magnético, as agulhas orientam-se aleatoriamente. Considera-se que a orientação magnética de cristais de um composto diamagnético ocorre quando este possui alta suscetibilidade diamagnética anisotrópica.

Saam<sup>[5]</sup> desenvolveu um modelo para prever a taxa de nucleação de cristais de calcita. Monitorando-se vários parâmetros qualitativos da água - dissolução total de sólidos, alcalinidade, etc - concluiu-se que a nucleação dos cristais de calcita aumenta com a aplicação de campos magnéticos e eletrostáticos.

Os efeitos do campo magnético estendem-se a diversas áreas e também podem ser observados nas interações da água com sólidos. Segundo os estudos de Ozeki et al.<sup>[6]</sup>, campos magnéticos estáticos podem alterar as interações água-sólido e induzir a adsorção ou dessorção da água nas superfícies sólidas. Já é bem conhecido que a água de hidratação ou adsorvida, tem estrutura e propriedades (estáticas e dinâmicas), diferentes da água livre. A adsorção e dessorção da água foi testada em campos magnéticos relativamente baixos ( $H < 10$  kOe), a uma temperatura de 303 K e em várias superfícies sólidas ( $\gamma$ -FeOOH,  $\delta$ -FeOOH,  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, SiO<sub>2</sub>, zeólitos, crisotilas, montmorilonita, TiO<sub>2</sub>, fibra de carbono ativada e DNA). Nenhuma água da primeira camada de superfícies hidrofílicas, que possui interações relativamente fortes com a superfície, é afetada pelos campos magnéticos estáticos em questão. Interações fracas da água com superfícies hidrofóbicas e água em multicamadas respondem ao campo magnético. As águas contidas em poros também respondem ao campo, mas a indução do campo magnético na adsorção ou dessorção parece diminuir a medida que o tamanho dos microporos aumenta. A quantidade de água adsorvida nas diferentes superfícies sofre alterações que dependem da intensidade do campo e da superfície propriamente dita. O campo magnético parece afetar a adsorção quando a energia magnética adquirida através do campo magnético externo é suficientemente grande para ultrapassar as interações e ligações de hidrogênio que constituem a estrutura da água.

Lazarenko e Zhuravlev<sup>[7]</sup> reportaram que a água tratada com campo magnético, utilizada na preparação de concreto, melhora a qualidade do mesmo, incluindo força, densidade e resistência ao impacto. A porosidade do concreto e a absorção de água são menores, levando a uma diminuição no tempo de solidificação e a uma maior dureza do material.

Ueno e Iwasaka<sup>[8,9]</sup> fizeram um estudo do comportamento hidrodinâmico da água observando a partição física da água em campos magnéticos de 8T, gerados a partir de ímãs super-condutores horizontais. Eles observaram que a água destilada preenchendo a metade do volume de um recipiente pequeno, se divide em duas partes expondo o fundo do recipiente na parte central quando submetida ao campo. Os níveis de água nas

laterais sobem, formando paredes de água. As paredes de água também são formadas nas temperaturas de transição da água (0°C e 100°C). Este comportamento também foi observado em uma solução isotônica de cloreto de sódio - NaCl (0.9%) - e em várias outras soluções de NaCl em diferentes concentrações. Neste caso, as mudanças absolutas na altura da superfície das soluções, no centro do recipiente, diminuem com o aumento da concentração de NaCl na solução. Uma variação do experimento mostrou o efeito do campo na velocidade do fluxo de água destilada, o qual diminui com o aumento da intensidade do campo, chegando mesmo a parar o fluxo a um campo de 8T. Este efeito é ainda maior na velocidade do fluxo da água quando borbulhada com oxigênio gasoso (observação do comportamento de moléculas paramagnéticas submetidas ao mesmo processo), onde a interrupção do fluxo ocorre a 6T.

Hirota et al.<sup>[10]</sup> também investigaram os efeitos do campo magnético no comportamento hidrodinâmico da superfície da água e de soluções aquosas de sulfato de cobre que tinham uma suscetibilidade magnética bem pequena. Quando um campo magnético de 10T é aplicado ao recipiente contendo o líquido, através de um ímã super-condutor horizontal, observa-se alterações no nível da superfície da água ou das soluções. A superfície da água destilada no centro do campo magnético fica 39mm abaixo do nível padrão, considerado como sendo o nível da superfície na ausência do campo ou eixo zero. Este fenômeno é conhecido como “efeito Moisés”. Por outro lado, a superfície da solução de sulfato de cobre próxima à saturação fica acima do nível cerca da mesma altura, no centro do campo (“efeito Moisés reverso”). Como resultado, as soluções diamagnéticas de menor suscetibilidade magnética, incluindo a água destilada, apresentam uma queda no nível da superfície em relação ao eixo zero. Já aquelas com suscetibilidades paramagnéticas (maior concentração de  $\text{CuSO}_4$ ) apresentam comportamento contrário, uma elevação no nível da superfície em relação ao eixo zero.

Beaugnon e Tournier<sup>[11]</sup> observaram que vários materiais diamagnéticos como Bi, Sb, água, etanol, madeira, plástico, acetona e grafite, poderiam ser levitados sob campos magnéticos com gradientes elevados, gerados por um ímã super-condutor vertical de 27T. Tais materiais são, na verdade, fracamente diamagnéticos e quando submetidos a um gradiente do campo magnético tendem a ser conduzidos das regiões de campo forte para aquelas de campo mais fraco. Quando a força resultante é maior e mais forte que a gravidade, ocorre a levitação.

Utilizando um campo magnético bem mais fraco (0.35T), Fujiwara e Nishimoto<sup>[12,13]</sup> investigaram através de um DSC (Differential Scanning Calorimetry), os efeitos do campo magnético no congelamento de uma solução aquosa de cloreto de sódio. Os registros do DSC durante o congelamento da solução salina, exposta ao campo magnético, mostraram duas fases do composto eutético, isto é, o próprio composto e a sua associação com o oxigênio. O ponto de fusão do composto eutético sob influência do campo magnético é  $-21.7^{\circ}\text{C}$ , o mesmo da amostra congelada na ausência de campo magnético externo. No entanto, o ponto de fusão do composto associado ao oxigênio sofre uma mudança de  $-22.3^{\circ}\text{C}$ , valor da amostra não exposta ao campo magnético, para  $-23.9^{\circ}\text{C}$ , quando a amostra é congelada sob a ação do campo. Estes resultados sugerem uma nítida influência do campo magnético na formação do composto eutético da solução aquosa de NaCl associado ao oxigênio.

Joshi e Kamat<sup>[14]</sup> submeteram água tri-distilada a campos magnéticos de 0.19 a 0.57T. Seus resultados mostraram que o pH aumenta progressivamente de 0.35-0.62 unidades, a tensão superficial  $\gamma$  diminui de 1.6-5.3 dina/cm, e a constante dielétrica  $\epsilon$  aumenta 1.5 unidades. Admite-se que a diminuição da concentração dos íons  $\text{H}_3\text{O}^+$  provavelmente resulta de uma mudança na constante de ionização da água sob a influência de um campo magnético, apesar de não haver nenhuma explicação para estas mudanças em  $\gamma$  e  $\epsilon$ .

Outra pesquisa utilizando água tratada magneticamente foi realizada por Zhao et al.<sup>[15]</sup>, medindo-se as entalpias de solução de cloreto de potássio (KCl) em água exposta a um campo magnético de 0.8T. A temperatura foi mantida constante durante todo o experimento. As diferenças de entalpia de solução de KCl em água e em água magneticamente tratada são mensuráveis e, em geral, os valores de  $\Delta H$  para a água tratada são maiores que os obtidos para as soluções não tratadas magneticamente. Segundo os autores, uma possível razão para esta mudança energética pode estar relacionada com a distorção das ligações de hidrogênio das moléculas de água causada pelo campo magnético.

Na agronomia, vários estudos foram realizados utilizando-se água previamente tratada em campos magnéticos para irrigação e nutrição de animais. Lin e Yotvat<sup>[16]</sup> relataram surpreendentes resultados obtidos em algumas fazendas em Israel, com diversos animais - gado, cabra, ovelhas, galinhas, gansos e perus - e plantio de vegetais e frutas. Em geral, os animais tratados com água submetida a um campo magnético

apresentam uma melhora nas condições gerais e um aumento em sua produtividade específica. Um grupo de bezerros tratados com água submetida ao campo magnético teve um aumento de 12% no crescimento em relação ao grupo de controle. Um outro grupo de bezerros machos além do ganho de peso, continha 30 a 40 Kg a menos de gordura em suas carnes após 10 a 12 meses, em relação ao grupo de controle. Os gansos tratados tiveram um maior aumento de peso diário em relação aos não tratados com a água submetida ao campo magnético. As ovelhas apresentaram aumentos consideráveis na produção de leite, carne e lã. As frutas, de um modo geral, tiveram um aumento no tamanho e no teor de açúcar quando irrigadas com água tratada magneticamente. Devido aos excelentes resultados obtidos, o autor cita que até o momento em questão (1990), já existiam mais de 270 unidades de tratamento magnético de água operando nas fazendas locais.

Estudos conduzidos por Harari e Lin<sup>[17]</sup> no crescimento de melões, mostram que o tamanho, o número de frutas e o conteúdo de açúcar nos melões irrigados com água tratada magneticamente foram significativamente maiores do que aqueles irrigados com água normal (sem tratamento magnético). Levy et al.<sup>[18]</sup> também demonstraram que nutrindo bezerros machos com água tratada magneticamente resulta em carnes com menos gordura e maior retenção de nitrogênio. Os testes foram realizados em 7 grupos diferentes de bezerros com resultados bastante significativos.

Nosso grupo de pesquisa também tem realizado alguns experimentos na área agrícola neste último ano utilizando água tratada em campos magnéticos. Os campos magnéticos são obtidos através de ímãs portáteis com valores nominais variando entre 500 e 4500 Oe (0,005 e 0,045T). A água é deixada por algumas horas dentro de um recipiente de vidro colocado sob um dos pólos do ímã. Posteriormente, esta água tratada magneticamente é utilizada para germinação e irrigação de sementes de trigo em escala de bancada. Os resultados são comparados com lotes padrão, sob as mesmas condições experimentais, tratados com água comum (sem tratamento magnético). Observa-se que as sementes tratadas com a água submetida ao campo magnético absorvem maior quantidade de água (maior entumescimento dos grãos), há um aumento da quantidade de sementes germinadas (superior a 80%) e a planta tem um maior crescimento em relação ao lote padrão.

Entretanto, as condições experimentais relacionadas a intensidade do campo, tempo de exposição ao mesmo, entre outras, parecem ser muito críticas. Nossos estudos

mostram que de acordo com o arranjo experimental, tanto podemos obter excelentes resultados, quanto podemos diminuí-los drasticamente em relação ao lote padrão. Isso nos faz pensar que apesar dos autores que relatam aumentos na produtividade de animais e plantas quando tratados com água submetida a campos magnéticos, não citarem qualquer experiência em contrário, deve haver um controle rígido nas condições experimentais para que não ocorra uma diminuição dos rendimentos esperados.

Muitos outros estudos têm sido feitos na área bioeletromagnética utilizando-se a aplicação de campos magnéticos fortes em sistemas biológicos. Um exemplo é o trabalho realizado por Takeuchi et al.<sup>[19]</sup> nas células vermelhas do sangue (CVS). As CVS normais submetidas a um campo magnético de 8T são orientadas com os seus discos planos paralelos ao campo, enquanto que as CVS sólidas são orientadas com seus discos planos perpendiculares ao campo. A origem desta orientação oposta das CVS sólidas, talvez possa ser explicada pela introdução de uma orientação da hemoglobina dentro das células quando estas são solidificadas.

Ossenkopp e Kavaliers<sup>[20]</sup> realizaram experimentos com ratos machos expostos à campos magnéticos de baixa frequência, resultando em alterações dos efeitos analgésicos de determinadas classes de narcóticos. Os resultados demonstraram um claro efeito de inibição de analgesia por morfina nos ratos expostos ao campo magnético de baixa frequência em relação ao grupo de controle.

Outro estudo com ratos, feito por Kolosova et al.<sup>[21]</sup>, demonstrou uma aceleração da regeneração das fibras nervosas quando estes animais eram expostos a ondas de baixa intensidade da radiação eletromagnética.

Quanto mais as pesquisas avançam em relação ao eletromagnetismo, maiores são as aplicações tecnológicas fundamentadas nestes princípios. Uma grande proliferação e aperfeiçoamento destas técnicas pode ser observado no campo da medicina.

Em 1991, na Unicamp, Camargo Jr.<sup>[22]</sup> obteve resultados positivos através da técnica de estimulação eletromagnética pulsátil (EEMP) de fraturas não consolidadas em prazo normal. A percentagem de cura foi de 80% e observou-se que em alguns casos de tratamento longo com EEMP e imobilização, após a remoção do último gesso, as articulações próximas ao local exposto ao campo eletromagnético não se apresentavam rígidas ao fim das imobilizações prolongadas.

Outra aplicação tecnologia do magnetismo na área biomédica foi feita por Vladimírsky et al.<sup>[23]</sup> em 1993, desenvolvendo um método para o diagnóstico da

tuberculose, no qual utiliza partículas ferromagnéticas para concentrar a *M.tuberculosis* em amostras de saliva e posterior identificação em microscópio fluorescente. Este método alcançou uma alta sensibilidade na identificação da *M.tuberculosis* (98,7% dos casos), em relação aos métodos padrão: através de cultura, que é muito lento (76,5% dos casos) e através da microscopia fluorescente normal (53,9% dos casos).

O ceticismo em relação aos tratamentos magnéticos tem sido focado tanto na reprodutibilidade dos fenômenos observados, como na ausência de um mecanismo geral aceito que explique estes fatos.<sup>[3]</sup> Além disso, a forte dependência dos resultados com as condições experimentais utilizadas, implica em uma baixa previsibilidade de respostas da água tratada magneticamente. Resultados inconsistentes de efeitos de campos magnéticos sobre sistemas biológicos têm sido reportados em diversos experimentos envolvendo combinações de variáveis experimentais, tais como as espécies de animais, ambientes de exposição, frequência e densidade do fluxo do campo, tempo de exposição e a duração do processo biológico.<sup>[24]</sup> Dentre todas estas variáveis, o fator mais crítico parece ser a quantidade de exposição, definida pela densidade do fluxo e duração da exposição ao campo magnético. De uma maneira geral, breves exposições de materiais biológicos ao campo magnético, mesmo sob uma densidade de fluxo intensa, não têm produzido efeitos biológicos significativos.

Selye<sup>[25]</sup> demonstrou que as respostas orgânicas homeostáticas a estímulos externos seguem um padrão característico que ele chamou de “síndrome geral de adaptação” (“general adaptation syndrome” - GAS). O progresso da GAS leva um bom tempo, por isso é necessário uma observação cuidadosa de dias e até semanas para se certificar deste padrão. Nakagawa<sup>[24]</sup>, Barnothy e Barnothy<sup>[26]</sup>, Nakagawa e Matsuda<sup>[27]</sup> demonstraram que a reação de animais ao campo magnético estático ocorre dentro deste tipo de padrão GAS.

No tratamento magnético da água, Klassen<sup>[28]</sup> resumiu três fatores principais responsáveis pela baixa reprodutibilidade dos experimentos: variação da composição da água (obtida de diversas fontes), o impacto de efeitos externos que não são levados em consideração (incluindo flutuações do campo geomagnético), e finalmente, as diferenças nas condições do tratamento e das medidas. Alguns casos típicos de resultados negativos nesta linha de pesquisa podem ser encontrados nos estudos de Mirumyants et al.<sup>[30]</sup>, Gordon et al.<sup>[31]</sup>, Welder e Partridge<sup>[32]</sup>, e Hasson e Bramson<sup>[33]</sup>.

Apesar de encontrarmos muitas evidências experimentais e relatos de alterações do comportamento da água tratada magneticamente nas mais diversas áreas, não há um embasamento conceitual ou qualquer explicação para tais efeitos nos trabalhos em questão. Tais trabalhos propõem-se apenas a reportar o comportamento anômalo da água tratada em campos magnéticos. No entanto, a despeito da falta de mecanismos ou modelos que expliquem tais comportamentos, os efeitos e benefícios provenientes dos tratamentos magnéticos em água estão sendo amplamente utilizados em grande escala e a nível comercial. Recentemente, após o desenvolvimento de determinadas técnicas espectroscópicas e do avanço nas áreas de simulação computacional, muitos esforços têm sido direcionados no intuito de se propor modelos para uma maior compreensão da estrutura da água líquida.

## 1.b - Estudos teóricos e experimentais da estrutura da água líquida

A água é o solvente universal para reações bioquímicas. Sistemas aquosos podem ser tratados por várias teorias aceitas atualmente pelas ciências física e química, mas na prática, o comportamento e algumas de suas propriedades invalidam as aproximações simplificadas que formam as bases destas mesmas teorias.<sup>[34]</sup>

Historicamente, a água foi estudada com o auxílio do raio-X por Morgan e Warren<sup>[35]</sup> (1938) e depois por Narten e Levy<sup>[36]</sup> (1969). A primeira conclusão do trabalho foi que a água era ligada tetraedricamente de forma similar a que ocorre no gelo hexagonal. Ainda esta visão quase cristalina da água era insatisfatória por não levar em consideração a falta de ordem em grande parte do líquido e por ser necessário idealizar moléculas intersticiais no arranjo reticular para se aproximar dos valores experimentais quantitativos.

A despeito de muitos modelos existentes para as propriedades estáticas da água, não havia sido estabelecido até então, nenhum modelo que considerasse suas propriedades dinâmicas. Barker e Watts<sup>[37]</sup> (1969) e Rahman e Stillinger<sup>[38]</sup> (1971) foram os primeiros a realizar cálculos de dinâmica molecular da água líquida. A partir da análise destes dados concluiu-se que alguns tipos de movimentos moleculares cooperativos estão presentes na água líquida.

Quase que simultaneamente com este desenvolvimento de métodos de simulação computacional, o advento de fontes intensas de neutrons possibilitou experimentos para extrair funções de distribuição radial específicas da água e de soluções aquosas usando-se a então recente descoberta da técnica de substituição de isótopos (Enderby et al.<sup>[39]</sup>, 1966 e Nielson e Enderby<sup>[40]</sup>, 1983).

Ainda hoje o cálculo *ab initio* da estrutura e das propriedades de uma molécula de água isolada é difícil; no entanto, tais dificuldades são menores quando se investiga a interação de duas ou mais de tais moléculas.<sup>[34]</sup> A água não parece ser um sistema isotrópico, havendo diferentes contribuições de energia (ligações de hidrogênio, interações de van der Waals) para o fato de trímeros e agregados maiores de moléculas de água serem mais estáveis que dímeros. Ou seja, a interação de uma dada molécula de água com um “cluster” já existente de moléculas ligadas por ligações de hidrogênio é mais favorável e mais provável que a interação com uma outra molécula isolada para a

formação de um dímero. Este tipo de interação é chamado de interação cooperativa e acredita-se que as ligações de hidrogênio na água líquida formam um sistema altamente cooperativo.<sup>[34]</sup>

A manifestação física das ligações de hidrogênio da água líquida e do gelo torna-se aparente na espectroscopia de infravermelho e Raman. Os modos normais característicos da molécula de água isolada são notadamente perturbados quando a vibração da ligação O-H “sente” outra molécula de água orientada de tal forma que o seu par de elétrons livres se aproxime do átomo de hidrogênio da ligação vibracional em questão.<sup>[34]</sup>

Diferentes modelos que descrevem a estrutura da água podem ser divididos em duas classes principais: modelos de misturas e modelos contínuos.<sup>[42]</sup> O modelo de misturas é fundamentado no modelo de clusters de Frank e Wen<sup>[43]</sup> (1957), no qual a água líquida se compõe não apenas de monômeros ou de clusters interligados por ligações de hidrogênio, mas de um equilíbrio entre estas espécies distintas, o qual é alterado de acordo com a temperatura e pressão - figura 1, (a) e (b). O modelo assume que a fusão do cluster é acompanhada por uma diminuição de volume, análogo à fusão do gelo, e por isso é capaz de justificar várias propriedades anômalas da água. Esta idéia foi posteriormente desenvolvida por Nemethy e Scheraga<sup>[44,55]</sup> em um modelo mais sofisticado. A partir daí muitas questões começaram a surgir no que diz respeito a possibilidade dos clusters poderem ser reconhecidos como espécies distintas.

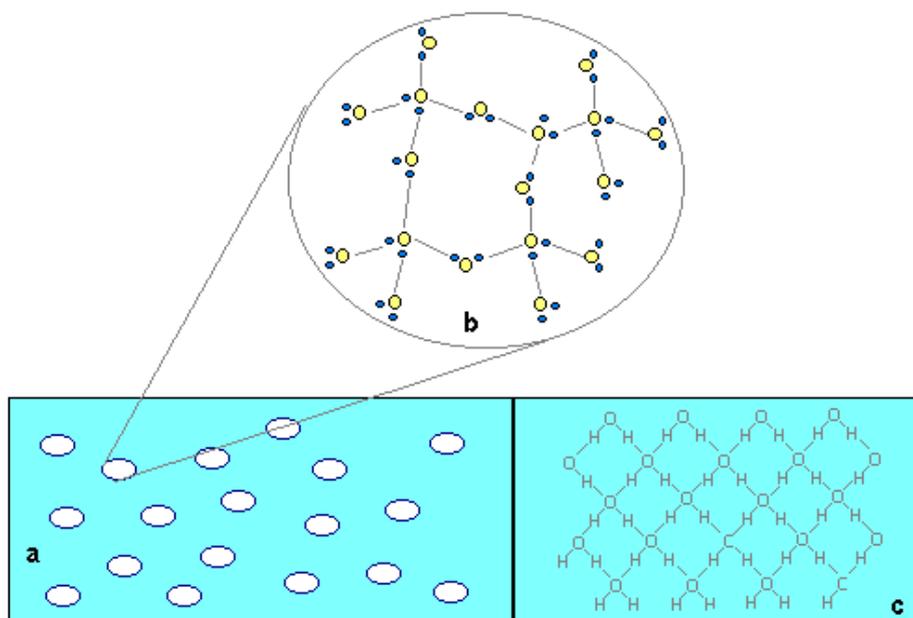
A origem do modelo contínuo remonta a Pople em 1950.<sup>[46,47]</sup> Neste modelo a estrutura da água líquida é, como o próprio nome já indica, uma rede contínua de moléculas de H<sub>2</sub>O em três dimensões interligadas por ligações de hidrogênio - figura 1 (c).

Outros modelos que tentam explicar a estrutura da água líquida, como por exemplo, o modelo de rede aleatória ou randômica (random network model) de Rice et al.<sup>[48,49]</sup>, e o modelo de percolação (percolation model) de Stanley et al.<sup>[50]</sup>, podem ser vistos como extensão dos modelos contínuo e de misturas, respectivamente.

Nos diversos estudos que tratam a estrutura da água líquida como um conjunto de clusters observa-se que estes contém um número variável de unidades (H<sub>2</sub>O), que depende não somente da temperatura, como também da adição de solutos e outros fatores.<sup>[51]</sup> Estudos recentes de água e soluções aquosas através de espectroscopia de infravermelho (ATR), indicam a presença de diferentes espécies de água no meio.

Análises da estrutura vibracional da água com a variação da temperatura, mostram dois tipos diferentes de água, consideradas como “água livre” e “água ligada”. Já na presença de um soluto, além dos dois tipos de água (“livre” e “ligada”), aparece mais um relacionado à água ligada ao íon presente na solução.<sup>[52,53]</sup>

As idéias básicas dos modelos de misturas e contínuo são muito diferentes. Sucessos moderados têm sido alcançados na utilização de cada modelo quando são escolhidos parâmetros apropriados.<sup>[54]</sup> Desde então, muitos pesquisadores têm investigado propriedades dinâmicas e termodinâmicas de vários clusters e sistemas líquidos em termos de estruturas inerentes. Em sua grande maioria, os trabalhos que abordam alterações do comportamento da água, ou aqueles que estudam sua estrutura através de espectroscopia, se utilizam do modelo de mistura ou tratam diretamente de clusters, para explicar as observações experimentais.



**Figura 1.** Representação ilustrativa dos modelos contínuo e de misturas : (a) clusters isolados na rede contínua de moléculas de água (modelo de misturas) ; (b) ampliação de um cluster de água; (c) rede contínua de moléculas de água (modelo contínuo).

Estudos feitos por Senior e Verrall<sup>[55]</sup> (1969) e por Libnau<sup>[42]</sup> et al. (1994), entre outros, prevêem duas estruturas diferentes para a água líquida. Nestes estudos, o aparecimento de um ponto isobéptico (onde diferentes espécies apresentam a mesma absorção no espectro infravermelho) corrobora esta indicação, já que este ponto pode ser associado com o equilíbrio dinâmico de duas classes de moléculas de água - “água livre” e “água ligada”. Considera-se “água ligada” aquela que apresenta consideráveis interações intermoleculares detetáveis no espectro infravermelho.<sup>[52,53]</sup> Na nossa opinião,

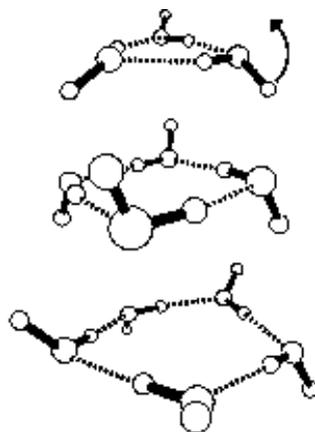
este resultado não se acomoda facilmente num modelo contínuo, onde a existência de dois tipos de água não é prevista. O modelo de clusters, do qual estes resultados não constituem uma prova cabal, explicaria de forma mais adequada este tipo de comportamento.

Os efeitos da adição de solutos na estrutura da água também têm sido intensamente investigados pela espectroscopia vibracional.<sup>[56-59]</sup> A adição de solutos à água modifica as interações fracas e seu direcionamento, podendo resultar em um estado energético mais, ou menos, favorável, do ponto de vista puramente entálpico (dissoluções endo ou exotérmicas). No modelo de misturas da água, o soluto deverá mudar, preferencialmente, a população entre os tipos individuais de água, mais do que alterar a simetria das suas moléculas (efeitos populacionais).<sup>[56]</sup>

Os diferentes comportamentos da água líquida têm sido intensamente investigados devido a sua importância em sistemas químicos e biológicos<sup>[60]</sup>. Muitos trabalhos recentes, teóricos<sup>[60-77]</sup> e experimentais<sup>[78-100]</sup>, relacionados ao estudo de clusters de água, relatam resultados de avanços para um maior detalhamento da descrição molecular da água.<sup>[78]</sup> Estes resultados têm sido aplicados diretamente na abordagem de problemas de interesse atual, tais como, a formação de chuva ácida<sup>[84,85]</sup>, a absorção anômala da luz do sol pelas nuvens<sup>[86]</sup> e a nucleação de gotículas de água.<sup>[87]</sup> Os pentâmeros cíclicos de água parecem ter grande similaridade com estruturas fundamentais na hidratação de biomoléculas.<sup>[83]</sup> Por exemplo, estudos de Raio-X revelam arranjos de 16 moléculas de água em sítios hidrofóbicos de proteínas em uma formação concatenada de pentágonos circundando o grupo metila da leucina.

Comportamentos similares têm sido encontrados em outras proteínas e polímeros de DNA<sup>[83]</sup>. Simulações computacionais indicam que os pentágonos de água são estruturas dominantes em hidratações de sítios hidrofóbicos, mas também existe a tendência de formação de anéis de 6 e 7 membros a medida que a hidrofobicidade do soluto aumenta.<sup>[83]</sup>

O desenvolvimento da espectroscopia de infravermelho vibracional-rotacional de tunelamento (far-infrared vibration-rotation-tunnelling, FIR VRT, spectroscopy), tem permitido as primeiras observações de alta resolução de trímeros<sup>[78,90]</sup>, tetrâmeros<sup>[81,91,96]</sup>, pentâmeros<sup>[80,82,92]</sup> e mais recentemente, hexâmeros de água<sup>[62,79,93]</sup> - figura 2. Esta técnica tem provado ser uma ferramenta poderosa para o acesso de informações estruturais e da dinâmica da água<sup>[82]</sup>, além de estar suportando as predições teóricas.<sup>[89]</sup>



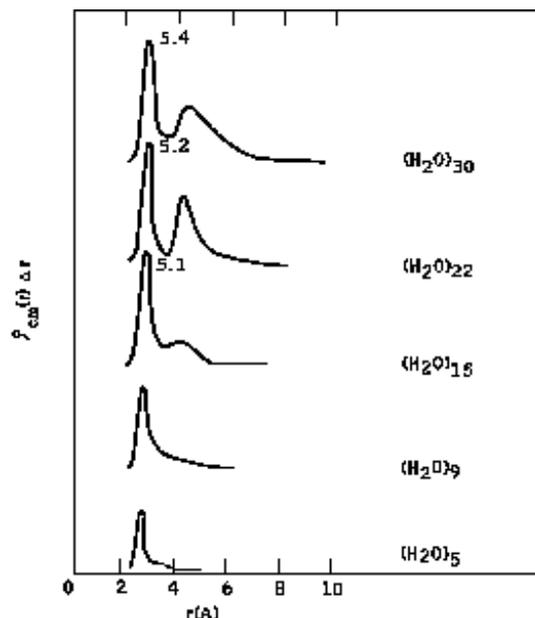
**Figura 2.** Predição teórica de estruturas em equilíbrio de trimeros, tetrâmeros e pentâmeros de água, que têm sido confirmadas pela espectroscopia de infravermelho vibracional-rotacional de tunelamento (VRT). As linhas pontilhadas representam ligações de hidrogênio.<sup>[83]</sup>

Estudos mais comuns de propriedades dos clusters incluem suas estruturas geométricas e eletrônicas relacionadas com propriedades tais como a energia de ligação dos clusters.<sup>[60]</sup> Devido à complexidade das interações das moléculas de água, que é dominada pelas ligações de hidrogênio, as estruturas químicas dos clusters de água são difíceis de se determinar.

Estudos teóricos de baixas energias de conformação de clusters de diferentes tamanhos têm sido feitos e algumas estruturas cíclicas se revelam as mais estáveis. As estruturas cíclicas admitidas para trimeros de água passando para pentâmeros têm, cada uma delas, mostrado ser as estruturas mais estáveis em seus respectivos tamanhos. Recentemente, hexâmeros isoenergéticos de água têm sido preditos usando-se modelos potenciais<sup>[72]</sup>, ab initio<sup>[69,73,74]</sup> e métodos de funções de densidade.<sup>[60,77]</sup> Clusters maiores, como  $(\text{H}_2\text{O})_8$  e  $(\text{H}_2\text{O})_{20}$ , também têm sido investigados recentemente pelo método de Monte Carlo<sup>[71]</sup> e dinâmica molecular.<sup>[64-68]</sup> Lee, Chen e Fitzgerald<sup>[60]</sup> estudaram, através do método de funções de densidade, uma ampla faixa de clusters de água de diferentes tamanhos -  $(\text{H}_2\text{O})_n$ , com  $n = 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 16, \text{ e } 20$ . Concluiu-se que os clusters com 4, 8, 12, 16 e 20 moléculas de água são significativamente mais estáveis que os demais.

Briant e Burton<sup>[61]</sup> realizaram estudos de dinâmica molecular de microclusters de água contendo de 2 a 30 moléculas. Foram investigadas as seguintes propriedades desses clusters : energia interna total como uma função do tamanho dos clusters, funções de densidade radial, padrões de ligações de hidrogênio dentro dos microclusters, orientação de dipolo das moléculas de água e energias de superfície dos microclusters. Dentre as conclusões mais relevantes estão que:

1. A molécula de água próxima ao centro de massa tem aproximadamente cinco vizinhos próximos (nem todas as moléculas vizinhas formam ligações de hidrogênio) - figura 3.
2. O número de ligações de hidrogênio por molécula é inferior ao da água que faz parte do seio da solução. O número de ligações que uma molécula forma depende de sua localização em relação a superfície do cluster.
3. Os momentos de dipolo de moléculas perto da superfície são orientados aleatoriamente por um potencial simétrico. Para um potencial não simétrico, as moléculas de água da superfície do cluster tendem a ter seus hidrogênios voltados para o centro do cluster.



**Figura 3.** O centro de massa da função de densidade radial para clusters de água contendo 5, 9, 15, 22 e 30 moléculas obtidas ao redor da molécula central. O número sobre o primeiro pico é correspondente aos números de coordenação. O pico inicial do cluster  $(H_2O)_5$  corresponde a um número de coordenação de 2.0 - 3.0. <sup>[61]</sup>

Lonzenen<sup>[99]</sup> criou um processo de preparação de água microclusterizada (Microclustered Water), o qual patenteou em janeiro de 1998, onde a água produzida possui propriedades variadas de acordo com o “template” (gabarito ou substância modelo adicionada à água). O “template” é um material adicionado à água microclusterizada para criar uma estrutura molecular específica que alcance os resultados desejados. A preparação da água microclusterizada consiste nas seguintes etapas :

1. Levar a água de partida à ebulição para produzir vapor;
2. passar o vapor através de um campo magnético (gerado por materiais como magnetita e óxidos de ferro);
3. expôr o vapor a radiação monocromática de comprimento de onda entre aproximadamente 610nm a 1mm;
4. condensar o vapor a uma temperatura superior a 0°C;
5. adicionar pelo menos um estabilizante ao vapor condensado, que deve ser um sal de metasilicato (preferencialmente um metasilicato de sódio ou lítio, em uma concentração entre 0.1  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  e 4  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ );

6. adicionar um “template”, preferencialmente em concentração igual ou inferior a 0.1%;
7. expôr o vapor condensado a uma pressão maior que 1 atm (em condições ideais, o sistema é agitado neste estágio);
8. despressurizar o vapor condensado, produzindo água microclusterizada.

A ordem dos itens 5 e 6 pode ser invertida sem qualquer prejuízo. A água microclusterizada é então, diluída entre  $10^3$  a  $10^{20}$  vezes em água comum e estocada para uso. O produto da água microclusterizada é utilizado em medicamentos para tratamentos de infecções virais e em medicamentos que promovem o crescimento de organismos vivos. O processo também pode ser usado para produzir medicamentos para tratar queimaduras, dores, diabetes e em produtos agrícolas e catalisadores. A água microclusterizada é caracterizada por apresentar um sinal na espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^{17}\text{O}$ , inferior a 115Hz ; condutividade de no mínimo  $3.7 \mu\text{S/cm}$  ; e tensão superficial inferior a 61 dinas/cm. Acredita-se que o produto apresente microclusters contendo entre 3 e 15 moléculas de água e complexos formados na solvatação do “template” em solução. Microclusters de 5 a 7 moléculas são mais eficientes, sendo os de 5 moléculas considerados os melhores. Clusters de tamanhos superiores devem apresentar efeitos biomédicos menores.<sup>[99]</sup>

A Shimadzu Corporation patenteou<sup>[100]</sup> um método de medida simples de amostras de água, através de espectroscopia de absorção, em um determinado comprimento de onda. No entanto, as diferenças entre os espectros das amostras em relação à água utilizada como referência são muito pequenas e se sobrepõem. Para evidenciar as diferenças entre os espectros é obtido um espectro diferencial entre uma amostra de água de referência e a amostra de água em estudo, que após ser analisado por um programa computacional específico é capaz de indicar os tamanhos relativos dos clusters.

Na área de produtos comerciais, a água desclusterizada (declustered water) ou microclusterizada (microclustered water) tem sido utilizada como princípio ativo de alguns produtos lançados no mercado recentemente em setores diversos. Na cosmetologia, a La Mer<sup>[101]</sup> lançou este ano, loção, gel e tônico para a pele, utilizando como princípio ativo a água desclusterizada. Na farmacologia, alguns produtos como sprays nasais e loção para

os olhos (colírio), têm sido lançados utilizando água microclusterizada<sup>[102]</sup>. No tratamento de água para uso residencial, a Aqua-Doc<sup>[103]</sup> e a Mundimex Companies<sup>[104]</sup> possuem sistemas portáteis utilizando campo magnético para o condicionamento de água.

No Brasil estamos desenvolvendo, em parceria com a iniciativa privada, tecnologia que permite a industrialização de produtos tratados magneticamente. Os resultados iniciais são bastante promissores.

## 2. Objetivo do trabalho

O objetivo deste trabalho é responder a seguinte indagação :

- Se o campo magnético pode, aparentemente, determinar diversos arranjos estruturais em água, é possível induzi-lo a produzir um arranjo específico e pré-determinado?

Para responder a esta questão, a idéia básica foi a de utilizar uma solução aquosa como referência (por exemplo, soluções aquosas de  $BaCl_2$ ,  $CaCl_2$ ,  $KCl$ , e outras que tivessem efeitos farmacológicos) e tentar , através do modelo de organização do solvente destas soluções, reproduzir os efeitos populacionais da água tratada magneticamente, como uma imagem da solução utilizada como referência, apesar da ausência de soluto. Se isto for possível, as propriedades desta água podem ser previstas e pré-selecionadas, contribuindo para resolver o problema atual de pouca previsibilidade dos resultados nesse tipo de operação.

A experiência consiste basicamente em acoplar os efeitos pouco conhecidos do campo magnético sobre a estrutura da água com as alterações esperadas sobre a mesma pela adição de solutos.

### 2.a - Desenvolvimento de pesquisa

Nosso maior empenho foi no sentido de obter uma água com alterações de suas propriedades suficientemente estáveis, capaz de apresentar resultados em sistemas vivo e não vivo, apesar de todas as possíveis interferências referentes às próprias medidas físico-químicas e ao meio no qual esta água é adicionada para promover alterações de comportamentos biológicos.

O desenvolvimento deste trabalho baseou-se em testar várias montagens experimentais, que em princípio, pudessem induzir uma alteração no comportamento da água quando esta é submetida a um campo magnético na presença de uma solução real sob o mesmo campo. Como se verá mais adiante, a água assim tratada é capaz de reproduzir vários comportamentos esperados para a solução real utilizada como referência. Esta água que sofreu alterações a partir da interação com uma solução real passamos a chamar de ***solução imagem***.

A ***solução imagem***, então, é ***água desionizada*** após ter passado por tratamento magnético na presença de uma solução real, que passou a apresentar comportamentos diferentes da água desionizada comum. Para verificar-se esses diferentes comportamentos da água, passou-se a testar a solução imagem em sistemas biológicos, procurando-se avaliar seus efeitos mediante uma correlação com os efeitos esperados pela solução real utilizada como referência dentro do campo magnético. Simultaneamente, mediu-se algumas propriedades físico-químicas básicas das soluções imagem para ter-se uma idéia de que tipo de alteração o processo está impondo à água que passamos a chamar de solução imagem.

Talvez o fator mais relevante do desenvolvimento deste trabalho seja que quando se tenta alterar a estrutura da água, a partir de uma solução real, os sistemas biológicos respondem qualitativamente à ação desta solução imagem como se fosse a solução real utilizada como referência. As respostas obtidas pela aplicação de soluções imagem a sistemas biológicos, em geral, são menos intensas e muitas vezes mais lentas do que a aplicação de uma solução real. No entanto, os efeitos existem, são mensuráveis e principalmente, promovem os mesmos sintomas esperados pela solução real. Estes efeitos são reprodutíveis e foram observados dezenas de vezes ao se repetir a experiência. Também no caso das medidas físico-químicas, os valores obtidos para as soluções imagem distinguem-se claramente daqueles obtidos para água, observadas as incertezas das medidas.

Até o ponto onde esteja de fato ocorrendo uma alteração no modelo estrutural da água, estas observações indicam uma nova interpretação para os verdadeiros fatores que determinam a atividade biológica de uma solução. Aparentemente, efeitos devidos à orientação do solvente têm sido historicamente atribuídos ao soluto.

Apesar de não ser objetivo deste trabalho tentar explicar as possíveis alterações estruturais sofridas pela água e oferecer modelos ou mecanismos para estas alterações, os parâmetros físico-químicos das soluções imagem que apresentam variações em relação à água desionizada não submetida ao campo magnético, podem servir para uma maior compreensão dos modelos de atividades biológicas em pesquisas futuras.

### 3. Argumentação teórica

As propriedades elétricas e magnéticas da matéria são análogas.<sup>[105]</sup> Algumas moléculas possuem momentos de dipolo magnético permanente e um campo magnético aplicado pode induzir um momento magnético.

Em analogia à polarização elétrica  $P$  está a magnetização  $M$ , momento de dipolo magnético por unidade de volume. A magnetização induzida por um campo magnético é proporcional à sua intensidade,  $H$  :

$$M = \chi H \quad \text{equação (1)}$$

onde,  $\chi$  é a suscetibilidade magnética (adimensional).

A suscetibilidade magnética molar é :

$$\chi_m = \chi V_m \quad \text{equação (2)}$$

onde,  $V_m$  é o volume molar da substância.

A densidade de fluxo magnético  $B$  está relacionada à força do campo aplicado e a magnetização, através da seguinte expressão :

$$B = \mu_0 (H + M) = \mu_0 (1 + \chi) H \quad \text{equação (3)}$$

onde,  $\mu_0$  é a constante fundamental de permeabilidade no vácuo ( $\mu_0 = 4\pi \cdot 10^{-7} \text{ J C}^{-2} \text{ m}^{-1} \text{ s}^2$ ).

A densidade de fluxo magnético pode ser vista como a densidade de linhas de força permeando o meio. Esta densidade aumenta se  $M$  for somado a  $H$  (quando  $\chi > 0$ ), e a densidade diminui quando  $M$  se opõe a  $H$  (quando  $\chi < 0$ ). Materiais nos quais  $\chi$  é positivo são chamados de paramagnéticos. Aqueles nos quais  $\chi$  é negativo são chamados de diamagnéticos.

A aplicação de um campo magnético  $H$  a uma substância diamagnética é responsável pela indução de um momento magnético cuja direção é oposta à do campo externo aplicado. Este é um efeito exatamente oposto ao produzido pelo paramagnetismo, onde o dipolo magnético (permanente) tende a se alinhar na mesma direção do campo externo.<sup>[29]</sup>

Em 1895, Pierre Curie descobriu experimentalmente que a magnetização  $M$  de uma amostra paramagnética é diretamente proporcional ao valor efetivo  $B$  da indução magnética e inversamente proporcional à temperatura, ou seja,<sup>[29]</sup>

$$M = C (B / T) \quad \text{lei de Curie - equação (4)}$$

onde,  $C$  é uma constante.

Já nos materiais ferromagnéticos existe, entre os átomos vizinhos, um tipo especial de interação chamado de “acoplamento de troca”, o qual une os seus momentos magnéticos em um paralelismo rígido. Nestes materiais ocorre um efeito especial que permite um alto grau de alinhamento dos momentos magnéticos elementares de uma amostra. Este efeito desaparece subitamente quando a temperatura ultrapassa um certo valor crítico, conhecido pelo nome de temperatura de Curie, acima do qual não há mais interação de troca, passando a substância a ser simplesmente paramagnética.<sup>[29]</sup>

Nos últimos anos se tornou bem conhecido que campos magnéticos fracos ( $H < 100$  Oe) podem influenciar a recombinação geminada de pares iônicos radicalares via transferência de elétrons fotoinduzidos em soluções polares.<sup>[106,107]</sup> Nestes casos, um campo magnético externo pode modular o rendimento de produtos recombinados, aumentando a população do estado singlete (orientação de spin anti-paralelo => reação permitida), e diminuindo a população do estado triplete (spins paralelos => reação inibida).

Apesar de não haver nenhuma explicação a nível mecanístico da interação do campo magnético com substâncias diamagnéticas, a orientação magnética de um cristal diamagnético pode ser atribuída à anisotropia das suscetibilidades magnéticas.<sup>[4]</sup> A diferença de energia livre induzida pelo campo magnético,  $\Delta G$ , que resulta da diferença entre duas suscetibilidades magnéticas ao longo de cada eixo da cela unitária, é dada pela equação:

$$\Delta(\Delta G) = - (1/2) (1/\mu) (\chi_{mi} - \chi_{mj}) H^2 \quad \text{equação (5)}$$

onde,  $\chi_{mi}$  e  $\chi_{mj}$  são as suscetibilidades magnéticas molares ao longo dos eixos i e j da cela;  $\mu$  é a permeabilidade magnética e  $H$  é a intensidade do campo magnético.

Quando  $\Delta(\Delta G)$  torna-se equivalente a energia térmica, a orientação do cristal passa a ocorrer. A orientação magnética de cristais diamagnéticos orgânicos e inorgânicos em meios aquosos parece ocorrer comumente quando os cristais possuem grande suscetibilidade diamagnética anisotrópica.

Giudice et al.<sup>[108]</sup> mostraram que a interação, usualmente negligenciada, entre o dipolo elétrico da molécula de água e a radiação eletromagnética quantizada pode ser tratada através de cálculos dinâmicos teóricos de campo quantizado. Investigaram como os dipolos elétricos da molécula de água, sob condições apropriadas, poderiam interagir coerentemente com os modos selecionados das radiações do campo, assim como ocorre no laser de elétron livre. Aplicando algumas aproximações que têm sido empregadas com sucesso na descrição da dinâmica do laser de elétron livre, o modelo para água líquida, em um volume  $V$ , é definido pelo Hamiltoniano ( $\mathbf{H}$ ):

$$\mathbf{H} = \sum_{j=1}^N \mathbf{H}_j \quad \text{equação (6)}$$

$$\mathbf{H}_j = (1/2 \mathbf{I}) L_j^2 + \mathbf{A} \cdot \mathbf{d}_{ej} \quad \text{equação (7)}$$

onde,  $A$  denota o campo eletromagnético da radiação ;  $N$  é o número de moléculas de água no volume  $V$ ;  $L_j$  é o momento angular total de uma única molécula ;  $\mathbf{I}$  é seu momento de inércia médio; e  $\mathbf{d}_e$  seu vetor de dipolo elétrico.

Nos estudos de dinâmica da água, a negligência da interação coerente das moléculas de água com o campo de radiação quantizada é completamente injustificável. É extremamente relevante que bandas em determinadas frequências possam ser relacionadas às bandas de absorção observadas na água desionizada. A interação coerente entre o dipolo elétrico da água e a radiação de campos deve ser considerada e é de grande importância para o entendimento da ação dos campos que geram uma ordenação em compostos diamagnéticos.<sup>[108]</sup>

Entende-se aqui que se a interação entre campos magnéticos e água não é, por um lado, exatamente esperada de ocorrer, por outro lado, não é também um caso único de interação verificável entre substâncias químicas diamagnéticas com o campo magnético.

## Capítulo II

“ Não é paradoxo dizer que nos momentos de inspiração mais teórica podemos estar o mais próximo possível de nossas aplicações mais práticas.”

**A. N. Whitehead.**

#### **4. Arranjos experimentais de preparação da solução imagem**

Conforme mencionado anteriormente, a alteração de propriedades da água quando submetida a um campo magnético não é ainda explicada por modelos físicos ou matemáticos. Depreende-se daí que uma proposta de montar arranjos experimentais que induzam alguma alteração nas propriedades da água, e ainda mais, de condicionar esta alteração oferecendo um modelo de solução aquosa, envolve uma série extenuante de tentativas experimentais.

Algumas dúvidas usuais como a existência ou não de uma barreira de potencial a ser vencida entre as duas configurações, o efeito da temperatura, da concentração da solução de referência, etc..., foram averiguadas experimentalmente. A estabilidade do produto final frente às medidas que se fizeram para testar as propriedades da solução imagem e a eventual necessidade de estabilizantes foram investigadas. Adiciona-se a isso o fator cinético do processo de preparação da solução imagem, que também foi estudado extensamente.

Ressalte-se aqui a total ausência de relatos experimentais e a morosidade de cada teste de montagem para investigar a reprodutibilidade das medidas e otimizar tempos de residência e valores de campos magnéticos.

Se somarmos a estas dificuldades a necessidade de testar outras formas de transferência de informação (elétrica, por exemplo), e alterações das propriedades da água, chegaremos a mais de 50 montagens experimentais diferentes investigadas no curso deste trabalho. Foram elaborados arranjos experimentais baseados em idéias de transferência de informações através de luz, corrente elétrica, pelo simples contato dos frascos contendo as soluções imagem e de referência, campos magnéticos, etc. Aliado a isso, testou-se diversas formas geométricas, diferentes materiais, isolamento eletromagnético em gaiolas de Faraday, agitação mecânica das soluções, aquecimento ou resfriamento da água durante o processo, utilização de estabilizantes, distâncias entre ímãs, variação das concentrações das soluções de referências, entre outros.

Após diversas experiências com a água obtida nas várias montagens experimentais, optou-se por trabalhar com água desionizada pura, em um arranjo experimental utilizando campo magnético, na presença de solução real usada como referência. A montagem selecionada foi a que, até o momento apresentou resultados

mais reprodutíveis, tanto nas análises de propriedades físico-químicas, como em atividades biológicas. A seguir detalhamos o arranjo experimental selecionado.

#### 4.a - Preparação de soluções imagem

Neste arranjo experimental foram utilizados ímãs de neodímio no formato circular (diâmetro = 2,2 cm, espessura = 1,0 cm), com valor nominal de campo de 4.500 Oe. O campo magnético aplicado é colocado na vertical e a distância entre os ímãs é de 7,0 cm, o que corresponde a uma intensidade de campo magnético de 180 Oe. A água desionizada é colocada em um frasco de vidro fino, com tampa de plástico, juntamente com microesferas de vidro (PORAPAX, tipo Q-S, mesh = 35-46, batch = 51802), até que se preencha uma camada de 5 mm no fundo do frasco. O frasco contendo a água desionizada e as microesferas de vidro (1), é colocado sobre uma cerâmica porosa embebida com a solução real utilizada como referência (2). Todo este conjunto é colocado dentro do campo magnético vertical na configuração atrativa, montado sobre uma placa de vidro, como mostra a figura 4. A concentração da solução de referência deve variar entre 2,0 e 2,5 mol.L<sup>-1</sup>. Após o período de preparação da solução imagem, o frasco (1) é retirado da montagem, lavado externamente e a solução é deixada em repouso. Tempo de exposição no campo magnético para um volume de 20mL de água desionizada - 14hs; tempo de repouso - 12hs.

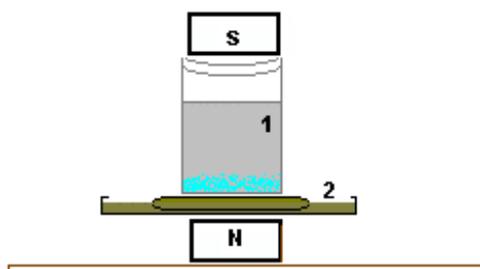


Figura 4. Arranjo experimental de preparação da solução imagem.

#### 4.b - Procedência dos reagentes utilizados

1) Água desionizada - resistividade = 18.2 MΩ cm / Milli-Q plus - Millipore.

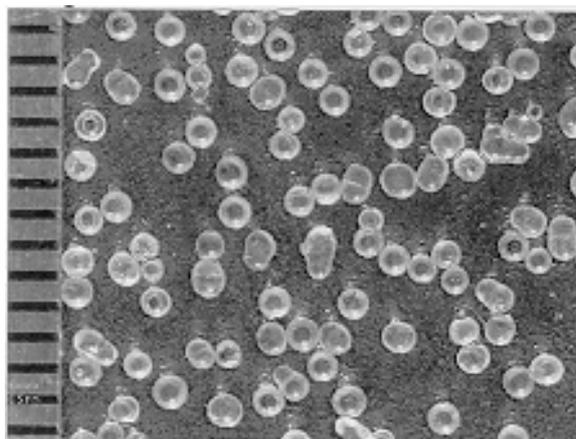
- 2) Cloreto de bário dihidratado, PA - ACS ( $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) - Merck.
- 3) Acetato de sódio, PA, anidro - pó ( $\text{NaOAc}$ ) - Baker .
- 4) Cloreto de potássio, PA, cristal ( $\text{KCl}$ ) - Cinética Química Ltda.
- 5) Cloreto de Magnésio hexahidratado, PA - ACS ( $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) - Reagen / Quimibrás Indústrias Químicas S.A
- 6) Hidróxido de sódio, PA, lentilhas ( $\text{NaOH}$ ) - Merck.
- 7) Cloreto de cálcio, PA, anidro - pó, ( $\text{CaCl}_2$ ) - Nuclear.
- 8) Sulfato de cobre (II) pentahidratado, PA - ACS ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) - Merck .

#### 4.c - Testes com superfícies

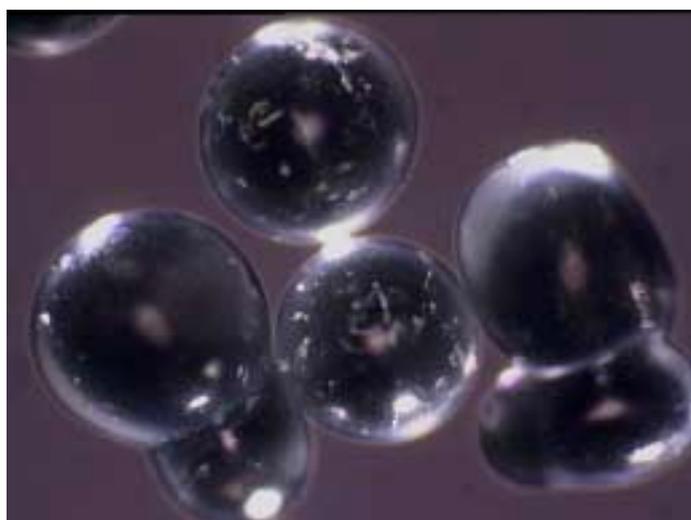
Após longo tempo de trabalho nas montagens experimentais, observou-se que as soluções imagem continuavam sob processo de elaboração, mesmo depois de retiradas do campo aplicado. O fato intrigante que havia era que, deixadas em repouso em frascos fechados, essas soluções continuavam a exibir alterações progressivas de alguns parâmetros físico-químicos, notadamente da condutividade elétrica, com o passar do tempo. Descartada a possibilidade da dissolução de gás carbônico, pelo acompanhamento de testes em branco, passou-se a investigar a possibilidade destas alterações estarem ocorrendo na superfície do material utilizado para conter tais soluções (vidro). Fez-se alguns testes com várias superfícies para a averiguação desta hipótese. Inicialmente, testou-se sílica-gel, carvão ativo, porcelana porosa, microesferas de vidro, microcerâmica porosa, entre outros. Algumas destas superfícies promovem, por si só, um aumento da condutividade da água, o que dificulta a observação das respostas na questão enfocada. Dentre as superfícies testadas até o momento, selecionou-se as microesferas de vidro por não contaminarem ou reagirem com o meio (água desionizada) e por apresentarem resultados na direção esperada, ou seja, um aumento significativo nos valores de parâmetros físico-químicos das soluções imagem, se comparado com o processo na ausência desta superfície. As soluções imagem obtidas desta forma, acompanhadas até 30 dias após a preparação, exibiram valores estáveis de condutividade elétrica e de outras propriedades físico-químicas. Foram testados padrões diferenciados de água desionizada utilizada como branco: água desionizada comum, água desionizada com as microesferas de vidro e água desionizada submetida apenas ao

campo magnético de mesma intensidade utilizada no processo. Nenhum dos padrões apresentou variações significantes nos parâmetros estudados.

Fez-se uma avaliação das microesferas por Análise de Imagem utilizando o seguinte sistema: Câmera Pulnix TMC-74 , com lente de 75 mm, 6 espaçadores e iluminação Fostec ring light e lâmpada dicrômica, para microfilmagem (figura 5 - a escala ao lado da imagem corresponde à 0,5 mm). Obteve-se também imagens das microesferas através de microscópio Olympus BH-2, com aumento de 133 vezes e câmara JVC TK1085U (figura 6).



**Figura 5.** Análise de Imagem de microesferas de vidro.



**Figura 6.** Imagem das microesferas de vidro obtida em microscópio.

Especificação das microesferas de vidro : PORAPAX, tipo Q-S, mesh = 35-46 e batch = 51802. Cálculos relacionados às microesferas foram realizados utilizando-se o programa Optimas versão 6.0 :

**Tabela 1** - Especificações das microesferas de vidro : área média = 0,17 mm<sup>2</sup>

Porcentagem	Área (mm <sup>2</sup> )	Diâmetro equivalente (mm)	Circularidade	Perímetro (mm)
0.1	0.12	0.38	14.15	1.31
0.5	0.18	0.47	14.65	1.60
0.9	0.22	0.53	16.40	1.82

A circularidade é igual ao perímetro dividido pela área. O diâmetro equivalente corresponde ao diâmetro que teria a esfera perfeita que possuísse o mesmo valor de área (na verdade, as microesferas não são exatamente esféricas, como pode-se observar nas figuras 5 e 6).

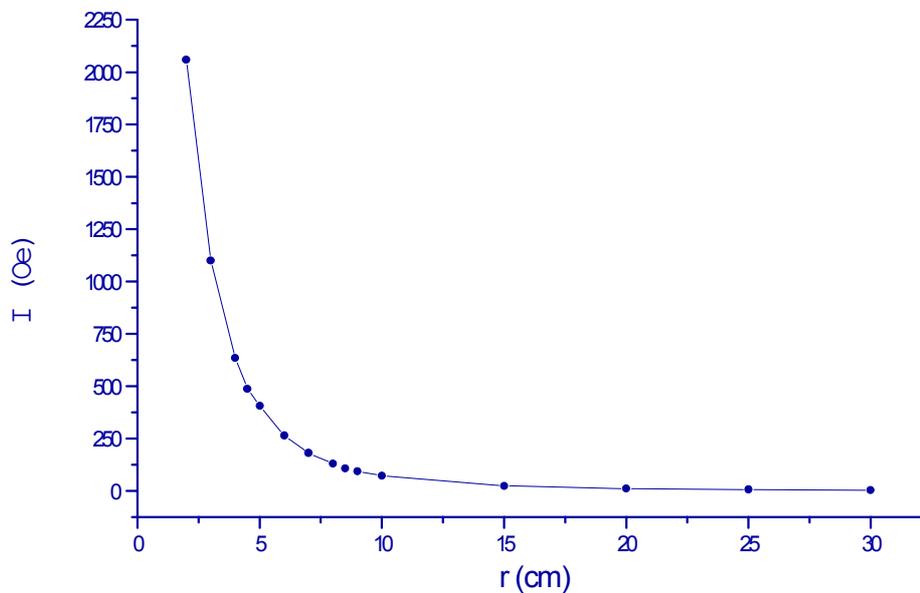
Apesar de estar-se utilizando as microesferas de vidro no intuito de aumentar a superfície de contato com a água enquanto submetida ao campo magnético, pesquisas com outras superfícies têm sido feitas com a mesma finalidade. Testes ainda não conclusivos nesta direção estão sendo realizados para a otimização do processo de preparação de soluções imagem.

#### **4.d - Intensidade do campo magnético**

Nas montagens experimentais utilizadas para a preparação das soluções imagem foram testadas diversas distâncias entre os ímãs, com conseqüente variação da intensidade do campo magnético aplicado. A seguir apresentamos a variação da intensidade do campo magnético com a distância entre os ímãs de neodímio utilizados. Estas medidas foram realizadas no Laboratório de Materiais do Instituto de Física da Unicamp, utilizando-se o aparelho Gauss/Tesla Meter - F.W.Bell / Modelo-4048, cedido pelo Prof. Dr. Marcelo Knobel.

**Tabela 2** - Distância ( $r$ ) entre os pólos dos ímãs, em centímetros, e a intensidade do campo magnético ( $\mathcal{I}$ ) correspondente, em Oersted.

$r$ (cm)	$\mathcal{I}$ (Oe)
2,0	2060
3,0	1120
4,0	635
4,5	488
6,0	264
7,0	180
8,0	130
8,5	108
9,0	94
10,0	72
15,0	24
20,0	11
25,0	6
30,0	3



**Figura 7.** Gráfico com os dados da tabela 2 - a intensidade do campo magnético -  $\mathcal{I}$  (Oe), versus, a distância correspondente entre os ímãs -  $r$  (cm).

#### **4.e - Propriedades das soluções imagem**

As soluções imagem foram testadas através de dois tipos de medidas - ensaios biológicos e propriedades físico-químicas.

Os ensaios biológicos foram realizados em animais “in vivo” e “in vitro” (órgãos, parte de órgãos ou segmentos de músculos do animal) para evidenciar os efeitos farmacológicos das soluções imagem. Após a água desionizada ser exposta ao campo magnético, na presença de uma solução real de referência, utilizamos os ensaios biológicos para testar os efeitos qualitativos e a direção da mudança que foi produzida nesta água. (Ítem 5 - Aplicação de soluções imagem a sistemas biológicos).

Concomitantemente, as medidas de propriedades físico-químicas das soluções imagem quantificam as alterações produzidas quando comparadas às medidas da água desionizada padrão não tratada magneticamente. Estas medidas podem mostrar as possíveis mudanças de alguns parâmetros físico-químicos da água após o processo a que esta foi submetida (Ítem 6 - Estudo físico-químico de soluções imagem).

## **Capítulo III**

“ O temor e a escuridão da mente precisam ser afugentados não pelos raios de sol ou pelo brilho das luzes, mas sim pelos aspectos e leis da natureza.”

**Lucrecio.**

## 5. Aplicação de soluções imagem a sistemas biológicos

Ao longo dos últimos 8 anos, nosso grupo de pesquisa vem realizando experimentos em sistemas biológicos no Departamento de Farmacologia da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Unicamp, com a finalidade de testar os efeitos das soluções imagem nestes sistemas.

Inicialmente elegeu-se uma metodologia e utilizou-se animais “in vivo” e “in vitro” para se trabalhar, mediante as condições existentes. Os animais utilizados para se observar os efeitos farmacológicos das soluções imagem foram: camundongos (Swiss), ratos (Wistar), pintos (pintaínhos da linhagem HY-Line W36), coelhos (albinos), cães e gatos. As peças extraídas de alguns destes animais para testes “in vitro” foram: diafragma, aurícula, íleo e jejuno de rato e o músculo biventer cervices de pintaínho.

Fixando-se uma metodologia e experimentos específicos, a atenção e a dedicação maior do grupo passou a ser a elaboração de um arranjo simples que pudesse evidenciar as alterações produzidas na água, de maneira reprodutível, quando aplicada nos animais “in vivo” e “in vitro”.

Um fator de extrema importância no arranjo experimental para a elaboração das soluções imagem é que após o processo, esta apresentasse retenção das informações adquiridas para que seus efeitos pudessem ser evidenciados nos experimentos selecionados. No início, a retenção das informações era pequena, já que experimentos realizados após 3 ou 4 dias a partir da confecção da solução imagem não apresentavam mais os efeitos esperados. Sobretudo por este motivo, os experimentos passaram a ser realizados, preferencialmente, no mesmo dia ou 1 dia após o preparo das soluções imagem em estudo.

Independentemente do resultado obtido nos ensaios biológicos ser favorável ou não, ou seja, representar expressivamente uma idéia na direção desejada, cada experiência realizada se constitui em um conjunto de conceitos e variáveis testados, que mediante os efeitos observados, serve de retorno ou realimentação da primeira etapa - o aprimoramento do sistema que induz alterações na água estudada (solução imagem). A cada experimento com animais “in vivo” e/ou “in vitro”, um novo arranjo de preparação da solução imagem é elaborado e novamente testado. Desta forma, a montagem apresentada no item 4.a (capítulo II - página 25), representa o resultado final de uma série de testes utilizando campos magnéticos ou outros.

## 5.a - Ensaio biológico (FCM)

Os experimentos realizados em animais “in vivo” apresentam efeitos difíceis de quantificar e relatar, principalmente num trabalho que não se propõe a uma ênfase biológica. Os sistemas biológicos são vistos aqui apenas como sensores capazes de evidenciar uma alteração real na água em estudo. Em geral, os efeitos nesses animais são observados visualmente, sem a possibilidade da utilização de registros gráficos ou outra instrumentação que permita sua quantificação.

Diversas vias de administração das soluções imagem em animais “in vivo” foram investigadas:

- injeção - intramuscular, intradérmica, intraperitoneal e endovenosa
- via oral
- via retal
- colírio

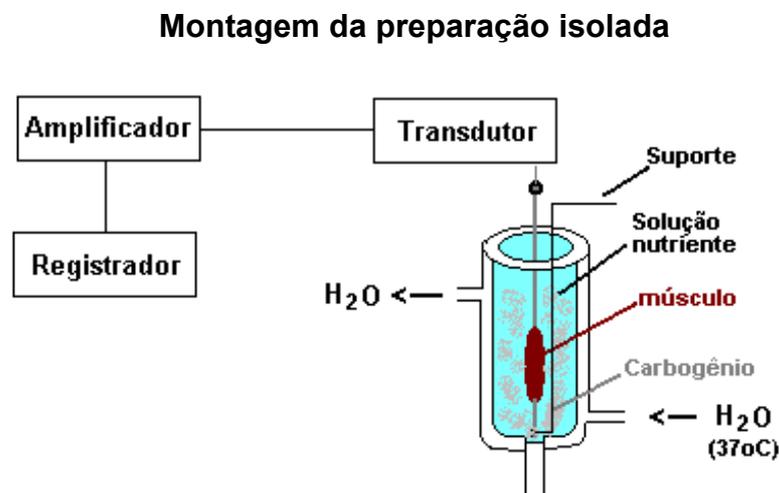
Dentre as vias de administração testadas, a injeção intraperitoneal mostrou-se mais conveniente pela facilidade de manuseio dos animais (camundongos, ratos e pintaínhos). Em alguns casos, onde o efeito da solução imagem deve ser observado na dilatação pupilar (midríase) dos animais (cães, gatos e coelhos), adotou-se a via de administração de colírio.

Os experimentos “in vitro” foram realizados com preparações isoladas das peças dos animais previamente selecionados.<sup>[109-112]</sup> Nestas preparações, a peça selecionada após ser extraída do animal é mantida em condições usuais padrão para mantê-la viva, ou seja, imersa em um meio nutriente adequado, aerado pelo borbulhamento de carbogênio à 5% (95% de O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub>), e sob temperatura constante. Os meios nutrientes usados nas preparações isoladas são: Tyrode e Ringer-Locke<sup>[113,115,117]</sup> e a temperatura dessas soluções varia de acordo com o tipo de preparação isolada utilizada.

Três tipos de experimentos básicos foram selecionados no intuito de se observar os efeitos da solução imagem em preparações isoladas:

### 5.a.1 - Registro miográfico de preparações isoladas:<sup>[113-118]</sup>

Neste experimento, segmentos de íleo ou aurícula de rato, após serem retirados dos animais, são montados em uma cuba de 5mL contendo soluções nutrientes (íleo / Tyrode; aurícula / Ringer-Locke), aerados com carbogênio à 5%, sob temperatura constante de 37°C - figura 8. As preparações são mantidas sob tensão constante através de um fio atado às suas extremidades - uma ligada a um suporte dentro da cuba e outra ligada a um transdutor isométrico Linear Core E & F50. Este transdutor é acoplado a um fisiógrafo E & M modelo P.M.P. 4A, para registro da motilidade espontânea da peça. Mediante a contração ou relaxamento do músculo, o fio que liga a preparação ao transdutor é tensionado ou afrouxado, promovendo uma variação de resistência elétrica em um resistor variável, proporcional a resposta produzida pela peça. O transdutor emite o sinal elétrico ao fisiógrafo, composto por um amplificador e um registrador. Antes de iniciar cada experimento, a preparação permanece imersa no meio nutriente por um período de 30 minutos (controle) para estabelecer o equilíbrio com o meio. Adiciona-se 0,02mL de solução imagem por mL de solução nutriente e registra-se no fisiógrafo a motilidade espontânea da preparação: contração e relaxamento do íleo; aumento e diminuição da frequência e amplitude da aurícula.



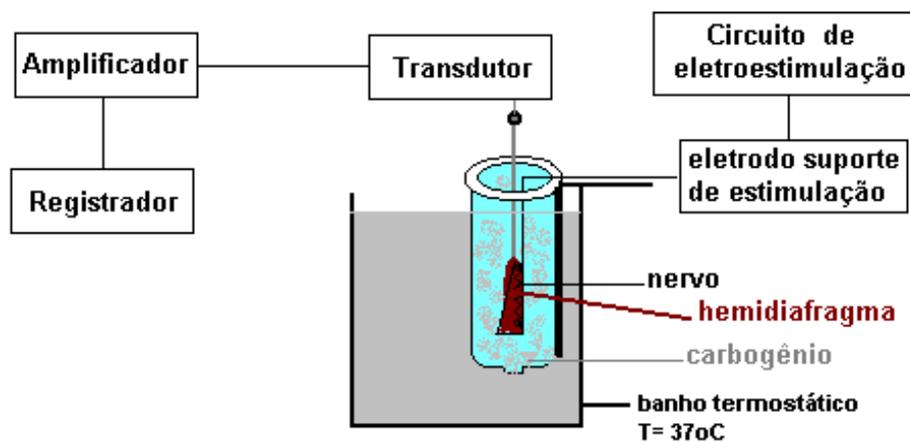
**Figura 8.** Esquema de montagem da preparação isolada.

### 5.a.2 - Registro miográfico da preparação com eletroestimulação: <sup>[109, 113-118]</sup>

Neste experimento os aparatos são semelhantes ao descrito anteriormente (5.a.1), porém, a preparação é constituída de um hemidiafragma com seu segmento nervoso.<sup>[109]</sup> O hemidiafragma é fixado em sua base em um suporte com ganchos, contendo um eletrodo bipolar de platina que é conectado na sua porção nervosa - figura 9. O eletrodo

está ligado a um circuito de eletroestimulação (Estimulador Grass modelo S4), que gera pulsos elétricos aplicados à preparação (sob a forma de ondas quadradas), onde se controla a frequência dos pulsos, a tensão elétrica aplicada e a duração de cada pulso. A preparação é mantida em cuba de vidro com capacidade para 20 mL, contendo solução nutriente de Tyrode. Através de um fio de linha atado à sua porção tendinosa e ligado ao transdutor, são feitos os registros das contrações musculares correspondentes às variações das tensões em resposta ao estímulo elétrico aplicado. As condições utilizadas são de estímulos supramaximais de 0,2 msec de duração, 0,1 Hz de frequência, com tensão aplicada variando de acordo com a preparação (até atingir sua amplitude máxima, que depende das respostas de cada preparação). Uma vez selecionados os parâmetros de eletroestimulação, estes são mantidos constantes durante todo o experimento. A solução imagem é, então, adicionada ao banho (0,02 mL solução imagem / mL solução nutriente).

### Montagem da preparação isolada com eletroestimulação



**Figura 9.** Esquema da montagem de hemidiafragma com eletroestimulação.

### 5.a.3 - Registro eletro-fisiológico do potencial de placa terminal em miniatura (pptom)

; [111, 113-118]

Este experimento consiste na observação das descargas de potenciais elétricos produzidas nas placas terminais nervosas (junção neuro-muscular) de hemidiafragma de rato. O estudo dos **pptm<sub>s</sub>** (potenciais de placa terminal em miniatura) está associado à liberação espontânea de acetilcolina pela terminação nervosa da placa terminal.

O músculo é estendido com sua face torácica voltada para cima e fixado horizontalmente, por meio de alfinetes apropriados, em uma cuba acrílica com fundo revestido de resina e silicone (Dow Corning - Sylgard). A cuba com capacidade para 10 mL é preenchida com solução nutriente de Tyrode e aerada com borbulhamento de carbogênio à 5% - figura 10. O banho é mantido a temperatura de 37°C. Os potenciais bioelétricos das fibras musculares são captados através de um microeletrodo de vidro preenchido com solução aquosa de KCl 3,0 mol.L<sup>-1</sup>, com resistência compreendida entre 7 - 25 MΩ, inserido na região das terminações nervosas (placa terminal), com auxílio de um micromanipulador (Leitz) e um estereomicroscópio (Wild M7-S) para aumento de até 40 vezes. O microeletrodo está conectado a um seguidor catódico, que por sua vez, manda o sinal elétrico para um osciloscópio Tektronix - figura 11. O eletrodo de referência está imerso na solução nutriente onde encontra-se a preparação de hemidiafragma e deve ser calibrado juntamente com o microeletrodo antes do início do experimento.<sup>[102]</sup> Os registros dos potenciais bioelétricos intracelulares das fibras musculares foram feitos de duas formas: através de fotografia da tela do osciloscópio com câmara Polaroid modelo 5C, ou enviando o sinal para um registrador (Gould RS 3.400) acoplado a um sistema de monitoramento informatizado. Todo o sistema mostrado na figura 10 está dentro de uma gaiola de Faraday, para isolar o mesmo de interferências elétricas e radiações externas.

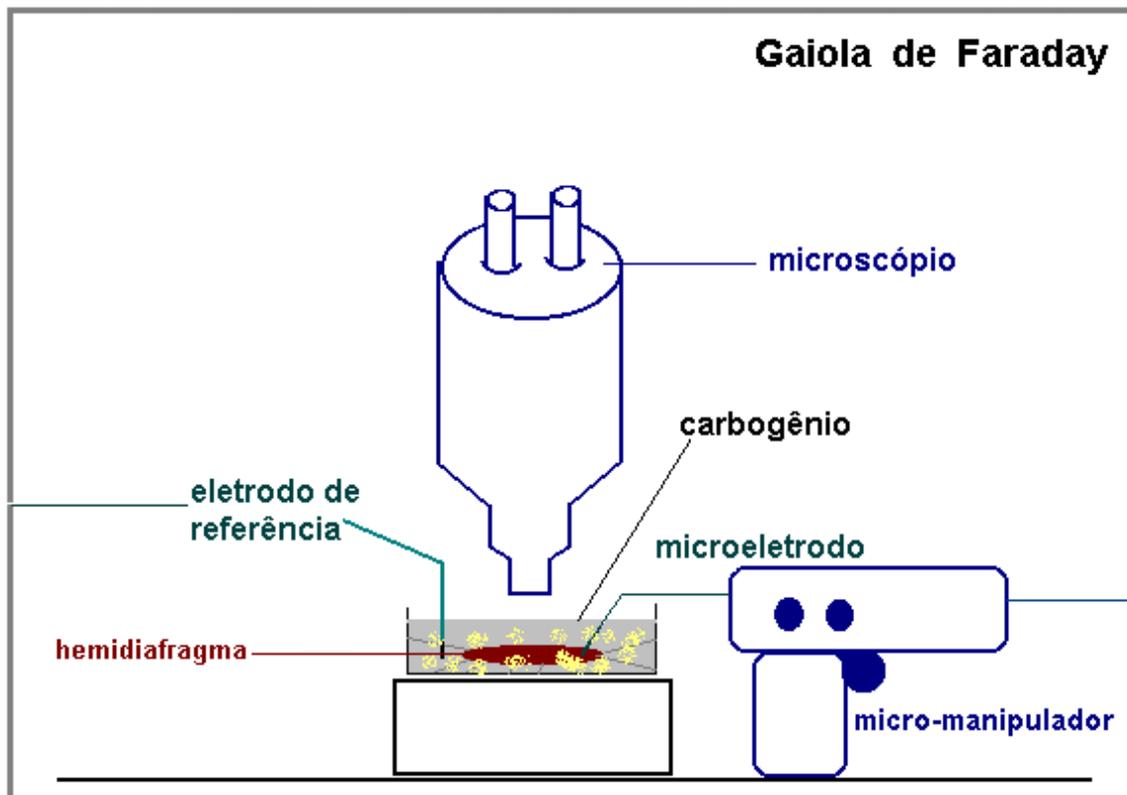


Figura 10. Esquema de montagem da preparação isolada de hemidiafragma de rato para obtenção dos  $pptm_s$ .

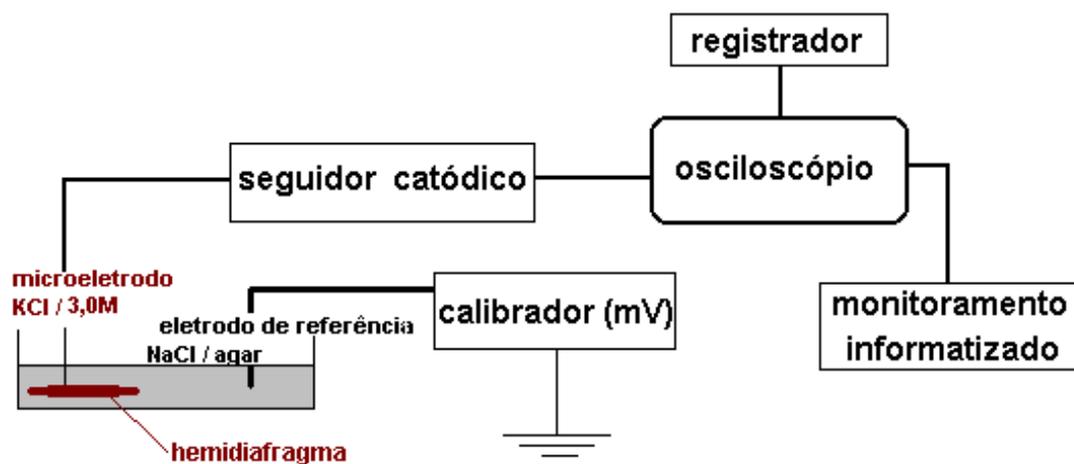


Figura 11. Esquema da montagem de registros dos  $pptm_s$ .

## 5.b - Resultados obtidos

Os animais “in vivo” e as preparações “in vitro” utilizados como sensores biológicos no intuito de evidenciar os efeitos das soluções imagem, possuem a característica de evidenciar a direção dessas alterações produzidas na água. Os ensaios biológicos provam não somente que houve uma mudança qualitativa da água, mas também mostra a direção desta mudança, podendo ser considerado como um sensor de comportamento.

### 5.b.1 - Aplicação de soluções imagem em animais “in vivo”

Como exemplo dos experimentos realizados em animais “in vivo” citamos alguns que apresentam sintomas bastante evidenciados e fáceis de serem reportados, após a aplicação das soluções imagem.

#### I. Aplicação de solução imagem de Atropina em cães e coelhos:

**Ação farmacológica de Atropina:** <sup>[119,120]</sup> A Atropina é o principal alcalóide da planta *Atropa belladonna*. Esta substância age na musculatura lisa e é um antagonista competitivo da acetilcolina em órgãos ou tecidos inervados por nervos colinérgicos pós-ganglionares. A Atropina compete com os mesmos receptores da acetilcolina, impedindo dessa forma, a despolarização da membrana muscular sem produzir alterações da mesma (atonia ou relaxamento muscular). Tem grande aplicação na oftalmologia, anestesia e em doenças cardíacas, além de atuar no sistema nervoso central. As ações da Atropina sobre o olho são simples e diretas. Quando aplicada diretamente na conjuntiva, a substância costuma produzir midríase (dilatação pupilar) e paralisia da acomodação (cicloplegia). A pupila atropinizada não reage à luz. A cicloplegia é causada pela paralisia dos músculos ciliares que normalmente são inervados por fibras colinérgicas.

A solução imagem de Atropina - SI Atropina - foi entregue ao técnico responsável do canil da Unicamp, sem que este soubesse a origem do fármaco. Seguindo os critérios e métodos normais para aplicação e observação dos efeitos de midríase em cães, a SI Atropina foi aplicada como colírio em um lote de 13 cães. Após alguns minutos, observou-se que 12 dos 13 cães apresentavam a pupila completamente dilatada, permanecendo com estes sintomas durante as 4 horas subseqüentes. Posteriormente, a SI Atropina foi administrada em um lote de 6 coelhos. Todos os 6 coelhos também apresentaram midríase e foram submetidos a estímulos luminosos para a comprovação do efeito farmacológico. Os animais quando submetidos a luminosidade intensa não respondiam aos estímulos devido ao efeito bloqueador da Atropina. Portanto, a solução imagem de Atropina promoveu os efeitos esperados quando aplicada como colírio - iguais aos da droga Atropina - com atuação em 92% dos cães e 100% dos coelhos submetidos aos testes. Todos os testes foram supervisionados e planejados por médico veterinário.

## **II. Aplicação de solução imagem de Nitrato de Chumbo em camundongos e pintainhos:**

**Ação farmacológica dos sais de chumbo:**<sup>[119,120]</sup> Os sintomas e sinais do envenenamento pelo chumbo incluem dor abdominal (cólica do chumbo), fezes negras pela formação de PbS (H<sub>2</sub>S nos intestinos), fraqueza, orla gengival plúmbea, hiperpigmentação cutânea e hipotermia de extremidades. Os sais de chumbo podem agir nos sistemas gastrointestinal, neuro muscular (sistema nervoso central) e hematológico.

A solução imagem de nitrato de chumbo - SI Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> - foi administrada via injeção intraperitonal em um lote de 9 camundongos e 5 pintainhos. Após 20 minutos, os animais apresentaram cólicas intensas e diarreia escura, próprias dos efeitos de sais de chumbo. As cólicas são visualmente caracterizadas por forte contratura da musculatura abdominal e dorsal do animal.

## **III. Aplicação de solução imagem de Curare em pintainhos:**

**Ação farmacológica do Curare:**<sup>[119,120]</sup> O Curare é o termo genérico para designar substâncias que têm como ação principal a interrupção da transmissão do impulso nervoso na junção nervo-músculo esquelético, ou seja, realizam bloqueio muscular. Também designa diversas substâncias usadas por nativos sul americanos há séculos para envenenar flechas utilizadas em caça e guerra. É em realidade uma mistura de alcalóides que bloqueia o sítio onde atua a acetilcolina. São substâncias que interrompem a transmissão do impulso nervoso na junção neuromuscular esquelética por mecanismo competitivo ou despolarizante. Desta forma, a acetilcolina, que promove a contração muscular, tem seus receptores bloqueados, não conseguindo agir e conseqüentemente, há um relaxamento muscular.

A solução imagem de Curare - SI Curare - foi administrada via injeção intraperitoneal em um lote de 6 pintainhos. Após 15 minutos da aplicação da SI Curare, todos os 6 animais apresentaram queda do pescoço e notória incapacidade de ficar em pé e de locomoção.

### **5.b.2 - Aplicação de soluções imagem em preparações “in vitro”**

Dentre os muitos resultados obtidos nos experimentos realizados em preparações isoladas na FCM, selecionamos alguns dos que possam ser mais representativos evidenciando a ação das soluções imagem nestas preparações. Estes experimentos foram testados nas mesmas condições experimentais com água desionizada utilizada como branco e não apresentaram alterações relevantes de comportamento biológico.

#### IV. Aplicação de solução imagem de Cloreto de Bário na preparação isolada de aurícula de rato:

**Ação farmacológica dos sais de Bário:**<sup>[121,125]</sup> O bário é um elemento extremamente tóxico quando absorvido. A ação geral característica do bário é uma excitação pronunciada dos músculos de todos os tipos, independente da sua inervação. Praticamente todos os órgãos são estimulados pelo bário. **Ação cardíaca:** sua ação sobre o coração torna o batimento cardíaco mais intenso, porém mais lento, com uma ação similar nas fibras musculares. Eventualmente, assume uma forma irregular de contração tipo peristáltica, seguida de uma parada em sístole. **Ação intestinal:** estimulação das contrações peristálticas e contratura do músculo.

A figura 12 apresenta o registro dos batimentos espontâneos de aurícula de rato ao longo do tempo, obtido a partir da adição de uma solução imagem de cloreto de bário - SI BaCl<sub>2</sub> - à solução nutritiva onde a aurícula se encontra imersa. Aqui observa-se com clareza a tendência inversa entre a amplitude de contração e a frequência dos batimentos auriculares. Estes resultados - aumento da amplitude e diminuição da frequência - são provenientes de um mesmo efeito, que também é esperado quando se adiciona uma solução real de BaCl<sub>2</sub> em aurícula de rato.

Dos diversos experimentos realizados em aurícula de rato para testar os efeitos da SI BaCl<sub>2</sub>, alguns deles resultaram em uma parada total dos batimentos auriculares após determinado tempo da sua adição.

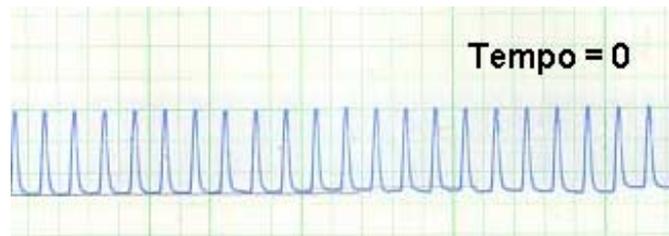


Figura 12.a

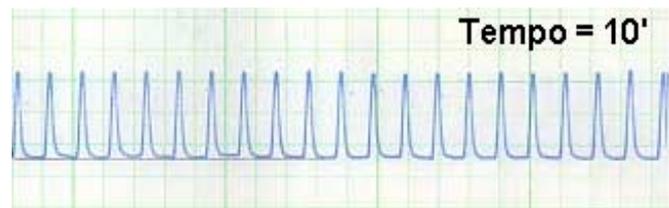


Figura 12.b

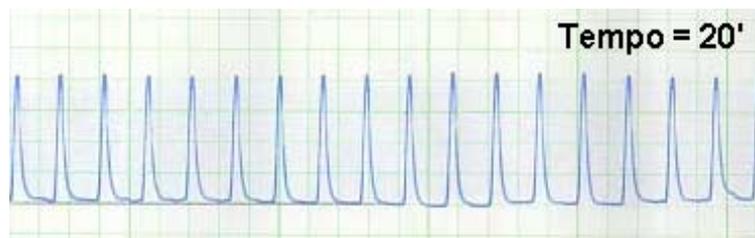


Figura 12.c

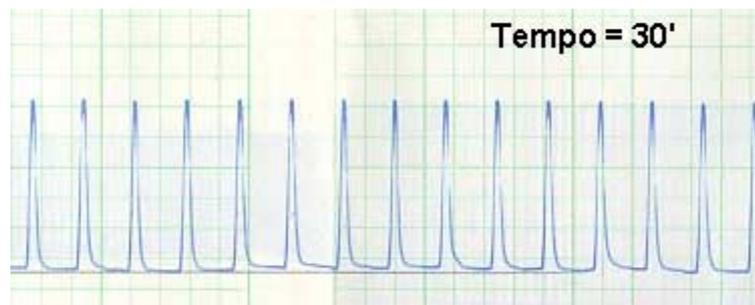
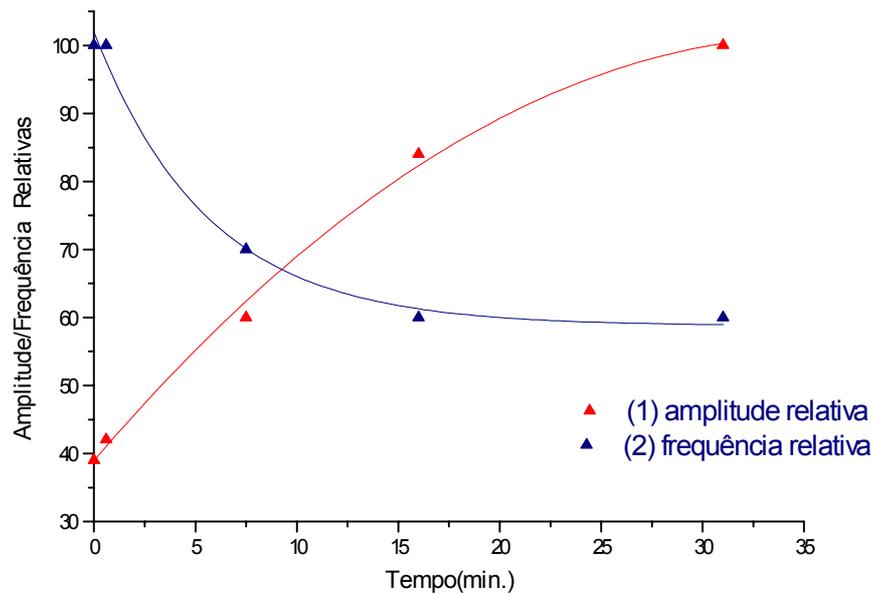


Figura 12.d

**Figura 12.** Registro do batimento auricular de rato, antes e após a adição de uma solução imagem de cloreto de bário - SI  $BaCl_2$ ; **(a)** antes da adição da SI  $BaCl_2$ ; **(b)** após 10 minutos da adição da SI  $BaCl_2$ ; **(c)** após 20 minutos da adição da SI  $BaCl_2$ ; **(d)** após 30 minutos da adição da SI  $BaCl_2$ . Observa-se um aumento progressivo da amplitude de contração concomitante com a diminuição da frequência. [tensão utilizada = 0,5g / 1,5 cm ; velocidade do papel = 1 cm / seg.]

A figura 13 representa o gráfico obtido a partir dos dados da figura 12. Este gráfico apresenta duas curvas: (1) amplitude relativa de contração da aurícula em função do tempo e (2) frequência relativa dos batimentos (ou a variação percentual da frequência) em função do tempo. O tempo passa a contar no instante da adição da solução imagem de BaCl<sub>2</sub> à solução nutritiva em que a peça se encontra.



Curva (1) : amplitude relativa  
 Regressão Polinomial :  
 $y = A_0 + A_1 x + A_2 x^2 + A_3 x^3 + \dots$   
 $A = 3$  ;  $R = 0,9983$  ;  $R^2 = 0,9966$  ;  $SD = 2,1873$

Curva (2) : frequência relativa  
 Decaimento exponencial :  
 $y_0 + A_1 e^{-(x-x_0)/t_1}$   
 $t_1 = 5.60246$  ;  $A_1 = 43.24415$

**Figura 13.** Gráfico da frequência e amplitude relativas dos batimentos auriculares de rato, após adição de uma solução imagem de cloreto de bário - SI BaCl<sub>2</sub>.

Observa-se que a medida que a amplitude relativa de contração (1) aumenta de 39% para 100% em um intervalo de tempo de 31 minutos, a frequência relativa (2), ou o número de batimentos por minuto da aurícula, diminui de 100% para 60% neste mesmo intervalo de tempo.

#### **V. Aplicação de solução imagem de Cloreto de Bário em íleo isolado de rato, comparada com solução real:**

A figura 14 apresenta o registro dos movimentos peristálticos espontâneos de íleo de rato, antes e após a adição de solução real e imagem de cloreto de bário. A figura 14.a mostra a resposta do íleo à adição de uma solução real de BaCl<sub>2</sub> (10,4 mg/L) - (ver ação farmacológica dos sais de Bário no item IV, página 40) . As figuras 14.b e 14.c mostram adições de SI BaCl<sub>2</sub> em íleo em preparações distintas.

Através da figura 14.a observa-se que a aplicação de uma solução real de BaCl<sub>2</sub> promove uma contratura muscular no íleo, deslocando a linha base. Esta resposta se mantém enquanto o fármaco estiver atuando na peça. Com lavagens da peça (6 vezes em 10 minutos) as respostas musculares voltam ao estado inicial. Na figura 14.b nota-se a resposta do íleo à aplicação da SI BaCl<sub>2</sub>. Ocorre uma contratura da peça e esta se mantém durante 30 minutos, enquanto da ação da SI BaCl<sub>2</sub>. A figura 14.c mostra uma contratura da peça no momento da adição da SI BaCl<sub>2</sub>, no entanto, logo em seguida, ocorre um relaxamento e o íleo volta a apresentar as características iniciais.

Apesar de estarmos apresentando neste item, uma comparação direta da solução imagem com uma solução real de BaCl<sub>2</sub>, não é possível inferir uma correlação das concentrações destas soluções. Cada peça animal, de acordo com o tipo de experimento realizado, responde diferentemente à ação dos fármacos aplicados. Uma mesma solução imagem poderá ser associada a diferentes concentrações de solução real correspondente, de acordo com o tipo de experimento selecionado. Observamos ao longo

deste trabalho que as respostas em íleo, em geral, são pequenas se comparadas com outras peças, como por exemplo, as de hemidiafragma no experimento para a obtenção dos **pptm<sub>s</sub>**. No caso dos **pptm<sub>s</sub>** conseguimos obter respostas intensas com a aplicação de soluções imagem, iguais ou talvez superiores à ação de soluções reais correspondentes, em diferentes concentrações. Considerando que a resposta de ensaios biológicos à ação das soluções imagem depende do sistema escolhido para estudo, julgamos arbitrário selecionar um tipo de experimento para tentar correlacionar a solução imagem a uma determinada concentração da solução real.

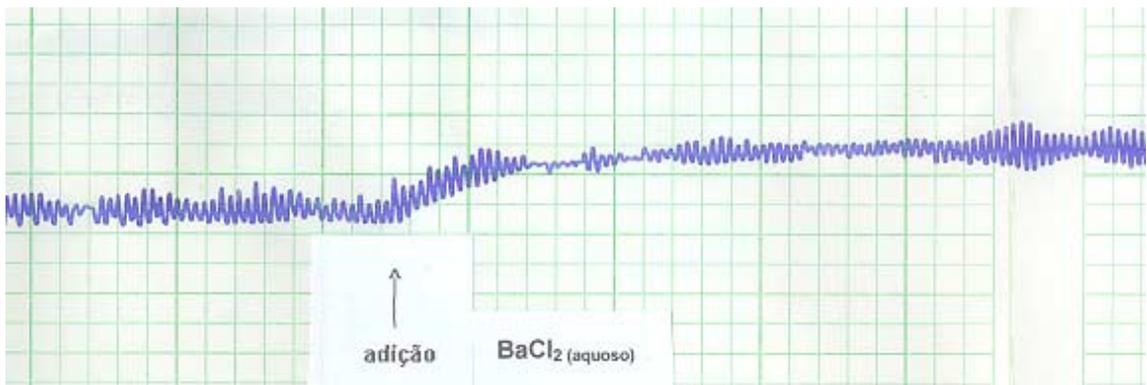


Fig  
ura 14.a

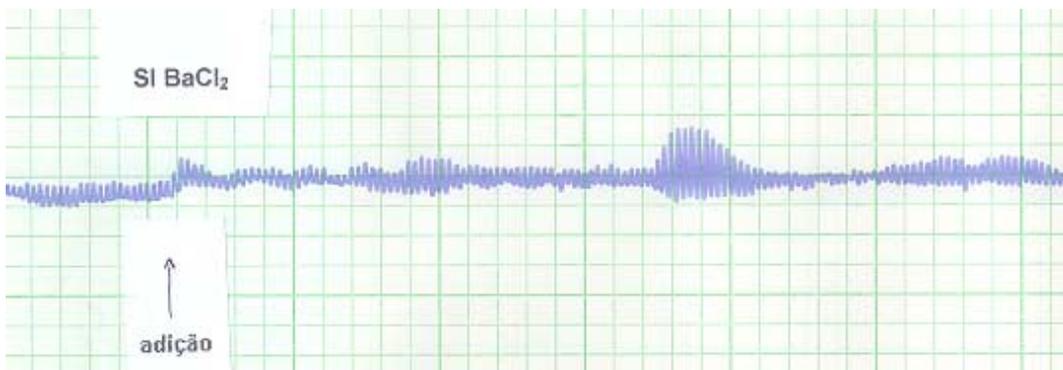


Figura  
14.b

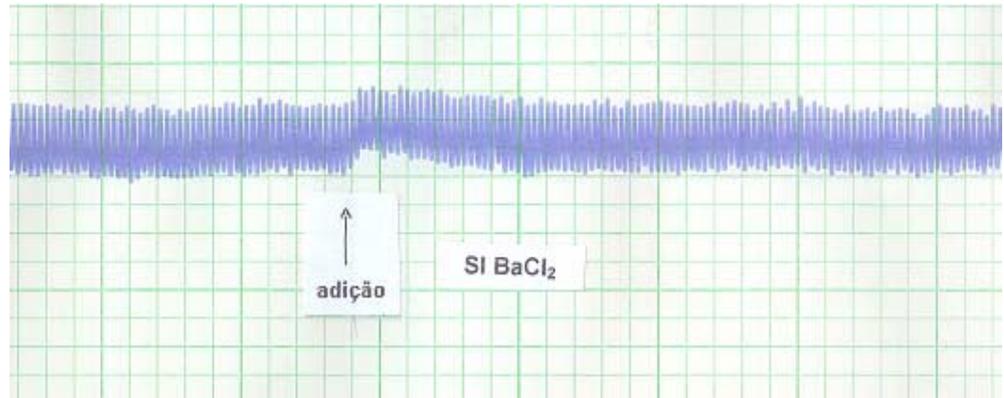


Figura 14.c

**Figura 14.** Registro dos movimentos peristálticos de íleo isolado de rato : **(a)** adição de solução real de  $BaCl_2$  ao meio nutritivo onde a peça encontra-se imersa ; **(b)** e **(c)** adição de solução imagem de cloreto de bário - SI  $BaCl_2$  - ao meio nutritivo, em preparações distintas. Observe que a preparação responde imediatamente após a adição do fármaco com uma contração (indicado pelo aumento da linha base). [tensão utilizada = 2g / cm ; velocidade do papel = 0.1 cm / seg.]

## VI. Aplicação de solução imagem de Cloreto de Bário na preparação de hemidiafragma de rato com estímulo indireto:

As figuras 15 e 16 apresentam os registros das contrações induzidas em hemidiafragma de rato estimulado indiretamente, antes e após a adição de solução imagem de cloreto de bário - SI  $BaCl_2$  - em preparações distintas. Neste tipo de experimento observa-se a amplitude de contração da peça ao longo do tempo. Cada pico representa o registro de uma contração e relaxamento do músculo hemidiafragma em resposta ao estímulo externo. Portanto, a frequência das contrações não deve variar durante o experimento, já que esta é previamente fixada pela taxa de repetição dos pulsos elétricos aplicados.

As figuras 15.a e 16.a apresentam o registro das contrações do músculo antes da adição da SI  $BaCl_2$ . Nas figuras 15.b e 16.b observa-se o registro do aumento das respostas da amplitude de contração do músculo na vigência da ação da SI  $BaCl_2$ . O tempo observado para o aumento máximo dessas contrações é diferente de um experimento para outro: em 15.b observa-se que a amplitude máxima das contrações ocorreu após 20 minutos da adição da SI  $BaCl_2$  , já em 16.b esse tempo foi de 40

minutos. Essa diferença de tempo observada entre os dois experimentos realizados sob as mesmas condições, bem como o tempo de estabilização de cada um (figuras 15.c e 16.c), é devida à variabilidade biológica existente entre as espécies.

No entanto, observa-se que em ambos os casos a ação farmacológica da SI  $\text{BaCl}_2$  apresentou o mesmo perfil. Esta ação farmacológica é concordante qualitativamente com o efeito esperado pela adição de uma solução real de  $\text{BaCl}_2$  no mesmo tipo de preparação - (ver ação farmacológica dos sais de bário no item IV, página 40).

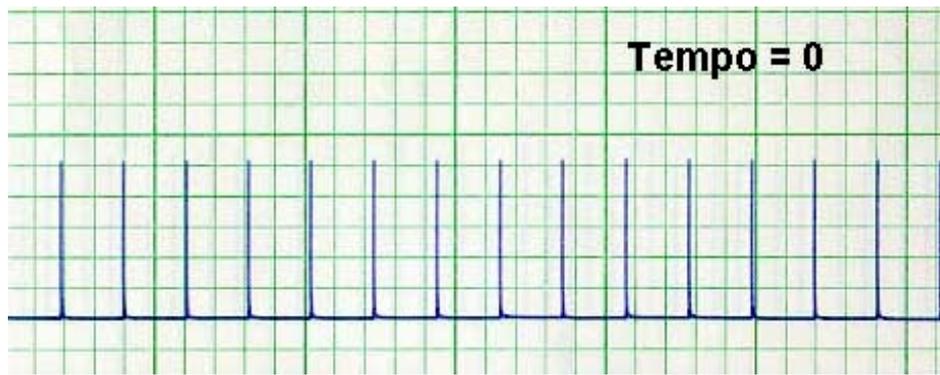


Figura 15.a

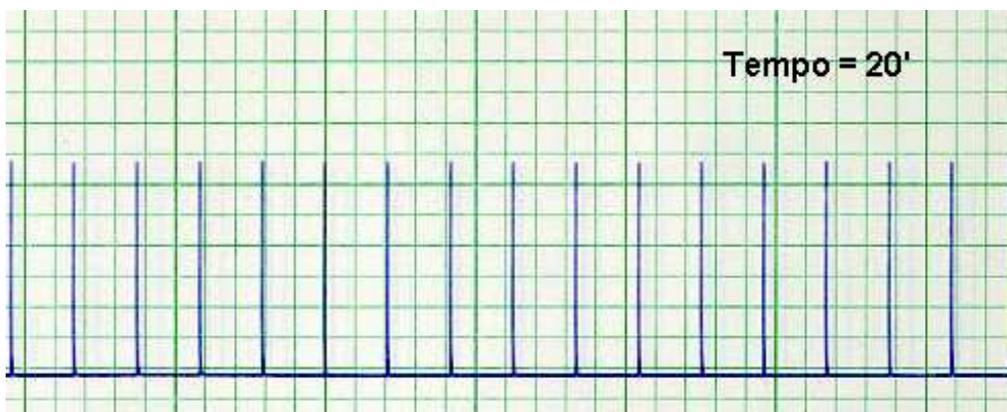


Figura 15.b

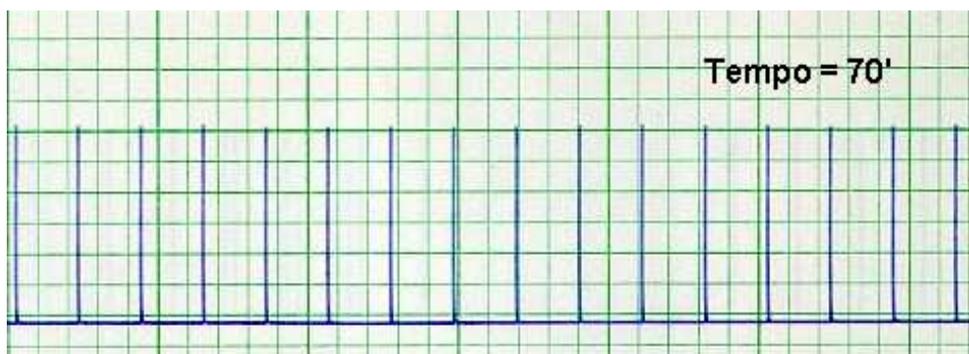


Figura 15.c

**Figura 15.** Experimento I : registro das respostas da amplitude de contração da preparação de hemidiafragma de rato com estimulação indireta - antes e após adição de solução imagem de cloreto de bário - SI  $BaCl_2$  ; **(a)** antes da adição da SI  $BaCl_2$  ; **(b)** após 20 minutos da adição da SI  $BaCl_2$  ; **(c)** após 70 minutos da adição da SI  $BaCl_2$ . [tensão utilizada = 2g / cm ; velocidade do papel = 0.1 cm / seg.]

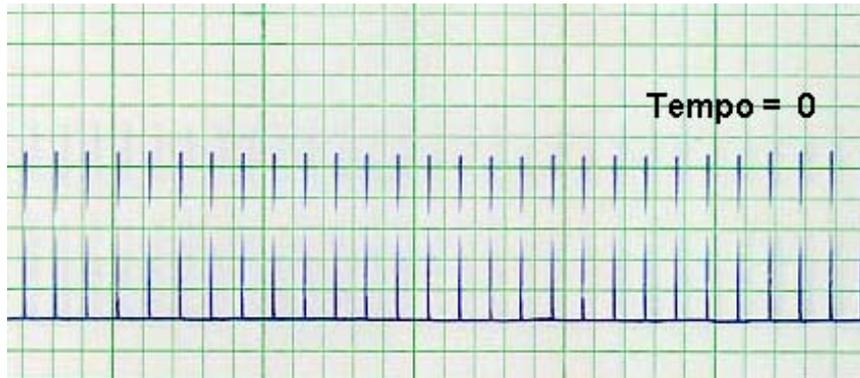


Figura 16.a

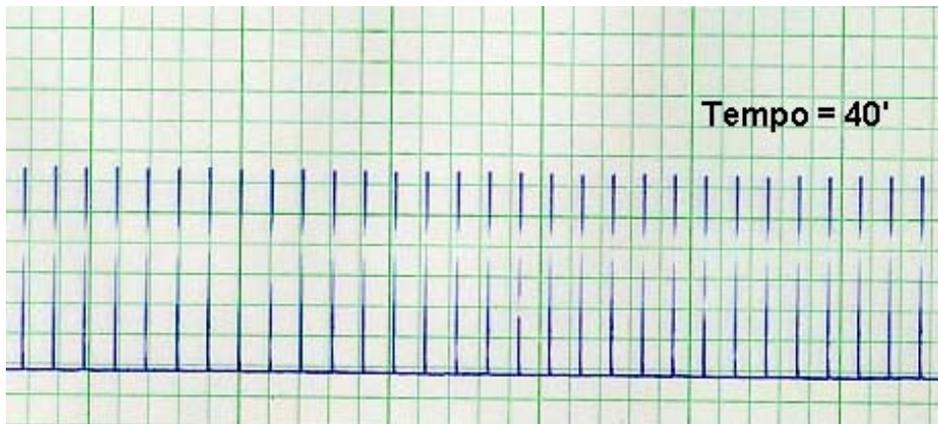


Figura 16.b

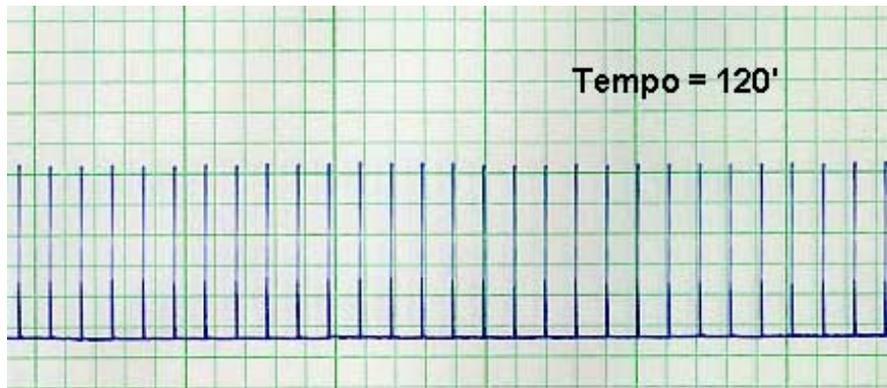
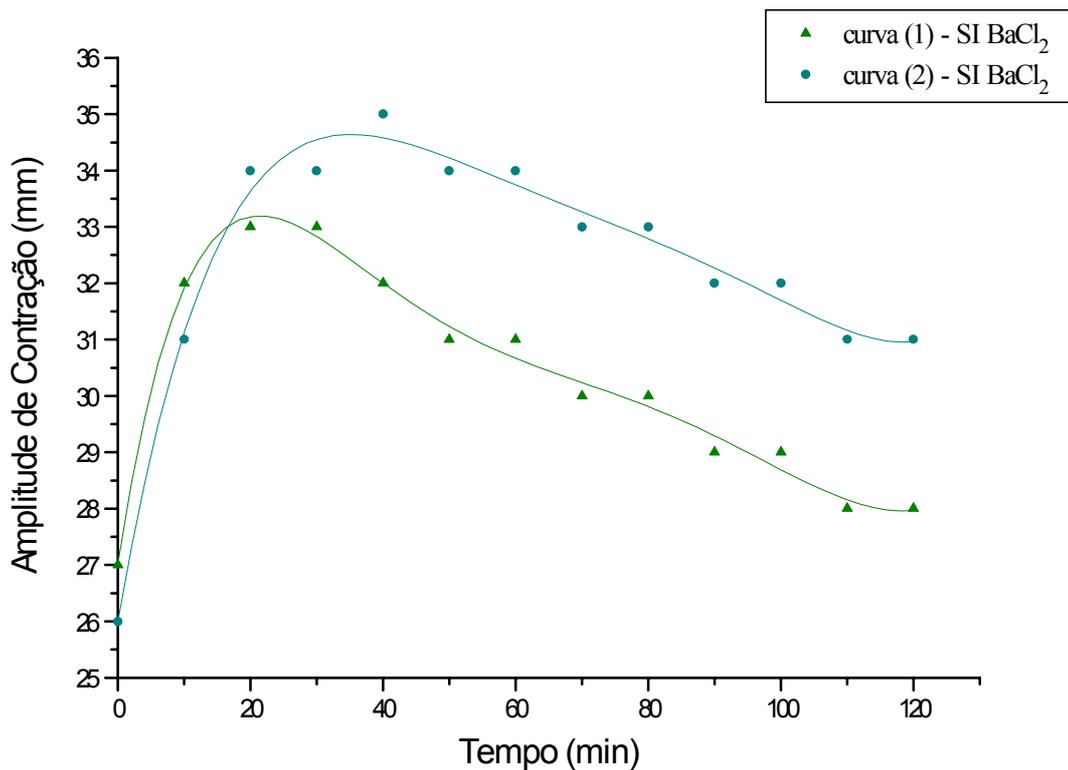


Figura 16.c

**Figura 16.** Experimento II : registro das respostas da amplitude de contração da preparação de hemidiafragma de rato com estimulação indireta - antes e após adição de solução ímagem de cloreto de bário -  $SI\ BaCl_2$  ; **(a)** antes da adição da  $SI\ BaCl_2$  ; **(b)** após 40 minutos da adição da  $SI\ BaCl_2$  ; **(c)** após 120 minutos da adição da  $SI\ BaCl_2$ . [tensão utilizada = 2g / cm ; velocidade do papel = 0.1 cm / seg.]



Regressão Polinomial

$$y = A_0 + A_1 x + A_2 x^2 + A_3 x^3 + \dots$$

Curva (1) : A = 7 ; R = 0,99423 ; R<sup>2</sup>=0,98848 ; SD =0,29814

Curva (2) : A = 7 ; R = 0,99191 ; R<sup>2</sup>=0,98388 ; SD =0,41712

**Figura 17.** Gráfico obtido a partir de experimentos distintos, mediante aplicação de solução imagem de cloreto de bário - SI BaCl<sub>2</sub> - em hemidiafragma de rato com estimulação indireta: **(1)** curva obtida a partir do experimento I, onde alguns dados são mostrados na figura 15 ; **(2)** curva obtida a partir do experimento II, onde alguns dados são mostrados na figura 16. A contagem do tempo é iniciada no momento da adição da SI BaCl<sub>2</sub> ao banho nutritivo onde a preparação se encontra imersa.

Observa-se um aumento na amplitude de contração muscular dos hemidiafragmas de rato com estímulos indiretos após a adição da SI BaCl<sub>2</sub>. Na curva (1), a resposta máxima é obtida após 20 minutos com aumento de 22% ; na curva (2), após 40 minutos, com aumento de 34% ; e depois de algum tempo a preparação volta lentamente ao seu estado original.

## VII. Aplicação de solução imagem de Cloreto de Cálcio na preparação de hemidiafragma de rato com estimulação indireta:

**Ação farmacológica dos sais de Cálcio:**<sup>[121-126]</sup> A ação do cálcio sobre o **sistema nervoso** mostra que as células ganglionares neurovegetativas são excitadas por uma diminuição da concentração dos íons cálcio,  $\text{Ca}^{2+}$ , no meio extracelular. Com isso, ocorre um aumento da permeabilidade do íon sódio,  $\text{Na}^+$ , das membranas neuronais, gerando facilmente potencial de ação (aumento das contrações musculares). As concentrações elevadas de cálcio no meio externo bloqueiam a condução sináptica e reduzem o limiar das fibras nervosas para a excitação elétrica. De uma maneira geral, podemos dizer que a concentração extra celular de cálcio afeta a excitabilidade elétrica das células nervosas e musculares (estabilização da membrana celular). Quanto à redução da concentração de cálcio, causa contração muscular espontânea, chegando à tetania muscular (desestabilização da membrana celular). Além disso, os neurotransmissores são cálcio-dependentes e o íon cálcio é o principal responsável pelo acoplamento e excitação na contratura muscular. Tanto o **coração**, como o **músculo uterino** dependem de uma concentração ótima de cálcio para suas atividades normais. Um excesso de cálcio no sistema circulatório causa parada sistólica, chamada “rigidez cálcica” e na ausência deste elemento, a ação característica do potássio torna-se proeminente e o coração pára em diástole. O cálcio tem **ação antiespasmódica** nítida sobre o músculo liso.

A figura 18 apresenta o registro das respostas de amplitude de contração da preparação de hemidiafragma de rato com estímulos indiretos, antes e após a adição de solução imagem de cloreto de cálcio - SI  $\text{CaCl}_2$ . Neste caso, observa-se que a SI  $\text{CaCl}_2$  produz efeito inverso da SI  $\text{BaCl}_2$ , ou seja, há uma diminuição da amplitude de contração do músculo hemidiafragma. Ressalta-se mais uma vez, que este efeito de diminuição da amplitude de contração muscular é o efeito observado quando se aplica a este mesmo tipo de preparação, uma solução real de  $\text{CaCl}_2$ .

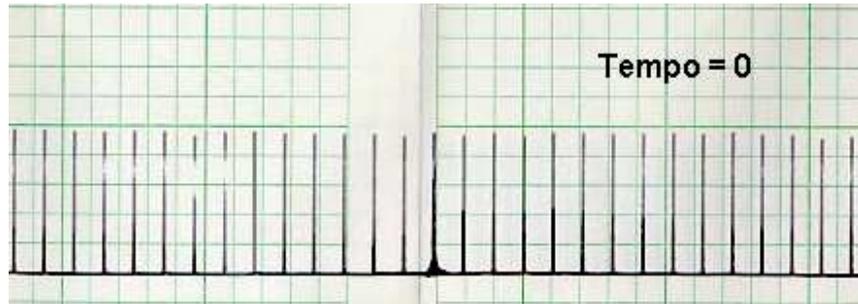


Figura 18.a

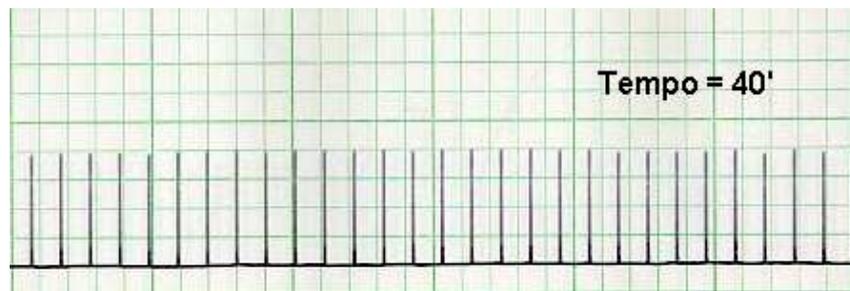


Figura 18.b

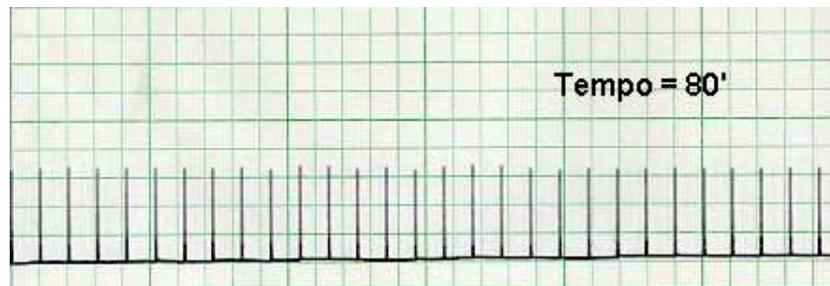
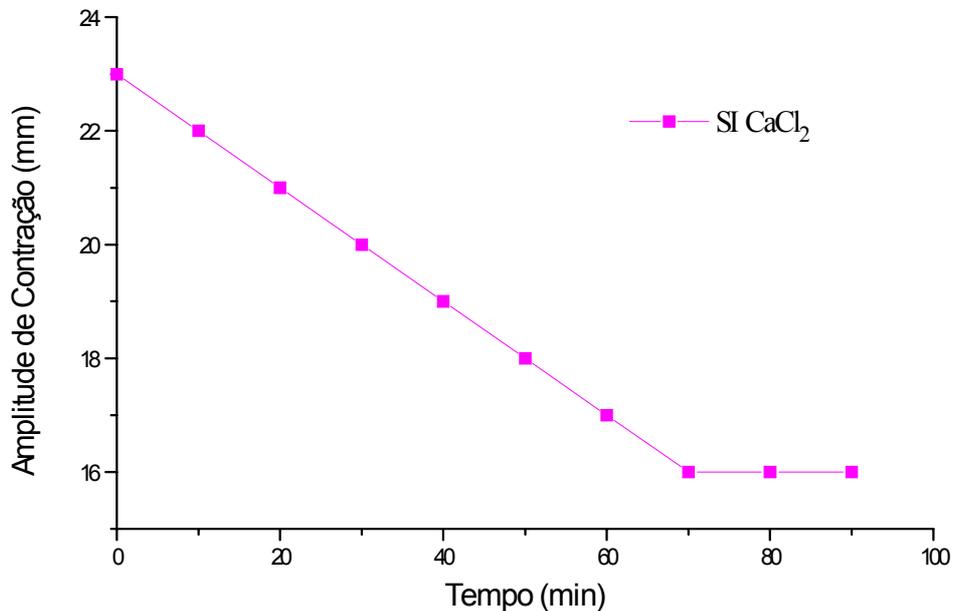


Figura 18.c

**Figura 18.** Registro das respostas da amplitude de contração da preparação de hemidiafragma de rato com estimulação indireta - antes e após adição de solução imagem de cloreto de cálcio -  $SI\ CaCl_2$  ; **(a)** antes da adição da  $SI\ CaCl_2$  ; **(b)** após 40 minutos da adição da  $SI\ CaCl_2$  ; **(c)** após 80 minutos da adição da  $SI\ CaCl_2$ . [tensão utilizada = 2 g / cm ; velocidade do papel = 0.1 cm / seg.]



**Figura 19.** Gráfico obtido a partir de dados experimentais que mostram a resposta do músculo hemidiafragma de rato com estimulação indireta, após a adição de uma solução imagem de cloreto de cálcio - SI CaCl<sub>2</sub>. Alguns destes dados são apresentados na figura 18.

### **VIII. Aplicação de solução imagem de Cloreto de Potássio em hemidiafragma de rato para obtenção de pptm<sub>s</sub> - potencial de placa terminal em miniatura:**

**Ação farmacológica dos sais de Potássio:**<sup>[121-126]</sup> O potássio é quantitativamente o principal cátion intracelular e o responsável pelo estabelecimento do potencial de repouso nas membranas celulares (fase descendente do potencial de ação), ao mesmo tempo em que o sódio é o ativador das ATPases da membrana envolvida em trabalhos osmóticos da bomba sódio / potássio. O potássio é de grande importância na fisiologia nervosa, na função dos músculos esqueléticos e principalmente, na atividade do miocárdio, tanto na hiper como na hipocalemia (aumento ou diminuição da concentração do íon K<sup>+</sup> plasmático). Na hipercalemia há inicialmente um aumento da frequência cardíaca relacionada com o aumento da atividade elétrica, chegando à taquicardia ou fibrilação ventricular. Quando há um aumento do íon K<sup>+</sup> no líquido extracelular ocorre uma

despolarização no músculo estriado e uma contratura prolongada na musculatura lisa. Na hipocalcemia a função miocárdica é anormal, havendo modificações no padrão das ondas do ECG (eletrocardiograma) e, no músculo esquelético ocorre evidente disfunção neuromuscular, podendo chegar à uma paralisia total, incluindo o músculo liso do intestino.

A figura 20 mostra o registro das descargas dos potenciais de placa terminal em miniatura (**pptm<sub>s</sub>**) na preparação de hemidiafragma de rato, antes e após a adição da solução imagem de cloreto de potássio - SI KCl. O registro dos **pptm<sub>s</sub>** é feito em alguns intervalos de tempo representativos (1 minuto) para a observação da freqüência dos potenciais na região das placas terminais nervosas. Após a escolha da região de maior densidade de placas terminais foi registrado a freqüência espontânea dos **pptm<sub>s</sub>** durante o intervalo de tempo de 1 minuto - figura 20.a. Em seguida, adicionou-se a SI KCl e observou-se um aumento na freqüência e amplitude dos **pptm<sub>s</sub>** nos intervalos de tempo de 36 e 62 minutos - figuras 20.b e 20.c, respectivamente. Este efeito é o mesmo esperado pela adição de uma solução real de KCl no mesmo tipo de preparação, não havendo no entanto, a latência de 36 minutos para a ação do fármaco, como no caso da SI KCl. Por outro lado, as respostas provenientes da ação da SI KCl na preparação de hemidiafragma seguem a mesma direção da solução real de KCl.

A figura 22 apresenta outra preparação de hemidiafragma de rato para obtenção dos **pptm<sub>s</sub>**, nas mesmas condições experimentais que a anterior. Neste caso, o registro foi obtido através de fotos tiradas diretamente do osciloscópio, antes (figura 22.a) e após a adição da SI KCl. Observa-se um aumento de 29% da freqüência dos **pptm<sub>s</sub>** após 10 minutos da adição da SI KCl (figura 22.b), passando para um aumento de 43% após 30 minutos da sua adição (figura 22.c).

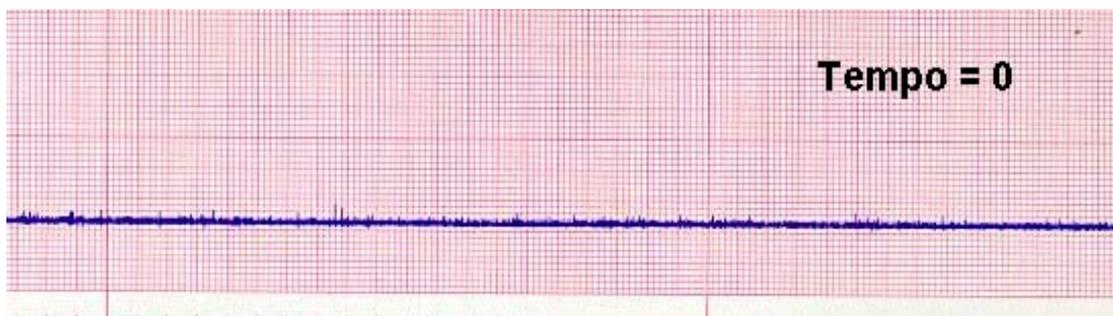


Figura 20.a

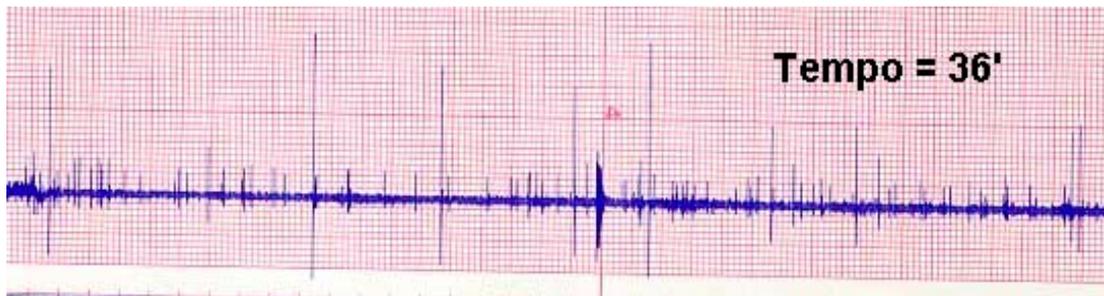


Figura 20.b

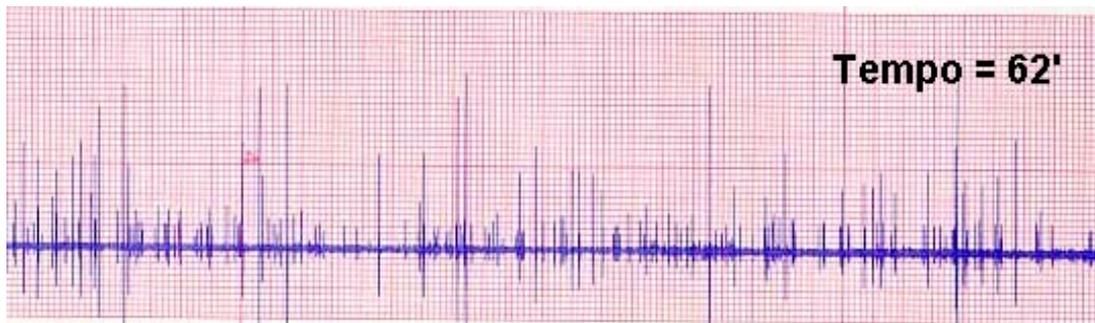
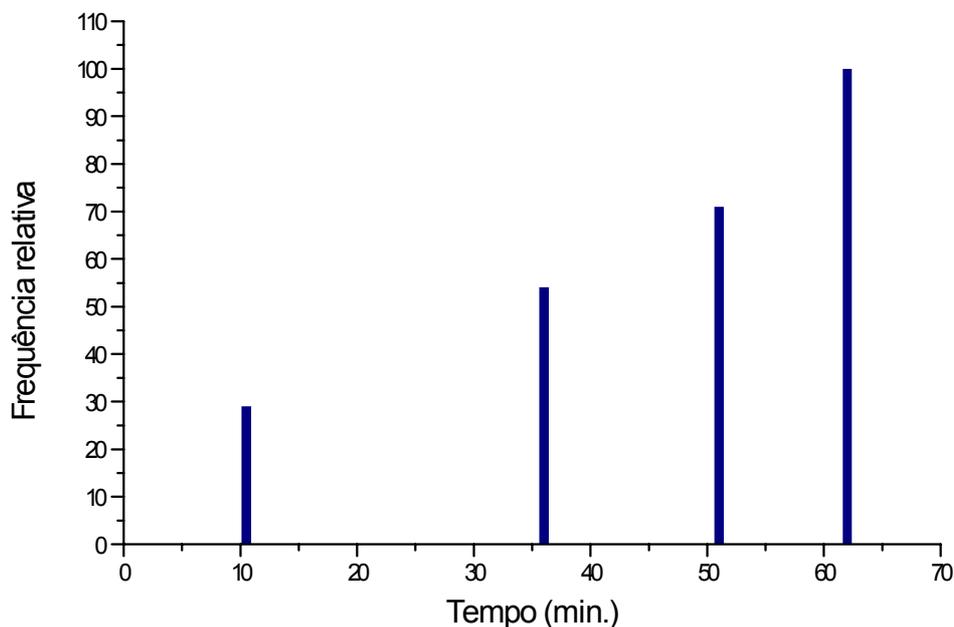


Figura 20.c

**Figura 20.** Registro da frequência dos **pptm<sub>s</sub>** em hemidiafragma de rato antes e após a adição de uma solução isomolar de cloreto de potássio - SI KCl ; **(a)** antes da adição da SI KCl ; **(b)** após 36 minutos da adição da SI KCl ; **(c)** após 62 minutos da adição da SI KCl. Observa-se um aumento da amplitude e da frequência dos **pptm<sub>s</sub>**. [amplitude = 1mV / mm ; velocidade do papel = 25 cm / seg.]



**Figura 21.** Gráfico obtido a partir da variação da frequência dos **pptm<sub>s</sub>** após a adição de uma solução imagem de cloreto de potássio - SI KCl - em hemidiafragma de rato. A frequência inicial de **pptm<sub>s</sub>** é tida como zero e são registradas as variações percentuais da frequência em alguns intervalos de tempo (1 minuto). Alguns destes dados experimentais são apresentados na figura 20.

Observa-se um aumento significativo da frequência dos **pptm<sub>s</sub>** da preparação de hemidiafragma de rato nos intervalos de tempo selecionados. A contagem do tempo é iniciada no instante da adição da SI KCl. Este resultado é esperado quando adiciona-se uma solução real de KCl no mesmo tipo de preparação, salvo o tempo de latência que é diferente entre as soluções real e imagem (citado anteriormente na página 52).

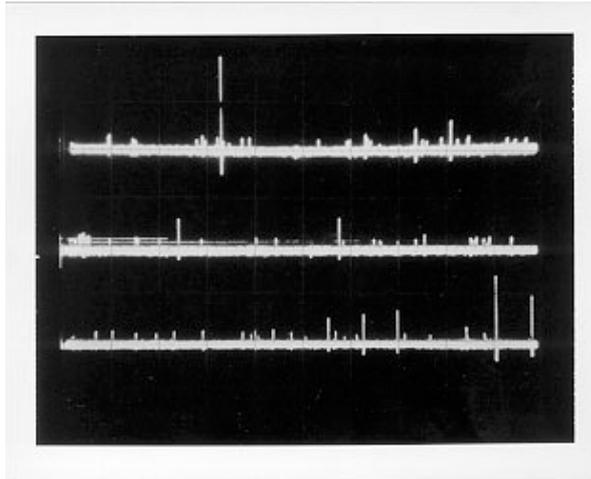


Figura 22.a

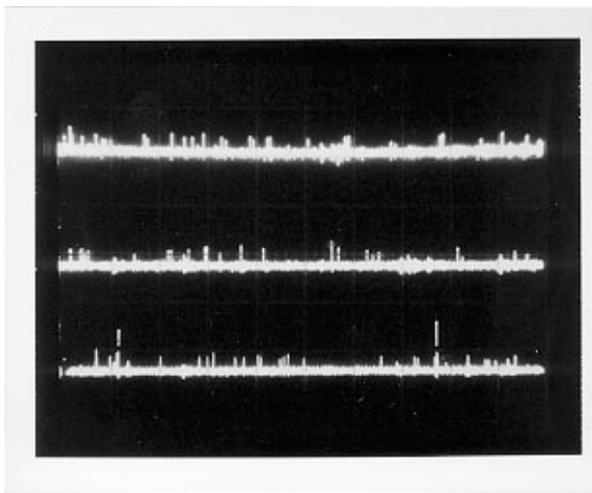


Figura 22.b

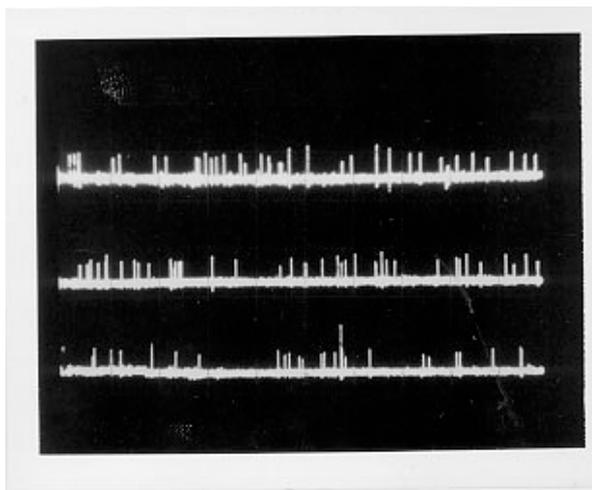


Figura 22.c

**Figura 22.** Fotos dos registros dos  $pptm_s$  de hemidiafragma de rato, obtidas do osciloscópio ; **(a)** antes da adição da SI KCl ; **(b)** após 10 minutos da adição da SI KCl ; **(c)** após 30 minutos da adição da SI KCl. [amplitude = 1mV / 0,7 cm ; velocidade do papel = 0,7 cm / 2 mseg.]

## IX. Aplicação de solução imagem de Cloreto de Magnésio em hemidiafragma de rato para obtenção de $\text{pptm}_s$ - potencial de placa terminal em miniatura:

**Ação farmacológica dos sais de Magnésio:**<sup>[121-126]</sup> O magnésio produz depressão do sistema nervoso central e aparelho neuromuscular periférico. Periféricamente, o magnésio tem ação curariforme. A excitação do músculo voluntário pelo estímulo nervoso é impedida pela ação do magnésio. O magnésio bloqueia a contração muscular produzida, seja pela excitação elétrica dos nervos motores, ou por drogas como a acetilcolina e a fisostigmina. Os sais de magnésio aplicados em alças intestinais isoladas, em baixa concentração, exercem uma ação antiespasmódica diminuindo a atividade peristáltica e antagonizando a excitação produzida pela fisostigmina e pelo bário. O bloqueio neuromuscular produzido pelo magnésio tem por causa : a) diminuição da quantidade de acetilcolina liberada pelo impulso nervoso; b) redução da sensibilidade da membrana subsináptica à ação despolarizante da acetilcolina e da excitabilidade da membrana das fibras musculares. O íon magnésio, assim como o íon cálcio, é estabilizador da membrana das fibras musculares elevando o limiar de excitação quando sua concentração é elevada.

A figura 23 mostra o registro das descargas de potencial de placa terminal em miniatura ( $\text{pptm}_s$ ) de hemidiafragma de rato, antes e após a adição da solução imagem de cloreto de magnésio - SI  $\text{MgCl}_2$ . Após a escolha de uma região de maior densidade de placas terminais nervosas, registrou-se a frequência espontânea dos  $\text{pptm}_s$  antes da adição da SI  $\text{MgCl}_2$  - figura 23.a. Decorridos 20 minutos da adição da SI  $\text{MgCl}_2$  observa-se uma diminuição significativa dos  $\text{pptm}_s$  - figura 23.b - semelhante ao efeito esperado pela adição de uma solução real de  $\text{MgCl}_2$  ao sistema. Após a lavagem da peça, os  $\text{pptm}_s$  começam a reaparecer - figura 22.c - indicando inequivocamente o efeito de inibição dos  $\text{pptm}_s$  quando da ação da SI  $\text{MgCl}_2$ .

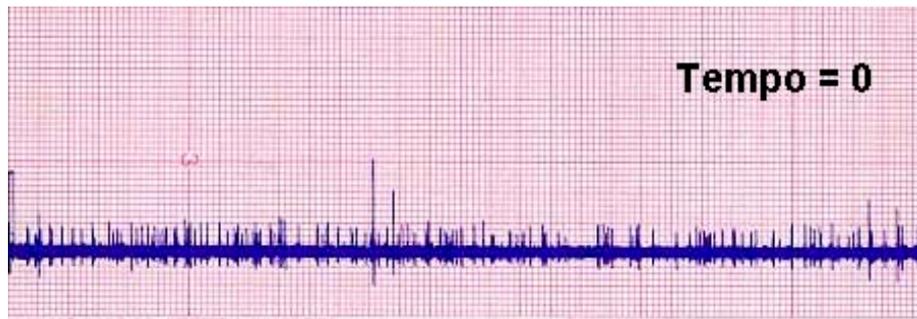


Figura 23.a

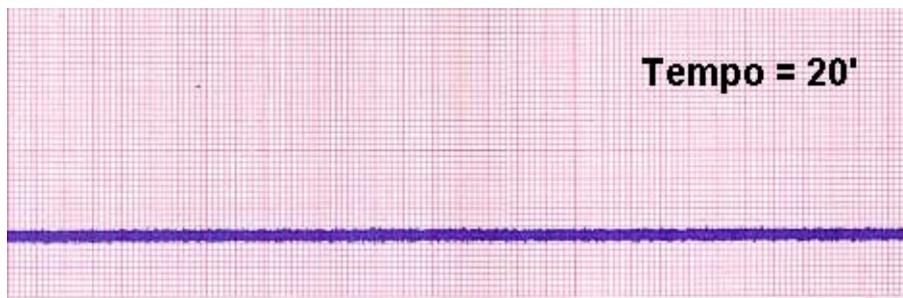


Figura 23.b

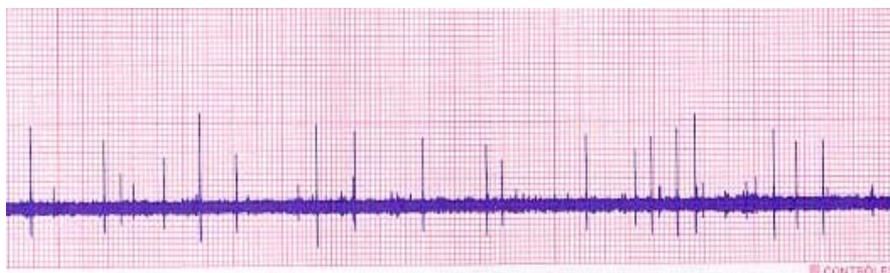


Figura 23.c

**Figura 23.** Registro dos **pptm<sub>s</sub>** espontâneos em hemidiafragma de rato ; **(a)** antes da adição da SI  $MgCl_2$  ; **(b)** após 20 minutos da adição da SI  $MgCl_2$  ; **(c)** após lavagem da preparação. [amplitude = 1mV / mm ; velocidade do papel = 25 cm / seg.]

Observa-se nitidamente a redução dos **pptm<sub>s</sub>** 20 minutos após a aplicação da SI  $MgCl_2$  - figura 23.b - e o reaparecimento dos **pptm<sub>s</sub>** após a lavagem da preparação - figura 23.c.

## **X. Aplicação de solução imagem de Cloreto de Bário em hemidiafragma de rato para obtenção de $\text{pptm}_s$ - potencial de placa terminal em miniatura:**

A figura 24 apresenta as fotos dos registros dos  $\text{pptm}_s$  em hemidiafragma de rato, obtidas do osciloscópio, antes e após a adição da solução imagem de cloreto de bário - SI  $\text{BaCl}_2$ .

Conforme descrito anteriormente, uma solução real de  $\text{BaCl}_2$  aumenta as descargas de potenciais de placa terminal em miniatura na junção neuromuscular (ver ação farmacológica dos sais de bário no ítem IV, página 40). Podemos observar neste exemplo que a SI  $\text{BaCl}_2$  aumentou muito, não só a frequência (figura 24.b), como também a amplitude dos  $\text{pptm}_s$  da preparação hemidiafragma em questão (figura 24.c).

Após 3 minutos da adição da SI  $\text{BaCl}_2$  observa-se um aumento de 200% da frequência dos  $\text{pptm}_s$ , com amplitude semelhante à inicial - figura 24.b. Após 18 minutos da adição da SI  $\text{BaCl}_2$  - figura 24.c - a amplitude dos  $\text{pptm}_s$  aumentou significativamente e a frequência diminuiu em relação à apresentada na figura 24.b, permanecendo 25% acima da frequência inicial mostrada na figura 24.a.

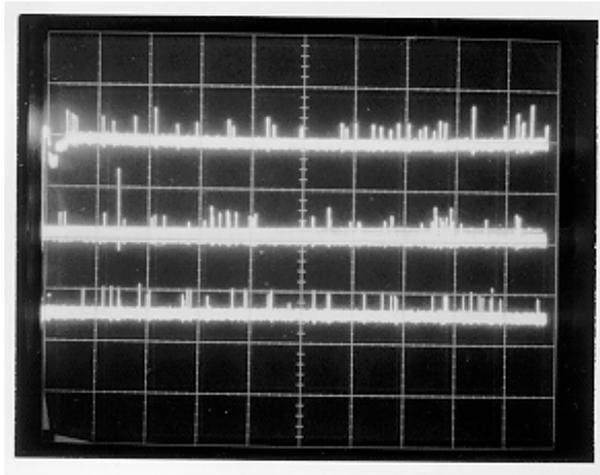


Figura 24.a

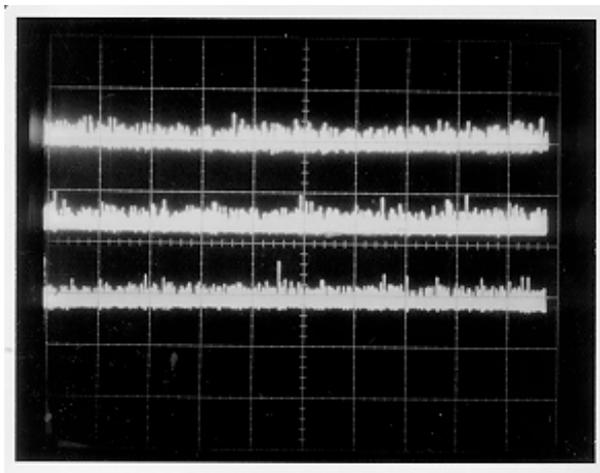


Figura 24.b

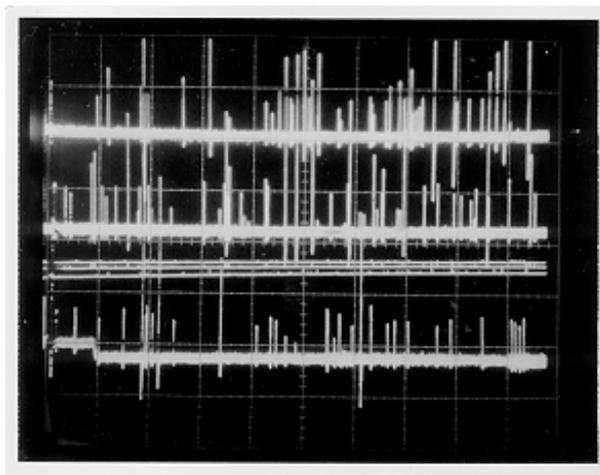


Figura 24.c

**Figura 24.** Fotos dos registros dos  $pptm_s$  em hemidiafragma de rato, obtidas do osciloscópio ; **(a)** antes da adição da SI  $BaCl_2$  ; **(b)** após 3 minutos da adição da SI  $BaCl_2$  ; **(c)** após 18 minutos da adição da SI  $BaCl_2$ . [amplitude =  $1mV / 0,7\text{ cm}$  ; velocidade do papel =  $0,7\text{ cm} / 2\text{ msec}$ .]

## **Capítulo IV**

“ Chega a Deus aquele que dá valor a uma lata velha jogada ao léu ;  
pois não é desejável nem lógico louvarmos um Deus invisível do céu.  
Faz-se necessário, primordialmente, entendermos uma lata velha.”

**A.P. Ricieri.**

## 6. Estudo físico-químico de soluções imagem

Após um longo período de testes das soluções imagem em sistemas biológicos, fez-se medidas de algumas propriedades físico-químicas destas soluções para tentar correlacionar sua atividade biológica em sistemas vivos, com possíveis alterações de propriedades da água.

Nesta fase, foram utilizados vários equipamentos disponíveis para uma prospecção inicial dos valores de propriedades físico-químicas das soluções imagem em relação a água desionizada padrão. As medidas físico-químicas realizadas foram : condutividade elétrica, pressão de vapor, tensão superficial, índice de refração, viscosidade, temperatura de ebulição, temperatura de congelamento e absorção na região de infravermelho (ATR).

### 6.a - Fundamentação e descrição experimental das medidas físico-químicas

#### 6.a.1 - Condutividade elétrica

Pela lei de Ohm, a densidade de corrente,  $j$ , é definida como :

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

onde,  $E$  = campo elétrico aplicado ;  $k$  = constante de proporcionalidade, que é a condutividade da substância.

A condutância ( $\Lambda$ ) é definida como o inverso da resistência ( $R$ ) e a condutividade ( $k$ ) é o inverso da resistividade ( $\rho$ ):

$$R = \rho L / A \text{ (}\Omega\text{)} \quad \text{equação (9)}$$

$$\Lambda = 1 / R \text{ (}\Omega^{-1}\text{) ou (S)} \quad \text{equação (10)}$$

$$k = 1 / \rho = L / R A \quad (\text{S.cm}^{-1}) \quad \text{equação (11)}$$

onde :  $L$  = comprimento e  $A$  = área da seção transversal da amostra.

Pela Teoria de Condutividade de Onsanger<sup>[105,127]</sup>, o movimento de um íon, partindo de um estado estacionário, devido a um campo elétrico aplicado, pode ser obtido relacionando-se a fem (força eletro-motriz) à soma dos retardamentos causados pelo atrito, assimetria e eletroforese. Os dois últimos efeitos são intensificados à medida que a concentração eletrolítica aumenta, o que causa um aumento das forças de retardamento e uma diminuição da condutividade. Se imaginarmos um único íon imerso em um fluido e sujeito a um campo elétrico, então o único retardamento que este íon pode experimentar é devido a viscosidade do fluido. Se o íon é uma esfera de raio  $r$ , a força friccional de oposição ao seu movimento é dada pela lei de Stokes<sup>[105,127]</sup>:

$$f = 6 \pi \eta r \quad \text{equação (12)}$$

onde,  $\eta$  = viscosidade do meio.

As medidas de condutividade foram feitas em um condutímetro Micronal B331, de leitura direta, com cela Metrohn nº 6.0901110 / Konstante  $c = 0,75 \text{ cm}^{-1}$ .

A calibração do aparelho foi feita com uma solução de cloreto de potássio (KCl)  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ , que possui condutividade ( $k$ ) igual a  $1.41 \text{ mS.cm}^{-1}$ , a uma temperatura de  $25^\circ\text{C}$ .<sup>[128,129]</sup>

Foram feitos estudos da variação da condutividade elétrica de soluções imagem com a temperatura, em relação à intensidade do campo magnético aplicado (variando-se a distância entre os ímãs), diferentes concentrações das soluções utilizadas como referência, ao longo do processo de preparação da solução imagem e com diferentes soluções reais de referência. Cada experimento foi repetido, no mínimo, por três vezes. Na otimização do arranjo experimental, os experimentos foram repetidos dezenas de vezes.

### 6.a.2 - Tensão superficial

Experiências realizadas em laboratórios espaciais confirmaram uma idéia na qual se acreditava há muito tempo: volumes de líquido em um reservatório de  $P$  e  $T$

constantes, em ausência de gravidade e isolados da superfície, são esféricos. Isto quer dizer que a energia livre de uma fase líquida é mínima quando a sua área superficial é mínima. O coeficiente de variação de energia livre com a área é a tensão superficial do líquido.

$$dG / dA = \gamma \quad \text{equação (13)}$$

onde, G é a energia livre, A é a área e  $\gamma$  é a tensão superficial.

A tensão superficial ( $\gamma$ )<sup>[130]</sup> é igual a tensão superficial lida no tensiômetro ( $T_L$ ), corrigida por um fator de correção (F), obtido a partir da equação 15:

$$\gamma = T_L \times F \quad \text{equação (14)}$$

$$(F - a)^2 = [4 b / (\pi R)^2] \times [T_L / (D - d)] + K \quad \text{equação (15)}$$

onde :

F = fator de correção

R = raio do anel ; r = raio do arame do anel

$T_L$  = tensão superficial lida no tensiômetro

D = densidade da fase superior ; d = densidade da fase inferior

K = 0.04534 - 1.679 r/R

C = a circunferência do anel

a = 0.725 ; b = 0.0009075

**Obs.** a, b e a parte numérica de K são constantes universais para todos os anéis.

$$F = 0.9382$$

As medidas de tensão superficial foram realizadas no Tensiômetro Fisher Modelo 20, com anel de platina-irídio com as seguintes características: circunferência = 6.015cm , R/r = 53.88.32824, nº 4113.

A calibração do tensiômetro e as medidas de tensão superficial foram feitas seguindo-se o procedimento descrito no manual.<sup>[130]</sup> Cada experimento foi realizado , no mínimo, três vezes e os valores apresentados (tabela 8, página 77) são uma média de 6 a 10 repetições de cada medida.

### 6.a.3 - Índice de refração

O índice de refração  $n_r$  de um meio, pode ser definido como :

$$n_r = c / c' \quad \text{equação (16)}$$

onde :  $c$  = velocidade da luz no vácuo ;  $c'$  = velocidade no meio incidente.

Medidas de índice de refração de soluções imagem foram feitas no refratômetro de Abbe, Carl Zeiss (JENA) , a temperatura de 25 °C.

### 6.a.4 - Viscosidade

A taxa de migração de uma propriedade é medida pelo seu fluxo  $J$ , a quantidade desta propriedade que passa por uma unidade de área por unidade de tempo. O fluxo do momento de um componente  $x$  é proporcional à variação da sua velocidade ( $v_x$ ) na direção  $z$  :<sup>[105,127]</sup>

$$J \text{ (momento do componente } x) \propto dv_x / dz$$

$$J \text{ (momento do componente } x) = - \eta (dv_x / dz) \quad \text{equação (17)}$$

onde,  $\eta$  = coeficiente de viscosidade ou simplesmente viscosidade ( $\text{kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$ ).

A viscosidade é uma medida de fluxo de momento.

As medidas de viscosidade de soluções imagem foram feitas em um viscosímetro de Ostwald, com capacidade de volume da amostra de 10 mL, a temperatura de 25 °C. Estas medidas foram feitas com 20 soluções imagem diferentes e cada valor obtido é a média de 10 repetições de tempo de escoamento da amostra.

### 6.a.5 - Pressão de vapor

A existência de uma pressão de vapor e o seu aumento com a temperatura são consequências da distribuição de energia de Boltzmann. Mesmo a temperaturas baixas, uma fração de moléculas no líquido tem energias em excesso da energia coesiva do líquido. Esta fração aumenta rapidamente com a temperatura e, conseqüentemente, a pressão de vapor também aumenta com a temperatura <sup>[127]</sup>. A distribuição de Boltzmann sobre uma faixa contínua de energia é : <sup>[105]</sup>

$$f(E) = (1/kT) e^{-E/kT} \quad \text{equação (18)}$$

onde, o fator (1/kT) indica que a distribuição está normalizada para 1.

O argumento implica que a uma temperatura específica, um líquido com uma grande energia coesiva (ou seja, com um grande calor de vaporização molar,  $Q_{vap}$ ) vai ter uma pressão de vapor menor do que aquele que tenha uma energia coesiva pequena. A partir da distribuição de Boltzmann é possível estabelecer uma relação entre a pressão de vapor e o calor de vaporização. <sup>[127]</sup>

$$p = p_{\infty} e^{(-Q_{vap}/RT)} \quad \text{equação (19)}$$

onde,  $p_{\infty}$  é também uma constante com as mesmas unidades de  $p$ .

A equação (19) relaciona a pressão de vapor, a temperatura e o calor de vaporização, sendo assim uma das formas da equação de Clausius-Clapeyron. Considerando-se um equilíbrio de fase condensada, tanto sólido quanto líquido, com vapor, temos

$$dp/dT = \Delta S/\Delta V = \Delta H/T (Vm_g - Vm_c) \quad \text{equação (20)}$$

onde,  $\Delta H$  é o calor de vaporização molar do líquido ou o calor de sublimação molar do sólido, e  $Vm_c$  é o volume molar da fase condensada (sólido ou líquido). Na maioria das circunstâncias,  $Vm_g - Vm_c \cong Vm_g$ , e isto assumindo que o gás seja ideal é igual a  $RT/p$ .

Reescrevendo a equação, chegamos na equação de Clausius-Clapeyron,

$$d \ln p / dT = \Delta H / RT^2 \quad \text{equação (21)}$$

As medidas de pressão de vapor podem ser feitas através de um isoteniscópio, onde a pressão de vapor é lida diretamente pela soma das alturas do líquido (mercúrio) deslocado em ambos os ramos do isoteniscópio a partir do eixo zero, onde os ramos estão em equilíbrio sob a mesma pressão inicial.

Supondo a coluna do tubo em “U” do isoteniscópio tendo uma área de seção transversal  $A$ , o seu volume é  $A h$ . A massa desta coluna de líquido de densidade  $\rho$  é [105]

$$m = \rho A h \quad \text{equação (22)}$$

A força que a coluna desta massa exerce sobre a sua base é:

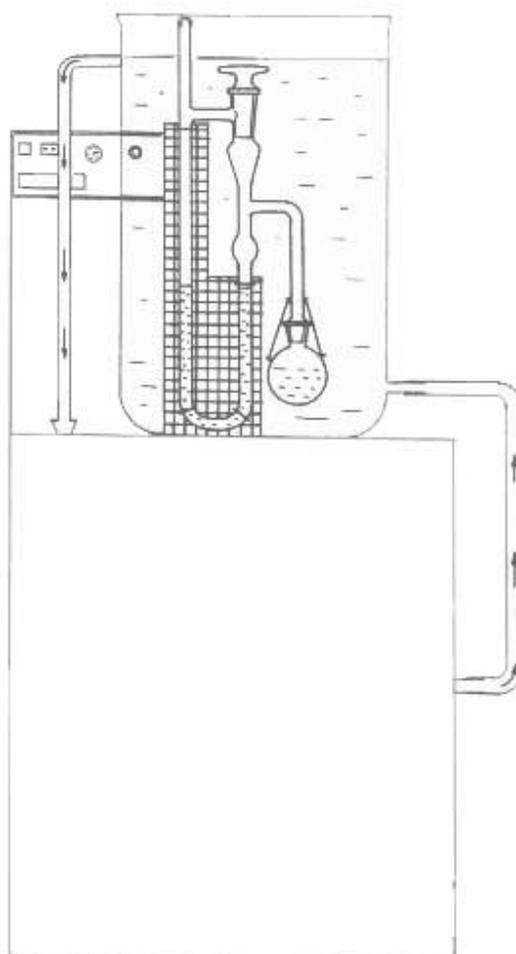
$$F = mg = \rho A h g \quad \text{equação (23)}$$

A pressão é a força dividida pela área na qual ela age :

$$p = \rho g h A / A = \rho g h \quad \text{equação (24)}$$

As medidas de pressão de vapor foram feitas utilizando-se a montagem experimental esquematizada na figura 25. A curva de calibração com água desionizada foi feita 5 vezes, em dias distintos, para a obtenção do desvio padrão desta medida e a curva de cada amostra foi realizada por uma vez.

Antes de se iniciar as medidas de pressão de vapor da amostra, esta é degaseificada através de congelamento e bombeamento dos gases durante a transição de fase líquido-sólido. Após o procedimento inicial de degaseificação da amostra, o isoteniscópio é imerso no banho termostatizado e espera-se até que todo o sistema esteja em equilíbrio térmico para se efetuar as leituras de pressão de vapor. A leitura da pressão de vapor é feita na escala milimetrada fixada na parte posterior do isoteniscópio a partir do deslocamento do mercúrio em relação ao ponto de equilíbrio inicial (sistema isobárico). Após a leitura de pressão de vapor a uma determinada temperatura fixa-se um novo valor de temperatura e repete-se o procedimento descrito anteriormente para se obter nova medida de pressão de vapor, relativa agora, a esta nova temperatura fixada. A faixa de temperatura utilizada neste experimento foi de  $0^{\circ}$  a  $50^{\circ}\text{C}$ , com incrementos de  $5^{\circ}\text{C}$  na temperatura do banho termostatizado.



**Figura 25.** Esquema da montagem utilizada para as medidas de pressão de vapor : banho termostático modelo MQBTC 99-20 - Microquímica Ind. e Com Ltda. ; cuba de vidro e isoteniscópio confeccionados na vidraria do Instituto de Química da Unicamp com as seguintes especificações :

Cuba de vidro : altura = 30 cm e diâmetro interno = 16 cm ;

Isoteniscópio : Torneira de vidro de 2 vias perpendicular, sem selo de mercúrio, macho oco, para alto vácuo (haste de 12 mm e furo de 6 mm), com junta esmerilhada <sup>[131]</sup>; balão de fundo redondo de 30 mL com junta esmerilhada 14/23; bulbo de mercúrio (altura =20 mm e diâmetro =18 mm); tubo de vidro com diâmetro interno = 6 mm e diâmetro externo = 9 mm; oliva para encaixe de borracha externa.

### **6.a.6 - Temperatura de ebulição**

A título de prospecção de uma possível alteração da temperatura de ebulição de algumas soluções imagem, aqueceu-se a amostra em béquer aberto e utilizou-se um termopar digital para as medidas de temperaturas. Foram realizados dezenas de experimentos para a obtenção da temperatura de ebulição de soluções imagem.

### **6.a.7 - Temperatura de congelamento**

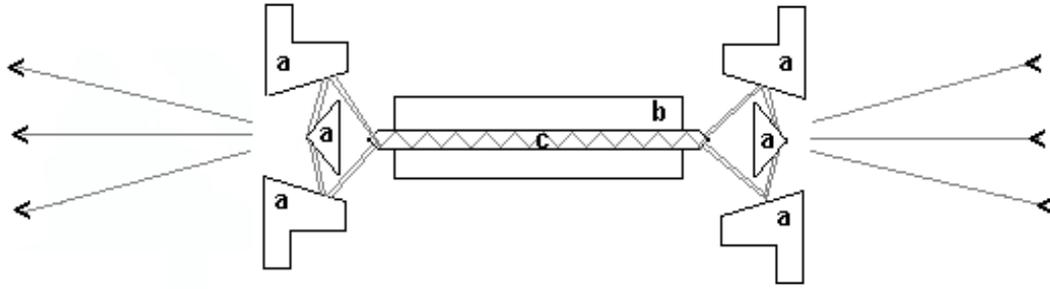
A temperatura de congelamento de algumas soluções imagem foram averiguadas mediante um sistema simples de medida. A solução imagem foi adicionada em um béquer aberto, imerso em um banho de gelo e observou-se a temperatura da formação dos primeiros cristais de gelo, onde utilizou-se um termômetro digital para indicar a temperatura correspondente. Foram feitos 10 experimentos distintos para a observação da temperatura de congelamento de soluções imagem.

### **6.a.8 - Espectroscopia de Infravermelho - ATR**

A espectroscopia de infravermelho pode ser considerada como a técnica mais poderosa para o estudo do caráter das ligações de hidrogênio na água líquida <sup>[52,53]</sup>. No entanto, a pouca utilização desta técnica para investigação da estrutura da água se deve ao fato de que esta substância possui uma forte absorção de radiação infravermelha, resultando em bandas largas que impossibilitam a obtenção de informações estruturais quantitativas e confiáveis nesta região, com técnicas convencionais no infravermelho.

O advento dos espectrômetros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR - Fourier Transform Infrared) e o desenvolvimento de novas técnicas de medida, como a espectroscopia de ATR (Attenuated Total Reflection - Reflexão Total Atenuada), tornaram a espectroscopia na região do infravermelho ainda mais potente para o estudo de água desionizada e de soluções aquosas, viabilizando a obtenção de espectros de alta qualidade nesta região<sup>[52]</sup>.

Na espectroscopia de ATR, a amostra é colocada em uma cela ótica (CIRCLE<sup>®</sup> cell - Cylindrical Internal Reflectance Cell for Liquid Evaluation), como mostra a figura 26 :



**Figura 26.** Representação esquemática da CIRCLE<sup>®</sup> cell. **(a)** conjunto de lentes espelhadas para focalizar a radiação ; **(b)** corpo da cela - recipiente de inox cilíndrico, aberto, onde a amostra é colocada até que cubra totalmente o cristal de ATR; **(c)** cristal de ATR de ZnSe <sup>[52]</sup>.

O princípio utilizado na espectroscopia de ATR é que a partir da radiação infravermelha incidente num prisma de material transparente ao infravermelho e com alto índice de refração - cristal de ATR - cria-se um efeito chamado de onda evanescente, que se propaga da superfície do cristal (meio com maior índice de refração) para a superfície da amostra (meio com menor índice de refração), mantida em contato com o cristal <sup>[52]</sup>.

A condição essencial para que ocorra o fenômeno da reflexão interna é que o ângulo de incidência da radiação ( $\theta$ ) deve ser maior que o ângulo crítico ( $\theta_c$ ), que é função dos índices de refração da amostra e do cristal de ATR <sup>[52]</sup>.

$$\theta > \theta_c = \text{sen}^{-1} (n_{r1} / n_{r2}) \quad \text{equação (25)}$$

onde,  $n_{r1}$  = índice de refração do cristal de ATR,  $n_{r2}$  = índice de refração da amostra.

A intensidade da onda evanescente decai exponencialmente com a distância ou profundidade de penetração ( $d_p$ ) na amostra, que é da ordem de poucos micrometros <sup>[52]</sup>.

$$d_p = \lambda / (2 n_{r1} \pi \sqrt{\text{sen}^2 \theta - n_{r21}^2}) \quad \text{equação (26)}$$

onde,  $\lambda$  = comprimento de onda,  $n_{r21}$  = razão entre os índices de refração da amostra e do cristal.

Numa analogia com a técnica espectroscópica onde a radiação atravessa a amostra,  $d_p$  pode ser considerada como o caminho ótico,  $b$ . Pela Lei de Beer :

$$\text{Abs} = \varepsilon \cdot b \cdot C \quad \text{equação (27)}$$

onde, Abs = absorvância,  $\varepsilon$  = coeficiente de absortividade,  $b$  = caminho ótico e  $C$  = concentração.

Na utilização da técnica de ATR,  $b \sim d_p$ , e a equação (27) passa a ser então :

$$\text{Abs} = \varepsilon \cdot d_p \cdot C \quad \text{equação (27.a)}$$

Em regiões do infravermelho onde a amostra sólida ou líquida absorve energia, a onda evanescente interage com a amostra e o espectro é obtido.<sup>[52]</sup> Neste caso, pode-se falar em Refletância,  $R$  (ou %R), como a razão entre as intensidades da radiação refletida ( $I$ ) e incidente ( $I_0$ ) :

$$R = I / I_0 \quad \text{equação (28)}$$

Quando a reflexão é total,  $I = I_0$  e  $R = 1$ .

Os espectros de infravermelho, utilizando a técnica de ATR, foram obtidos no equipamento NICOLET 520 FT-IR Spectrometer. Todos os espectros foram feitos sob as mesmas condições experimentais, a uma temperatura de 20 °C. Foram acumuladas 256 varreduras com resolução igual a 4  $\text{cm}^{-1}$  em todos os espectros. A amostra líquida colocada na cela CIRCLE, deve cobrir completamente o cristal de ATR. Após a aquisição do espectro de cada duas amostras é feita uma outra com a cela vazia, para controle do espectro de referência. Foram obtidos 4 espectros distintos de água desionizada padrão para a observação das flutuações instrumentais e 1 espectro de cada solução imagem estudada.

## 6.b - Resultados e discussão

### 6.b.1 - Condutividade

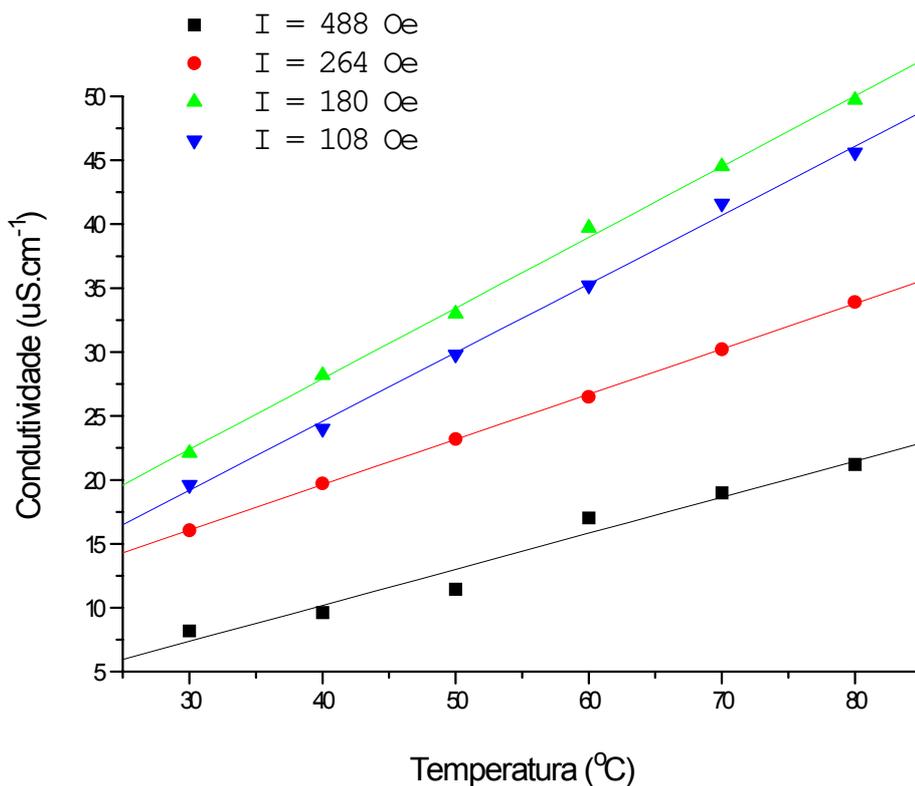
Das técnicas utilizadas para acompanhar as variações de propriedades físico-químicas da água quando submetida ao campo magnético com solução real, a medida de condutividade elétrica se mostrou a mais viável. O fato desta medida ser simples, direta e rápida, apresentando grande variação percentual do valor de condutividade sofrida pela água, tornaram esta técnica altamente conveniente para o acompanhamento e otimização de algumas variáveis independentes no processo de obtenção das soluções imagem.

Em adição a este fato, observa-se que dentre as soluções estudadas, a SI  $\text{CaCl}_2$  apresenta valores bastante altos de condutividade, quando comparada com a água desionizada à mesma temperatura.

Por esta razão, a otimização da distância entre os pólos dos ímãs, bem como a da concentração da solução real, foi feita com base na resposta de condutividade para SI  $\text{CaCl}_2$ , conforme se observa nas tabelas 4 e 5, e respectivos gráficos (figuras 27 e 28). A tabela 6 e figura 29 apresentam valores de condutividade correspondentes a uma tentativa de otimização do tempo de preparação da solução imagem, como se verá a seguir.

**Tabela 4** - Variação da condutividade elétrica ( $\kappa$ ) de soluções imagem de cloreto de cálcio - SI  $\text{CaCl}_2$  - com a temperatura, em relação a intensidade do campo magnético utilizado durante o processo de preparação da solução imagem.

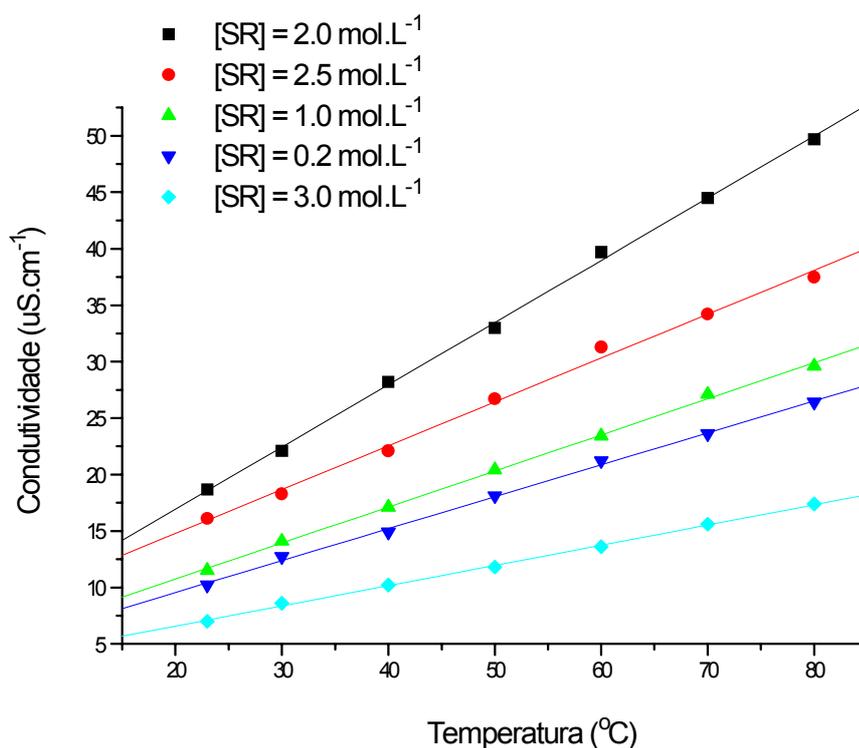
T (°C) ( $\pm 0.5$ )	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) I=488 Oe	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) I=264 Oe	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) I=180 Oe	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) I=108 Oe
30,0	8,2	16,1	22,1	19,6
40,0	9,6	19,7	28,2	24,0
50,0	11,4	23,2	33,0	29,8
60,0	17,1	26,5	39,7	35,2
70,0	19,0	30,2	44,5	41,6
80,0	21,2	33,9	49,7	45,6



**Figura 27.** Gráfico correspondente a variação da condutividade elétrica de soluções imagem de cloreto de cálcio - SI  $\text{CaCl}_2$  - com a temperatura, em relação a variação da intensidade do campo magnético utilizado na preparação destas soluções (dados apresentados na tabela 4).

**Tabela 5** - Variação da condutividade elétrica ( $\kappa$ ) de soluções imagem de cloreto de cálcio - SI  $\text{CaCl}_2$  - com a temperatura, em relação a concentração da solução real utilizada como referência.

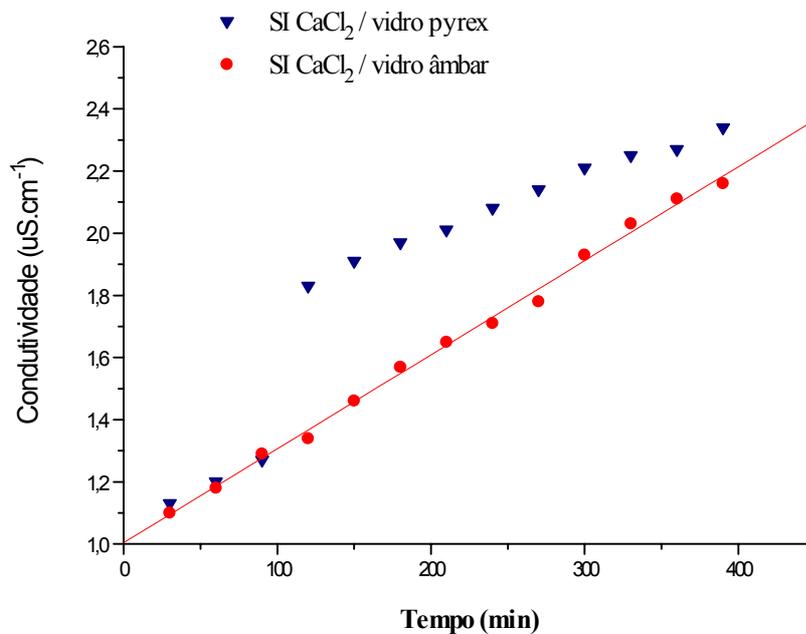
$T$ ( $^{\circ}\text{C}$ ) ( $\pm 0.5$ )	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) [SR]=3.0 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) [SR]=2.5 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) [SR]=2.0 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) [SR]=1.0 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) [SR]=0.2 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
23,0	7,0	16,1	18,7	11,5	10,2
30,0	8,6	18,3	22,1	14,1	12,7
40,0	10,2	22,1	28,2	17,1	14,9
50,0	11,8	26,7	33,0	20,4	18,1
60,0	13,6	31,3	39,7	23,4	21,2
70,0	15,6	34,2	44,5	27,1	23,6
80,0	17,4	37,5	49,7	29,6	26,4



**Figura 28.** Gráfico correspondente a variação da condutividade elétrica de soluções imagem de cloreto de cálcio - SI  $\text{CaCl}_2$  - com a temperatura, em relação a concentração da solução real utilizada como referência (dados apresentados na tabela 5).

**Tabela 6** - Variação da condutividade elétrica ( $\kappa$ ) de soluções imagem de cloreto de cálcio - SI  $\text{CaCl}_2$  - com a temperatura, em relação ao tempo de preparação da solução imagem. As medidas de condutividade foram feitas a cada 30 minutos, durante 6h e 30 min., no próprio frasco utilizado no arranjo experimental, sempre com a mesma solução imagem.

Tempo (min)	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.01$ )	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.01$ )
	frasco vidro pyrex	frasco vidro âmbar
30	1,13	1,10
60	1,20	1,18
90	1,27	1,29
120	1,83	1,34
150	1,91	1,46
180	1,97	1,57
210	2,01	1,65
240	2,08	1,71
270	2,14	1,78
300	2,21	1,93
330	2,25	2,03
360	2,27	2,11
390	2,34	2,16



**Figura 29.** Gráfico correspondente a variação da condutividade elétrica de soluções imagem de cloreto de cálcio - SI  $\text{CaCl}_2$  - com o tempo, durante o processo de preparação das soluções imagem (dados apresentados na tabela 6).

Os critérios utilizados para a eleição das melhores condições levaram em conta, além do resultado das medidas, outros fatores associados à disponibilidade do material empregado e à facilidade de execução do processo.

Os dados obtidos por este processo de otimização levaram a selecionar o valor do campo magnético aplicado de 180 Oe (tabela 4, figura 27), o que equivale a uma distância de 7,0 cm entre os pólos dos ímãs de neodímio utilizados. A concentração da solução real utilizada apresentou melhores resultados na faixa de 2,0 a 2,5 mol.L<sup>-1</sup> (tabela 5, figura 28).

Fez-se um acompanhamento dos valores de condutividade ao longo do tempo de preparação da solução imagem em dois arranjos distintos (um utilizando frasco de vidro pyrex como receptor da água desionizada e outro, utilizando frasco de vidro âmbar para a mesma finalidade). As medidas de condutividade foram feitas a cada 30 minutos e os valores obtidos foram pequenos durante todo o processo (tabela 6, figura 29). Possivelmente, a interferência da medida de condutividade, onde se verifica a passagem de corrente elétrica no meio, inibe o processo de preparação da solução imagem. Por esta razão, não foi possível otimizar o tempo de ação do campo magnético sobre o sistema. Convencionamos então, deixar as soluções em preparação durante a noite (cerca de 14hs), utilizando-as até um ou dois dias após a sua preparação.

Recentemente, entretanto, alguns arranjos experimentais foram deixados por um período muito mais longo que o usual, apresentando resultados bastante elevados nas medidas de condutividade. Soluções imagem de cloreto de cálcio - SI  $\text{CaCl}_2$  - preparadas conforme a descrição da montagem do ítem 4.a (capítulo II, página 25), com tempo de exposição ao campo magnético igual a 7 dias apresentaram condutividade de 70,0  $\mu\text{S.cm}^{-1}$  (T= 25,0 °C).

Por outro lado, algumas SI  $\text{CaCl}_2$  preparadas nas mesmas condições experimentais descrita no ítem 4.a, eventualmente apresentavam valores de condutividade superiores aos esperados, mesmo dentro das 14hs usuais ( $\kappa = 24,0 \mu\text{S.cm}^{-1}$  ;  $37,0 \mu\text{S.cm}^{-1}$  ;  $44,0 \mu\text{S.cm}^{-1}$  / T=25,0°C). Nestes casos esporádicos não conseguiu-se detetar um fator responsável por tais variações. Este fato, portanto, mostra que algumas variáveis ainda não controladas devem interferir no processo de produção das soluções imagem. Sua identificação deverá ser objeto de investigação em trabalhos

futuros. Por enquanto, os resultados apresentados neste trabalho (obtidos com solução produzida em 14 hs) devem ser vistos apenas como uma avaliação do potencial que apresentam as soluções imagem, já que do ponto de vista puramente técnico da sua elaboração é razoável esperar um aumento das respostas dos testes à medida que estas variáveis sejam controladas.

Tendo portanto o sistema otimizado, tanto quanto possível, passamos a medir e comparar as condutividades elétricas de várias soluções imagem, em algumas temperaturas. Tais resultados estão apresentados na tabela 7 e figura 30.

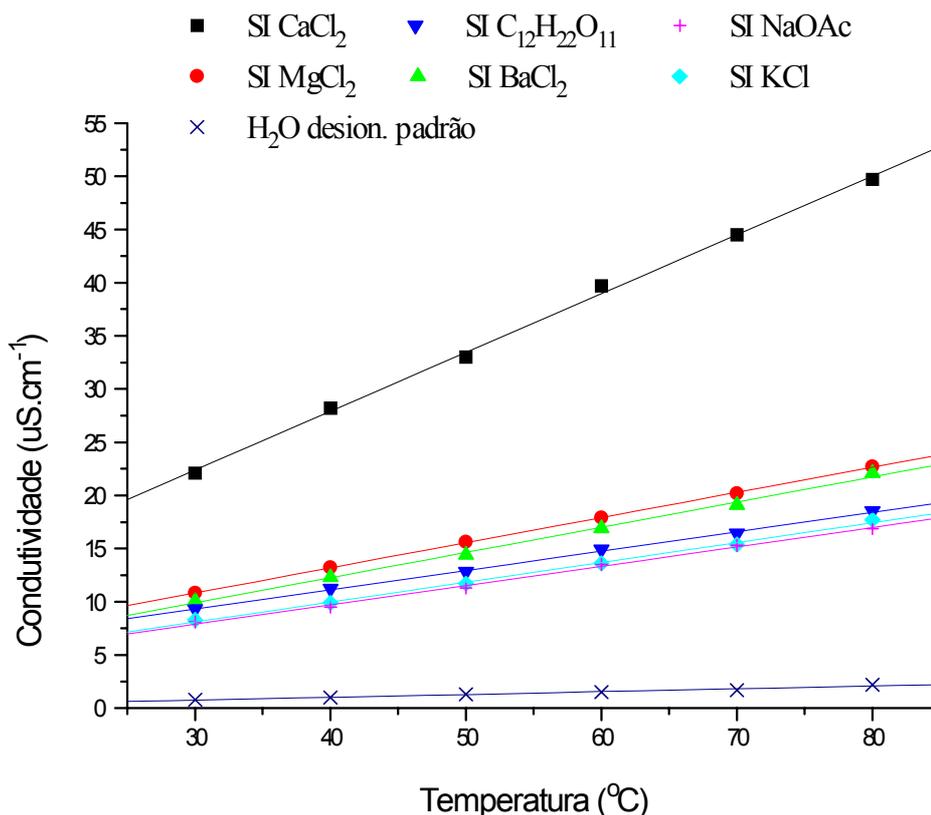
**Tabela 7** - Variação da condutividade elétrica ( $\kappa$ ) de diferentes soluções imagem ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{BaCl}_2$ ,  $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ ,  $\text{KCl}$  e  $\text{NaOAc}$ ) com a temperatura, comparadas com o padrão - água desionizada. Os valores de condutividade da água desionizada padrão a temperatura ambiente ( $T=20$  a  $27$  °C) variam de  $0,7\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1} < \kappa < 1,3\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ .

T (°C) ( $\pm 0.5$ )	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) SI $\text{CaCl}_2$	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) SI $\text{MgCl}_2$	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) SI $\text{BaCl}_2$	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) SI $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) SI $\text{KCl}$	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) SI $\text{NaOAc}$	$\kappa$ ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) ( $\pm 0.1$ ) $\text{H}_2\text{O}_{\text{desion.}}$
30,0	22,1	10,8	10,1	9,3	8,3	8,1	0,8
40,0	28,2	13,2	12,3	11,2	9,9	9,5	1,0
50,0	33,0	15,6	14,4	12,8	11,7	11,3	1,3
60,0	39,7	17,9	16,9	14,9	13,6	13,5	1,5
70,0	44,5	20,2	19,1	16,4	15,4	15,3	1,7
80,0	49,7	22,7	22,1	18,5	17,7	16,9	2,2

Dentre as soluções estudadas, destacamos a SI  $\text{CaCl}_2$  como a que apresentou valores mais elevados de condutividade, no entanto, todas as outras soluções apresentaram valores de condutividade muito superiores ao da água desionizada padrão.

$$\kappa \text{ SI } \text{CaCl}_2 > \kappa \text{ SI } \text{MgCl}_2 > \kappa \text{ SI } \text{BaCl}_2 > \kappa \text{ SI } \text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} > \kappa \text{ SI } \text{KCl}$$

$$\kappa \text{ SI } \text{NaOAc} \gg \gg \gg \kappa \text{ H}_2\text{O desion. padrão}$$



**Figura 30.** Gráfico correspondente a variação da condutividade elétrica de diferentes soluções imagem - CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, BaCl<sub>2</sub>, C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>, KCl e NaOAc com a temperatura, comparados com o padrão - água desionizada (dados apresentados na tabela 7).

### 6.b.2 - Tensão superficial

Apesar de alguns autores<sup>[12]</sup> afirmarem que a tensão superficial da água varia substancialmente quando esta é submetida a campos magnéticos (intensos), as soluções imagem estudadas apresentaram pequenas variações deste parâmetro. É importante ressaltar que as medidas de tensão superficial são muito reprodutíveis (desvio =  $\pm 0,1$  dina.cm<sup>-1</sup>), o que significa que as pequenas variações observadas são confiáveis. Na tabela 8, a seguir, apresentamos alguns resultados das medidas de tensão superficial :

**Tabela 8** - Tensão superficial de algumas soluções imagem.  $T_L$  = tensão superficial lida no tensiômetro,  $\gamma$  = tensão superficial corrigida (equação 14), F = fator de correção obtido a partir da equação 15 :

Solução Imagem	Concentração Solução Real mol.L <sup>-1</sup>	$T_L$ (dina.cm <sup>-1</sup> ) (± 0.1) SI	$T_L$ (dina.cm <sup>-1</sup> ) (± 0.1) H <sub>2</sub> O desion.	$\gamma$ (dina.cm <sup>-1</sup> ) (± 0.1) SI	$\gamma$ (dina.cm <sup>-1</sup> ) (± 0.1) H <sub>2</sub> O desion.	Temp. (°C) (± 0.5)
BaCl <sub>2</sub>	2,0	76.5	77.1	71.8	72.3	22.5
KCl	2,0	76.9	77.0	72.1	72.2	23.0
MgCl <sub>2</sub>	2,0	76.2	77.0	71.5	72.2	24.5
C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>	2,0	76.4	77.0	71.7	72.2	23.0
NaOAc	2,0	76.3	77.0	71.6	72.2	23.0
CuSO <sub>4</sub>	2,0	76.4	76.9	71.7	72.1	25.0
CaCl <sub>2</sub>	2,0	76.4	76.9	71.7	72.1	25.0
CaCl <sub>2</sub>	2,5	76.3	77.0	71.6	72.2	24.0
CaCl <sub>2</sub>	1,0	76.5	77.0	71.8	72.2	23.0
CaCl <sub>2</sub>	0,2	76.9	77.0	72.1	72.2	23.0
CaCl <sub>2</sub>	3,0	76.2	77.0	71.5	72.2	23.0

A solução imagem que apresentou maior diferença de tensão superficial em relação ao padrão ( $\gamma = 72.2$  dina.cm<sup>-1</sup>) foi a SI MgCl<sub>2</sub> ( $\gamma = 71.5$  dina.cm<sup>-1</sup>). Por outro lado, a SI KCl não apresentou qualquer variação deste parâmetro em relação ao padrão.

$$\gamma \text{ SI MgCl}_2 < \gamma \text{ SI NaOAc} < \gamma \text{ SI CaCl}_2, \text{ SI CuSO}_4, \text{ SI C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} < \\ \gamma \text{ SI BaCl}_2 < \gamma \text{ SI KCl} = \gamma \text{ H}_2\text{O desion. padrão}$$

Observa-se também que os valores de tensão superficial das SI CaCl<sub>2</sub> diminuem em relação à água desionizada padrão, a medida que a concentração da solução real de referência aumenta :

$$\gamma \text{ SI CaCl}_2 \text{ ([SR] = 3,0 mol.L}^{-1}\text{)} < \gamma \text{ SI CaCl}_2 \text{ ([SR] = 2,5 mol.L}^{-1}\text{)} < \\ \gamma \text{ SI CaCl}_2 \text{ ([SR] = 2,0 mol.L}^{-1}\text{)} < \gamma \text{ SI CaCl}_2 \text{ ([SR] = 1,0 mol.L}^{-1}\text{)} < \\ \gamma \text{ SI CaCl}_2 \text{ ([SR] = 0,2 mol.L}^{-1}\text{)} = \gamma \text{ H}_2\text{O desion. padrão}$$

Não se observa uma correlação entre as variações de tensão superficial das soluções imagem estudadas com a variação da intensidade do campo magnético (distância entre os ímãs). Ressalta-se novamente, que os artigos científicos<sup>[14]</sup> que mencionam alterações deste parâmetro na água tratada em campos magnéticos utilizam intensidades de campo aplicado muito superiores às estudadas neste trabalho. Em nenhum dos casos foi registrado um aumento da tensão superficial da solução imagem quando comparada com água desionizada. As diminuições observadas, apesar de pequenas, indicam uma provável alteração entre as interações das moléculas de água quando submetida ao processo de preparação da solução imagem.

**Tabela 9** - Os valores de tensão superficial de água encontrados na literatura<sup>[128,129]</sup> nesta faixa de temperatura são :

$\gamma$ (dina.cm <sup>-1</sup> ) H <sub>2</sub> O Literatura	Temp. (°C)
73.05	18.0
72.75	20.0
71.97	25.0
71.18	30.0

### 6.b.3 - Índice de refração

As soluções imagem selecionadas para estas medidas não apresentaram variações detetáveis pela instrumentação utilizada, em relação a água desionizada padrão.

Conforme se verá adiante, apesar de observarmos uma pequena diferença nos espectros de ATR, cuja absorvância depende do índice de refração e do coeficiente de absorvidade, a sensibilidade dos instrumentos utilizados não permitiram se observar uma possível variação no índice de refração.

### 6.b.4 - Viscosidade

Neste caso, também não se conseguiu detetar variações do tempo de escoamento das amostras selecionadas em relação a água desionizada padrão, utilizando-se o viscosímetro de Ostwald como instrumentação para medir tal parâmetro.

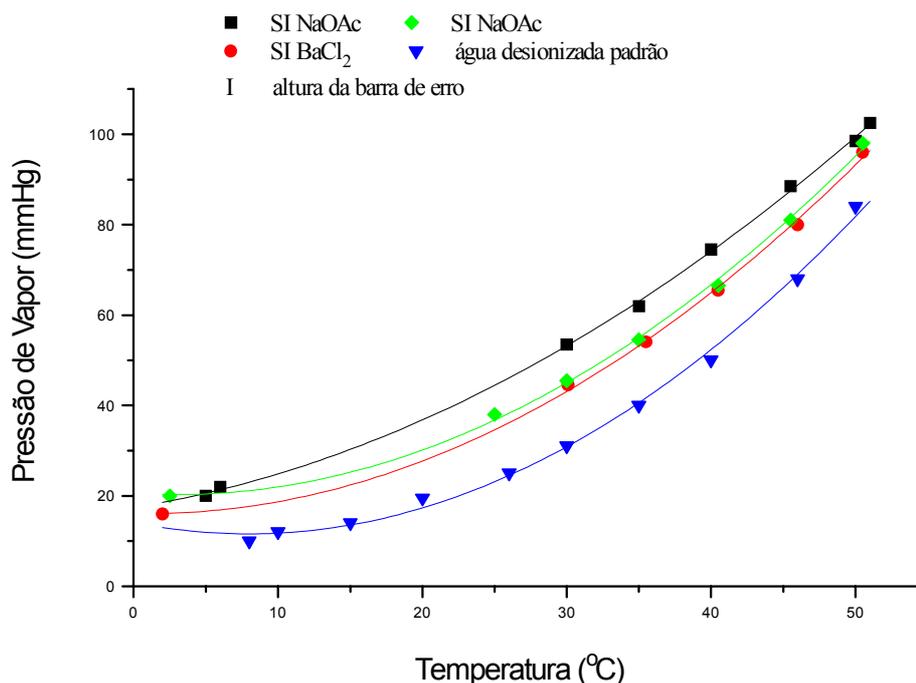
### 6.b.5 - Pressão de vapor

A tabela 10 e a figura 31 apresentam alguns resultados obtidos nas medidas de pressão de vapor de soluções imagem.

**Tabela 10** - Pressão de vapor de soluções imagem de acetato de sódio (SI NaOAc), cloreto de bário (SI BaCl<sub>2</sub>) e da água desionizada padrão, em relação a temperatura. As curvas foram obtidas em diferentes arranjos experimentais.

T (°C) (± 0,5)	Pressão Vapor (mmHg) (± 0,5) SI NaOAc	Pressão Vapor (mmHg) (± 0,5) SI BaCl <sub>2</sub>	Pressão Vapor (mmHg) (± 0,5) SI NaOAc	Pressão Vapor (mmHg) (± 0,5) H <sub>2</sub> O <sub>desion.</sub>
2,0	-	16,0	20,0	-
5,0	22,0	-	-	-
10,0	-	-	-	12,0
15,0	-	-	-	14,0
20,0	-	-	-	19,5
25,0	-	-	38,0	25,0
30,0	53,5	44,5	45,5	31,0
35,0	62,0	54,0	54,5	40,0
40,0	74,5	65,5	66,5	50,0
45,0	88,5	80,0	81,0	68,0
50,0	98,5	96,0	98,0	84,0

Observa-se que as pressões de vapor das soluções imagem são maiores do que as da água desionizada padrão ao longo de toda a faixa de temperatura estudada. A análise das curvas apresentada na figura 31 mostra que a temperaturas mais baixas as diferenças são menores, havendo uma variação maior desses valores entre a faixa de temperatura de 20° a 40° C. Assim como no caso das tensões superficiais, é possível admitir uma mudança nas interações entre moléculas do líquido, uma vez que a energia livre da solução (água) está relacionada com a pressão de vapor com a qual está em equilíbrio.



**Figura 31.** Gráfico da pressão de vapor da água desionizada padrão e de soluções imagem de acetato de sódio (SI NaOAc) e cloreto de bário (SI BaCl<sub>2</sub>) em relação à temperatura (dados apresentados na tabela 10).

É importante ressaltar neste caso, que utilizando-se a mesma solução aquosa de referência para as experiências em sistemas biológicos, as montagens que apresentaram maiores variações de pressão de vapor da solução imagem foram as que apresentaram efeitos fisiológicos mais intensos e com maior velocidade de resposta.

### 6.b.6 - Temperatura de ebulição

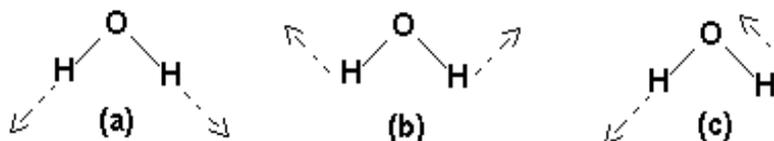
O sistema utilizado para a obtenção da temperatura de ebulição das amostras é inadequado, na medida em que há grandes flutuações do volume da amostra durante o processo. Entretanto, pudemos ter uma avaliação de que a temperatura de ebulição de algumas soluções imagem testadas varia em torno de  $-1^{\circ}$  a  $-2^{\circ}$  C em relação a água desionizada padrão e outras não apresentam qualquer variação. Esta observação é compatível com a tendência de aumento da pressão de vapor relatada no item anterior.

### 6.b.7 - Temperatura de congelamento

Nas medidas de temperatura de congelamento, algumas soluções imagem apresentaram variações entre +1,0 e +1,5°C em relação à água desionizada sob as mesmas condições experimentais. Aqui não se fez um estudo mais criterioso do que a simples observação, já que a mudança de fase líquido → sólido para a água comum não é um processo ainda bem compreendido mecanisticamente e pouca informação seria adicionada ao conjunto já existente.

### 6.b.8 - Espectroscopia de Infravermelho - ATR

Os modos normais de vibração da molécula de água são mostrados na figura 32, associados à atribuição pelo número de onda, na tabela 11.



**Figura 32.** Os três modos normais de vibração da molécula de H<sub>2</sub>O : (a) estiramento simétrico ( $\nu_1 = 3657 \text{ cm}^{-1}$ ) ; (b) modo de deformação ( $\nu_2 = 1595 \text{ cm}^{-1}$ ) ; estiramento assimétrico ( $\nu_3 = 3756 \text{ cm}^{-1}$ ).<sup>[132]</sup>

**Tabela 11** - Atribuições dos modos normais de vibração da molécula de água.

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Modos normais de vibrações	Espécies populacionais de moléculas de água
3750 - 3500	v <sub>1</sub> e v <sub>3</sub>	moléculas que interagem menos umas com as outras
3500 - 3000	v <sub>1</sub> e v <sub>3</sub>	moléculas que interagem mais fortemente umas com as outras
1750 - 1500	v <sub>2</sub>	ambas as espécies indistintamente

A escolha da técnica de ATR para estudo das soluções imagem precisa ser comentada e entendida.

Estudos anteriores realizados com soluções aquosas reais mostram pequenas diferenças no espectro de água, mesmo para concentrações elevadas de soluto<sup>[52,53]</sup>. Esta pouca sensibilidade da técnica para este tipo de observação requer, portanto, a existência de uma perturbação significativa nas propriedades do solvente para que alguma alteração possa ser observada.

Por outro lado, a evidência espectroscópica, quando possível, permite inferir com muito mais objetividade alguma alteração estrutural do meio em estudo. Neste caso, a técnica de ATR é bastante confiável e segura nas informações que pode fornecer.

Para obter os espectros de ATR das soluções imagem fez-se a aquisição ponto a ponto dos dados espectrais, subtraindo depois os da referência (água desionizada), conforme procedimento anterior já existente.<sup>[52,53]</sup>

No caso presente, onde as diferenças esperadas são pequenas, este procedimento pode conduzir a resultados falsos, originados da flutuação instrumental na aquisição dos vários espectros.

Para obter-se a certeza de que as absorções das soluções imagem correspondem de fato a uma alteração do meio e não a uma flutuação, adotou-se o procedimento abaixo:

- i) Registrou-se quatro espectros diferentes de água desionizada (usada como padrão) nas mesmas condições. Calculou-se, então, a média de cada ponto, originando um espectro médio que passou a ser o espectro padrão da água.

ii) Calculou-se o espectro de diferença para cada amostra de água do conjunto anterior, na forma :

$$\Delta \text{ absorvância} = \text{abs. água} - \text{abs. média da água} \quad \text{equação (29)}$$

iii) Calculou-se o espectro de diferença para cada solução imagem, na forma :

$$\Delta \text{ absorvância} = \text{abs. SI} - \text{abs. média da água} \quad \text{equação (30)}$$

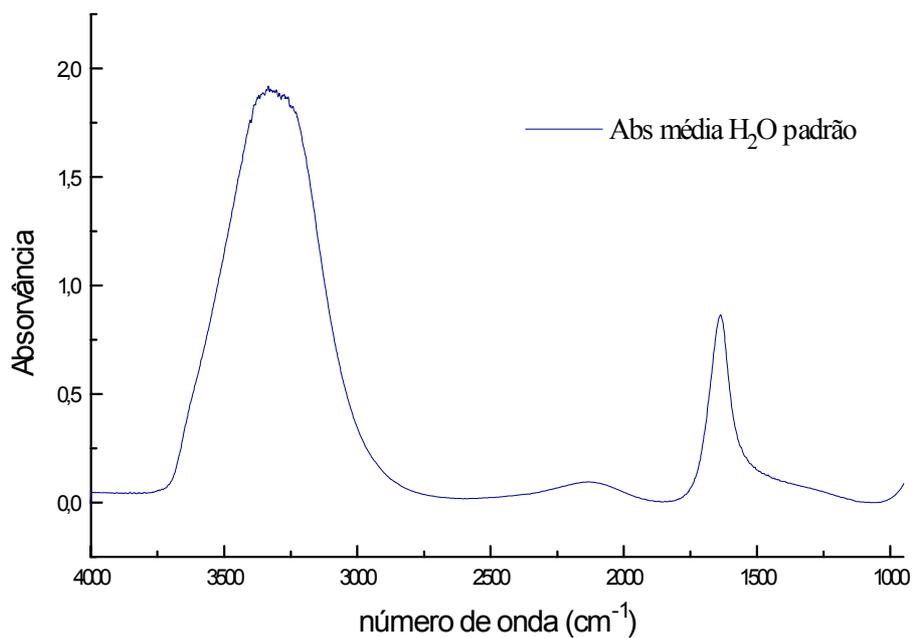
Observa-se que as flutuações referentes aos espectros da diferença de absorção de água em relação à média (equação 29) são significativamente inferiores às aquelas observadas nos espectros da diferença de absorção da solução imagem em relação à média (equação 30), o que indica de fato uma diferença em absorvância e não uma flutuação.

As bandas do espectro de infravermelho podem ser analisadas em função de suas larguras e intensidades. A largura da banda está relacionada com a diversidade populacional (espécies diferentes de moléculas de água) e sua intensidade está relacionada com a quantidade de espécies que absorvem a radiação (concentração).

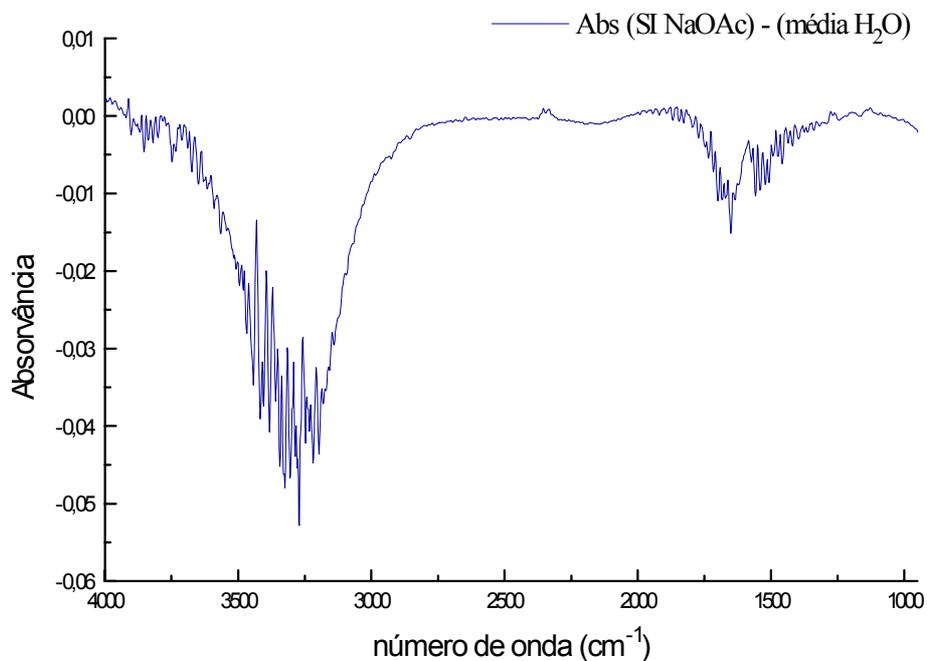
A idéia de fazer ATR com as soluções imagem não passou pela proposta de um estudo espectroscópico completo do que está acontecendo em termos de alterações estruturais. Apesar de não serem claras as razões responsáveis pelas diferenças observadas, a quantificação que se tem é suficiente para mostrar que a água tratada magneticamente interage com a luz infravermelha diferentemente da água desionizada padrão. A existência de picos no espectro de ATR é uma demonstração inequívoca de que houve alteração de propriedades da água tratada magneticamente.

Apesar das diferenças entre os espectros da solução imagem e da água desionizada serem pequenas, esse resultado pode ser bastante significativo, uma vez que nos estudos de soluções reais é necessária uma concentração elevada da solução aquosa para observar-se alterações estruturais da água presente no meio. <sup>[52,53]</sup>

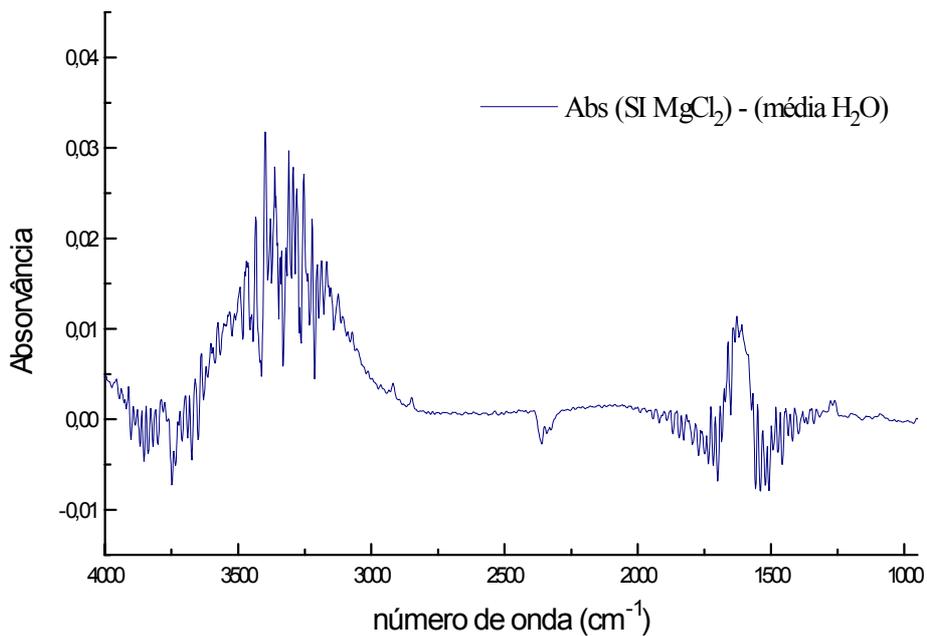
Apresenta-se a seguir um espectro típico de absorvância de água e os espectros diferenciais das soluções imagem em relação à média dos padrões de água :



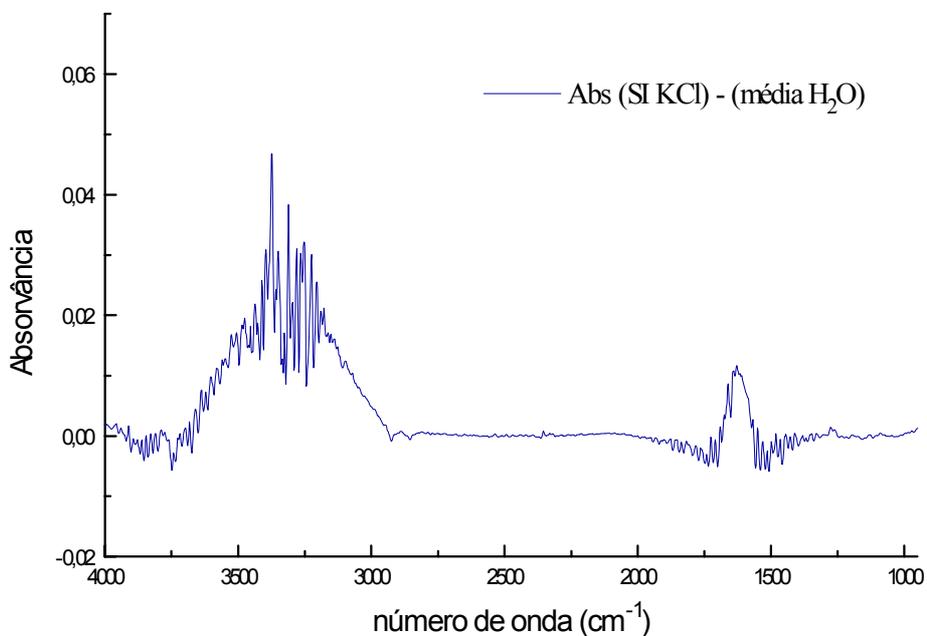
**Figura 33.** Espectro típico de absorvância de água desionizada.



**Figura 34.** Diferença entre os espectros de absorvância de uma solução imagem de acetato de sódio - SI NaOAc - e a média dos espectros de absorvância dos padrões de água.



**Figura 35.** Diferença entre os espectros de absorvância de uma solução imagem de cloreto de magnésio - SI MgCl<sub>2</sub> - e a média dos espectros de absorvância dos padrões de água.



**Figura 36.** Diferença entre os espectros de absorvância de uma solução imagem de cloreto de potássio - SI KCl - e a média dos espectros de absorvância dos padrões de água.

Embora não se possa atribuir as razões responsáveis pelas diferentes interações com a luz infravermelha e, principalmente, porque algumas são positivas ou negativas, o fato de haver uma diferença evidente nesta técnica de ATR permite supor que as alterações produzidas na água são significativas.

### **6.b.9 - Comentários gerais**

Entre os dois modelos gerais que descrevem a estrutura da água líquida, aparentemente, o modelo de misturas é o mais adequado para tentar explicar as mudanças de comportamento das soluções imagem. Na nossa opinião, seria muito difícil explicar essas alterações biológicas e físico-químicas da água pelo modelo contínuo. No entanto, é necessária a distinção entre uma possível alteração no arranjo das moléculas de água, que remonta ao modelo de misturas, de alterações na própria molécula de água, o que de fato não acreditamos estar ocorrendo no sistema.

Conforme mencionado anteriormente, na página 13, o modelo de misturas sugere mudanças nos efeitos populacionais da água e não de alterações de simetria de suas moléculas.<sup>[56]</sup> Se raciocinarmos em termos deste modelo, uma especulação plausível consistiria em supor uma alteração nos “clusters” de água para produzir a solução imagem. Nessa hipótese, a solução real poderia fornecer o modelo para esta alteração, o que explicaria porque a solução imagem replica o efeito da solução real em sistemas biológicos.

Se levarmos em conta que o processo de ordenar moléculas de água para produzir uma solução imagem deve ser desfavorável do ponto de vista entrópico, será necessário encontrar sistemas cujos clusters tenham formação favorecida pela entalpia, se pretendermos manter o produto orientado por muito tempo. As substâncias de dissolução exotérmicas são, nessa linha de pensamento, as candidatas naturais a produzir sistemas mais estáveis. Nas medidas de condutividade elétrica e tensão superficial observamos a tendência de soluções imagem feitas a partir de soluções reais, com dissoluções exotérmicas, apresentarem maiores valores de  $k$  e  $\gamma$ . Por outro lado, nas medidas de pressão de vapor não se pôde avaliar essa hipótese, pois as soluções reais utilizadas neste estudo foram endotérmicas. Nos casos observados houve um aumento da pressão

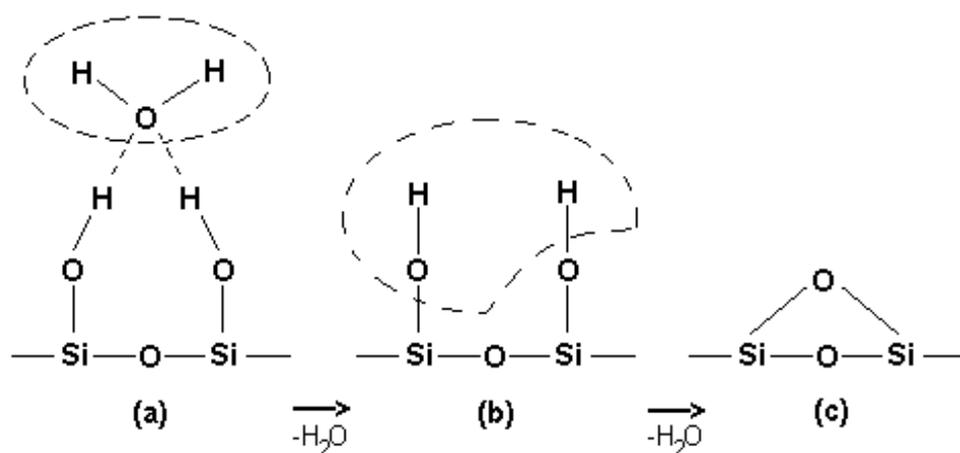
de vapor das soluções imagem em relação à água padrão, o que indica um aumento da energia livre da solução.

Como mencionado anteriormente, não se observou alterações nos parâmetros de índice de refração e viscosidade das soluções imagem em relação à água desionizada padrão utilizando-se os equipamentos e métodos descritos nos itens 6.a.3 e 6.a.4, respectivamente. As pequenas variações de temperatura de ebulição e congelamento (itens 6.a.6 e 6.a.7) obtidas com algumas soluções imagem não puderam ser correlacionadas com uma melhor estabilidade ou atividade biológica.

Admitindo que a mudança que está ocorrendo na água está relacionada com a superfície de vidro com a qual ela está em contato, o aumento da área superficial com as microesferas de vidro aumenta a cinética da reação. Este fator foi verificado durante os experimentos. Apesar de não se saber a composição química das microesferas de vidro, ilustramos na figura 37 algumas das possíveis interações da água com sílica, já que, em geral, os vidros são constituídos em grande parte de sílica.<sup>[132]</sup>

Quando a água é adsorvida na superfície da sílica, a tendência de doar próton ou íon hidróxido é similar. Isto não implica que as ligações são fracas, mas que ambos os fragmentos da molécula de água são igual e firmemente ligados à superfície.<sup>[133]</sup>

A figura 37 sugere um modelo de adsorção de água em sílica. Na figura 37.c é ilustrado o grupo siloxano na superfície do material desidratado. A presença da quimioadsorção da água (figura 37.b) está relacionada com a superfície do material coberta por grupos silanóis e a figura 37.a mostra a água adsorvida fisicamente à superfície do material. Se o sistema é aquecido, a água adsorvida fisicamente é desorvida em temperaturas próximas a 100°C. A desorção da água quimioadsorvida ocorre a temperaturas entre 180° e 400°C.<sup>[133]</sup>



**Figura 37.** Adsorção de água em sílica. (a) adsorção “física” de água ; (b) adsorção “química” de água ; (c) superfície desidratada. <sup>[133]</sup>

Por outro lado, um estudo da entalpia de imersão de sílica em diversos solventes mostra que a entalpia de imersão da água é muito superior a de outros solventes orgânicos. <sup>[133]</sup> Este fato experimental também implica em uma interação mais forte da água com a superfície de sílica, pelo menos em relação aos solventes relacionados na tabela 12.

**Tabela 12 -** Entalpia de imersão de sílica em vários solventes <sup>[134]</sup>

Líquido	Entalpia ( $-\Delta_{imm}H$ ) $\text{mJ.g}^{-1}$
Água	8151
Decano	1717
Hexano	1742
Ciclohexano	1708
Ciclohexeno	2497
Benzeno	2720

Pensando em termos de um modelo de misturas, o efeito da interação com a superfície sobre as moléculas de água de um “cluster” não é fácil de imaginar. De qualquer modo, a existência de uma interação forte de água com sílica é, no mínimo, compatível com nossas observações experimentais.

**Tabela 13 - Propriedades da água** [29,105,128,129,135]

<b>Fórmula química</b>	H <sub>2</sub> O
<b>Massa molecular</b>	18.0148
<b>Temperatura crítica</b>	373.91°C
<b>Pressão crítica</b>	2.205 <sub>x</sub> 10 <sup>-7</sup> N m <sup>-2</sup>
<b>Densidade crítica</b>	315.0 kg m <sup>-3</sup>
<b>Temperatura do ponto triplo</b>	0.01°C
<b>Pressão do ponto triplo</b>	615.066 N m <sup>-2</sup>
<b>Ponto de ebulição</b> (1.0133x10 <sup>5</sup> N m <sup>-2</sup> )	100.0°C
<b>Ponto de fusão</b> (1.0133x10 <sup>5</sup> N m <sup>-2</sup> )	0.0°C
<b>Temperatura de transição</b>	-138.15°C
<b>Densidade líq.</b> (25oC/1.0133x10 <sup>5</sup> N m <sup>-2</sup> )	997.1 kg m <sup>-3</sup>
<b>Densidade gelo</b> (0°C/1.0133x10 <sup>5</sup> N m <sup>-2</sup> )	918.0 kg m <sup>-3</sup>
<b>Compressibilidade líquido</b> (10°C)	48.0 <sub>x</sub> 10 <sup>-11</sup> m <sup>2</sup> N <sup>-1</sup>
<b>Coef. expansão térmica líquido</b> (25°C)	2.5632 <sub>x</sub> 10 <sup>-4</sup> °C <sup>-1</sup>
<b>Calor de formação do gás</b> (25°C)	-2.4199 <sub>x</sub> 10 <sup>8</sup> J kg mol <sup>-1</sup>
<b>Energia livre de formação gás</b> (25°C)	-2.2877 <sub>x</sub> 10 <sup>8</sup> J kg mol <sup>-1</sup>
<b>Calor de sublimação</b> (-298.15°C)	4.7260 <sub>x</sub> 10 <sup>7</sup> J kg mol <sup>-1</sup>
<b>Calor de fusão</b> (0.0°C)	6.0135 <sub>x</sub> 10 <sup>6</sup> J kg mol <sup>-1</sup>
<b>Entropia do gás</b> (25°C)	1.8885 <sub>x</sub> 10 <sup>5</sup> J kg mol <sup>-1</sup>
<b>Velocidade som</b> (0°C/1.0133x10 <sup>5</sup> N m <sup>-2</sup> )	1403.0 m s <sup>-1</sup>
<b>Difusão no ar</b> (8°C/1.0133x10 <sup>5</sup> N m <sup>-2</sup> )	2.40x10 <sup>-5</sup> m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>
<b>Constante dielétrica líquido</b> (25°C/1.0133x10 <sup>5</sup> N m <sup>-2</sup> )	78.40
<b>Condutividade elétrica líq.</b> (18°C)	4 <sub>x</sub> 10 <sup>-6</sup> ohm <sup>-1</sup> m <sup>-1</sup>
<b>Índice de refração líquido</b> (25°C/1.0133x10 <sup>5</sup> N m <sup>-2</sup> )	1.333
<b>Tensão superficial líquido</b> (25°C/1.0133x10 <sup>5</sup> N m <sup>-2</sup> )	71.97 dinas cm <sup>-1</sup>
<b>Viscosidade</b> (25°C/1.0133x10 <sup>5</sup> N m <sup>-2</sup> )	0.891 <sub>x</sub> 10 <sup>-3</sup> kg m <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup>
<b>Suscetibilidade magnética líq.</b> (χ) (25°C/1.0133x10 <sup>5</sup> N m <sup>-2</sup> )	-90x10 <sup>-6</sup>

**Suscetibilidade magnética molar ( $\chi_m$ )**  $-160 \times 10^{-5} \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$   
**líquido** (25°C/1.0133x10<sup>5</sup> N m<sup>-2</sup>)

## **Conclusão**

“Um choque de doutrinas não é um desastre, é uma oportunidade.”

**A.N. Whitehead.**

## Conclusão

Os dados apresentados neste trabalho mostram que é possível alterar, de maneira mensurável, as propriedades da água por tratamento em campos magnéticos na presença de uma solução.

Os valores do campo magnético utilizado são cerca de  $10^2$  a  $5 \times 10^3$  vezes mais fracos do que aqueles usados convencionalmente para produzir efeitos em água e conforme esperado, não produzem alterações observáveis quando aplicados apenas à água desionizada sem a presença de uma solução de referência.

Desta forma, pode-se concluir que a presença da solução real dentro do campo induz, de alguma maneira, um novo comportamento na água. Este comportamento, conforme evidenciado pelo resultado biológico, implica em replicar algumas propriedades da solução real utilizada.

Se considerarmos a ausência de soluto na solução imagem, a explicação mais plausível para este tipo de comportamento é supor a reorganização das moléculas de água durante o processo de magnetização.

Esta idéia é consistente com as alterações observadas por ATR e pode, se melhor entendida, explicar mais tarde as propriedades heterodoxas da água reportadas neste trabalho.

## **Bibliografia**

“ Para Thales.... a questão primordial não era o que sabemos, mas como sabemos.”

## Bibliografia

1. Yarris, LC ; “*LBL Nobel laureate studies structure of water*” ; [<http://www.lbl.gov/Science-Articles/Archive/lee-water-research.html>]. Novembro, **1990**.
2. Vermeiren,J., **1945** - citado nas referências 3 e 28.
3. Gehr,R.; Zhai,Z.A; Finch,J.A; Rao,S.R. ; *Water Res.*, **1995**, 29 (3), 933-940.
4. Katsuki,A.; Tokunaga,R. ; Watanabe,S. ; Tanimoto,Y. ; *Chemistry Letters*, **1996**, 8, 607-608.
5. Saam,R.D. , **1980** - citado na referência 3.
6. Ozeki,S. ; Miyamoto,J. ; Ono,S. ; Wakai,C. ; Watanabe,T. ; *J. Phys. Chem.*, **1996**, 100, 4205-4212.
7. Lazarenko,L.N. ; Zhuravlev,P.D. , **1985** - citados na referência 3.
8. Ueno,S.; Iwasaka,M. ; *IEEE Trans. Magn.*, **1994**, 30, 4698-4700.
9. Ueno,S.; Iwasaka,M. ; *J. Appl. Phys.*, **1994**, 75, 7177-7179.
10. Hirota,N. ; Homma,T. ; Sugawara,H. ; Kitazawa,K. ; Iwasaka,M.; Ueno,S. ; Yokoi,H. ; Kakudate,Y. ; Fujiwara,S. ; Kawamura,M. ; *Japan. J. Appl. Phys. Part 2-Letters*, **1995**, 34, L991-L993.
11. Beaugnon,E. ; Tournier,R. ; *Nature*, **1991**, 349, 470.
12. Fujiwara,S. ; Nishimoto,Y. ; *Anal. Scien.*, **1992**, 8, 873-874.
13. Fujiwara,S. ; Nishimoto,Y. ; *Anal. Scien.*, **1992**, 8, 875-876.
14. Joshi,K.M.; Kamat,P.V. ; *J. Ind. Chem. Soc.*, **1966**, 43, 620-622.
15. Zhao,Y. ; Zhao,L.A ; Wei,X. ; Han,B.X. ; Yan,H.K. ; *J. Therm. Anal.*, **1995**, 45, 13-16.
16. Lin,I.J.; Yotvat,J. ; *J. Magn. Mater.*, **1990**, 83 (1-3), 525-526.
17. Harari,M.; Lin,I. ; *Wat. Irrig. Rev*, **1989**, 9, 4-7.

18. Levy,D.;Holzer,Z.; Brosh,A; Ilan,D.; *Bet Dagan, Israel, Agricultural Research Organization*; The Volcani Center, Israel **1990**, N<sup>o</sup> 3057-E, 23-34.
19. Takeuchi,T. ; Mizuno,T. ; Higashi,T. ; Yamagishi,A ; Date,M. ; *J. Magn. Mater.*, **1995**, 140-144, 1462-1463.
20. Ossenkopp,K.P. ; Kavaliers,M. ; *Brain Res.*, **1987**, 418, 356-360.
21. Kolosova,L.I. ; Akoev,G.N. ; Avelev,V.D. ; Riabchokova,O.V. ; Babu,K.S. ; *Bioelectromagnet.*, **1996**, 17, 44-47.
22. Camargo Jr,J.N. ; *Rev. Bras.Ortop.*, **1991**, 26, 373-380.
23. Vladimirsky,M.A ; Kuznetsov,A.A. ; Philippov,V.I. ; *J. Magn. Mater.*, **1993**, 122, 371-373.
24. Nakagawa,M. ; *Phys. B* , **1990**, 164, 213-216.
25. Selye,H., **1946** - citado na referência 24.
26. Barnothy,J.M. ; Barnothy,M.F. ; *Nature*, **1963**, 200, 189.
27. Nakagawa,M. ; Matsuda,Y. ; *Bioelectromagn.*, **1988**, 9, 25-37.
28. Klassen, V.I. ; *Developments in Mineral Processing*, Part B, Mineral Processing, **1981**, 1077-1097.
29. Halliday,D. ; Resnick,R. ; “ *Física II* ”, Livros Técnicos e Científicos Editora S.A, Rio de Janeiro, 2<sup>a</sup> edição, vol.1, **1976**.
30. Mirumyants,S.O ; Vandyukov,E.A ; Tukhvatullin,R.S. ; *Russ. J. Phys. Chem.*, **1972**, 46,124.
31. Gordon,B.G. ; Grigor’ev,A.S. ; *Therm. Engin.* **1990**, 37, 29-31.
32. Welder,B.Q. ; Partridge,E.P.; *Ind. Engng. Chem.*, **1954**, 46, 954-960.
33. Hasson,D. ; Bramson,D. ; *Ind. Engng. Chem. Proc. Des. Dev.* ,**1985**, 24, 588-592.
34. Franks, F. ; “*Water*”; The Royal Society of Chemistry, **1983**.
35. Morgan,J. ; Warren,B.E. , **1938** - citados na referência 41.
36. Narten,A.H. ; Levy,H.A. , **1969** - citados na referência 41.
37. Barker,J.A. ; Watts,R.O. , **1969** - citados na referência 41.
38. Rahman,A. ; Stillinger,F.H. , **1971** - citados na referência 41.

39. Enderby, J.E. ; North, D.N. ; Egeltaff, P.A. , **1966** - citados na referência 41.
40. Nielson, G.W. ; Enderby, J.E. , **1983** - citados na referência 41.
41. Soper, A.K. ; *J. Phys. Condens. Matter* , **1997**, 9, 2717-2730.
42. Libnau, F.O ; Toft, J. ; Chisty, A.A. ; Kvalheim, O.M. ; *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 8311-8316.
43. Frank, H.S. ; Wen, W.Y. ; *Discuss. Faraday Soc.*, **1957**, 24, 133-140.
44. Nemethy, G. ; Scheraga, H.A ; *J. Chem. Phys.*, **1962**, 36, 3382-3400.
45. Hagler, A.T. ; Nemethy, G. ; Scheraga, H.A ; *J. Chem. Phys.*, **1972**, 76, 3229-3243.
46. Pople, J.A ; *Proc. R. Soc. London*, **1950**, A202, 323-336.
47. Pople, J.A ; *Proc. R. Soc. London*, **1951**, A205, 163-178.
48. Rice, S.A ; Belch, A ; Sceats, M.G. ; *Chem. Phys. Lett.*, **1981**, 77, 455-459.
49. Rice, S.A ; Belch, A ; *J. Chem. Phys.*, **1987**, 86, 5676-5682.
50. Stanley, H.E. ; Teixeira, J. ; *J. Chem. Phys.*, **1980**, 73, 3404-3422.
51. Yarris, LC ; “*Polymolecular Structure of Water*” ;  
[[http://www.geocities.com/CapeCarnaveral/1300/water\\_e.html](http://www.geocities.com/CapeCarnaveral/1300/water_e.html)].  
Maio, **1998**.
52. Rossi, A.V. ; Tese de Doutorado - “*Estudos cinéticos de PAR com Zn<sup>2+</sup> e Cu<sup>2+</sup> e estudos de espectroscopia de ATR de soluções aquosas de sais : investigação sobre a influência da organização de soluções aquosas em reações químicas*”; Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, Campinas, **1995**.
53. Rossi, A.V.; Davanzo, C.U.; Tubino, M. ; *J. Braz. Chem. Soc.*, **1996**, 7 (6), 403-410.
54. Ohmine, I. ; Tanaka, H. ; *Chem. Rev*, **1993**, 93, 2545-2566.
55. Senior, W.A. ; Verral, R.E., **1969** - citado na referência 52.
56. Fisher, W.B. ; Eysel, H.H. ; *J. Mol. Struct.*, **1997**, 415 (3), 249-257 .
57. Nielsen, O F. ; *The Royal Society of Chemistry - Annual Reports on Progress of Chemistry - Section C Physical Chemistry*, **1997**, 93, 57-93.
58. Ide, M. ; Maeda, Y. ; Kitano, H. ; *J. Phys. Chem. B*, **1997**, 101 (35), 7022-7026.
59. Tsukida, N. ; Muranaka, H. ; Ide, M. et al. ; *J. Phys. Chem. B*, **1997**, 101 (34), 6676-6679.

60. Lee,C. ; Chen,H. ; Fitzgerald,G. ; *J. Chem. Phys.*, **1995**, *102*, 1266-1269.
61. Briant,C.L. ; Burton,J.J. ; *J. Chem. Phys.*, **1975**, *63*, 3327-3333.
62. Gregory,J.K ; Clary,D.C. ; Liu,K. et al. ; *Science*, **1997**, *275*, 814-817.
63. Ohmine,I ; *J. Phys. Chem.* , **1995**, *99*, 6767-6776.
64. Wales,D.J. ; Ohmine,I. ; *J. Chem. Phys.*, **1993**, *98*, 7245-7256.
65. Wales,D.J. ; Ohmine,I. ; *J. Chem. Phys.*, **1993**, *98*, 7257-7267
66. Baba,A ; Hirata,Y. ; Saito,S. ; Ohmine,I. ; Wales,D.J. ; *J. Chem. Phys.*, **1997**, *106*, 3329-3337.
67. Saito,S. ; Ohmine,I. ; *J. Chem. Phys.*, **1994**, *101*, 6063-6075.
68. Saito,S. ; Ohmine,I. ; *J. Chem. Phys.*, **1995**, *102*, 3566-3579.
69. Olthof,E.H.T. ; van der Avoird,A ; Wormer,P.E.S. ; Liu,K. ; Saykally,R.L. ; *J. Chem. Phys.*, **1996**, *105*, 8051-8063.
70. Pastor,N. ; Ortega-Blake,I ; *J. Chem. Phys.*, **1993**, *99*, 7899-7906.
71. Tsai,C.J. ; Jordan,K.D. ; *J.Chem. Phys.*, **1991**, *95*, 3850-3853.
72. Vegiri,A ; Farantos,S.C. ; *J. Chem. Phys.* , **1993**, *98*, 4059-4075.
73. Kim,J. ; Lee,S.J. ; Mhin,B.J. ; Kim,K.S. ; *Chem. Phys. Letters*, **1994**, *219*, 243-246.
74. Yoon,C.W. ; Kim,H.S. ; Mhin,B.J. ; Kim,K.S. ; *Chem. Phys. Letters*, **1991**, *176*, 41-45.
75. Matsumoto,M. ; Ohmine,I. ; *J. Chem. Phys.*, **1996**, *104*, 2705-2712.
76. Farantos,S.C. ; Kapetanakis,S. ; Vegiri,A ; *J. Phys. Chem.* , **1993**, *97*, 12158-12166.
77. Estrin,D.A ; Paglieri,L. ; Corongiu,G. ; Clementi,E. ; *J. Phys. Chem.* , **1996**, *100*, 8701-8711.
78. Liu,K. ; Pugliano,N. ; Host,B.C. ; et al. ; *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 3507-3512.
79. Liu,K. ; Brown,M.G. ; Saykally,R.J. ; *J. Phys. Chem.A* , **1997**, *101*, 8995-9010.
80. Liu,K. ; Cruzan,J.D. ; Brown,M.G. ; Saykally,R.J. ; *J. Phys. Chem.A* , **1997**, *101*, 9011-9021.
81. Cruzan,J.D. ; Viant,M.R. ; Brown,M.G. ; Saykally,R.J. ; *J. Phys. Chem.A* , **1997**, *101*, 9022-9031.

82. Lucas,D. ; Liu,K. ; Cruzan,J.D. ; Viant,M.R. ; Brown,M.G. ; Saykally,R.J. ; *J. Phys. Chem.A* , **1997**, *101*, 9032-9041.
83. Liu,K. ; Cruzan,J.D ; Saykally,R.J. ; *Science*, **1996**, *271*, 929-933.
84. Kolb,C.E. et al. ; *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 10314-10315.
85. Morokuma,K. ; Muguruma,C. ; *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 10316-10317.
86. Carlon,H.R. ; *Infrared Phys.*, **1979**, *19*, 549.
87. Carlon,H.R. ; *J. Phys. D*, **1984**, *99*, 1221-1228.
88. Neidle,S. ; Berman,H. ; Shieh,H.S. ; *Nature*, **1980**, *288*, 129.
89. Saykaly,R.J. ; Blake,G.A ; *Science*, **1993**, *259*, 1570-1575.
90. Pugliano,N. ; Saykally,R.J. ; *Science*, **1992**, *257*, 1937-1940.
91. Cruzan,J.D. ; Braly,L.B. ; Liu,K. ; Brown,M.G. ; Loeser,J.G. ; Saykally,R.J. ; *Science*, **1996**, *271*, 59-62.
92. Cruzan,J.D. ; Braly,L.B. ; Liu,K. ; Brown,M.G. ; Loeser,J.G. ; Saykally,R.J. ; *Science*, **1996**, *271*, 62-64.
93. Liu,K. ; Brown,M.G. ; Carter,C. ; Gregory,J.K. ; Saykally,R.J. ; Clary,D.C. ; *Nature*, **1996**, *381*, 501-503.
94. Pugliano,N. ; Saykally,R.J. ; *J. Chem. Phys.*, **1992**, *96*, 1832-1839.
95. Paul,J.B. ; Collier,C.P. ; Saykally,R.J. ; Scherer,J.J. ; O'Keefe,A ; *J. Phys. Chem. A*, **1997**, *101*, 5211-5214.
96. Cruzan,J.D. ; Braly,L.B. ; Liu,K. ; Brown,M.G. ; Saykally,R.J. ; *J. Chem. Phys.*, **1996**, *105*, 6634-6644.
97. Libnau,F.O ; Toft,J. ; Christy,A.A.; Kvalheim,O.M. ; *J. Am. Chem. Soc.* , **1994**, *116*, 8311-8316.
98. Maréchal,Y. ; *J. Chem. Phys.*, **1991**, *95*, 5565-5573.
99. Lorenzen,L.H. ; Patente US 5.711.950 A , “*Process for Preparing Microclustered Water*”, 27 de janeiro de **1998**.
100. Mikio,S. ; Patente JP 04108669 , “*Measuring Method of Cluster of Water*”, Shimadzu Corporation, 17 de dezembro de **1993**.
101. **La Mer** ,Cosmetic Research - USA News, May, **1998**.

102. **La Jolla Diagnostics, Inc.** , 7777 Fay Ave., Suite 160 La Jolla, CA 92037; “Cluster Water™”; [<http://www.lajd.com/cluster3.htm>] - Janeiro, **1998**.
103. **Aqua-Doc**-2643 Redbud Lane, Yuba City, CA 95993 ([aquadoc@otn.net](mailto:aquadoc@otn.net)).
104. **Mundimex Companies, Inc.** , 5209 N.W. 74-th Ave., Ste. 21, Miami, FL 33166, USA ; “*The Magnetizer & Water*”; [<http://www.mundi.com/water.html>] Setembro, **1998**.
105. Atkins,P.W. ; “*Physical Chemistry*”, Oxford University Press, 5ª edição, **1994**, cap.16 e 22.
106. Petrov,N.K ; Shushin,A.I. ; Frankevich,E.L. ; *Chem. Phys. Letters*, **1981**, 82, 339-343.
107. McLauchlan,K.A ; *Sci. Prog.* , **1981**, 67, 509-529.
108. Giudice,E. ; Preparata,G. ; Vitiello,G. ; *Phys. Rev. Letters*, **1988**, 61, 1085-1088.
109. Bülbring,E. ; *Brit. J. Pharmacol.*, **1946**, 1, 38-61.
110. Burchard,J.F.; Nguyen,D.H.; Richard,L.; Block,E. ; *J. Dairy Sci.*, **1996**, 79 (9), 1549-1554.
111. Fatt,P. ; Katz,B. ; *J. Physiol.*, **1952**, 150, 707-717.
112. Nastuk,W.L. ; Hodgkin,AL ; *J. Cell. Comp. Physiol.*, **1950**, 35, 39-73.
113. Homs-Brandeburgo, M.I. ; Tese de Doutorado - “*Fracionamento do veneno de Bothrops jaracussu : Caracterização química parcial de componentes ativos e estudo dos efeitos farmacológicos e anatomopatológicos da Bothropstoxina*”, USP, Ribeirão Preto, **1987**, 42-44.
114. Homs-Brandeburgo,M.I. ; Queiroz,L.S. ; Santo-Neto,H. ; Rodrigues-Simioni,L. ; Giglio,J.R. ; *Toxicon*, **1998**, 26, 615-627.
115. Fontana,M.D. ; Tese de Doutorado - “*Modo de ação da peçonha de Phoneutria nigriventer na junção neuromuscular e no músculo esquelético*”, Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, Campinas, **1982**, 23-28.
116. Fontana,M.D. ; Vital-Brazil,O. ; *Braz. J. Med. Biol. Res.*, **1985**, 18, 557-565.
117. Heluany,N.F. ; Tese de Mestrado - “*Efeitos Induzidos pela Bothropstoxina, um componente do veneno de Bothrops jaracussu, sobre a junção neuromuscular*” , Unicamp, Piracicaba, **1992**, 20-23.
118. Heluany,N.F.; Homs-Brandeburgo,M.I. ; Giglio,J.R. ; Prado-Franceschi,J. ; Rodrigues-Simioni,L. ; *Toxicon*, **1992**, 30 (10) , 1203-1210.

119. Goth,A. ; “*Farmacologia Médica*” , Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, **1981**.
120. Brito Filho,D. ; “*Toxicologia Humana e Geral*” , Livraria Atheneu, São Paulo e Rio de Janeiro, **1988**.
121. Goodman, L. ; Gilman, A. ; “*As Bases Farmacológicas da Terapêutica*” , Editora Guanabara, Rio de Janeiro, 2ª Edição, **1949**, 616-631.
122. Grollman, A. ; “*Pharmacology and Therapeutics*”, Lea & Febiger, Philadelphia, **1951**, 653-669.
123. Corbett,C.E. ; *Farmacodinâmica*, Guanabara Koogan, R.J., 6ª.edição, **1982**, cap. 10.
124. Rang,H.P. ; Dale,M.M. ; Ritter,J.M. ; *Farmacologia*, Guanabara Koogan, R.J., 3ª.edição, **1997**, cap. 5 e 21.
125. Guyton,A.C. ; Hall,J.E. ; *Tratado de Fisiologia Médica*, Guanabara Koogan, R.J., 9ª.edição, **1997**.
126. Schmidt,R.F. ; Dudel,J. ; *Neurofisiologia* , Editora da Universidade de São Paulo, S.P., **1979**.
- 127.Castellan,G.W. ; “*Physical Chemistry*”, Addison-Wesley Publishing Company, Inc., 4ª.edição, **1970**.
128. Weast,R.C. ; *CRC - Handbook of Chemistry and Physics*, CRC Press Inc., 67ª edição, **1986-1987**.
129. Line,D.R. ; *CRC - Handbook of Chemistry and Physics*, CRC Press Inc., 71ª edição, **1990-1991**.
130. Manual de Instruções do tensiômetro “*Fisher Surface Tensiometer Model 20*”, Cat. No. 14-812.
131. Catálogo Geral *VIDROLABOR* - Indústria e Comércio de Vidros Ltda - Poá, S.P., **1982**, ref.V-4380.
132. Eisenberg,D. ; Kauzmann,W. ; “*The structure and Properties of Water*”, Oxford University Press, 1970.
133. Morrison,S.R. ; “*The Chemical Physics of Surfaces*” , Plenum Press, N.Y., **1977**, 164-165.
134. Douillard,J.M. ; Elwafir,M. ; Partyka,S. ; *J. Colloid Interface Sci.* , **1994**, 164 (1), 238-244.
135. Horvath,L.A ; “*Physical Properties of Inorganic Compounds*” (*SI Units*), Fletcher & Son Ltd., Norwich, **1975**, 337-351.

