



**UnB**

**Instituto de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química**

**TESE DE DOUTORADO**

***Polímeros molecularmente impressos para extração  
seletiva de sacarina e triclosan***

**CAMILA SANTOS DOURADO**

Orientadora

**Prof<sup>ª</sup>. Dra. Ana Cristi Basile Dias**

Coorientador

**Prof. Dr. Jez Willian Batista Braga**

Brasília, DF.

2019.



**UnB**

Instituto de Química  
Programa de Pós-Graduação em Química

TESE DE DOUTORADO

***Polímeros molecularmente impressos para extração  
seletiva de sacarina e triclosan***

CAMILA SANTOS DOURADO

Orientadora

Prof<sup>a</sup>. Dra. Ana Cristi Basile Dias

Coorientador

Prof. Dr. Jez Willian Batista Braga

Tese apresentada ao Instituto de Química da Universidade de Brasília como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do Título de Doutor em Química.

BRASÍLIA, DF.

2019.

## Folha de Aprovação

Comunicamos a aprovação da Defesa de Tese do (a) aluno (a) **Camila Santos Dourado**, matrícula nº **16/0103762**, intitulada *“Polímeros Molecularmente Impressos aplicados para extração seletiva de triclosan e sacarina”*, apresentada no (a) Auditório Azul do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB) em 6 de dezembro de 2019.

Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Cristi Basile Dias  
Presidente de Banca (IQ/UnB)

Prof. Dr. Fabrício Machado Silva  
Membro Titular (IQ/UnB)

Prof.<sup>a</sup> Dra. Roseany de Vasconcelos Vieira Lopes  
Membro Titular (FGA / UnB)

Prof. Dr. Frederico Luis Felipe Soares  
Membro Titular (UFPR)

Prof.<sup>a</sup> Dra. Marly Eiko Osugi  
Membro Suplente (IQ/UnB)

Em 6 de dezembro de 2019.

*“In the vastness of space and the immensity of time, it is my joy to share a planet and epoch with you”.*

*“Diante da vastidão do tempo e da imensidão do universo, é um imenso prazer pra mim dividir um planeta e uma época com você”.*

*Carl Sagan.*

## AGRADECIMENTOS

É impossível não ser grata a Deus por toda minha jornada acadêmica até aqui. Pela força, fé e inspiração divina. Por mover as engrenagens do universo para me fazer estar nos lugares certos, conhecer pessoas, contextos e teorias que me fizeram alçar novos horizontes e reconhecer dentro de mim a enorme alegria que tenho no coração a cada nova descoberta dessa vida de pesquisa.

Agradeço imensamente aos meus orientadores, e em especial, a Prof<sup>a</sup> Ana Cristi por esses seis anos de orientação, intenso aprendizado e troca, pela convivência leve, pela amizade e pelo companheirismo. Por sempre se preocupar em me preparar, de verdade, para ser uma pesquisadora e por sempre acreditar lealmente no meu potencial. Sua orientação foi muito importante para o meu desenvolvimento pessoal e acadêmico. Agradeço ao meu coorientador, Prof. Jez Willian por aceitar me coorientar em um trabalho bem diferente de sua linha de pesquisa, por estar sempre aberto às minhas muitas dúvidas, por acreditar comigo que seria possível aplicar a Quimiometria neste trabalho e também por ser pra mim uma fonte de inspiração enquanto pesquisador. Vocês dois foram a melhor “duplicata” de orientação que eu poderia ter formado. Agradeço aos outros professores do AQQUA, ao Alexandre Fonseca pelas inúmeras risadas, Valéria, Fernanda e, em especial, ao Fernando Sodré pelos equipamentos, vários litros de reagentes e por sugerir a sacarina como analito de estudo.

Agradeço aos alunos de iniciação científica: Izabella Fernanda, Maria Vitória, Luan, Jéssica, Luana, Juliana, Millene, Lucas e Gabriela que contribuíram tanto para a execução desse trabalho e que me agregaram um imenso aprendizado e experiência no trabalho com a pesquisa.

Agradeço as agências de fomento (CAPES, CNPQ e FAP-DF) – CAPES código de financiamento 001 - pelos incentivos financeiros e principalmente a CAPES pelas bolsas de pós-graduação do mestrado e do doutorado. Diante do cenário atual, me sinto extremamente agradecida e privilegiada por ter conseguido realizar toda a minha pós-graduação com incentivo governamental. Tenho plena noção da qualidade e sou prova do tamanho do desenvolvimento do estudante quando se há dedicação exclusiva para a pesquisa. Pesquisa requer tempo, paciência, disciplina, inteligência, liberdade e claro, recurso financeiro. Espero que um dia a população e os governantes possam compreender efetivamente e valorizar de forma coerente e com a devida importância o desenvolvimento científico no Brasil.

Agradeço também a minha grande amiga e companheira de pesquisa, Fabiana, pelas inúmeras trocas de conhecimento, por me ensinar a força do trabalho em equipe e o quão produtivo é uma parceria de contribuição científica. Agradeço a minha primeira amiga do Instituto de Química, Laiz, pela amizade e por me acolher tão bem nessa Universidade. Agradeço também a minha amiga Carla Colares por todo apoio durante a jornada acadêmica, pelos vários congressos juntas e pelo incentivo em estudar Quimiometria.

Agradeço ao Instituto de Química - IQ e a Universidade de Brasília – UnB pela oportunidade de estudar e hoje em dia ser servidora nessa instituição. Tenho muito orgulho de fazer parte dessa equipe que é um dos locais da minha formação. Agradeço à Faculdade do Gama – FGA e todos os colegas, e em especial ao meu superior imediato Diogo Costa (*vulgo*, Motoca) pelo acolhimento e por compreender tão bem os percalços nessa finalização dessa presente tese. Agradeço também aos meus colegas diretos de trabalho, Yuri e Paula pela compreensão e pelo incentivo a finalização dessa etapa.

Agradeço aos meus familiares, meu pai Sidronio, minha mãe Berenice, meu irmão Marcos Vinícius e minha irmã Karynna por serem força, inspiração e refúgio. Vocês são a melhor parte de mim. Agradeço aos meus amigos de vida, que de alguma forma me emprestaram sorrisos nos momentos necessários, Angélica, Priscila, Ruana e Marcos Paulo, e aos amigos do AQQUA – LIAMA.

Agradeço o Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal pela realização das análises de MEV, ao Instituto de Criminalística da Polícia Civil do Distrito Federal pela realização das análises de infravermelho. Agradeço também a aluna de doutorado Erislene, pelos inúmeros auxílios nas análises de cromatografia líquida. Agradeço aos alunos e professores do Laboratório de Desenvolvimento de Pesquisa em Polímeros-LDPQ pelas constantes trocas de reagentes, equipamentos e também aprendizado, e em especial ao professor Fabrício Machado, pela disponibilidade e interesse em sempre responder nossas inúmeras dúvidas. Agradeço também ao professor Heibbe Cristhian e ao professor Daniel Scalabrini pela parceria na realização dos estudos computacionais.

Por fim, agradeço a banca de defesa desta presente tese pela disponibilidade e pelas contribuições que impactarão em melhorias deste trabalho. Com tanta gente envolvida percebe-se que não é possível fazer pesquisa sozinha. É impossível não ser tão grata!!

## RESUMO

Polímeros Molecularmente Impressos (MIPs) são materiais com seletividade direcionada à uma espécie química de interesse. Para se alcançar altos níveis de separação seletiva são necessários estudos aprofundados acerca da compatibilidade química do material com o analito e matriz de estudo. Dessa forma, neste presente trabalho foram sintetizados diferentes MIPs com o objetivo de aplica-los em procedimentos de extração da sacarina (SAC) em amostras de bebidas dietéticas e de água superficial, e do triclosan (TCS) em amostras de água superficial. Para a SAC foram avaliadas duas rotas de sínteses para os MIPs, com base polimérica híbrida (orgânica-inorgânica), sendo elas o processo em massa (HMIP-B) e em suspensão (HMIP-S). Os materiais foram amplamente caracterizados e comparados de acordo com dados morfológicos, texturais, de estabilidade térmica, de adsorção e seletividade. As capacidades máximas adsortivas foram de 1,24 e 4,32 mg g<sup>-1</sup> para o HMIP-B e HMIP-S, respectivamente. Foram obtidos fatores de impressão (FI) para os materiais de ~ 5,0. Em relação a seletividade, o HMIP-S apresentou parâmetros adequados mantendo ~ 80 % da sua capacidade adsortiva para a SAC frente a três espécies interferentes, com coeficiente de seletividade relativo em torno de 5,0. Assim, aplicou-se o HMIP-S para extrair a SAC em ensaios de fortificação de amostras de água superficial. Neste caso, foram obtidas recuperações > 80 % para as concentrações de 250 e 750 µg L<sup>-1</sup>, com performance de extração superior a realizada com a fase sólida comercial de HLB (balanço hidrofílico-lipofílico). Em procedimentos de extração em fase sólida da SAC em amostras de chá dietético, o HMIP-S demonstrou altas taxas de recuperação de 80 – 94 % com desvio padrões relativos < 5,0 % e fator de pré-concentração de 3 vezes. O método analítico final apresentou parâmetros adequados de exatidão e precisão que comprovaram a alta eficiência de extração do HMIP-S no preparo de amostra da SAC. Para o desenvolvimento do MIP para o TCS testou-se uma ferramenta computacional inovadora de estudos de seleção do monômero funcional (MF) no estágio pré-síntese. Os resultados sugeriram condições energéticas e termodinâmicas de complexação com valores físico-químicos pequenos, porém favoráveis para o ácido metacrílico (MAA) e menos favoráveis para a vinilpiridina (VP). Para atestar os resultados teóricos sintetizaram-se dois MIPs utilizando os dois MFs e etilenoglicol dimetacrilato (EGDMA) como reticulador. Os FIs dos MIPs apresentaram-se < 1,4 que indicaram baixa impressão do TCS nos materiais. A ferramenta computacional apresentou eficiência para se estimar energia de ligação do TCS aos MFs ao prever complexos com menor força de ligação que refletiu na baixa impressão constatada nos resultados empíricos.

## ABSTRACT

Molecularly imprinted polymers (MIPs) are materials with directed selectivity to a target chemical species. To achieve high levels of selective separation it is required deep research in the chemical compatibilities of the material with the analyte and the matrix. Thus, in this work, different MIPs were synthesized with the purpose of applying in extraction procedures of saccharin (SAC) in dietary beverages and surface water samples, and triclosan (TCS) in surface water samples. For SAC, two synthesis procedures for the MIPs were evaluated, with polymeric hybrid composition (organic-inorganic), such as the mass process (HMIP-B) and suspension (HMIP-S). The materials were widely characterized and compared according to morphological, textural, thermal stability, adsorption and selectivity data. The maximum adsorptive capacities were 1.24 and 4.32 mg g<sup>-1</sup> for HMIP-B and HMIP-S, respectively. Imprinted factors (IF) of ~ 5.0 were obtained for the materials. Regarding selectivity, HMIP-S presented more adequate parameters maintaining ~ 80% of its adsorptive capacity for SAC in relation to three interfering species, with relative selectivity coefficient around 5.0. Thus, HMIP-S was applied to extract SAC in surface water sample by fortification assays. In this case, recoveries > 80% were obtained for concentrations of 250 and 750 µg L<sup>-1</sup>, with extraction performance higher than the commercial solid phase of HLB (hydrophilic-lipophilic balance). For the solid phase extraction procedures of SAC in diet tea samples, HMIP-S demonstrated higher recovery rates of 80 - 94% with relative standard deviation < 5.0% and 3-fold preconcentration factor. The proposed analytical method presented appropriate parameters of accuracy and precision that proved the high extraction efficiency of HMIP-S for the SAC sample preparation. For the development of MIP for TCS, an innovative computational approach was tested for functional monomer (FM) screening in the pre-synthesis step. The results indicated complex energetic and thermodynamic conditions with smaller physicochemical values, but favorable for methacrylic acid (MAA) and less favorable for vinylpyridine (VP). To attest to the theoretical results, two MIPs were synthesized using both MFs and ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA) as crosslinker. The IFs of the MIPs were <1.4, that indicated low impression of TCS in the materials. The computational approach showed efficiency in estimating TCS binding energy to the MFs by predicting complexes with lower binding force that reflected in the low impression presented in the empirical results.



## ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS .....	x
LISTA DE EQUAÇÕES.....	xiii
LISTA DE TABELAS.....	xiv
LISTA DE FIGURAS.....	xvi
1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS .....	2
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	5
2.1 Polímeros Molecularmente Impressos .....	5
2.1.1 Técnicas de otimização dos reagentes de síntese .....	8
2.1.1.1 Otimização dos parâmetros de síntese a partir de métodos de Química teórica.....	9
2.1.1.2 Estudos espectroscópicos para a avaliação do complexo pré- polimerização.....	10
2.1.1.3 Ferramentas multivariadas de otimização .....	11
2.1.2 Processos de síntese e controle dos diâmetros das partículas .....	12
2.1.2.1 Métodos de polimerização .....	13
2.1.3 Caracterização dos MIPs .....	14
2.1.4 Propriedades adsorptivas dos MIPs .....	16
2.1.5 Modelos avaliativos da cinética de adsorção nos MIPs .....	18
2.1.5.1 Cinética de pseudo primeira ordem e pseudo segunda ordem.....	18
2.1.5.2 Modelos avaliativos do equilíbrio de adsorção nos MIPs.....	19
2.1.5.3 Isoterma de Langmuir; Freundlich, Langmuir-Freundlich e Langmuir- Freundlich de dois sítios .....	19
2.1.5.4 Parâmetros termodinâmicos do equilíbrio adsorptivo .....	21
2.2 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO BASEADOS EM MIPs.....	22
2.2.1 EXTRAÇÃO POR INCUBAÇÃO.....	23
2.2.2 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA MOLECULARMENTE IMPRESSA .....	25
3 SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS.....	31
3.1 INTRODUÇÃO.....	31
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	34
3.2.1 Reagentes.....	34
3.2.2 Equipamentos .....	35
3.2.3 Vidrarias e utensílios .....	36
3.2.4 Preparo dos polímeros molecularmente impressos para a sacarina.....	36
3.2.4.1 Síntese do monômero híbrido APTES-MAA.....	36
3.2.4.2 Estudos espectroscópicos para avaliação da formação do complexo pré- polimerização.....	36
3.2.4.3 Síntese de polímeros molecularmente impressos híbridos orgânico- inorgânicos para extração de sacarina .....	37
3.2.4.1 Estudo espectroscópico de homogeneidade do material e avaliação da eficiência de remoção da SAC.....	38
3.2.5 Caracterização dos polímeros.....	38
3.2.5.1 Avaliação da cinética de adsorção dos HMIPs.....	40
3.2.5.2 Construção das isotermas no equilíbrio de adsorção .....	40
3.2.5.3 Estudo termodinâmico de adsorção .....	40
3.2.6 Seletividade competitiva e avaliação do efeito de impressão .....	41
3.2.6.1 Condições do método cromatográfico .....	41
3.2.6.2 Método para determinação do ciclamato de sódio .....	41
3.2.6.3 Estudos de seletividade .....	42
3.2.7 Extração de SAC em amostras de águas superficiais naturais.....	42
3.2.7.1 Preparo da MIM para extração de SAC.....	43
3.2.7.1 Ensaios de adsorção da SAC na MIM.....	44
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45

3.3.1	Avaliação espectroscópica do complexo pré-polimerização e proposta de síntese	45
3.3.2	Distribuição da SAC nos polímeros por imagem hiperespectral e MCR-ALS	48
3.3.3	Caracterização dos HMIPs.....	57
3.3.4	Estudos preliminares do pH de adsorção da SAC no HMIP-S.....	62
3.3.5	Cinética e equilíbrio de adsorção dos HMIPs .....	63
3.3.5.1	Avaliação termodinâmica do equilíbrio adsorativo .....	67
3.3.6	Estudos de seletividade .....	68
3.3.7	Extração da SAC em amostras de águas superficiais naturais.....	70
3.3.8	Extração da SAC em água utilizando MIM. ....	71
3.4	CONCLUSÕES DO CAPÍTULO .....	73
4	EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA MOLECULARMENTE IMPRESSA DE SACARINA EM DIFERENTES MATRIZES .....	76
4.1	INTRODUÇÃO .....	76
4.2	MATERIAIS E MÉTODOS .....	77
4.2.1	Reagentes.....	77
4.2.2	Equipamentos .....	78
4.2.3	Vidrarias e utensílios .....	78
4.2.4	Confecção dos cartuchos de extração .....	78
4.2.5	Montagem do sistema de extração.....	79
4.2.6	Avaliação dos parâmetros de MISPE para amostras de chá dietético.....	80
4.2.7	Determinação do volume de <i>breakthrough</i> e capacidade adsorativa do HMIP-S na MISPE I.....	80
4.2.8	Aplicação do método MISPE I para determinação da SAC em amostras de chá dietético industrializado .....	81
4.2.9	Avaliação da MISPE para extração da SAC em amostras de águas superficiais .....	82
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	82
4.3.1	Planejamento fatorial para a MISPE I.....	82
4.3.2	Volume <i>breakthrough</i> e capacidade adsorativa do HMIP-S .....	86
4.3.3	Determinação de SAC por MISPE-HPLC-UV em amostras de chá dietético.....	88
4.3.4	Estudos iniciais para determinação de SAC por MISPE-HPLC-UV em amostras de água superficial .....	89
4.1	CONCLUSÕES DO CAPÍTULO .....	92
5	DESENVOLVIMENTO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA EXTRAÇÃO DE TRICLOSAN EM ÁGUAS SUPERFICIAIS. ....	94
5.1	INTRODUÇÃO .....	94
5.1.1	Funcionalidade do triclosan como molécula molde .....	94
5.1.2	Seleção de MFs por modelagem molecular .....	96
5.2	MATERIAIS E MÉTODOS .....	96
5.2.1	Reagentes.....	96
5.2.2	Equipamentos .....	97
5.2.3	Vidrarias e utensílios .....	97
5.2.4	Parâmetros computacionais .....	97
5.2.5	Síntese dos Polímeros Molecularmente Impressos.....	97
5.2.5.1	Avaliação da impressão molecular .....	98
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	98
5.3.1	Modelagem molecular dos complexos pré-polimerização .....	98
5.3.2	Síntese e avaliação da impressão molecular dos MIPs.....	103
5.4	CONCLUSÕES DO CAPÍTULO .....	106
6	CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS .....	108
7	REFERÊNCIAS .....	112
8.	Apêndice A .....	124
8.	Apêndice B .....	127

## LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

AC	Agente de ligação cruzada
ACE	Acessulfame de potássio
ACM	Acrilamida
AIBN	Azobisisobutironitrila
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APTES	Aminopropiltriétoxissilano
APTES-MAA	Monômero híbrido
BET	<i>Brunauer, Emmet and Teller</i>
BJH	<i>Barret, Joyner and Halen</i>
CAF	Cafeína
CAIQ	Central Analítica do Instituto de Química da UnB
CE (s)	Contaminante(s) emergente(s)
CIC	Ciclamato de sódio
CR <sub>i</sub>	Concentração relativa estimada por pixels
DFT	Teoria Funcional de Densidade
E <sub>disp</sub>	Interação de forças de dispersão
E <sub>elst</sub>	Interação Eletrostática
E <sub>exch</sub>	Energia envolvida na repulsão estérica
EGDMA	Etilenoglicol dimetacrilato
E <sub>ind</sub>	Interação de forças de indução
E <sub>int</sub>	Energias de interação
FDA	Agência americana reguladora de alimentos e medicamentos (do inglês, <i>Food and Drug Agency</i> )
FI	Fator de impressão
FT-IR	Espectroscopia de absorção no infravermelho com transformada de Fourier
HLB	Balanco hidrofílico-lipofílico
HMIP(s)	Polímero(s) híbrido(s) molecularmente impresso(s)
HMIP-B	Polímero híbrido molecularmente impresso pelo processo de <i>bulk</i>
HMIP-S	Polímero híbrido molecularmente impresso pelo processo de suspensão
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
IR	Espectroscopia no infravermelho
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
<b>K</b>	Coeficiente de seletividade
<b>k'</b>	Coeficiente de seletividade relativo

<b><i>kd</i></b>	Coeficiente de distribuição
$K_{dc}$	Constante de dissociação do complexo pré-polimerização
$K_f$	Constante de formação do complexo pré-polimerização
LOD	Limite de detecção
LOQ	Limite de quantificação
MAA	Ácido metacrílico
MCR-ALS	Resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes
MeCN	Acetonitrila
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MF	Monômero Funcional
MFs	Monômero(s) funcional(is)
MIM	Membrana molecularmente impressa
MIP(s)	Polímero(s) molecularmente impresso(s).
MIR	Espectroscopia no infravermelho médio
MISPE	Extração em fase sólida molecularmente impressa
MISPE I	Extração em fase sólida molecularmente impressa aplicada para amostras de chás dietéticos
MISPE II	Extração em fase sólida molecularmente impressa para aplicação em amostras de águas superficiais
MIT	Tecnologia de impressão molecular
ML-Sac	Polímero híbrido molecularmente impresso após todo processo de remoção da SAC
MM	Molécula molde
MNIM	Membrana não impressa
M-Sac	Polímero híbrido molecularmente impresso contendo SAC no estágio pós-síntese
NIP	Polímero não impresso
N-Sac	Polímero híbrido molecularmente não impresso
PTFE	Politetrafluoretileno
PVA	Poli(álcool vinílico)
PVDF	Fluoreto de polivinilideno
Q	Capacidade adsortiva
Q(máx)	Capacidade adsortiva máxima
Q(t)	Capacidade adsortiva em determinado momento (t)
Q <sub>e</sub>	Capacidade adsortiva no equilíbrio
<i>r.s.d</i>	Desvio padrão relativo
RMN	Ressonância magnética nuclear
SAC	Sacarina

SAPT	Teoria da Perturbação da Simetria Adaptada
SCX	Fase sólida de troca catiônica
SNV	Padronização normal de sinal
SPE	Extração em fase sólida
TCS	Triclosan
TEOS	Tetraetoxisilano
TG	Análise termogravimétrica
TI	Taxa de intumescimento
TRIM	Trimetilolpropano trimetacrilato
US	Ultrassom
UV-Vis	Ultravioleta – visível
$V_B$	Volume de <i>breakthrough</i>
VP	Vinilpiridina
$\Delta G$	Variação de energia livre de Gibbs
$\Delta H$	Variação de entalpia
$\Delta S$	Variação de entropia

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1: Capacidade adsortiva do MIP e do NIP. ....	17
Equação 2: Modelo de pseudo primeira ordem.....	18
Equação 3. Modelo de pseudo segunda ordem.....	19
Equação 4. Modelo linear de Langmuir.....	20
Equação 5. Modelo não linear de Langmuir.....	20
Equação 6. Modelo linear de Freundlich.....	20
Equação 7. Modelo não linear de Freundlich.....	20
Equação 8. Modelo híbrido com três parâmetros de Langmuir-Freundlich.....	21
Equação 9. Modelo híbrido com três parâmetros de Langmuir-Freundlich de dois sítios. .....	21
Equação 10. Modelo para elucidar a $K_d$ do processo adsortivo.....	22
Equação 11. Equação fundamental da termodinâmica.....	22
Equação 12. Taxa de intumescimento dos HMIPs pela água.....	40
Equação 13. Coeficiente de distribuição da espécie química nos polímeros.....	42
Equação 14. Estimativa da concentração de SAC em % (m/m) a partir das intensidades relativas obtidas para a segunda componente do MCR.....	54
Equações 15 e 16: Limites de detecção e quantificação estabelecidos para os métodos.....	69
Equação 17. Fórmula para aplicação do teste $t$ com amostras pareadas, sendo $d$ é a diferença média entre os pares de amostras ( $=2,46$ ) e $s_d$ é o desvio padrão das diferenças ( $=6,46$ ) para $N$ resultados emparelhados. $t_{crítico} = 2,57$ para 5 graus de liberdade.....	88

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Condições estabelecidas para a titulação espectrofotométrica da SAC. ....	37
Tabela 2. Fatores, níveis avaliados e matriz de planejamento fatorial 2 <sup>2</sup> para extração da SAC por MIM em águas superficiais. ....	44
Tabela 3. Resultados dos ensaios de porosimetria dos polímeros. ....	61
Tabela 4. Taxa de intumescimento dos HMIPs. ....	62
Tabela 5. Parâmetros dos modelos cinéticos aplicados aos HMIPs e HNIPs. ....	64
Tabela 6. Parâmetros isotérmicos da adsorção de SAC pelos HMIPs e HNIPs obtidos pelo processo de <i>bulk</i> (-B) e de suspensão (-S). ....	65
Tabela 7. Parâmetros termodinâmicos do processo de adsorção nos HMIPs e HNIPs. ....	68
Tabela 8. Parâmetros analíticos de quantificação do CIC, ACE, da SAC e CAF pelo método HPLC-UV (CIC, ACE e CAF) e por espectrofotometria no UV (CIC). ....	69
Tabela 9. Parâmetros dos efeitos de impressão ( <i>kd</i> , <i>k</i> e <i>k'</i> ) para SAC, CIC e CAF....	70
Tabela 10. Resultados de recuperação em amostras de água para diferentes concentrações de SAC utilizando o HMIP-S e HLB. ....	70
Tabela 11. Resultados do planejamento fatorial 2 <sup>2</sup> para adsorção da SAC considerando força iônica e pH das águas superficiais. ....	73
Tabela 12. Fatores e níveis avaliados no planejamento fatorial 2 <sup>3</sup> da MISPE I da SAC. ....	80
Tabela 13. Concentração de SAC nas amostras de chá dietético. ....	81
Tabela 14. Parâmetros da MISPE II estudados para extração da SAC em amostras de água superficiais. ....	82
Tabela 15. Resultados do planejamento fatorial 2 <sup>3</sup> contendo o valor médio de recuperação da SAC nos ensaios. ....	83
Tabela 16. Valores dos efeitos obtidos para o planejamento fatorial 2 <sup>3</sup> . ....	83
Tabela 17. Preparo de amostra MISPE estabelecido para extração da SAC em bebidas. Massa de HMIP-S empregada: 200 mg. ....	85
Tabela 18. Resultados das percentagens de recuperação da SAC com a aplicação do método MISPE para o HNIP-S. Concentração adicionada de SAC = 5,0 mg L <sup>-1</sup> . ....	86

Tabela 19. Dados de recuperação da SAC em amostras de chá dietético mediante a aplicação do métodos MISPE-HPLC-UV. ....	88
Tabela 20. Parâmetros analíticos de quantificação da SAC no UV. ....	90
Tabela 21. Concentrações quantificadas para cada etapa de extração usando o HMIP-S e HLB. ....	90
Tabela 22. Recuperações de SAC e ACE com a aplicação do protocolo de MISPE II.91	
Tabela 23. Dados da termodinâmica de complexação entre o TCS e MFs a 25 °C. .	103
Tabela 24. Capacidades adsorptivas dos diferentes MIPs e NIPs em solução hidroalcoólica (70/30) sintetizados conforme o item 3.3.4.1 .....	104



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema demonstrativo hipotético de cinco diferentes impressões moleculares. (1) não covalentes – Van der Waals; (2) eletrostática/iônica – interação com cargas; (3) covalente; (4) semi-covalente; (5) coordenação com metal. MM molécula: molde; L: ligante; AC: agente de ligação cruzada: (A) grupos dos monômeros funcionais que sofrem reação com AC formando a cavidade para a MM. Esquema adaptado de Huang e colaboradores <sup>5</sup> .....	6
Figura 2. Estruturas moleculares dos MF(s) e AC(s) comumente empregados nas sínteses dos MIPs. ....	7
Figura 3. Etapas básicas da SPE. <b>(1)</b> condicionamento/equilíbrio e ativação do sorvente, <b>(2)</b> percolação da amostra no cartucho e retenção do analito e impurezas, <b>(3)</b> lavagem com solvente, <b>(4)</b> eluição do analito. Adaptado de Dourado <sup>75</sup> . ....	27
Figura 4. Estruturas moleculares da SAC, CIC e ACE. Os grupos grifados em azul normalmente se encontram átomos eletronegativos substituintes: Na <sup>+</sup> para SAC e CIC e K <sup>+</sup> para o ACE. ....	31
Figura 5. Estruturas moleculares das espécies químicas empregadas nos ensaios de seletividade.....	41
Figura 6. (A) Membrana de agarose com HMIP-S 10 % (m/v) e (B) discos de agarose seccionados.....	43
Figura 7. Curva de titulação entre a SAC e o MAA <b>(A)</b> ; relação linear entre a proporção de SAC-MAA e concentração de MAA <b>(B)</b> ; Curva de titulação entre a SAC e o APTES-MAA <b>(C)</b> ; relação linear entre a proporção de SAC: APTES-MAA e concentração de APTES-MAA <b>(B)</b> . Os dados de absorbância são dados como a diferença entre a absorbância inicial do titulado da absorbância resultante da adição de cada alíquota de titulante. ....	46
Figura 8. Ilustração esquemática da síntese dos HMIPs: síntese do APTES-MAA (1), sua proposta reação de complexação com a SAC (2), mistura desse complexo com os ACs (3) e sua posterior polimerização. A etapa 5 ilustra o esquema de adsorção-desorção da SAC em procedimentos de extração sólido-líquido que utilizam MIP como fase sólida extratora.....	48
Figura 9. Espectros recuperados das três componentes estimadas por MCR – ALS. Espectros deslocados em termos de intensidade para melhor visualização das bandas. ....	49



Figura 10. Espectro de infravermelho - ATR da SAC sólida (dados convertidos em absorbância). Regiões espectrais e seus respectivos grupos: 3600 – 3000 $\text{cm}^{-1}$ , estiramento O-H; 2850 e 2930 $\text{cm}^{-1}$ , estiramento e deformação axial das ligações C-H; 1640 $\text{cm}^{-1}$ , carbonila; 1500 – 1590 $\text{cm}^{-1}$ , bandas dos anéis aromáticos; 1150 e 1230 $\text{cm}^{-1}$ , estiramento assimétrico e simétrico do grupo sulfonamida. ....	50
Figura 11. Perfis de concentração do M-Sac (pixels 1-20); ML-Sac (pixels 21-40), N-Sac (41-60) a partir de uma matriz aumentada considerando a componente 1.....	51
Figura 12. Perfis de concentração do M-Sac (pixels 1-20); ML-Sac (pixels 21-40), N-Sac (41-60) a partir de uma matriz aumentada considerando a componente 3.....	52
Figura 13. Perfis de concentração do M-Sac (pixels 1-20); ML-Sac (pixels 21-40), N-Sac (41-60) a partir de uma matriz aumentada considerando a componente 2.....	53
Figura 14. Perfis de concentração com conversão da escala de cores para concentração em % (m/m) da SAC no M-Sac (pixels 1-20); no ML-Sac (pixels 21-40) e no N-Sac (pixels 41-60). ....	55
Figura 15. Histogramas dos perfis de concentração obtidos mediante a deconvolução dos dados por MCR-ALS das imagens do M-Sac  e ML-Sac  . Os dados consideram a componente 2.....	56
Figura 16. Espectros FTIR dos polímeros híbridos obtidos pelas condições de processo em <i>bulk</i> e suspensão.....	58
Figura 17. Curvas de TG das amostras dos com os polímeros híbridos obtidos pelas condições de processo em <i>bulk</i> e em suspensão.....	59
Figura 18. Fotomicrografias eletrônicas de varredura do HMIP-S (A) com aproximação de 500 vezes e (B) de 10000 vezes e do HNIP-S (C) com aproximação de 500 vezes e (D) de 10000 vezes. ....	60
Figura 19. Fotomicrografias eletrônicas de varredura do HMIP-B (A) com aproximação de 500 vezes, (B) e de 10000 vezes e do HNIP-B (C) com aproximação de 500 vezes e (D) de 10000 vezes.....	61
Figura 20. Efeito do tempo para a quantidade adsorvida de SAC para os polímeros HMIP-B (A) e HMIP-S (B). $Q_{exp}$ HMIP-B: 0,76 $\text{mg g}^{-1}$ e $Q_{exp}$ HMIP-S: 2,72 $\text{mg g}^{-1}$ .....	63
Figura 21 (A) Esquema hipotético de um adsorvente heterogêneo que contém locais diferentes de energia de adsorção em uma mesma superfície e (B) adsorvente com sítios de adsorção homogêneos. Adaptado de Kumar e colaboradores <sup>50</sup> . ....	64
Figura 22. Isotermas de adsorção para o HMIP-B (A) e para o HMIP-S (B).....	65

Figura 23. Isotermas de adsorção do HMIP e HNIP em <i>bulk</i> (A) e em suspensão (B) com os ajustes para os modelos descritos na Tabela 8. ....	66
Figura 24. Massa de SAC adsorvida nas MIMs com 5 e 10 % do HMIP-S atuando como fase ligante.....	72
Figura 25. Esquema de montagem do cartucho MISPE. (1) adição do <i>fritz</i> inferior e membrana de PTFE 0,22 $\mu$ m devidamente recortada; (2) adição da massa aferida de HMIP-S e (3) adição do <i>fritz</i> superior para compactação da massa.....	79
Figura 26. Sistema MISPE. (A) cartucho de extração; (B) tubo de viton roxo/roxo e (C) bomba peristáltica. Adaptado de Domingues <sup>108</sup> .....	79
Figura 27. Efeito da vazão para adsorção da SAC no HMIP-S. ....	85
Figura 28. Curva de <i>breakthrough</i> empírica para o HMIP-S como fase sólida. $V_B$ : volume de <i>breakthrough</i> . ....	87
Figura 29. Separação cromatográfica da amostra 1 (chá verde) ( ) e do eluato proveniente da MISPE da mesma amostra ( ).....	89
Figura 30. Cromatograma de separação do ACE e da SAC para o HMIP-S ( ) e para o HLB ( ).....	92
Figura 31. Estrutura molecular do TCS.....	94
Figura 32. Estruturas mais estáveis encontradas para os complexos entre TCS e VP, ACM e MAA obtidos no nível B3LYP/6-311G(d). Átomos e suas respectivas cores - Cloro: verde; Oxigênio: vermelho; Nitrogênio: lilás; Hidrogênio: branco; Carbono: cinza. ....	99
Figura 33. Esquema de fragmentação de interações intermoleculares utilizado nas análises SAPT para o complexo não covalente entre o TCS e a VP.....	100
Figura 34. Esquema de fragmentação de interações intermoleculares utilizado nas análises SAPT para o complexo não covalente entre o TCS e o MAA.....	101
Figura 35. Esquema de fragmentação de interações intermoleculares utilizado nas análises SAPT para o complexo não covalente entre o TCS e a ACM. ....	102

## **Capítulo 1: Introdução e Objetivos**

---

## 1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A seletividade é um dos parâmetros mais almejados em um método analítico. Essa extrema relevância se dá ao fato de que esse parâmetro prediz a capacidade do método em determinar um composto em específico, sem a interferência dos demais componentes da matriz. Mesmo com o expressivo avanço da instrumentação analítica nos últimos anos, com o advento de detectores com baixos limites de detecção e separações cromatográficas de alta resolução, a seletividade do método ainda é intensamente dependente dos procedimentos de extração e purificação empregados na amostra <sup>1</sup>.

O efeito de interferência matriz é um dos principais fatores que impactam na redução da seletividade de separação e/ou detecção e que impossibilita a determinação com a injeção direta da amostra no equipamento analítico. A depender da complexidade e variabilidade de componentes da matriz são necessários vários passos de extração para se alcançar um mínimo de concentração detectável do analito. Dos mecanismos químicos que predominam nos procedimentos de extração, o de adsorção sólido-líquido é um dos mais empregados. Nesse tipo de separação, a seletividade quanto a extração é altamente influenciada pelo tipo de material adsorvente empregado <sup>2</sup>.

Pesquisas atuais têm sido dedicadas a desenvolver materiais que possuam alta especificidade e seletividade e, dentro dessa temática, a impressão molecular é a tecnologia com maior destaque. Os extratores advindos dessa vertente são denominados de MIPs e são materiais robustos, de fácil preparo, projetáveis, reutilizáveis e bastante seletivos <sup>3</sup>.

A alta seletividade dos MIPs está aliada a síntese do material, que é projetada para produzir cavidades que possam atingir especificidade de extração para um determinado analito, a saber, Molécula Molde (MM). As cavidades seletivas geradas nesses materiais são decorrentes da adição da MM na mistura de síntese, que é polimerizada juntamente com o(s) monômero(s) funcional (is) – MFs - e reticuladores. Após a síntese, a MM é removida (impressa) e as cavidades resultantes possuem forma definida e locais de reconhecimento complementares e apropriados para a religação daquele analito em específico. A dimensão da impressão é mensurada através da comparação da capacidade adsortiva da MM no MIP com a obtida com o polímero não impresso (NIP, do inglês, *non imprinted polymer*). Neste material, não há a adição MM considerando apenas as propriedades químicas adsortivas do próprio

polímero. Assim, o NIP apresenta propriedades extratoras similares aos adsorventes convencionais aplicados em extrações sólido-líquido <sup>3</sup>.

Contudo, imprimir cavidades efetivas em um MIP é um grande desafio, diante dos vários aspectos a serem considerados no que diz respeito a matriz de aplicação, propriedades químicas da MM e condições reacionais de polimerização. Neste contexto, a obtenção de um MIP com seletividade apreciável abrange um planejamento holístico que deve considerar todos os efeitos e interdependências <sup>3</sup>.

O uso dos MIPs em procedimentos de separação pode simplificar expressivamente extrações complexas e demoradas atribuindo especificidade de determinação para o analito de interesse. Dessa forma, os estudos com os MIPs apresentam alta relevância em química analítica. Considerando os aspectos expostos, este presente trabalho teve como objetivo principal desenvolver MIPs para extrair de forma seletiva a SAC e o TCS considerando os aspectos de afinidade química para as matrizes de aplicação a serem estudadas.

Dessa forma, a presente tese foi dividida de modo a abordar inicialmente no capítulo 2 uma revisão da literatura, com os principais tópicos envolvidos em impressão molecular e nos processos de extração que utilizam esses materiais. Para organizar a estrutura de apresentação de desenvolvimento e aplicação dos diferentes materiais, as seções experimentais foram divididas em três capítulos distintos, sendo dois capítulos atribuídos a síntese e aplicação dos MIPs desenvolvidos para a SAC (Capítulos 3 e 4) e um destinado aos MIPs para o TCS (Capítulo 5). Assim, os objetivos específicos deste presente trabalho são:

- Estudar técnicas empíricas e teóricas para avaliar a formação do complexo pré-polimerização entre MM e MF considerando os aspectos químicos relacionados às MMs de interesse (SAC e TCS);
- Avaliar diferentes processos de síntese para os MIPs e a compatibilidade dos materiais provenientes com a matriz da amostra;
- Caracterizar os materiais produzidos por ensaios físicos, químicos e de adsorção;
- Utilizar os MIPs como fases sólidas extratoras em diferentes técnicas de extração ;
- Comprovar o conceito de seletividade e de robustez do MIP sintetizado para a extração de SAC por meio da sua aplicação em diferentes tipos amostras;
- Utilizar detectores mais simples nos métodos analíticos propostos, por meio da possível seletividade de extração advinda uso do MIP nos procedimentos

## **Capítulo 2: Revisão Bibliográfica**

---

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Polímeros Molecularmente Impressos

A tecnologia de impressão molecular (MIT, do inglês *molecularly imprinted technology*) desenvolve materiais com habilidades de reconhecimento seletivo que são usados para extrair espécies químicas selecionadas. A alta seletividade desses materiais é obtida por meio de cavidades impressas com tamanhos, formas e grupos funcionais complementares a molécula de estudo (molécula molde, MM), por meio de ligações específicas. Essas ligações responsáveis pelo reconhecimento molecular simulam os mesmos mecanismos que governam as interações específicas em receptores naturais, como enzima-substrato e antígeno-anticorpo <sup>4</sup>.

As cavidades específicas são impressas na matriz polimérica por meio da presença da MM juntamente com o(s) monômero(s) funcional(is) (MF) na presença de um solvente inerte. Esses monômeros são organizados em torno da MM em um solvente adequado, que estabiliza as interações e permite a formação de complexos, que são posteriormente interligados por meio de um reticulador, a saber, Agente de Ligação Cruzada (AC) <sup>5</sup>, do inglês *crosslinker* (Fig.1). Essa espécie é um monômero que se liga covalentemente por ligações intramoleculares, ao lado polimerizável do MF formando assim, cavidades adjacentes a MM mediante a reticulação moderada em torno do complexo. Além disso, o AC garante a estabilidade mecânica do polímero por meio do processo de reticulação. Após a obtenção do material, a MM é removida, mediante processos químicos de extração, normalmente difusão em solvente orgânico, formando cavidades com formato e sítios funcionais complementares a essa espécie (Fig.1) <sup>5</sup>.

Neste sentido, os MIPs possuem reconhecimento molecular direcionado a MM e sua seletividade depende diretamente das interações para a formação do complexo entre MM e MF, que podem ocorrer de diversas formas. A Figura 1 exemplifica os principais mecanismos de interações entre uma MM hipotética e alguns MFs. No entanto, de um modo geral essas interações resumem-se em covalentes e não covalentes <sup>5</sup>.



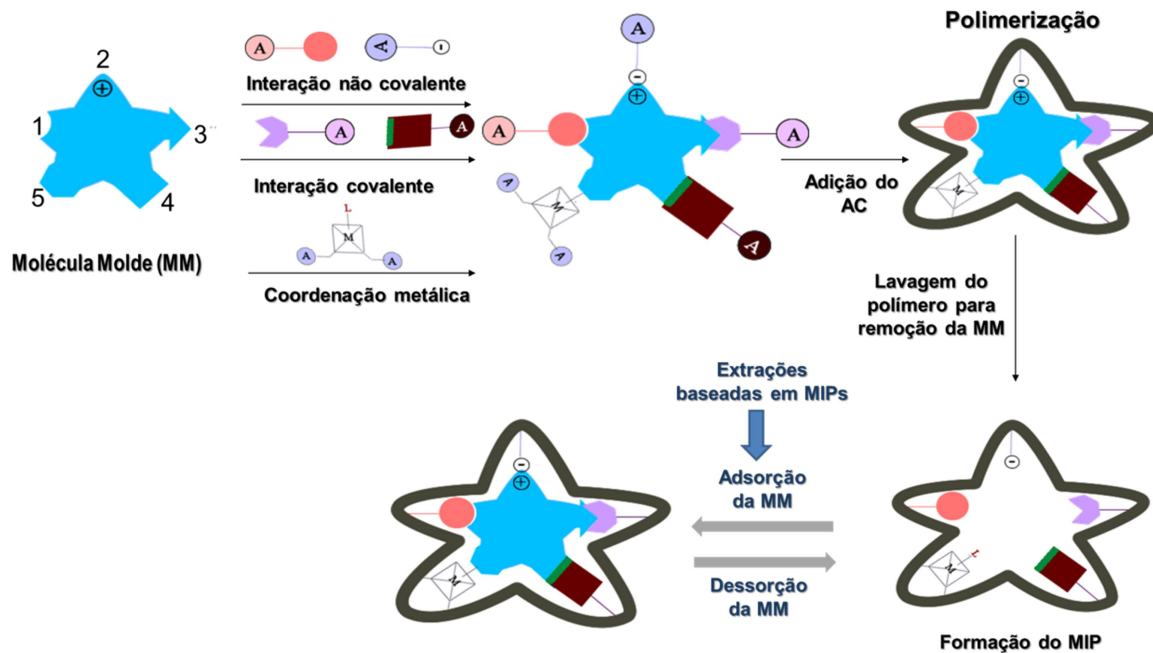


Figura 1. Esquema demonstrativo hipotético de cinco diferentes impressões moleculares. (1) não covalentes – Van der Waals; (2) eletrostática/iônica – interação com cargas; (3) covalente; (4) semi-covalente; (5) coordenação com metal. MM molécula: molde; L: ligante; AC: agente de ligação cruzada: (A) grupos dos monômeros funcionais que sofrem reação com AC formando a cavidade para a MM. Esquema adaptado de Huang e colaboradores <sup>5</sup>.

A impressão covalente acontece mediante a interação covalente reversível entre a MM e o MF. A cinética de formação do complexo é lenta e existem poucos MF(s) que são hábeis para realizar ligações covalentes reversíveis. Além disso, são necessárias condições químicas severas para a remoção da MM, que podem prejudicar a funcionalidade do MIP <sup>5</sup>. Já a impressão semicovalente é uma abordagem intermediária entre a impressão covalente e não covalente, Neste caso, as ligações covalentes são formadas na síntese do MIP e na etapa de remoção da MM são adicionadas espécies químicas que interagem com os sítios deixados pela impressão, formando novos sítios funcionais que irão se religar à MM de modo não covalente. Todavia, essa impressão ainda apresenta a maioria das desvantagens da covalente e, em adicional, são restritas as espécies químicas que podem ser utilizadas para modificar os sítios deixados na impressão <sup>5,6</sup>.

Em contrapartida, a impressão não covalente supera a maioria dessas desvantagens por meio da formação de interações entre MM-MF de origens eletrostáticas, hidrofóbicas e/ou, principalmente, por ligações de hidrogênio. Em um solvente adequado, as velocidades de ligação e dissociação são mais rápidas. Além disso, essa impressão é mais versátil devido a quantidade de MFs disponíveis. Assim, a combinação de diferentes MFs permite a ligação com vários grupos funcionais da

MM, atribuindo um reconhecimento molecular mais eficaz. Essas propriedades impactam em um rápido procedimento de separação e eluição, o que agrega aos MIPs não covalentes, vantagens expressivas para sua aplicação para em processos de extração em geral <sup>3</sup>.

Outra abordagem interessante, em termos de melhor afinidade, é a coordenação metálica que se baseia na incorporação de um metal no polímero de modo que a MM possa se ligar a essa espécie através de sítios de coordenação quelantes. Essa estratégia pode ser explorada tanto em polímeros orgânicos, mediante a modificação do monômero funcional não covalente com um metal, quanto na inserção do metal em sínteses de silicatos, para formação de material um inorgânico que pode melhorar significativamente a seletividade de extração para moléculas maiores, como a quercetina <sup>7</sup>. Nesse sentido, o requisito principal é que a MM possua sítios hábeis de complexação com espécies metálicas <sup>7</sup>.

Em relação aos MFs disponíveis para a síntese não covalente dos MIPs, o MAA é o mais utilizado, devido a sua versatilidade na acepção e doação de ligação de hidrogênio. Outros monômeros bastante utilizados são: acrilamida (ACM), vinilpiridina (VP) e o aminopropiltriétoxissilano (APTES) <sup>5</sup> – Figura 2. Já para os ACs, os mais empregados são: etilenoglicol dimetacrilato (EGDMA), Trimetilolpropano trimetacrilato (TRIM) para sínteses radiculares e tetraetoxissilano (TEOS) para o processo de condensação sol-gel <sup>5</sup>. A Figura 2 apresenta as estruturas moleculares desses compostos.

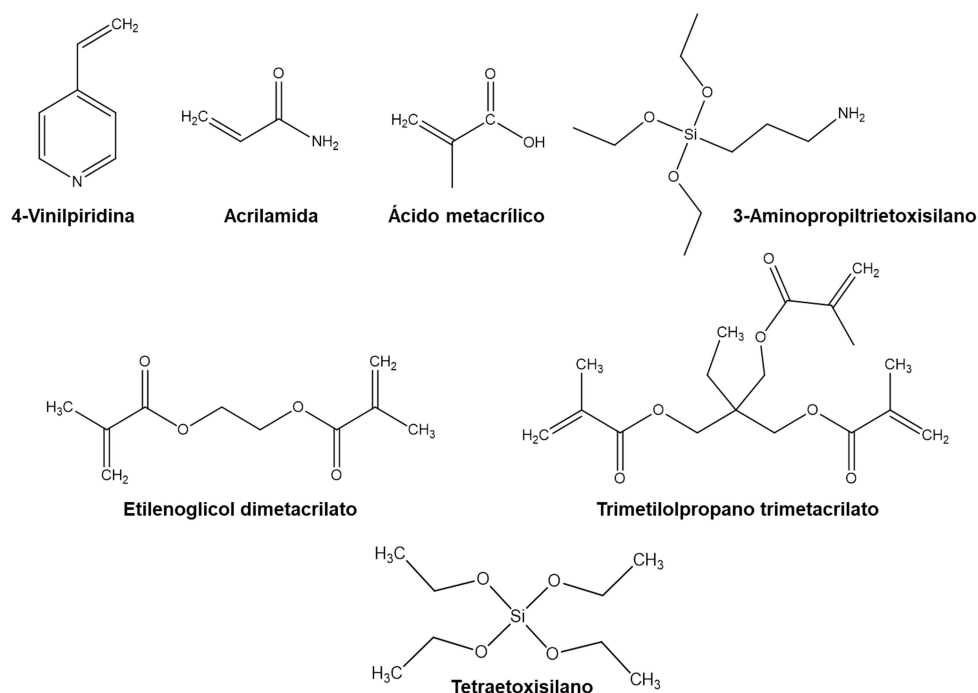


Figura 2. Estruturas moleculares dos MF(s) e AC(s) comumente empregados nas sínteses dos MIPs.

Como forma de controle e avaliação da impressão do MIP, o NIP (*Non Imprinted Polymer*) é sintetizado concomitantemente seguindo todo protocolo da condição de síntese sem a presença da MM. A obtenção dos dados de adsorção desses materiais são de extrema importância, uma vez que os polímeros sintetizados possuem naturalmente propriedades adsorptivas devido aos monômeros empregados na síntese. Um MIP não seletivo apresentará propriedades de adsorção não específicas, como fases adsorventes convencionais. A garantia da impressão molecular é obtida através da razão entre a capacidade de adsorção do MIP e do NIP que resultará no fator de impressão (FI) do material <sup>5</sup>.

De um modo geral, a impressão molecular se ramifica a depender da natureza da interação entre o MF e a MM e, dessa maneira, deve-se buscar um compromisso entre a força de ligação efetiva que mantém o complexo unido com o número de sítios disponíveis na estrutura química da MM e do MF hábeis para realizar a ligação. Quanto mais estáveis as ligações e a quantidade de pontos de ancoragem dessas na MM, maior será a afinidade química e seletividade do material obtido <sup>3</sup>. Neste sentido, o ponto principal e mais complexo nos estudos de impressão molecular é encontrar a combinação ideal desses parâmetros que possam proporcionar, um material seletivo <sup>5</sup>.

Abordagens univariadas foram por anos as mais exploradas na literatura, em que diversas sínteses eram realizadas e avaliadas resultando em uma grande quantidade de resíduos químicos <sup>8-10</sup>. Ademais, alguns trabalhos relataram fatores de impressão e capacidade adsorptiva reduzidos <sup>10,11</sup>, que pode estar relacionada com uma seleção inadequada dos componentes de síntese por não considerar os efeitos termodinâmicos e variáveis interdependentes atreladas ao desenvolvimento dos MIPs.

Neste sentido, várias abordagens computacionais de modelagem, simulação e ferramentas multivariadas de otimização <sup>12</sup>, como o planejamento fatorial, estão sendo reportados na literatura, mostrando incrementos significativos em seletividade dos materiais obtidos e reduzida produção de resíduos químicos<sup>4</sup>.

### **2.1.1 Técnicas de otimização dos reagentes de síntese**

A escolha dos reagentes de síntese dos MIPs é, portanto, a parte mais importante no desenvolvimento desses materiais, pois dessa etapa decorre os parâmetros de seletividade do material. O MF desempenha um papel decisivo nesse quesito, no sentido de prover sítios funcionais para a MM e ainda se ligar na cadeia polimérica formando as cavidades <sup>13</sup>. Neste sentido, as cavidades produzidas irão possuir seções de estrutura complementar a forma da MM com sítios mais

direcionados a realizar ligações com ela, do que com outras espécies químicas presentes concomitantemente na amostra <sup>13</sup>.

Assim, a escolha do MF adequado para uma MM, bem como os demais reagentes de síntese deve ser conduzida com cautela. Os quesitos de triagem devem considerar parâmetros físico-químicos das espécies químicas envolvidas no processo bem como as interações interdependentes que contribuem para a impressão no polímero <sup>12</sup>. Dentre esses, os parâmetros os mais importantes em termos de seletividade do MIP estão relacionados a MM, tais como: disponibilidade e quantidade de sítios de potencial complexação com o(s) MF(s), tamanho e rigidez da espécie química <sup>14</sup>.

Atualmente, diversas formas de triagem/otimização são aplicadas nos trabalhos com MIPs, de modo a se obter materiais mais efetivos com número reduzido de experimentos. Dentre essas ferramentas se encontram, os estudos computacionais para avaliar a força das interações entre MM e MF <sup>15,16</sup>, os métodos espectroscópicos de avaliação da formação de complexo entre MM e MF <sup>13,17,18</sup> e as ferramentas multivariadas <sup>5</sup>.

#### **2.1.1.1 Otimização dos parâmetros de síntese a partir de métodos de Química teórica**

Dentre os estudos modernos para o desenvolvimento dos MIPs se encontram as ferramentas computacionais <sup>4,12,19</sup>. Diversas abordagens vêm sendo empregadas nessa vertente, como a dinâmica clássica e também cálculos quânticos <sup>20</sup>, um exemplo disso é o trabalho de Nezhadali e Mojarrab que através da mecânica quântica designou o melhor monômero funcional e solvente resultando em um MIP hábil para ser aplicado como um sensor para detecção do medicamento metoprolol em concentrações de níveis  $\mu\text{mol L}^{-1}$  <sup>21</sup>.

As abordagens computacionais apresentam uma proposta interessante de desenvolvimento racional da síntese, de modo a estabelecer preliminarmente os MFs mais adequados a se complexarem com o analito/MM, aliando economia considerável de reagentes e de tempo de bancada, com redução significativa dos resíduos gerados, quando comparado ao método tradicional da tentativa-erro <sup>15</sup>. Desta forma, com as contribuições físico-químicas que regem a formação do complexo de pré-polymerização, pode-se entender os fatores que auxiliam de maneira mais precisa o mecanismo de impressão molecular posterior <sup>22</sup>.

Vários métodos teóricos tem sido relatados na literatura para otimização dos MIPs, que incluem a Dinâmica Molecular clássica, aproximação supramolecular e a Teoria Funcional de Densidade (DFT), as quais são empregadas com êxito para encontrar os valores das energias de ligação que ocorrem entre MM-MF<sup>12,13,15,16</sup>. Nos trabalhos com MIPs, a aproximação supramolecular é a mais empregada, visto que a maioria dos monômeros funcionais utilizados são pequenos. Para isso, para uma dada geometria a energia de interação ( $E_{int}$ ) entre duas moléculas  $A$  e  $B$ , é obtida subtraindo a energia total dos monômeros da energia total do complexo, conforme a seguinte função:  $E_{int} = E_{AB} - E_A - E_B$ . Os cálculos dessas energias são comumente realizados empregando a DFT, entretanto, suas aproximações supramoleculares podem falhar na descrição dos complexos e das formações das ligações de hidrogênio por não considerar as forças repulsivas entre as espécies químicas reagentes.

Para agregar uma visão mais realista da natureza das ligações envolvidas, os cálculos baseados na Teoria da Perturbação da Simetria Adaptada (SAPT, do inglês, *Symmetry Adapted Perturbation Theory*)<sup>23</sup> propõem a computação direta das energias considerando as forças dominantes das interações. Assim, cálculos com essa abordagem fornecem valores das principais componentes energéticas envolvidas nas interações, sejam elas: eletrostática ( $E_{elst}$ ), energia de repulsão estérica ( $E_{exch}$ ), forças de indução ( $E_{ind}$ ) e forças de dispersão ( $E_{disp}$ ). Assim, a SAPT apresenta-se como uma ferramenta atraente para elucidar os mecanismos envolvidos na impressão molecular de forma mais realista e de maneira inovadora.

Mesmo com essas vantagens, a impressão computacional deve ser utilizada com cautela, uma vez que o conhecimento químico do analista ainda se faz importante, pois as ferramentas não preveem possíveis impasses químicos específicos como, a solubilidade limitada da MM, do MF ou do complexo no solvente de síntese. Ademais, os cálculos computacionais incluindo AC são bastante demorados, que restringe muitas vezes essa aplicação apenas à modelagem do complexo pré-polimerização<sup>12</sup>.

### **2.1.1.2 Estudos espectroscópicos para a avaliação do complexo pré-polimerização**

Uma outra abordagem interessante de triagem e que já é bem estabelecida nos estudos com MIPs é a aplicação de técnicas espectroscópicas para estimar a estabilidade e proporção estequiométrica do complexo resultante. Estudos espectroscópicos baseados em ressonância magnética nuclear (RMN), infravermelho

e espectroscopia no UV-Vis <sup>24</sup> têm sido utilizados em diversos trabalhos, no entanto, a titulação com detecção espectrofotométrica no UV <sup>17,18,24</sup> utilizando soluções de MM e de MF têm mostrado resultados eficientes que permitem confirmar a ocorrência de formação do complexo. Assim, através do plot de uma isoterma de equilíbrio de complexação é possível verificar o ponto final da titulação que corresponde à proporção estequiométrica favorável de formação do complexo, considerando ainda as características do solvente para formação do produto (complexo MM-MF) <sup>13,24</sup>.

Em termos energéticos é essencial que o MF possua grande quantidade de sítios hábeis para interação com a MM, sendo as ligações de hidrogênio ( $\Delta H$  5 a 20 kJ mol<sup>-1</sup>) as mais favoráveis para formar um complexo estável. Interações de Van der Waals podem ser empregadas, contudo nesse caso, são necessárias maiores proporções de MF em relação a cada MM, o que pode resultar em maior quantidade de sítios não específicos de ligação, prejudicando a seletividade do MIP resultante <sup>25,26</sup>.

No geral, a natureza do complexo é de origem ácido-base e dessa forma torna-se possível determinar a constante de dissociação desse complexo ( $K_{dc}$ ) e estequiometria de formação. Por consequência, é possível prever a sua estabilidade e potencialidade de complexação em função do tipo de solvente, visto que os mesmos também possuem capacidade de realizar interações intermoleculares com a MM e/ou MF <sup>13</sup>. Geralmente, são escolhidos solventes que favorecem as ligações de hidrogênio, ou seja, com baixa polaridade e com característica aprótica, como: clorofórmio, diclorometano, tolueno e acetonitrila (MeCN). Portanto, esse método permite prever a estabilidade do complexo e proporção estequiométrica, e ainda, considerar as variáveis empíricas como a solubilidade da MM e interação com solvente <sup>5,27</sup>.

### 2.1.1.3 Ferramentas multivariadas de otimização

Trabalhos envolvendo a triagem/otimização das etapas de pré-síntese dos MIPs demonstram que existem muitas variáveis que influenciam na obtenção de um material adequado <sup>12,28,29</sup>. Portanto, a otimização de todo o processo de síntese é uma tarefa difícil devido à quantidade de variáveis interdependentes. Dessa maneira, a aplicação de ferramentas multivariadas com base em quimiometria se torna mais eficiente do que os estudos univariados, por permitir identificar os principais fatores que podem influenciar na síntese do MIP com um número menor de experimentos <sup>12</sup>. Dentre as ferramentas mais utilizadas, o planejamento fatorial é o mais empregado nos trabalhos <sup>12,13,28</sup> na etapa de triagem das variáveis, principalmente quando não se

conhece bem o sistema de estudo. Assim, se necessário, fatores mais significativos podem ser aprofundados em estudos com técnicas mais específicas <sup>12</sup>.

Um fator de extrema relevância para a impressão do material é a condição reacional empregada no processo de síntese <sup>3</sup>. De um modo geral, as sínteses dos MIPs são conduzidas por iniciação radicalar ou condensação e dentre elas são aplicadas diferentes condições físico-químicas que permitem obter materiais com diferentes características texturais e propriedades adsorptivas.

### **2.1.2 Processos de síntese e controle dos diâmetros das partículas**

Em sua grande maioria, a síntese dos MIPs é conduzida por processos via radical livre mediante o uso de iniciadores radicalares. Dentre esses, o mais empregado é o 2-2 azobisisobutironitrila (AIBN) <sup>5</sup> em faixas de temperaturas de 50 à 70 °C. O controle da temperatura durante o processo de polimerização é de suma importância, devido à influência da relação entre a formação de cadeias com a quantidade de radicais livres disponíveis. Assim, a liberação controlada de radicais possibilita obter um polímero bem estruturado e por consequência, com cavidades melhor delineadas. Além do AIBN, outros iniciadores como os peróxidos, também tem sido utilizados <sup>6</sup>. O MIP obtido via síntese radicalar apresenta algumas vantagens tais como: maior rendimento e capacidade adsorptiva; e maior resistência a condições químicas diversas e severas, como faixas extremas de pH e diferentes tipos de solventes, devido a natureza orgânica do material <sup>5</sup>.

Uma maneira alternativa de síntese dos MIPs que vem sendo bastante pesquisada pela comunidade científica é o processo sol-gel. Basicamente, essa técnica consiste na obtenção de um gel proveniente de óxido de silicato por condensação em condições reacionais suaves <sup>6</sup>. Esse processo resulta como produto uma sílica molecularmente impressa e apresenta como vantagens a simplicidade do procedimento operacional e estabilidade térmica adequada em relação ao processo convencional radicalar. Ademais, para aplicação em amostras aquosas, o emprego desse tipo de fase sólida apresenta-se particularmente relevante, tendo em vista a hidrofiliabilidade da matriz e a maior resistência ao inchaço da sílica na presença de diferentes solventes. No entanto, o material obtido apresenta normalmente capacidade adsorptiva menor quando comparada aos MIPs orgânicos e condições reacionais mais limitadas em termos uniformidade da distribuição das partículas do polímero <sup>5</sup>.

Uma abordagem inovadora de síntese vem sendo desenvolvida através da combinação dos dois processos anteriores, denominada de polimerização de materiais impressos híbridos orgânicos-inorgânicos. Esses polímeros agregam as vantagens

dos dois processos gerando sólidos adsorventes com alta afinidade pela água<sup>30-33</sup>. O Polímero Híbrido Molecularmente Impresso (HMIP) é sintetizado em duas etapas. A primeira consiste na reação de condensação e desidratação de duas espécies monoméricas, uma orgânica e uma inorgânica que resulta em um monômero híbrido. No geral, os trabalhos que utilizam essa estratégia<sup>30-33</sup>, realizam a mistura do MAA ou ACM com o APTES reagindo-os por 24 h em temperatura de 60 °C. Após a obtenção desse monômero híbrido, pode-se conduzir a síntese com o AC orgânico, ou ainda adicionar proporções de TEOS de modo a proporcionar a fase sólida final maior rigidez, estabilidade, menor inchaço das cadeias do polímero e maior afinidade com a água<sup>30</sup>.

### 2.1.2.1 Métodos de polimerização

Os métodos aplicados para a polimerização influenciam diretamente no tamanho, a distribuição e o formato das partículas dos MIPs. Para os MIPs radiculares os processos de síntese mais comuns são: a polimerização em massa (*bulk*), por precipitação, em suspensão e em emulsão<sup>5</sup>. Todavia, o método mais utilizado atualmente tem sido a polimerização em massa e, em menor proporção, as sínteses em precipitação e suspensão<sup>5</sup>.

A polimerização em *bulk* é um processo homogêneo e simples de síntese que se obtêm um alto rendimento reacional. A síntese é realizada através da mistura dos reagentes, a qual é submetida à polimerização radicalar sob atmosfera inerte e temperatura adequada ao iniciador utilizado. Nesse tipo de síntese, não há controle do tamanho e formatos das partículas tendo como produto um monolito com uma morfologia tipo “couve flor” resultante da alta porosidade nas partículas aglomeradas. Assim, após a síntese, necessita-se de uma etapa de moagem e peneiramento, o que gera partículas irregulares. Muito se discute na literatura a respeito da potencial danificação dos sítios ativos dos MIPs proporcionada pela maceração, visto que resultados empíricos comprovam que esse procedimento pode prejudicar o reconhecimento molecular do MIP através da danificação física das cavidades impressas. Isso se apresenta como a principal desvantagem para esse processo de síntese<sup>5</sup>.

Embora exista um uso abrangente da polimerização em massa, outras abordagens, tais como as sínteses por precipitação e em suspensão, apresentam maior controle na formação e no tamanho final das partículas. A síntese por precipitação inicia-se como uma polimerização homogênea em soluções de monômeros que se encontram altamente diluídas. Em curto tempo reacional, o meio



homogêneo é então convertido em heterogêneo devido a precipitação de microesferas poliméricas insolúveis no meio reacional. As microesferas são produzidas com aspecto relativamente uniforme e de tamanho similar, da ordem de micrômetros a nanômetros. Assim, o tipo de AC e sua concentração são parâmetros essenciais para o controle do diâmetro final da esfera formada <sup>34</sup>.

Já a síntese em suspensão caracteriza-se pela reação entre monômeros insolúveis na fase aquosa (fase contínua) com um iniciador radicalar solúvel no solvente de síntese (fase descontínua). Os monômeros são dispersos na fase aquosa através de agitação vigorosa combinados com agentes estabilizantes, como o Poli(álcool vinílico) – PVA, que evitam a coagulação das gotas dos monômeros e por consequência impedem a coalescência das gotas poliméricas advindas da fase orgânica. As gotículas são convertidas a uma solução viscosa que dá origem as partículas poliméricas. Nesse sentido, cada gota formada corresponde a uma micropolimerização em massa <sup>35</sup>. A agitação exerce um controle direto no tamanho e distribuição das partículas o que resulta em maior homogeneidade do material final <sup>36</sup>. Isso é de grande valia para aplicação em extração, visto que as partículas terão capacidade adsorptivas similares e o material não necessitará ser submetido ao processo de moagem conservando maior parte dos seus sítios de ligação.

Para constatar a efetividade do processo de síntese em obter partículas homogêneas, um dos objetivos dessa Tese é realizar ensaios de caracterização física, química e de adsorção para comparar as condições dos processos de síntese e observar a eficácia de impressão das cavidades.

### **2.1.3 Caracterização dos MIPs**

A literatura aborda diversas formas de síntese dos MIPs, tais como a síntese em superfície de materiais rígidos, sensores eletroquímicos, espectroquímicos, bem como formas alternativas de aplicação <sup>5,37-39</sup>. Contudo, seja qual for a aplicação do material, a caracterização físico-química do material sintetizado apresenta-se como uma etapa indispensável para elucidar as propriedades extratoras do material e atestar a efetividade do processo utilizado. Dentre os ensaios de caracterização física e morfológica comumente abordados nos trabalhos com MIPs, estão: a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e ensaios porosimétricos, os quais fornecem dados acerca da área superficial e tamanho de poros. Além disso, a análise termogravimétrica (TG) e de espectroscopia no infravermelho (IR) <sup>5</sup> tem sido aplicadas para verificação da estabilidade térmica do material e para descrever os grupos funcionais constituintes dos materiais.

Para se ter ideia da magnitude de impressão e da disponibilidade das cavidades no MIP é necessário que se tenha um processo efetivo de remoção da MM no estágio pós-síntese. É nesta etapa que ocorre, de fato, a impressão da MM do polímero deixando as cavidades disponíveis para extração. A MM é extraída do material por meio de forças químicas capazes de romper a ligação entre a mesma e o MF. Além disso, são extraídas também as impurezas remanescentes do processo de síntese, tais como oligômeros e outros reagentes excedentes <sup>40</sup>.

A literatura reporta inúmeros métodos extrativos para essa finalidade tais como, a pirólise do material, extração por Soxhlet, extração via solvente quente, extração via solvente auxiliada por US, extração por fluido super crítico, dentre outros <sup>40</sup>. Com exceção da pirólise, todas as extrações que envolvem a partição da MM em um solvente e são conduzidas por ciclos repetitivos até a completa remoção da MM. Para atestar a eficiência dessa remoção normalmente são realizadas análises do solvente resultante da extração por espectrofotometria UV-VIS. No entanto, esse procedimento é passível de vários erros associados ao alto LOD (limite de detecção, do inglês, *limit of detection*) e baixa seletividade da técnica. Assim, se faz necessária ao final do processo, a confirmação da remoção total por técnicas cromatográficas <sup>40</sup>.

Se mesmo após aplicar todos os ciclos de remoção ainda houver sinal detectável na separação cromatográfica, todo o procedimento de remoção deve ser retomado até se proceder a extração completa, ou seja até não se encontrar sinal mensurável do analito. Isso torna o procedimento de remoção uma etapa exaustiva, morosa e de complexa constatação do ponto final <sup>40</sup>.

A remoção incompleta da MM pode impactar negativamente nos procedimentos de extração em que os MIPs serão utilizados, visto que é possível ocorrer a superestimação da concentração dos extratos/eluatos através do “sangramento” da MM. Esse fenômeno é caracterizado pela lixiviação da MM que ainda estaria ligada ao polímero e foi removida durante os processos extrativos empregados. Além disso, com as cavidades e sítios ocupados não há como se ter uma homogeneidade e precisão da extração, uma vez que determinada porção de material pode ter menos cavidades disponíveis que outras <sup>40</sup>. Assim, atualmente um dos gargalos com relação a esse monitoramento é encontrar técnicas mais diretas e simples de se estimar a concentração da MM durante e após sua remoção <sup>40</sup>.

A literatura aborda alguns trabalhos que quantificam a MM diretamente no MIP por espectroscopia Raman utilizando amplificação de sinal por superfície condutora <sup>41</sup>. A amplificação do sinal é necessária para alcançar as concentrações de MM que se

encontram depositadas no MIP. Já a espectroscopia no IV é utilizada em alguns trabalhos como técnica complementar qualitativa de detecção da MM <sup>42-45</sup>. Através da aquisição de espectros do polímero é possível observar bandas relativas a presença da MM no polímero. Todavia, devido a proporção de MM/polímero as bandas apresentadas são pouco intensas, uma vez que o LOD da técnica apresenta-se em torno de 0,1 % em m/m <sup>46</sup>. Assim, a abordagem por imagens hiperespectrais pode ser efetiva para alcançar as concentrações da MM no MIP, devido a possibilidade de detectar menores concentrações através do aumento médio na aquisição de espectros e ainda assim considerar aspectos de distribuição.

Uma alternativa inovadora seria monitorar a concentração da MM no próprio MIP, com estudos de espectroscopia no estado sólido aliados a quimiometria. Estudos de homogeneidade de fármacos têm sido aplicados com sucesso na indústria farmacêutica utilizando espectroscopia de imagem <sup>47</sup>. Essa técnica possibilita identificar o perfil de distribuição dos ativos, concentrações e até a transformação de substâncias. Um exemplo dessa aplicação foi o trabalho de Carneiro e colaboradores que utilizaram um espectrômetro de infravermelho próximo acoplado a um microscópio para análise da composição de uma pomada oftalmológica. Para análise, a pomada foi diluída em um solvente resultando em 0,1 % de concentração. Foram gerados espectros que foram atribuídos para cada pixel da imagem com distribuição dos dados que foram tratados com quimiometria. Após o tratamento dos dados foi obtido um gráfico de imagem com variações de concentração das espécies, como o perfil de caracterização constitucional do material alcançando detecções da ordem da diluição empregada. Através dessa abordagem foi possível obter informações locais sobre os constituintes da amostra, o que permitiu quantificar a concentração dos ativos através de estudos de degradação.

Assim, diante da possibilidade em se detectar menores concentrações através das imagens hiperespectrais, essa estratégia pode apresentar resultados atraentes para o monitoramento da remoção da MM com redução de gastos com reagentes, custo analítico aliando simplicidade operacional ao procedimento.

#### **2.1.4 Propriedades adsorptivas dos MIPs**

A caracterização da intensidade, capacidade e especificidade de adsorção do MIP resultante é de extrema importância para aplicá-lo como extrator em procedimentos analíticos. Essas propriedades, além de depender da porosimetria do material, dependem fortemente do quanto os processos de ligação dentro das cavidades estão disponíveis e da forma com que os sítios e cavidades estão

arranjados no MIP <sup>6</sup>. Para isso, a cinética e o equilíbrio de adsorção entre o analito (MM) e a superfície do MIP necessita ser bem compreendido.

A adsorção é um fenômeno físico-químico que estuda a habilidade de certas espécies (adsorvatos) presentes em uma solução se concentrarem na superfície de sólidos por algum tipo de afinidade. Além disso, o favorecimento da adsorção será proporcional ao tamanho da área superficial do material. Essas espécies se acomodam na superfície do material governadas por parâmetros cinéticos e de equilíbrio que podem ser determinados empiricamente em conjunto com as forças físicas ou químicas advindas do material que governarão o tipo de adsorção, seja por fisissorção ou quimissorção, respectivamente <sup>48</sup>.

A fisissorção é um processo adsorptivo não localizado regido pela diferença de energia ou por forças intermoleculares mais fracas <sup>6</sup>. As interações são regidas por atrações entre dipolos permanentes e dipolos induzidos e o processo é normalmente classificado como exotérmico e reversível, com uma variação de entalpia ( $\Delta H^0$ ) de 20 a 40 kJ mol<sup>-1</sup> <sup>49</sup>. Já a quimissorção caracteriza-se como uma adsorção localizada, ou seja, mais específica. Nesse caso, o adsorvato se liga ao sítio presente no material por forças quase equivalentes a ligações químicas covalentes, sendo um processo geralmente irreversível. No geral, o  $\Delta H^0$  para esse tipo de processo encontra-se acima de 80 kJ mol<sup>-1</sup> <sup>49</sup>. Em relação aos MIPs, a quimissorção é dominante nas interações covalentes entre MM e MF. Porém, um MIP que adsorve o analito baseado apenas em forças de quimissorção, apresenta baixa aplicabilidade para procedimentos de extração diante da impossibilidade de se recuperar o analito <sup>49</sup>.

As forças ligação determinam em grande parte, a capacidade adsorptiva (Q) do MIP, dada em mg g<sup>-1</sup>, uma vez que o mecanismo de adsorção é uma soma entre os processos químicos e físicos envolvidos. A obtenção de Q é dada pela equação 1 abaixo, em que Q é a capacidade adsorptiva do material, em mg g<sup>-1</sup> que pode ser dada no equilíbrio (Q<sub>e</sub>) ou em determinado momento de tempo(t) - Q(t), C<sub>i</sub> é a concentração real do analito, C<sub>f</sub> é a concentração de analito adsorvida em determinado volume de solução em L (v) por quantidade de massa de MIP em g

$$Q = \left[ \frac{(C_i - C_f)v}{m} \right]$$

Equação 1: Capacidade adsorptiva do MIP e do NIP.

Dentro desse contexto, para elucidar os possíveis mecanismos que regem o processo adsorptivo no MIP, funções matemáticas são propostas baseadas nos dados

experimentais com relação a cinética e o equilíbrio de adsorção <sup>6</sup>. Essas análises permitem caracterizar heterogeneidades energéticas e fornecem informações importantes acerca de uma superfície adsorvente que permitem estimar o tipo e distribuição dos sítios de ligação <sup>50</sup>. Inicialmente realiza-se a caracterização do mecanismo cinético adsorvente para estimar a velocidade e os tipos de sítios presentes no material. Dos modelos cinéticos mais empregados nos estudos com MIPs estão os modelos de pseudo primeira ordem e pseudo segunda ordem que serão discutidos com maiores detalhes nos tópicos subsequentes.

### 2.1.5 Modelos avaliativos da cinética de adsorção nos MIPs

A cinética de adsorção prediz a taxa de remoção do analito da fase aquosa em função do tempo. Isso envolve a transferência de massa do analito para o interior da partícula adsorvente. Esse processo pode ser conduzido por i) transferência de massa entre as partículas – difusão interpartícula, ii) difusão do analito no poro - difusão intrapartícula e/ou iii) difusão na superfície do material das moléculas totalmente adsorvidas - adsorção <sup>51</sup>. Os estudos são conduzidos por meio da quantificação da concentração residual do analito na solução no determinado instante (t) e através de ajustes dos modelos matemáticos aos dados empíricos determina-se o tipo de mecanismo predominante na cinética de adsorção dos materiais <sup>51</sup>.

#### 2.1.5.1 Cinética de pseudo primeira ordem e pseudo segunda ordem

O mecanismo de pseudo primeira ordem foi desenvolvido através dos estudos empíricos que resultaram na equação de Lagergen <sup>50,52</sup> ou o também conhecido modelo de pseudo primeira ordem. Esse modelo descreve a taxa de adsorção tendo por base a capacidade adsorvente do material e supondo que para cada molécula do analito é atribuído um sítio de adsorção governado por uma reação superficial. E em termos de velocidade esse mecanismo é descrito pela equação abaixo <sup>52</sup>.

$$\ln(Q_e - Q(t)) = \ln Q_e - k_1 t$$

Equação 2: Modelo de pseudo primeira ordem.

Em que  $Q_e$  e  $Q(t)$  indicam a capacidade adsorvente no equilíbrio e do determinado instante (t), respectivamente. A constante  $k_1$  é dada em  $\text{min}^{-1}$  e representa a taxa de velocidade da adsorção e seu valor pode ser obtido graficamente pela relação de  $(\ln Q_e - \ln Q(t))$  versus  $(t)$ .

Já o modelo de pseudo segunda ordem prediz que uma molécula do analito é adsorvida a cada dois locais diferentes de ligação no material, ou seja, a ordem de

cinética desse processo é igual a dois com relação ao número de sítios ativos disponíveis para ligação<sup>50,52</sup>. Assim, a equação do processo é descrita conforme a forma integrada da equação diferencial, em que  $k_2$  é a constante cinética dada em  $\text{mg}^{-1} \text{min}^{-1}$ :

$$\frac{t}{Q(t)} = \frac{1}{k_2 Q_e} + \frac{t}{Q_e}$$

Equação 3. Modelo de pseudo segunda ordem.

Para se obter a  $K_2$  e  $q_e$  plota-se um gráfico de  $\left(\frac{Q}{t}\right)$  versus  $(t)$  que deve fornecer uma relação linear caso os dados se ajustem a tal modelo.

### 2.1.5.2 Modelos avaliativos do equilíbrio de adsorção nos MIPs

Adicionalmente aos modelos de avaliação dos mecanismos cinéticos, as isotermas de equilíbrio são importantes ferramentas para elucidar os processos isotérmicos de adsorção. Esses modelos descrevem o equilíbrio adsorptivo de um soluto entre a fase líquida e a fase sólida em concentrações de analito que saturam os sítios de adsorção. Os modelos matemáticos estabelecidos para o sistema descrevem como ocorre o processo adsorptivo em que as velocidades de adsorção e dessorção do analito são iguais<sup>53,54</sup>. Dentre as isotermas que descrevem o equilíbrio adsorptivo, as mais simples e consolidadas nos estudos com MIPs são as isotermas lineares e não lineares de Langmuir e Freundlich e o modelo híbrido de Langmuir-Freundlich<sup>53,54</sup>.

### 2.1.5.3 Isotherma de Langmuir; Freundlich, Langmuir-Freundlich e Langmuir-Freundlich de dois sítios

O modelo de Langmuir prediz um mecanismo em que a superfície de adsorção é homogênea. A adsorção ocorre em sítios específicos e definidos na superfície do sólido. Os sítios presentes têm energia equivalente e as moléculas adsorvidas não tem interação entre elas. Assim, quando uma camada composta de espécies do analito recobre a superfície de adsorção pode-se afirmar que a  $Q$  obtida é máxima, predizendo um modelo monocamada<sup>54</sup>. As equações abaixo descrevem o modelo linear e não linear de Langmuir, em que  $K_l$  ( $\text{L g}^{-1}$ ) indica a constante de Langmuir relacionada com a afinidade analito-adsorvente.  $C_e$  é dada em  $\text{mg L}^{-1}$  e é a concentração do analito na solução no equilíbrio e  $b$  ( $\text{mg g}^{-1}$ ) indica a quantidade máxima adsorvida na monocamada.

$$\frac{C_e}{Q_e} = \frac{1}{K_l} + \frac{Q_e}{b}$$

Equação 4. Modelo linear de Langmuir.

$$Q_e = \frac{K_l b C_e}{1 + K_l C_e}$$

Equação 5. Modelo não linear de Langmuir.

Já o modelo de Freundlich, aplica uma distribuição exponencial admitindo que os sítios de adsorção possuem energias diferentes, ou seja, o material apresenta sítios heterogêneos se distanciando do modelo de preenchimento de monocamada de Langmuir. Esse modelo também admite que haja interações entre as moléculas adsorvidas. Assim, a energia de adsorção decresce em escala logarítmica à medida que o analito cobre a superfície adsorvente<sup>53</sup>. As equações linearizadas e não linearizadas estão descritas abaixo, das quais,  $K_f$  é a constante de capacidade de adsorção de Freundlich que é também relacionada com a afinidade do adsorvato e  $1/n$  é a constante característica relacionada com a intensidade de adsorção em que  $n$  prediz a heterogeneidade da superfície<sup>53</sup>. Assim, se  $n > 1$  o material tende a ser mais heterogêneo e quanto maior esse valor, mais heterogênea é a superfície. O modelo de Freundlich não limita que a adsorção deve ser constante para corresponder à formação de uma monocamada, tal qual o modelo de Langmuir. Assim, admite a adsorção em preenchimentos diferentes em multicamadas. Nesse sentido, a isoterma de Freundlich é bem aplicada em certos limites de concentração do analito, isso porque o modelo admite distribuição exponencial do analito nos sítios de adsorção. Assim, o número de sítios aumenta indefinidamente com uma constante decrescente como  $1/n$  implicando um número infinito de sítios nos MIPs<sup>53</sup>.

$$\log(Q_e) = \log K_f + \frac{1}{n} \log C_e$$

Equação 6. Modelo linear de Freundlich.

$$Q_e = K_f C_e^{\frac{1}{n}}$$

Equação 7. Modelo não linear de Freundlich.

Com a junção de ambos os modelos anteriores, o modelo híbrido de Langmuir-Freundlich, também chamado de modelo de Sips, delinea um comportamento adsorativo em que a superfície do material adsorvente é composta por diferentes sítios de ligação, alguns com energias similares e outros com energias distintas.

A aplicação da equação 8 permite delinear o comportamento Langmuir-Freundlich de um material considerando apenas um sítio adsorptivo e o quanto o processo adsorptivo daquele material pode ser descrito por Langmuir ou por Freundlich através do parâmetro de heterogeneidade de Freundlich. Considerando os trabalhos com MIPs, o modelo de Langmuir Freundlich de dois sítios (Equação 11) tem demonstrado maior eficácia no ajuste dos dados empíricos de equilíbrio<sup>32,50,54-57</sup>, visto que esse modelo considera ajustes do modelo de Langmuir e Freundlich e prediz que existem regiões do material com sítios de diferentes energias de ligação e que respondem de forma heterogênea ao equilíbrio adsorptivo. Esse mecanismo adequa-se bem aos MIPs não covalentes, visto que possuem ampla faixa de sítios com diferentes afinidades de ligação, sendo eles específicos e não específicos<sup>54</sup>.

As equações abaixo apresentam os modelos de Langmuir-Freundlich de um sítio (Equação 8) e dois sítios (Equação 9) e os índices inferiores dos parâmetros indicam o número de sítios descritos pelo modelo. Nas equações, o parâmetro  $b$  representa a capacidade de adsorção total do sistema,  $C_e$  a concentração do adsorvato no equilíbrio,  $K_{f1}$  nesse caso é a constante de Langmuir-Freundlich de afinidade pela adsorção dada em (L mg<sup>-1</sup>) e  $n$  é o índice de heterogeneidade igualmente aplicado no modelo de Freundlich.

$$Q_e = \frac{b_1(K_{f1}C_{e1}^n)}{1 + K_{f1}C_{e1}^n}$$

Equação 8. Modelo híbrido com três parâmetros de Langmuir-Freundlich.

$$Q_e = \frac{b_1(K_{f1}C_{e1}^n)}{1 + K_{f1}C_{e1}^n} + \frac{b_2(K_{f2}C_{e2}^n)}{1 + K_{f2}C_{e2}^n}$$

Equação 9. Modelo híbrido com três parâmetros de Langmuir-Freundlich de dois sítios.

#### 2.1.5.4 Parâmetros termodinâmicos do equilíbrio adsorptivo

Alguns parâmetros termodinâmicos do sistema podem ser obtidos por ensaios de adsorção nos MIPs através do efeito da temperatura. A avaliação da variação da entalpia ( $\Delta H$ ), da energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ ) e da entropia ( $\Delta S$ ) fornecem informações a respeito da espontaneidade e reversibilidade do processo de adsorção<sup>55,58</sup>. A  $\Delta H$  (kJ mol<sup>-1</sup>) indica se o processo é endotérmico, ou exotérmico, e estima as intensidades das ligações ocorridas na superfície dos MIPs no processo de adsorção. Nesse sentido, se a energia liberada no processo ocorre numa faixa de  $\Delta H < 80$  kJ mol<sup>-1</sup> o processo é predominantemente governado por fisissorção. Já para  $\Delta H > 80$  kJ mol<sup>-1</sup> a predominância é pelo adsorção por quimissorção<sup>58</sup>. No entanto, quando se trata de



ligações de hidrogênio, o  $\Delta H$  varia entre 5 a 20 kJ mol<sup>-1</sup>. A  $\Delta S$  (J mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>) descreve a reversibilidade da adsorção. Neste contexto, se a mínima variação da temperatura altera significativamente a ordem das espécies químicas no processo adsorptivo têm-se um processo espontâneo ( $\Delta S >$ )<sup>55</sup>. Acerca da  $\Delta G$  (kJ mol<sup>-1</sup>) é outro parâmetro de espontaneidade, assim, um valor negativo desse parâmetro indica que o processo é espontâneo e um valor positivo sugere a não espontaneidade da adsorção.

Dessa maneira, com aquisição desses dados pode-se obter o  $K_d$  que é a constante de distribuição do analito no MIP através da equação linear de Van't Hoff (equação 11). Essa constante expressa como o analito se distribui na superfície dos sítios disponíveis do MIP e é dado em L Kg<sup>-1</sup> ou mL g<sup>-1</sup>, a uma dada temperatura. Essa constante está relacionada com as mudanças de entropia e entalpia sob temperatura constante. Nessa equação,  $R$  (8,314 J K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>) é a constante universal dos gases e a temperatura ( $T$ ) é dada em K.

$$\ln K_d = \left(\frac{\Delta H}{R}\right) \frac{1}{T} + \left(\frac{\Delta S}{R}\right)$$

Equação 10. Modelo para elucidar a  $K_d$  do processo adsorptivo.

Assim,  $\Delta S^\circ$  e  $\Delta H^\circ$  são obtidos através de um gráfico de  $\ln K_d \times 1/T$  e são o intercepto e a inclinação respectivamente da relação linear obtida. Diante desses valores, obtêm-se a energia livre de Gibbs do processo calculado conforme a função abaixo.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Equação 11. Equação fundamental da termodinâmica.

Estudos envolvendo as variáveis termodinâmicas tem crescido nos trabalhos com materiais adsorventes, principalmente com rotas inovadoras para síntese dos MIPs<sup>55,56,59,60</sup> das quais ainda não se tem estabelecido totalmente como se dá o processo de adsorção. Além disso, esses estudos são ainda mais importantes quando se aplica o MIP em sistemas dos quais não se pode controlar as variáveis termodinâmicas em que a extração vai ocorrer. Um exemplo disso é a aplicação do MIP para extrair diretamente espécies contaminantes presentes no meio ambiente<sup>61</sup>. Assim, esses valores contribuem para se trabalhar em condições adequadas de performance de extração.

## 2.2 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO BASEADOS EM MIPs

Os MIPs são bastante utilizados em vários campos da química analítica devido as suas características, como: estabilidade química, baixo custo de produção,

possibilidade de reutilização e seletividade de separação. Assim, os MIPs têm sido aplicados em separações complexas em diversas matrizes, como amostras de sangue<sup>62</sup>, de solo e de água<sup>63</sup> e de alimentos<sup>1,64</sup>. Além disso, a versatilidade dos MIPs permite sua aplicação em diferentes procedimentos de extração, tais como: fase estacionária em cromatografia líquida, extrator de contaminantes em águas, extração por incubação e, a mais representativa aplicação, a extração em fase sólida molecularmente impressa (MISPE, do inglês, *molecularly imprinted solid phase extraction*)<sup>65</sup>. Dentre esses métodos, a extração por incubação e a MISPE serão melhores discutidos abaixo por ser o foco de aplicação desse presente trabalho.

### 2.2.1 EXTRAÇÃO POR INCUBAÇÃO

A extração por incubação consiste na dispersão das partículas do polímero em uma amostra líquida, sob agitação moderada por um período de tempo de equilíbrio de adsorção pré-estabelecido. Normalmente esse procedimento é empregado também nos estudos prévios do processo adsorptivo e/ou impressão com soluções do analito. Esse tipo de extração apresenta a vantagem de saturar os sítios de extração utilizando a capacidade máxima de extração do MIP<sup>65</sup>.

Por meio desse método torna-se possível extrair analitos em baixas concentrações utilizando massa reduzida de adsorvente como no trabalho de Li e colaboradores<sup>66</sup>, que sintetizaram um MIP em superfície de sílica mesoporosa oca para extração de bisfenol A, um contaminante emergente de águas naturais. O MIP sintetizado apresentou-se em torno de 8 vezes mais seletivo ao bisfenol A do que aos seus análogos, com um FI de  $\geq 4,1$  e manutenção da sua performance de extração de 80 % após a regeneração do material, que indicou a possibilidade de reutilização do material. Foram obtidas recuperações em torno de 98 – 101,7 % em uma faixa de calibração de 0,1 – 45  $\mu\text{g L}^{-1}$  utilizando apenas 30 mg de MIP. Esse trabalho corrobora a compatibilidade e seletividade do material sintetizado para determinação de contaminantes emergentes em águas através dos altos índices de recuperação obtidos aliados aos baixos valores de concentração detectados.

Com uma abordagem similar, Cantarella e colaboradores<sup>67</sup> empregaram um MIP com base orgânica, sintetizado pelo processo em *bulk*, para extração de diclofenaco em águas contaminadas e foi possível obter uma seletividade 4 vezes maior ao fármaco em comparação às espécies adsorptivas competitivas com apenas 5 mg de material. Com ciclos de apenas três regenerações do material de 2 minutos cada, foi possível manter a performance de extração com valores de recuperação  $\geq 90$  % em amostras fortificadas de água. Entretanto, a capacidade adsorptiva relatada pelos

autores apresentou um valor reduzido (aprox.  $190 \mu\text{mol g}^{-1}$ ) em comparação aos valores comumente relatados para esses MIPs na literatura <sup>4</sup>. Tal efeito pode estar relacionado à incompatibilidade da estrutura orgânica do MIP com a matriz hidrofílica da amostra fazendo com que os sítios fiquem inacessíveis ao analito devido às forças repulsivas presentes. Isso reduz a capacidade adsortiva do material e por consequência disponibilidade de sítios seletivos a MM.

Outra aplicação que consolida a versatilidade dos MIPs é a múltipla compatibilidade de extração do analito em diferentes matrizes usando o mesmo material, como, por exemplo, no trabalho de Chen Lu e colaboradores<sup>68</sup> que sintetizaram um MIP orgânico em partículas magnéticas para extração do herbicida Diuron em solos, mudas de grãos e águas de higienização de arroz. Foi possível obter recuperações na ordem 86 – 116,10 % do herbicida em todas as amostras, com desvios padrão na faixa de 1,21 – 6,81 % com possibilidade de reutilização de 6 vezes e simples regeneração com metanol e água. Isso corrobora alta seletividade de extração do material ao analito, visto que independente da complexidade da amostra, as recuperações obtidas são iguais ou superiores aos métodos convencionais de extração, desde que o MIP possua compatibilidade química com a matriz.

Além da extração por incubação do MIP na amostra, outra aplicação inovadora que vem atraindo grande interesse da comunidade científica é a tecnologia de separação por membrana molecularmente impressa (MIM, do inglês *molecularly imprinted membranes*) <sup>61</sup>, que consiste na imobilização do MIP em membranas compostas por diversos materiais, como a agarose e a celulose, as quais são muito úteis para aplicação em processos adsortivos em larga escala, como filtração, tratamento de águas e resíduos industriais <sup>69</sup>. Além disso, as MIMs podem ser empregadas para a construção de amostradores ambientais <sup>70</sup>, onde a separação por ocorre através da difusão do analito pela membrana até atingir a fase ligante, que nesse caso é o MIP. A principal vantagem dessa técnica é que a membrana que envolve o MIP funciona como um meio de difundir o analito da fase aquosa para a fase sólida (MIP). Dessa forma, esse material se comporta como uma espécie de filtro que reduz a quantidade de espécies que podem se adsorver no MIP diminuindo as interferências adsortivas.

Um exemplo dessa aplicação é o trabalho de Mansour e colaboradores <sup>69</sup> que desenvolveram uma MIM de acetato de celulose para recuperar polifenóis em resíduos sólidos alimentares. Foi sintetizado um MIP para a classe (polifenóis) empregando a quercetina como MM pelo método em *bulk*. Através da incubação da membrana em soluções de polifenólicos foi possível obter um FI de aproximadamente 5,33 em

comparação com a não impressa (MNIM). Nos ensaios de fortificação das amostras foi possível recuperar na faixa de 83 – 96,2 % dos compostos fenólicos estudados. Essa aplicação permitiu maiores recuperações do analito na etapa de eluição quando em comparação a extração por incubação com o pó solto. Os autores atribuem essa vantagem devido à inserção do sólido da membrana que reduz as perdas do material durante as etapas necessárias para a extração.

Com uma aplicação analítica de amostragem ambiental, Mkhize e colaboradores<sup>71</sup> sintetizaram uma MIM para compor um amostrador passivo de bifenilas policloradas em ambientes aquáticos. O MIP foi preparado pelo processo em *bulk* com EGDMA e MAA e um componente da classe (4-fenil fenol) como MM. Os MIPs foram adicionados a soluções de polissulfonas para formação da membrana. Os autores realizaram ensaios de cinética e equilíbrio adsorptivo por incubação da membrana nas soluções contendo 4 tipos de bifenilas policloradas em diferentes concentrações. Foram obtidas recuperações da ordem de 85 – 95 % das concentrações adicionadas e alta seletividade da MIM ( $K_{ds} > 2,5$ ) com relação a outros contaminantes emergentes presentes em água, como o antraceno. Foram detectadas concentrações da ordem de  $0,05 \text{ mg L}^{-1}$  dos analitos com fatores de pré-concentração de até 9 vezes utilizando apenas 360 mg de MIP. Na aplicação ambiental com o dispositivo de amostragem passiva<sup>72</sup>, os autores conseguiram detectar as espécies em águas superficiais em concentrações na faixa de  $0,047 - 0,828 \text{ ng mL}^{-1}$  com resultados de seletividade superiores dispositivos tradicionais empregados nessa amostragem.

A extração por incubação apresenta-se como uma técnica vantajosa de análise em termos de aproveitamento da capacidade máxima de extração do MIP, seja pela adsorção com o sólido solto ou o mesmo imobilizado em uma membrana polimérica. No entanto, há limitações no procedimento quanto a capacidade de pré-concentração de grandes volumes de amostra visto a quantidade de massa que se utiliza no procedimento. Assim, a MISPE auxilia com maior efetividade para alcançar menores limites de detecção em determinações de amostras complexas, com a obtenção de extrato enriquecidos e livres de interferentes<sup>63,73</sup>.

### 2.2.2 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA MOLECULARMENTE IMPRESSA

Uma das aplicações mais empregadas em procedimentos de preparo de amostra com MIPs é a MISPE<sup>63</sup>. Nesta técnica, os cartuchos de extração são fabricados através da inserção de massas definidas de MIP em uma seringa, na qual o material extrator é alocado entre dois filtros rígidos (Figura 3). Para o desenvolvimento

do método são empregados os mesmos modos de extração da SPE convencional, a saber, isolamento, pré-concentração e/ou *clean-up* e também as mesmas etapas procedimentais: condicionamento/equilíbrio da fase sólida, percolação da amostra (extração), lavagem e eluição (Figura 3).

Nos modos de isolamento e/ou pré-concentração, a separação ocorre através da interação dessa espécie com as cavidades funcionais e sítios de ligação presentes no MIP, com o objetivo de deixar o analito mais disponível no extrato para purificação e/ou determinação analítica <sup>63</sup>. Na SPE tradicional é comum empregar a etapa de *clean-up* da amostra, que consiste em remover os interferentes da matriz por meio da sua interação com um sorvente que tenha afinidade química adequada para extraí-los. Assim, normalmente se aplica para a amostra um procedimento adicional de extração, com uma outra fase sólida diferente, antes do procedimento de extração do analito. Essa etapa adicional pode impactar fortemente na precisão, limite de detecção e na frequência analítica do método analítico final <sup>1</sup>. Já na MISPE, a etapa de *clean-up* pode ser dispensada, visto que o isolamento e o *clean-up* podem ocorrer em um único procedimento devido as cavidades seletivas do MIP e a compatibilidade química do material polimérico com a amostra de estudo <sup>63</sup>.

A MISPE, assim como a SPE convencional, possui quatro etapas básicas (Figura 3): 1) condicionamento/equilíbrio: destinada a ativação dos grupos do material, para equilibrar as forças químicas de separação e permitir o aumento da área superficial disponível para extração; 2) separação do analito (*loading*), mediante a percolação da amostra no material; 3) lavagem: destinada a remover as impurezas e iv) eluição: destinada a interrupção da interação química do analito com o sorvente migrando-o para o solvente eluente resultando em uma amostra pré-concentrada <sup>74</sup>. Essas etapas são otimizadas a depender da natureza e propriedades da matriz/analito <sup>74</sup>.

Neste contexto, a MISPE supera as limitações da SPE clássica, mediante um procedimento mais simples que propõe a redução do número de extrações e por consequência consumo reduzido de solventes. A aplicação da MISPE para determinações analíticas em matrizes muito complexas como as amostras ambientais e de alimentos vem sendo extensamente estudada diante das suas inúmeras vantagens <sup>1</sup>.

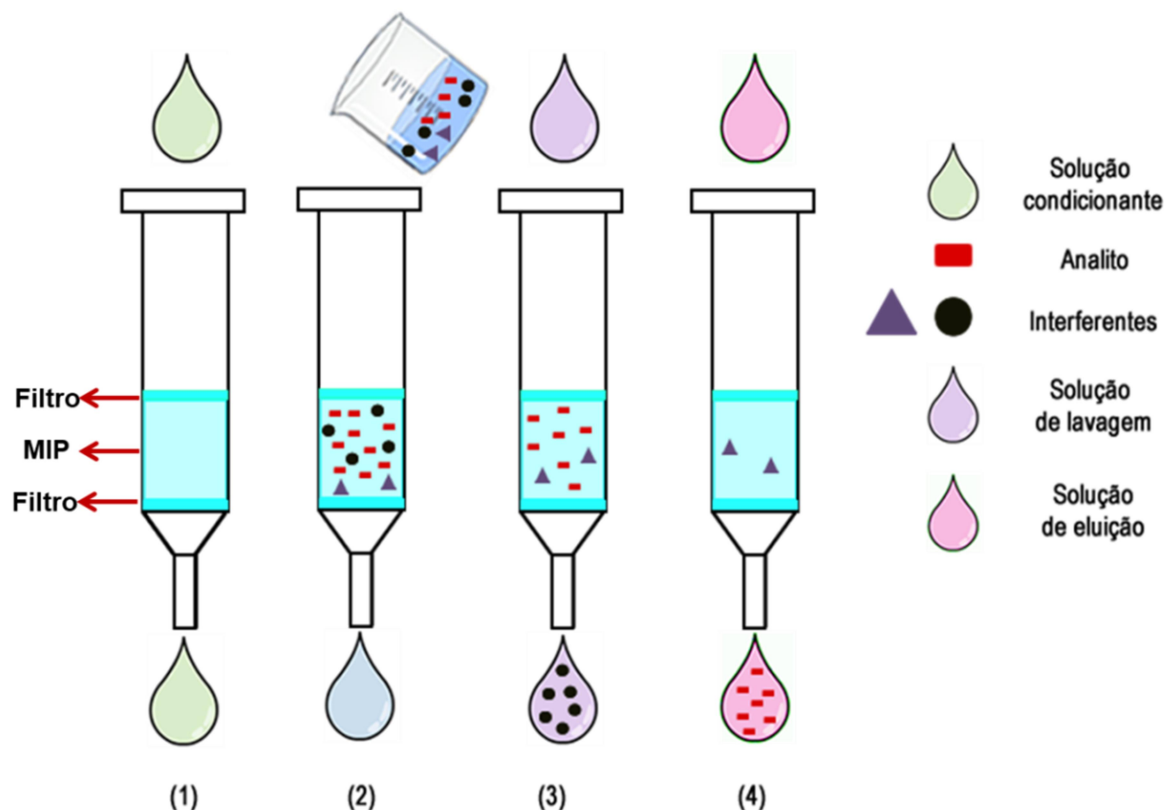


Figura 3. Etapas básicas da SPE. (1) condicionamento/equilíbrio e ativação do sorvente, (2) percolação da amostra no cartucho e retenção do analito e impurezas, (3) lavagem com solvente, (4) eluição do analito. Adaptado de Dourado <sup>75</sup>.

Com relação ao monitoramento ambiental, o uso de MISPE tem despertado o interesse da comunidade científica acerca da detecção de contaminantes emergentes em águas naturais <sup>1</sup>, visto à extensa lista de novos compostos listados que são detectados todos bienalmente nessas matrizes com concentrações em nível traço <sup>76</sup>.

A MISPE possibilita obter limites de detecção mais atrativos e métodos mais simples, como por exemplo no trabalho de Dai e colaboradores <sup>77</sup> que utilizou um MIP com base orgânica sintetizado por precipitação, para a extração de diclofenaco presente como contaminante emergente de águas naturais. O polímero obtido apresentou expressiva capacidade adsorptiva para a MM ( $324,8 \text{ mg g}^{-1}$ ) e através da pré-concentração seletiva, com apenas 35 mg de MIP foi possível quantificar o analito por HPLC-UV (cromatografia líquida de alta performance com detecção no ultravioleta) em uma faixa de  $\mu\text{g L}^{-1}$  alcançando recuperações superiores a 95 %. Em comparação ao procedimento tradicional de SPE utilizando uma fase sólida de C 18, houve redução significativa do uso de solventes e aumento da frequência analítica amostral. O MIP demonstrou estabilidade física e robustez química ao manter a percentagem de recuperação do analito mesmo após 30 ciclos de extração consecutivos, apenas aplicando uma etapa de eluição com metanol e metanol/ácido acético (9/1 v/v) para

remoção de interferentes. Esse trabalho corroborou as vantagens da aplicação da MISPE que possibilitou um método mais rápido, preciso e ambientalmente amigável ao reduzir o uso de solventes e também pela reutilização eficaz do material. Ademais, a seletividade do MIP possibilitou a quantificação do analito por UV simplificando o método final.

A possibilidade de aplicação multi-amostras é comum na MISPE, desde que se estude minuciosamente as etapas SPE levando em consideração a composição da matriz e a compatibilidade química do MIP. Li e colaboradores<sup>78</sup> aplicaram um MIP orgânico sintetizado em superfície de sílica para extração de bisfenol A em diferentes amostras de bebidas enlatadas e frutas<sup>78</sup>. As embalagens que envolvem esses alimentos podem ter resíduos de bisfenol A e a migração desse contaminante para o alimento pode ser imperceptível aos métodos analíticos padrão se não houver um preparo de amostra altamente seletivo. O MIP obtido apresentou um FI de aproximadamente 3,00 com rápida cinética de adsorção. As etapas MISPE foram otimizadas de maneira univariada e a seletividade do material frente as espécies interferentes foi 33 % maior com relação ao bisfenol A. As recuperações obtidas foram de 95 – 108 % em concentrações na faixa de  $\text{ng mL}^{-1}$  utilizando detecção no UV. Foram obtidas taxas adequadas de precisão (desvios padrões relativos - RSD  $\leq$  14 %). Esse trabalho demonstra a simplicidade que o MIP agrega no método analítico ao possibilitar o uso de detecções mais acessíveis e de baixo custo.

Com uma rota de síntese do MIP similar ao trabalho citado no parágrafo anterior, o mesmo grupo de pesquisa fabricou duas MIMs para aplica-las em um protocolo MISPE com objetivo de separar bisfenol A e tebuconazol de amostras de vegetais e sucos<sup>79</sup>. Dessa forma, eliminou-se o cartucho e 400 mg do MIP foram imobilizados em uma membrana de nanofibras de PVA. Os autores aplicaram todas as etapas de SPE (Fig. 3) para se obter melhores recuperações dos analitos, entretanto o procedimento se assemelhou mais a uma extração por incubação por não ter a percolação e/ou controle de vazão da solução no MIP. Foi possível obter recuperações superiores a 70 % dos analitos nas amostras, sendo mais altas que o procedimento padrão de SPE com fases sólidas comerciais (C 18 e fase de troca catiônica – SCX). Entretanto, melhorias no procedimento para controlar o tempo de contato com o MIP na membrana poderia proporcionar maiores percentagens de recuperação do analito.

Diante do contexto, propõe-se neste presente trabalho sintetizar dois MIPs para a extração de duas espécies químicas diferentes, a SAC e o TCS e avaliar a potencialidade desses materiais como fases sólidas em diferentes métodos de extração e amostras. Os capítulos 3 e 4 abordarão aspectos acerca da síntese e

caracterização de MIPs para a SAC e suas respectivas aplicações em procedimentos de extração para diferentes matrizes. O capítulo 5 abordará o desenvolvimento de um MIP hábil para extrair o TCS em amostras de águas superficiais naturais.



**Capítulo 3: Síntese e avaliação de polímeros híbridos  
molecularmente impressos para adsorção seletiva de sacarina  
em águas superficiais**

---

### 3 SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

#### 3.1 INTRODUÇÃO

Os adoçantes sintéticos artificiais (edulcorantes) são vastamente empregados em produtos alimentícios em substituição ao açúcar, com o objetivo de reduzir as calorias dos alimentos e por consequência auxiliar no controle de peso e da diabetes. Com o fomento de estilos de vida mais saudáveis, o consumo dos adoçantes tem aumentado consideravelmente no mundo motivado também pelos esforços em saúde pública para reduzir o consumo de açúcar nos alimentos <sup>80</sup>.

Dos adoçantes mais utilizados no mundo e que são aprovados pela agências reguladoras, como a FDA (Agência federal reguladora de alimentos e medicamentos americana, do inglês, *Food and Drug Agency*) e ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), estão: o acessulfame-K (ACE), o aspartame, a sucralose, o ciclamato (CIC) e a SAC. Dentre esses, apenas o aspartame se decompõe naturalmente. Já a SAC, o CIC e o ACE permanecem estáveis no meio ambiente, sendo encontrados na sua forma inalterada nos corpos aquáticos <sup>81,82</sup>. De todas as espécies utilizadas como adoçantes, a SAC é uma das mais empregadas nos produtos de consumo, por ser economicamente viável ao custo das produções industriais. Atualmente, estima-se o consumo de 9,7 mil toneladas de SAC por ano no mundo <sup>83</sup>.

Normalmente, as formulações comerciais contendo a SAC são fabricadas em combinação com outros adoçantes, como o CIC e o ACE (Figura 4) com intuito de promover um efeito sinérgico das propriedades adoçantes e produzir alimentos de sabor mais agradável ao paladar <sup>82</sup>.

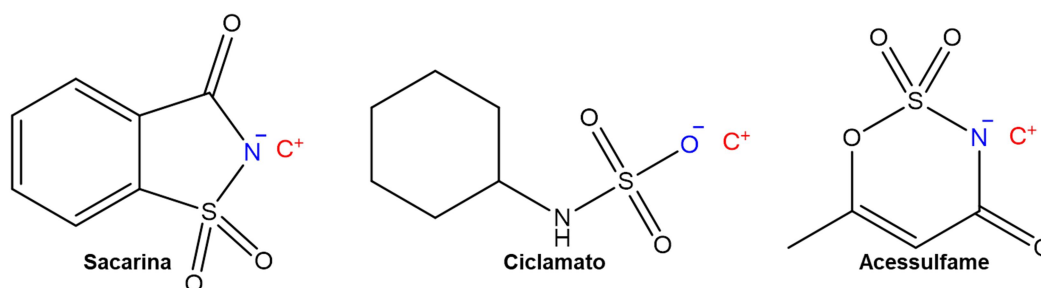


Figura 4. Estruturas moleculares da SAC, CIC e ACE. Os grupos grifados em azul normalmente se encontram átomos eletronegativos substituintes: Na<sup>+</sup> para SAC e CIC e K<sup>+</sup> para o ACE.

Embora a SAC seja considerada um aditivo alimentar seguro, estudos recentes apontaram a presença significativa dessa espécie em águas naturais<sup>83,84</sup>. Foram detectadas concentrações da SAC da ordem de ng -  $\mu\text{g L}^{-1}$  em águas superficiais de diversos países da Europa, Ásia e América do Norte<sup>82,85-87</sup>. Além disso, pesquisas demonstraram que a SAC pode ocasionar efeitos adversos no meio ambiente<sup>86</sup> bem como para a saúde humana, tais como: a desaceleração crônica da quebra de açúcar no corpo humano e efeitos genotóxicos<sup>87,88</sup>. Assim, diante desses efeitos nocivos evidenciados e da elevada persistência ambiental aliada a resistência a transformações químicas, a SAC foi incluída na lista bienal de novos contaminantes emergentes (CEs) ambientais que é constantemente atualizada por pesquisadores da área de Química Analítica Ambiental<sup>76</sup>.

Os CEs compõem um grupo grande de substâncias que são inseridas no meio ambiente por meio de diversas vias, tais como, o aporte indevido de esgoto doméstico e de efluentes industriais. Além disso, devido a esses compostos serem provenientes de hábitos de consumo e de estilo de vida da população há uma constante reinserção dessas espécies químicas nas matrizes ambientais. Diante disso e da ausência de métodos para eliminar adequadamente essas substâncias no meio ambiente ocorre um acréscimo exponencial de concentração que acaba com o destino final nas águas para consumo humano. Os estudos para o monitoramento dessas espécies requerem instrumentações analíticas avançadas tendo em vista que quanto menor for o nível de concentração detectada mais representativo será o panorama delineado acerca da amplitude de contaminação e detecção de novas espécies contaminantes<sup>76</sup>.

Por este raciocínio, a classificação dessas espécies químicas como CEs depende da perspectiva de se encontrar ou não o composto naquela determinada matriz considerando o potencial risco toxicológico que as concentrações detectadas podem acarretar a biota e aos seres humanos<sup>89</sup>. Com relação aos adoçantes ainda são prematuras as pesquisas que envolvem a disposição, o destino e os riscos que as concentrações já detectadas dessas substâncias podem impactar ao ecossistema. Assim, os efeitos ecotoxicológicos dessas substâncias no meio ambiente, tais como as suas consequências à longo prazo para a saúde humana e a biota não estão completamente elucidados<sup>83</sup>.

Neste contexto, há uma grande relevância ambiental no desenvolvimento de métodos analíticos seletivos capazes de alcançar essas baixas concentrações, visto que através desses procedimentos é possível traçar um perfil de concentração e avaliar os potenciais riscos dessas espécies, principalmente ao ecossistema aquático.

Outra abordagem em estudos ambientais tem sido o emprego de adoçantes como traçadores de contaminação de origem antrópica estabelecendo-os como indicadores de qualidade das águas <sup>90</sup>. Essa estratégia usufrui das propriedades físico-químicas desses compostos, como sua alta solubilidade em água, resistência ao processo de degradação, e a ausência de concentração de fundo, ou seja, presença natural da espécie na composição daquela matriz <sup>90</sup>. Esses estudos possibilitam traçar atividades decorrentes da ação do homem no meio ambiente através da detecção desses indicadores que sugerem a presença de outros CEs e, em alguns casos, a origem da contaminação.

Normalmente, produtos corriqueiros de consumo da população, como a cafeína e os adoçantes podem indicar contaminação por águas residuárias não tratadas e descartadas na mesma água para consumo <sup>90</sup>

Estudos utilizando a SAC e o CIC como indicadores antrópicos apresentaram bons resultados ao identificar descargas ilegais de efluentes, escoamento de campos agrícolas, infiltração da rede de esgotos e de fossas sépticas em águas superficiais <sup>91</sup>. Assim, em comparação com alguns traçadores de contaminação antrópica já bem consolidados, como a cafeína (CAF), a SAC apresenta-se ainda mais eficaz, pois possui alta estabilidade química, não gera produtos intermediários, se transfere com facilidade do esgoto para a água e se adsorve minimamente em sedimentos <sup>91,92</sup>.

Como se observa, seja para a avaliação ambiental ou como indicadora de atividade antrópica, a quantificação da SAC em águas é dependente de métodos analíticos seletivos que alcancem baixos limites de detecção capazes de contornar a complexidade dessas amostras. Assim, normalmente essas metodologias resultam em um elevado custo da análise <sup>89</sup>.

Dentro desse contexto, o uso dos MIPs para procedimentos de extração tem despertado o interesse da comunidade científica ao propor uma separação seletiva simples que pode reduzir os custos financeiros da análise química e ou do método de extração <sup>3</sup>.

Tendo em vista as aplicações em meio aquoso faz-se necessário observar a compatibilidade do MIP com a matriz hidrofílica, bem como sua robustez frente a capacidade de inchaço que a água pode ocasionar em materiais poliméricos, principalmente os exclusivamente orgânicos <sup>5</sup>. Uma alternativa promissora é utilizar os HMIPs para essa extração, visto a composição híbrida orgânica associada a superfície hidrofílica. Os HMIPs têm sido amplamente aplicados no monitoramento ambiental <sup>30,93,94</sup> e na análise de alimentos <sup>64</sup>. As propriedades híbridas resultam em materiais

com alta capacidade adsorptiva e resistência ao inchaço pela água, bem como a sua elevada afinidade pelo meio aquoso. Neste sentido para a extração da SAC em amostras aquosas, os HMIPs apresentam-se como uma alternativa interessante, visto a sua compatibilidade química com a matriz, baixo custo de produção, durabilidade e maior capacidade de reutilização.

Em vista desses fatos, nesse capítulo propõe-se sintetizar e avaliar o processo mais adequado para a produção de um HMIP utilizando a SAC como MM e aplica-lo como extrator em amostras de águas superficiais de forma inovadora, em pese que até onde sabemos toda essa estratégia ainda não foi abordada na literatura.

## 3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.2.1 Reagentes

- Sacarina, pureza  $\geq 99$  %, Sigma Aldrich;
- Ciclamato de sódio, 98,9 %, Sigma Aldrich;
- Acessulfame de potássio,  $\geq 99$  %, Sigma Aldrich;
- Ácido metacrílico, pureza: 99 %, Sigma Aldrich;
- Etilenoglicol dimetacrilato, pureza: 98 %, Sigma Aldrich;
- Álcool Polivinílico, pureza: 99 %, Sigma Aldrich;
- Tetraetoxsilano, 98 %, Sigma Aldrich;
- 3-Aminopropiltriétoxissilano, 99 %, Sigma Aldrich;
- 2,2-azobisisobutironitrila (AIBN) - sólido, pureza: 98 %, Sigma Aldrich;
- Metanol, grau HPLC, pureza: 99,99 % Tedia;
- Ácido acético glacial,  $> 99,99$  %, Sigma Aldrich;
- Ácido sulfúrico,  $\geq 98$  %, Vetec;
- Ácido clorídrico,  $\geq 37$  %, Vetec;
- Hidróxido de Sódio, Sigma Aldrich 98%
- Agarose, UltraPure
- Nitrato de Sódio, Cromoline 99%
- Acetonitrila, grau HPLC, pureza: 99,99%, Tedia;
- Clorofórmio, grau HPLC, pureza: 99,99 % Tedia;
- Etanol, pureza: 99,5 %, Lab Synth;
- Tolueno, pureza: 99 %, Tedia;
- Fosfato de sódio monopotássico, 98 %, Vetec;
- Rodamina B, 98 %, Merck.

### 3.2.2 Equipamentos

- Balança analítica, precisão de 0,0001 g, Shimadzu;
- Banho ultrassom, modelo: 1400, Unique;
- Homogeneizador hematológico, modelo: SP – 260H, SPLabor;
- Centrífuga de bancada, modelo: KC5, velocidade máxima 4000 rpm, Kindly;
- Banho maria com movimento recíproco horizontal com controle de temperatura de 4 – 100 °C– Dubnoff, modelo: 304, TPA;
- Agitador magnético, modelo: IKA-3581201, IKA;
- Espectrofotômetro UV-Vis, modelo: Cary 8454, Agilent;
- Microscópio Eletrônico de Varredura, modelo: FEI Quanta 200-3D;
- *Surface Area e Pore Size Analyser*, modelo: Nova 2200c, Quantachrome;
- Espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), modelo: 640 IR, Varian;
- Analisador termogravimétrico, modelo: DTC-60 H, Shimadzu;
- Sistema de deionização da água, Milli-Q – Millipore;
- *HOLDERS* diversos para filtração, 13 e 25 mm, Sigma Aldrich;
- Acessório de peltier com controle de temperatura com agitação. 10 – 120 °C, 40 – 1000 rpm, modelo: 89090 A, Agilent;
- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência, modelo LC-20 AD, composto por uma bomba de alta pressão, detector: PDA Flexar, alça de amostragem: 20 µL, software: Chromera 3.4.0 5712, Perkin Elmer;
- Coluna C 18, 5 µm, dimensões: 250 mm x 4,6 mm, Browniee Analytical Perkin Elmer;
- Mesa agitadora horizontal (Ethik technology);
- Microscópio autônomo com infravermelho integrado (Lumos, Bruker);
- Barras magnéticas: 3 mm x 7 mm;
- Cubeta de quartzo com tampa, 3,5 mL volume máx – 4 mL, Helma;
- Sistema reator composto por: agitador de hélice: modelo: Eurostar werke digital, rotação: 0 – 1200 rpm, IKA. Reator de vidro encamisado: capacidade de 500 mL e banho maria-criostato com recirculação, modelo 521 TD, *Ethik technology*;
- Capela de Fluxo Unidirecional Laminar vertical (Veco);
- Concentrador com fluxo de N<sub>2</sub> (Tecnal, TE-019).

### 3.2.3 Vidrarias e utensílios

- Tubos falcon, 15 e 25 mL;
- Tubos de ensaios, 10, 15 e 25 mL;
- Almofariz, pistilo;
- Seringas de polipropileno, 5, 10, 25 mL;
- Frascos borosilicato, 100 e 250 mL;
- Cápsula de porcelana,
- Vidrarias de laboratório, béqueres, balões volumétricos, balões de fundo chato;
- Membrana de fluoreto de polivinilideno (PVDF) para filtração, 0,22  $\mu\text{m}$ , Sigma Aldrich;
- Membrana de nitrato de celulose para filtração, 0,45  $\mu\text{m}$ , Unifil.

### 3.2.4 Preparo dos polímeros molecularmente impressos para a sacarina

#### 3.2.4.1 Síntese do monômero híbrido APTES-MAA

O processo de síntese do monômero híbrido (APTES-MAA) foi conduzido através da mistura de APTES 6,4 mmol com MAA 8,1 mmol em um frasco vedado e levado a aquecimento (60 °C) e agitação constante, por 24 h<sup>31</sup>. Após a síntese, o produto foi armazenado sob refrigeração, na ausência de luz.

#### 3.2.4.2 Estudos espectroscópicos para avaliação da formação do complexo pré-polimerização

Com esses ensaios estudou-se a capacidade da SAC em se complexar a alguns MFs e também sua solubilidade em diferentes solventes nas etapas de pré-polimerização. Para tanto, misturou-se em diferentes tubos de ensaio aproximadamente 50 mg de SAC, 50  $\mu\text{L}$  de ácido metacrílico e 50  $\mu\text{L}$  do APTES-MAA com 5 mL dos seguintes solventes: clorofórmio, MeCN e tolueno. Os tubos foram homogeneizados e as soluções foram submetidas a US por 15 min. Observou-se visualmente a solubilidade dos reagentes. Para os estudos de complexação no UV<sup>17,18</sup>, foram realizadas duas titulações espectrofotométricas através da adição de alíquotas da solução titulante de cada MF em uma solução de SAC conforme as concentrações descritas na Tabela 7. Assim, em uma cubeta de quartzo adicionou-se 2 mL da solução de SAC da qual permaneceu em agitação de 800 rpm durante todo o procedimento. Primeiramente se adquiriu o espectro apenas da solução de SAC em 230 nm e iniciou-se as adições consecutivas das alíquotas de titulante. As soluções

## SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

foram equilibradas durante 90 s antes de adquirir cada espectro do resultado da adição anterior e adicionar a nova alíquota. O procedimento prosseguiu-se até atingir o ponto final da titulação.

Tabela 1. Condições estabelecidas para a titulação espectrofotométrica da SAC.

Dados	Titulação MAA	Titulação APTES-MAA
SAC mol L <sup>-1</sup>	1,0 x 10 <sup>-4</sup>	1,0 x 10 <sup>-4</sup>
de MF mol L <sup>-1</sup>	1,0 x 10 <sup>-3</sup>	9,0 x 10 <sup>-4</sup>
Alíquotas adicionadas	40	46

### 3.2.4.3 Síntese de polímeros molecularmente impressos híbridos orgânico-inorgânicos para extração de sacarina

Foram utilizadas duas condições diferentes de obtenção dos materiais, a síntese em massa (*bulk*) e em suspensão. Para processo em massa, inicialmente adicionou-se 1 mmol de SAC em 10 mL de clorofórmio e a solução foi submetida a US por 3 min. Em seguida adicionou-se 4 mmol de APTES-MAA submetendo-se novamente a solução em US por 10 min. Logo após, essa solução foi levada a refrigeração, por cerca de 2 h a 4 °C, na ausência de luz. Após essa etapa, misturou-se 5 mmol de TEOS e 25 mmol de EGDMA e 0,3 mmol de AIBN ao complexo pré-polymerização. As soluções foram submetidas a purga de N<sub>2</sub> por 5 minutos e os frascos foram completamente vedados. Para o processo em suspensão, empregaram-se todas as etapas anteriores exceto que antes da purga com N<sub>2</sub> adicionou-se 70 mL de uma solução aquosa de PVA 0,1 %. Em concomitância foram realizadas também as sínteses do NIPs. O bloco obtido do processo em massa foi triturado e as partículas na foram separadas por tamanho (56 – 125 µm). Os materiais foram submetidos a um processo exaustivo de remoção da SAC que consistia em 15 a 18 ciclos de agitação de 1g dos polímeros em 40 mL solução de metanol/ácido acético (9/1) com aquecimento em torno de 40 °C por 1 h. Para remoção do excesso de ácido acético executou-se o mesmo procedimento utilizando apenas metanol por mais 2 – 3 ciclos. As últimas soluções remanescentes desse processo foram analisadas por cromatografia líquida para se certificar da remoção total da SAC. Foram obtidos então os Polímeros Híbridos Molecularmente Impressos (HMIPs) pelo processo de *bulk* (HMIP-B) e suspensão (HMIP-S).



### **3.2.4.1 Estudo espectroscópico de homogeneidade do material e avaliação da eficiência de remoção da SAC**

Para avaliar a eficiência de remoção da SAC do MIP foi aplicado um método alternativo de análise direta do sólido por espectroscopia no infravermelho médio (MIR), imagem hiperespectral e resolução de sinais. Esse ensaio buscou avaliar a distribuição da SAC investigando potenciais as bandas vibracionais da SAC presentes nas camadas impressas do MIP. Foram utilizados os polímeros provenientes da síntese em suspensão (HMIP-S e HNIP-S). Para facilitar o entendimento as amostras serão assim abreviadas neste ensaio: M-Sac (HMIP pós-síntese); ML-Sac (HMIP após completa remoção da SAC); N-Sac (HNIP) e padrão sólido da SAC. Foi utilizado um microscópio autônomo de infravermelho LUMOS (Bruker) que pertence ao Instituto de Criminalística da Polícia Civil do Distrito Federal. Porções da amostra foram depositadas sobre um suporte de plástico e os espectros foram adquiridos por reflectância difusa em intervalos de  $8 \text{ cm}^{-1}$  e 32 leituras numa região de mapeamento delimitada previamente de  $20 \times 20 \mu\text{m}$ .

Para gerar os hipercubos utilizou-se uma função em ambiente MATLAB desenvolvida pelo grupo de pesquisa para a compatibilização dos dados do instrumento com a plataforma HYPER-Tools, versão 1<sup>95</sup>. A análise de imagens foi conduzida por meio da versão R2016a do MATLAB. A deconvolução dos sinais foi realizada por resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes (MCR - ALS, do inglês, *Multivariate Curve Resolution with Alternating Least Squares*) para três componentes sendo realizada com as três matrizes de forma simultânea (matrizes aumentadas). A estimativa inicial do MCR foi obtida com o algoritmo *Purity* para três componentes, normalização dos espectros por SNV (do inglês, *Standart Normal Variate*) e foi utilizada a restrição de não-negatividade na intensidade dos espectros. Foram obtidas estimativas dos espectros puros e intensidades relativas para SAC e para os polímeros. Após a inspeção dos espectros puros foram atribuídas as potenciais bandas referentes à SAC e gerados mapas (perfis) de concentração da distribuição da SAC nos materiais.

### **3.2.5 Caracterização dos polímeros**

Para os materiais obtidos (HMIPs e HNIPs) foram realizadas análises de FT-IR a fim de avaliar os grupamentos existentes nos polímeros. As medidas foram realizadas por meio da confecção de pastilhas de KBr. Os polímeros foram macerados em KBr na proporção de 1 % (m/m) a temperatura ambiente. Os ensaios foram

## SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

conduzidos em um espectrômetro FTIR Modelo 640-IR (Varian) com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Os espectros foram adquiridos na faixa de 650 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , com acumulações de 64 varreduras. Esse instrumento pertence ao Laboratório da Central Analítica do IQ-UnB (CAIQ).

A caracterização morfológica e superficial dos materiais foi conduzida em um Microscópio Eletrônico de Varredura (Modelo JEOL JSM-7001F) pertencente ao Laboratório do Instituto de Ciências Biológicas da UnB e outras micrografias foram adquiridas no equipamento FEI-Quanta 200 3D no Laboratório de Balística do Instituto Nacional de Criminalística de Brasília da Polícia Federal. Cada amostra foi fixada em um porta amostra metálico e essas foram metalizadas com ouro (Ag) em ambiente inerte ( $\text{N}_2$ ) por 1 h, a fim de tornar essas superfícies condutoras. As microscopias dos polímeros foram registradas com ampliações de 500 e 10.000 vezes.

Os parâmetros morfológicos dos materiais, através dos dados de porosidade e a área superficial específica dos polímeros foram estudados mediante ensaios de porosimetria através da sorção de  $\text{N}_2$ . Esse ensaio consistiu na exposição de cerca de 200 mg de material a 100 °C por 3 h e posterior exposição do material a pressões de  $\text{N}_2$ . Nesse sentido, a sorção física e dessorção do gás nos poros da amostra foi aferida em função da pressão do  $\text{N}_2$  advindo da amostra. As isotermas de sorção pelos métodos de BET (*Brunauer, Emmet and Teller*) e o BJH (*Barret, Joyner and Halen*) foram aplicadas para a aquisição da área superficial, volume e tamanho dos poros. O ensaio foi conduzido em um equipamento *Surface Area and Pore Size Analyser* pertencente ao Laboratório de Materiais e Combustíveis do Instituto de Química da UnB.

Para se certificar da estabilidade térmica dos polímeros foram conduzidas análises de TG. Esses ensaios foram realizados no equipamento 2960 *Simultaneous DSC-TGA* da TA *Instruments* que pertence a CAIQ. Utilizaram-se em torno de 7,5 mg dos polímeros (HMIPs e HNIPs) para cada ensaio. A perda de massa do material foi aferida em uma faixa de temperatura de de 25 a 1000 °C, com rampa de aquecimento de 25 °C por minuto, em ar sintético com vazão de 30  $\text{mL min}^{-1}$ .

O intumescimento dos HMIPs na presença de água foram avaliados por ensaios de umidade. Foram pesados 200 mg de HMIP-B e HMIP-S em tubos Falcon e foram adicionados 20 mL de água, que foram agitados por 24 h. Ao término, as soluções foram centrifugadas por 30 min a 4000 rpm. Após a separação do sobrenadante o material foi filtrado e pesado. A taxa de intumescimento (TI) da água

foi calculada pela seguinte equação <sup>96</sup>, em que  $m_s$  é a massa dos HMIPs inchados e  $m_0$  é a massa inicial dos HMIPs secos.

$$TI = \frac{(m_s - m_0)}{m_0}$$

Equação 12. Taxa de intumescimento dos HMIPs pela água.

### 3.2.5.1 Avaliação da cinética de adsorção dos HMIPs

Para avaliação da cinética de adsorção foi empregada uma solução de 20 mg L<sup>-1</sup> de SAC preparada em água destilada acidificada em pH ~3,0. Pesaram-se 40 mg dos polímeros (n = 3) e adicionou-se 10 mL de solução em cada tubo. Os tubos foram mantidos sob agitação e em períodos pré-determinados, três tubos eram retirados, sendo para os polímeros em *bulk* em 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120 e 180 min e para os polímeros em suspensão em 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 240 e 360 min. As soluções foram centrifugadas em 4000 rpm por 15 minutos e alíquotas de 5 mL da solução sobrenadante foram aspiradas e filtradas com uma membrana de PVDF 0,22 µm, e em sequência realizou-se a leitura espectrofotométrica em 230 nm. As capacidades adsorptivas em determinado período de tempo Q(t) foram calculadas conforme a equação 1. Após a aquisição dos dados, os modelos descritos no item 2.2.3 do capítulo 2 foram aplicados para elucidar o mecanismo adsorptivo desses materiais.

### 3.2.5.2 Construção das isotermas no equilíbrio de adsorção

Para avaliar o efeito da adsorção dos materiais em função da concentração de SAC, alíquotas de 10 mL das soluções de SAC na faixa de concentração de 2 a 70 mg L<sup>-1</sup> (pH ~3,0) foram adicionadas a 40 mg dos materiais e mantidos a agitação constante por 2 h. Após esse período, os tubos foram centrifugados por 20 min a 4000 rpm e os sobrenadantes foram filtrados com membranas de 0,22 µm e analisados espectrofotometricamente em 230 nm para avaliação da concentração remanescente da SAC.

### 3.2.5.3 Estudo termodinâmico de adsorção

Para averiguar o efeito da temperatura no processo adsorptivo e obter alguns parâmetros termodinâmicos do sistema, ensaios de adsorção em diferentes temperaturas (283,15; 293,15; 303,15; 313,15 e 323,15 K) foram realizados em um banho termostatizado e em um sistema refrigerado. Pesaram-se 40 mg dos polímeros (HMIPs e HNIPs) e adicionou-se 10 mL de uma solução de SAC 50 mg L<sup>-1</sup> (pH ~3,0)

## SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

em cada tubo ( $n = 3$ ) destinado a respectiva temperatura. Os tubos foram mantidos sob agitação e temperatura constantes por 2 h. Após o procedimento o sobrenadante foi filtrado, centrifugado a 4000 rpm por 20 min e analisados conforme os itens anteriores. As equações abordadas no item 2.1.4.4 da Revisão Bibliográfica (Capítulo 2) foram aplicadas para descrever o processo.

### 3.2.6 Seletividade competitiva e avaliação do efeito de impressão

Esses estudos objetivaram atestar a impressão dos MIPs através de ensaios de seletividade competitiva. Para isso, três diferentes espécies químicas, CAF, CIC e ACE com suas estruturas demonstradas na Figura 5 foram empregadas nos ensaios e a quantificação das mesmas foi realizada pelos métodos analíticos descritos nos próximos itens.

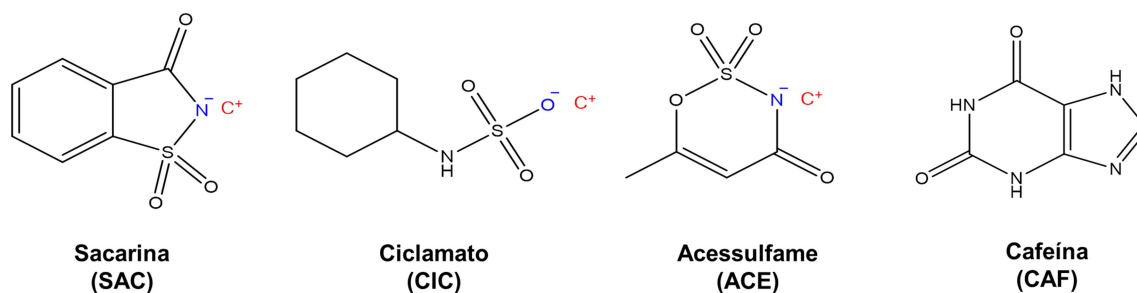


Figura 5. Estruturas moleculares das espécies químicas empregadas nos ensaios de seletividade.

#### 3.2.6.1 Condições do método cromatográfico

Com base na literatura foi desenvolvido um método para a quantificação de ACE, SAC e CAF<sup>73,97</sup>. A separação foi realizada em uma coluna C18 e a fase móvel foi composta pelo solvente A ( $0,05 \text{ mol L}^{-1} \text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 4,0) e solvente B (MeCN) na proporção de 95: 5 v/v. A vazão foi de  $0,8 \text{ mL min}^{-1}$  a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  e as condições isocráticas foram mantidas nos primeiros 15 minutos. De 15 a 25 min foi empregado um gradiente binário de eluição conforme a seguinte programação: 5 - 40% de B em 10 minutos e 40 - 5% de B em 10 minutos. O volume de injeção da amostra foi ajustado em  $100 \text{ } \mu\text{L}$ . As curvas de calibração para SAC, ACE e CAF foram processadas em triplicatas autênticas na faixa de concentração de  $0,05 - 17,5 \text{ mg L}^{-1}$ .

#### 3.2.6.2 Método para determinação do ciclamato de sódio

Para a determinação do ciclamato de sódio foi empregado um método alternativo de derivatização da espécie de modo a detectá-la em  $550 \text{ nm}$ <sup>98</sup>. Em um balão volumétrico de  $10 \text{ mL}$  de uma solução contendo o CIC adicionou-se  $0,3 \text{ mol L}^{-1}$

## SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (166 µL) e em seguida em um tubo de ensaio com tampa (20 mL) toda essa solução foi misturada com 3 mL de uma solução de Rodamina B 4,5 µmol L<sup>-1</sup> em clorofórmio. A mistura foi homogeneizada vigorosamente em um agitador vortex por 30 s e após isso, a solução foi sonicada por 20 s. Após 1 min de equilíbrio da emulsão, a solução foi levada para centrifugação por 5 min 3500 rpm. Logo após a centrifugação, na fase pesada houve a formação de um produto de coloração rosa intensa detectável em 550 nm. Assim, foi realizada uma curva de calibração para o método, na faixa de 5 a 20 mg L<sup>-1</sup> de ciclamato de sódio (n = 3).

### 3.2.6.3 Estudos de seletividade

Os estudos de seletividade competitiva foram realizados através de uma solução quaternária de 15 mg L<sup>-1</sup> de CAF, CIC, SAC e ACE em pH ~3,0. Adicionou-se 40 mg dos HMIPs e HNIPs em tubos Falcon e 15 mL da solução ternária das quais foram agitadas por 2 h. As soluções foram filtradas e centrifugadas conforme os itens anteriores e uma alíquota de 10 mL das soluções foram empregados para determinação de CIC conforme o item anterior 3.2.6.2. A determinação das outras espécies foi conduzida conforme o item 3.2.6.1. Após os ensaios, o desempenho seletivo dos HMIPs foi avaliado através dos seguintes parâmetros: coeficiente de distribuição (**kd**) do analito nos polímeros; coeficiente de seletividade (**k**) e coeficiente de seletividade relativo (**k'**)<sup>32,56</sup>. O valor de **kd** descreve como a espécie se encontra distribuída na matriz polimérica e é dada pela equação 14. As variáveis C<sub>i</sub>, C<sub>f</sub>, são as concentrações iniciais e finais (sobrenadante) empregadas nos ensaios, o volume (V) é dado em mL e a massa em g.

$$kd = \left( \frac{C_i - C_f}{C_f} \right) \left( \frac{V}{m} \right)$$

Equação 13. Coeficiente de distribuição da espécie química nos polímeros.

O **k** é encontrado através da razão entre **kd** do analito e o **kd** estimado para os interferentes:  $k = \left( \frac{kd_{analito}}{kd_{interferente}} \right)$ . O **k'** é encontrado através da razão entre o **k** estimado

para o MIP sobre o **k** obtido para o NIP  $k' = \left( \frac{k_{HMIP}}{kd_{HNIP}} \right)$

### 3.2.7 Extração de SAC em amostras de águas superficiais naturais.

Amostras de água superficial foram coletadas na margem do lago Paranoá (Brasília – DF, Brasil) em dois pontos utilizando frascos de PTFE. Antes das análises

## SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

as amostras foram filtradas com uma membrana de 0,47  $\mu\text{m}$  em laboratório. As amostras foram acidificadas com 3,1  $\text{mol L}^{-1}$  de HCl (pH  $\sim$ 3,0) e fortificadas com 0,250 e 0,750  $\text{mg L}^{-1}$  de SAC. 10 mL de cada amostra foram adicionados a 100 mg de HMIP-S em um tubo de ensaio. Após 2 h de agitação, as partículas foram removidas por centrifugação (4000 rpm, 15 min) e a solução foi filtrada e analisada pelo método HPLC - UV (item 3.2.6.1.). O mesmo ensaio foi repetido com a mesma massa de uma fase sólida comercial de balanço hidrofílico e lipofílico, HLB (do inglês, *hydrophilic lipophilic balance*) para comparação de eficiência de extração.

### 3.2.7.1 Preparo da MIM para extração de SAC

A confecção da membrana de agarose foi realizada com base nos estudos de Wacheski<sup>99</sup> utilizando 1,5 % de agarose em água. Foram dissolvidos 0,18 g de agarose em 12 mL de água ultrapura que foram aquecidos por 35 s em micro-ondas até a limpidez da solução. Após esse processo acrescentou-se porções de HMIP-S (m/v) de 5 e 10 % para avaliar a quantidade de massa mais eficaz para extração da SAC. A solução foi homogeneizada e com uma micropipeta adicionou-se essa solução em placas de vidro pré-aquecidas com espaçadores de 0,8 mm. O sistema foi deixado em capela de fluxo laminar até atingir a temperatura de gelificação (2 – 3 h). Em concomitante foram preparadas membranas controle, sem a adição do HMIP-S. A membrana formada foi seccionada em discos de diâmetro de 2,5 cm conforme observado na Figura 6 e em seguida armazenados em solução de nitrato de sódio 0,05  $\text{mol L}^{-1}$  em geladeira.

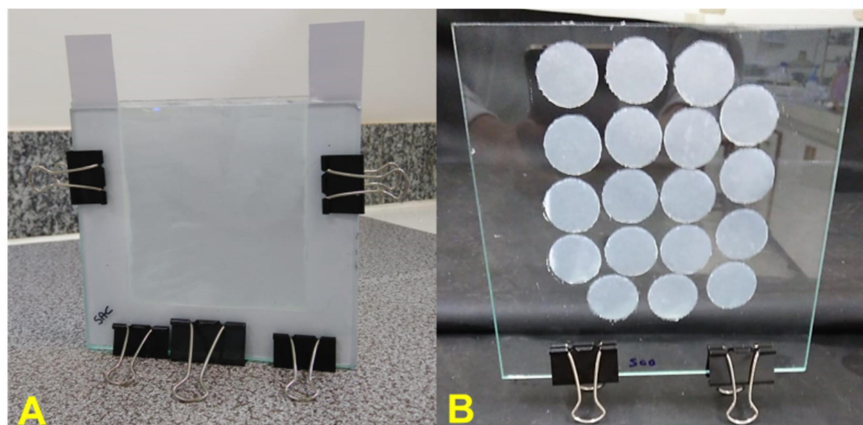


Figura 6. (A) Membrana de agarose com HMIP-S 10 % (m/v) e (B) discos de agarose seccionados.

### 3.2.7.1 Ensaios de adsorção da SAC na MIM

Os discos de agarose nas concentrações de 5 e 10 % (m/V) de HMIP-S foram adicionados 10 mL de soluções de SAC com concentrações de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg L<sup>-1</sup> em frascos de vidro com tampa (capacidade de ~50 mL) sob agitação por 96 h. As soluções foram centrifugadas por 5 min, 4000 rpm e o sobrenadante filtrado com membrana de PTFE 0,22 µm. A concentração de SAC remanescente foi determinada por HPLC-UV.

Para estabelecer as condições ideais de adsorção da SAC diretamente na água superficial foi aplicado um planejamento fatorial 2<sup>2</sup> avaliando o pH (5 e 9) e a força iônica (0,01 – 0,1 mol L<sup>-1</sup> de NaNO<sub>3</sub>), em concentração fixa da SAC (2 mg L<sup>-1</sup>). Foram empregados 45 mL das soluções e as condições analíticas foram conduzidas conforme as descritas no procedimento experimental do parágrafo anterior. Os fatores e níveis avaliados estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Fatores, níveis avaliados e matriz de planejamento fatorial 2<sup>2</sup> para extração da SAC por MIM em águas superficiais.

		Níveis	
Fatores		-1	1
1	pH	5	9
2	Força iônica	0,01	0,1
Experimento		pH (1)	Força iônica (2)
1		-1	-1
2		1	-1
3		-1	1
4		1	1

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1 Avaliação espectroscópica do complexo pré-polimerização e proposta de síntese

Dentre os métodos disponíveis para avaliar as condições iniciais de síntese, a titulação espectrofotométrica foi aplicada neste capítulo e apresentou-se como uma ferramenta eficaz para prever a faixa de proporção molar adequada entre a SAC e MFs para a formação do complexo. O solvente que melhor se adequou para realizar as titulações foi a MeCN, pois solubilizou adequadamente todos os reagentes nas concentrações empregadas e não apresentou perda de volume decorrente de evaporação. Ademais, a MeCN é um solvente aprótico e não prejudica na potencial doação do próton, mecanismo predominante para a formação dos complexos em estudo. Com relação ao clorofórmio, mesmo diante da adequada solubilização dos reagentes, esse solvente apresenta forte absorção no UV comprimento de onda de estudo (232 nm) o que impossibilitou empregá-lo nesses ensaios.

Nas titulações observaram-se diversas regiões de absorção da SAC no UV, e em 232 nm foi possível observar leve supressão da banda à medida que foram adicionadas as alíquotas de titulante. Para melhor visualização desse efeito, os espectros estão demonstrados na seção de Apêndice A, Figuras A1 e A2. A Figura 7 apresenta os resultados obtidos para as titulações no UV com os dois MFs em 230 nm. A Figura 7 (A) apresenta o gráfico de razão molar da titulação com MAA e o ponto final desse procedimento pôde ser encontrado na através do plote de duas regressões encontrando o encontro entre as duas retas.

Observando o ponto de intersecção delimitado (Fig. 7 - A) observou-se que a a proporção ideal de SAC:MAA foi de 1:3 podendo ser estendida até 1:5 se observando-se de 1:3 até 1:5 o *platêau* da isoterma de saturação. Já para o APTES-MAA observou-se um perfil sigmoide dos pontos de titulação, provavelmente relacionado à presença do APTES ligado ao MAA que reduz as oscilações no UV dado pelo titulante. Esse perfil gráfico também pode indicar que o MF se complexa a SAC em duas etapas para produzir o complexo, conforme os pontos destacados na Figura 7 (C). Assim, a determinação do ponto final por intersecção seria inviável de ser realizada.

Dessa forma, para encontrar o ponto final na titulação com APTES-MAA foi aplicada a técnica de segunda derivada nos dados empíricos, obtendo-se a seguinte equação:  $y = 18.105x - 96.552$  (Figuras A3 – i e ii - apêndice). Assim, considerando  $y = 0$ , a proporção molar foi de 1,06 mol de SAC para 5,33 mol de APTES – MAA no



SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

último ponto de complexação, sugerindo que a complexação ocorre em duas etapas na faixa de 1:2 a 1:5 (Fig.7 C).

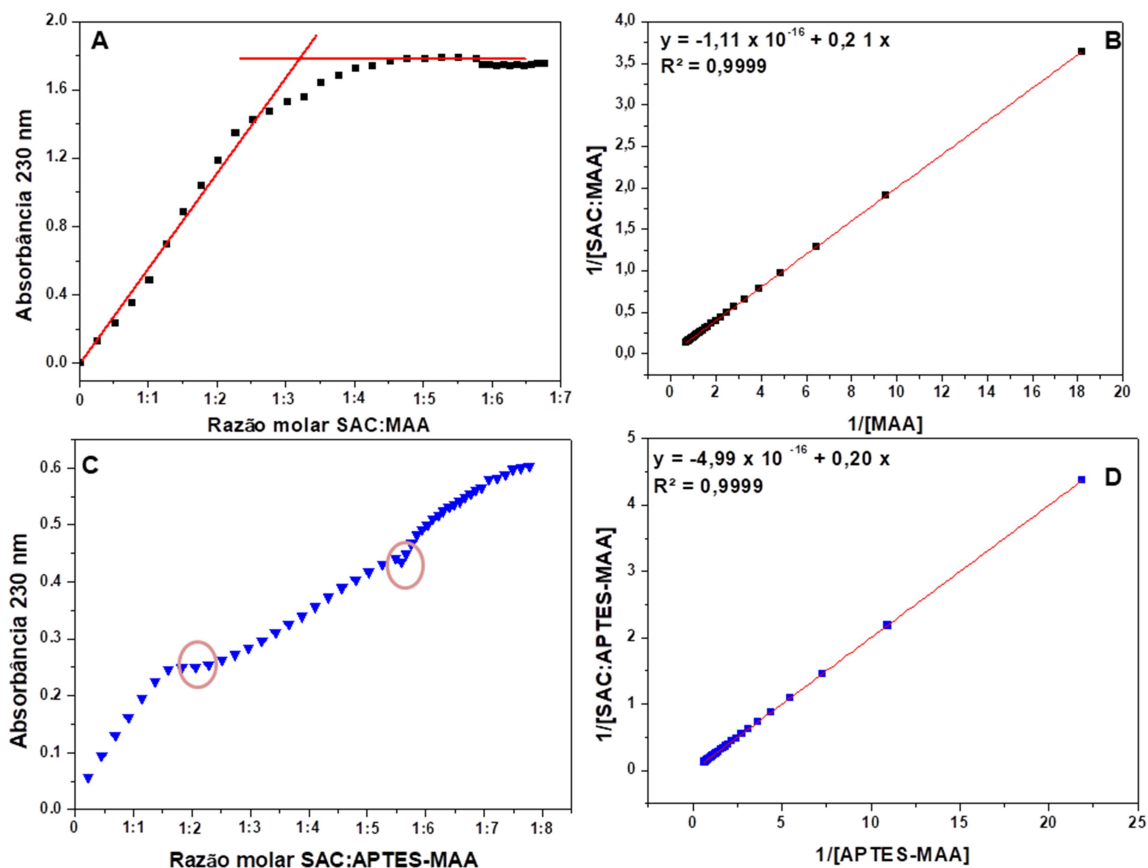


Figura 7. Curva de titulação entre a SAC e o MAA (A); relação linear entre a proporção de SAC-MAA e concentração de MAA (B); Curva de titulação entre a SAC e o APTES-MAA (C); relação linear entre a proporção de SAC: APTES-MAA e concentração de APTES-MAA (D). Os dados de absorbância são dados como a diferença entre a absorbância inicial do titulando da absorbância resultante da adição de cada alíquota de titulante.

As repostas lineares apresentadas pelo inverso da concentração de MF versus o inverso da concentração SAC-MF fornecem os valores das  $K_{dcs}$  da formação do complexo SAC – MF através das inclinações das regressões que assumem a seguinte função  $\left(\frac{1}{y}\right) = b + K_{diss} \left(\frac{1}{x}\right)$  <sup>17,18</sup> em que y = concentração do ligante e x = razão das concentrações entre ligante e receptor.

Observou-se que o  $K_{dcs}$  foi similar para ambos monômeros estudados  $\cong 0,21$ . Isso demonstra que apesar da dificuldade em se detectar as adições do APTES-MAA, os dados indicam que as ligações de hidrogênio provavelmente estão sendo formadas na presença desse monômero, de maneira similar ao complexo com MAA. As constantes de formação encontraram-se em torno de 4,70, indicando adequada

## SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

estabilização do complexo pré-polimerização, mesmo diante da polaridade da MeCN. Nesse sentido, em solventes apolares e apróticos como o clorofórmio, o esperado é que essa constante seja maior conforme demonstrado em dados de  $K_f$  da literatura<sup>17,18</sup>.

Cabe salientar que é a primeira vez que esse tipo de titulação é utilizada para avaliar a formação de complexo de um monômero híbrido com uma MM previamente a síntese de um HMIP. Considerando a simplicidade operacional foi possível reduzir tempo de bancada e consumo de reagentes. Diante desses resultados, decidiu-se empregar o monômero APTES-MAA para a síntese, visto que este pode proporcionar maior afinidade com a água e menor susceptibilidade ao inchaço do polímero<sup>56</sup>.

O esquema reacional proposto para a síntese utilizada encontra-se ilustrado na Figura 8, a qual descreve a preparação do co-monômero (APTES-MAA), a complexação do APTES-MAA com SAC e a polimerização. A polimerização foi conduzida por dois processos, massa e suspensão. Para reticulação foram utilizados dois ACs o TEOS (hidrofílico) e o EGDMA (hidrofóbico). O EGDMA se polimeriza via radicais livres pela dupla ligação do APTES-MAA (Fig. 8, etapa 3) reticulando o material. Já o TEOS se liga ao monômero para formar as cadeias Si-O-Si, mas o mesmo não se liga ao EGDMA. A proposta é que cadeias de sílica sejam formadas entre as formadas pelo AC orgânico.

# SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

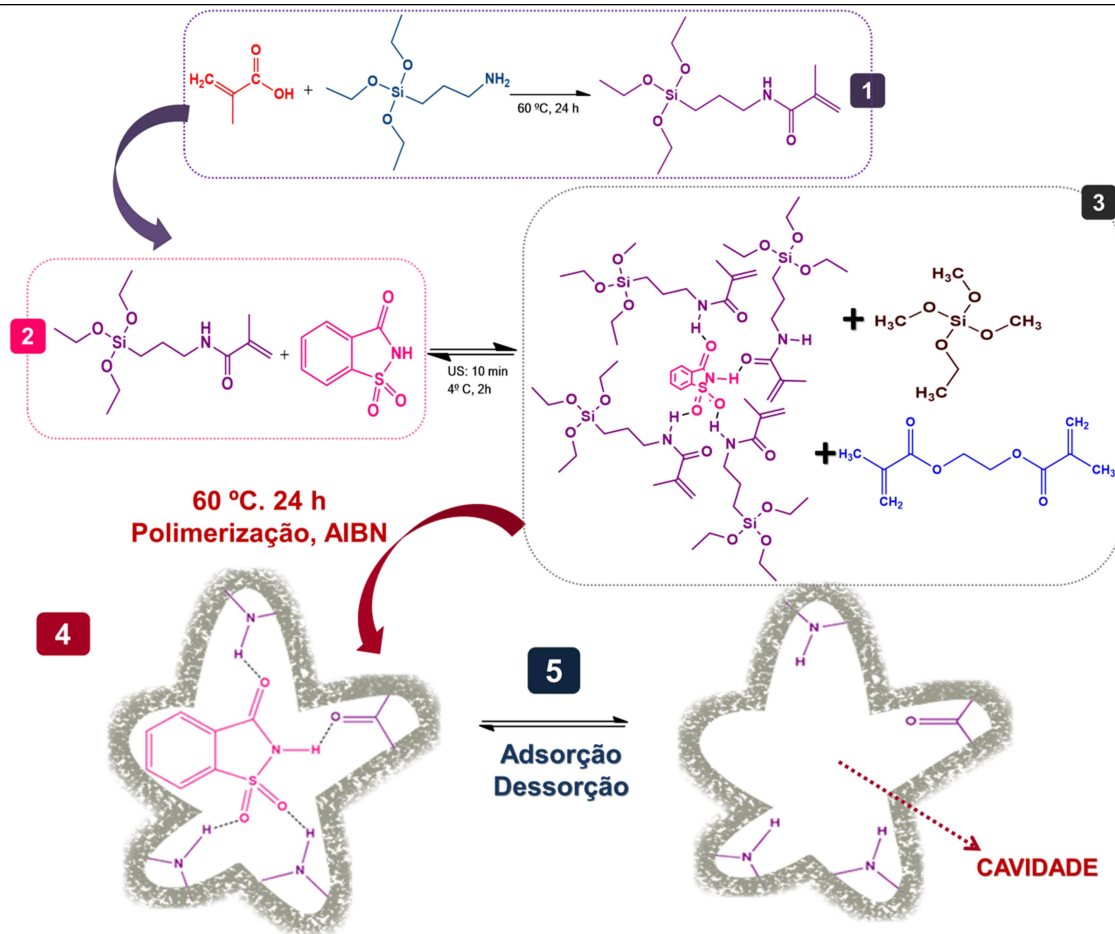


Figura 8. Ilustração esquemática da síntese dos HMIPs: síntese do APTES-MAA (1), sua proposta reação de complexação com a SAC (2), mistura desse complexo com os ACs (3) e sua posterior polimerização. A etapa 5 ilustra o esquema de adsorção-dessorção da SAC em procedimentos de extração sólido-líquido que utilizam MIP como fase sólida extratora.

## 3.3.2 Distribuição da SAC nos polímeros por imagem hiperespectral e MCR-ALS

A depender da efetividade da síntese dos materiais, os polímeros sintetizados podem conter em sua composição final a MM, nesse caso a SAC, oligômeros, monômeros dispersos na matriz e concentrações menores dos componentes de partida<sup>3</sup>. Essas espécies químicas podem influenciar na obtenção dos espectros a depender das suas concentrações. Considerando esses aspectos, estimou-se empiricamente que os componentes para modelo MCR-ALS poderiam variar entre 2 – 5. Foram testados modelos MCR-ALS variando de 2 a 5 componentes e a estimativa que apresentou resultados com maior coerência química para a atribuição dos espectros estimados à SAC foi o modelo com três componentes.

## SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

Para o pré-processamento, aplicou-se a padronização normal de sinal (SNV) para normalizar os espectros corrigindo as variações em suas linhas de bases. Realizou-se a decomposição por meio de matrizes aumentadas (conjunta), de modo que foram analisadas simultaneamente as amostras de MIP antes e depois do processo de lavagem e o polímero de controle (NIP). Essa abordagem tem a vantagem de fornecer mais informações espectrais ao algoritmo do MCR-ALS. Os espectros recuperados para as três componentes estimadas estão apresentados na Figura 9, onde as componentes 1 e 3 (C1 e C3) foram atribuídas à matriz polimérica, à presença de oligômeros e/ou monômeros dispersos na matriz, respectivamente. Já a componente 2 (C2) foi atribuída à SAC devido à presença de bandas em torno de  $1150\text{ cm}^{-1}$  e  $1230\text{ cm}^{-1}$  (Fig.9), que podem ser atribuídas aos estiramentos do grupo sulfonamida da SAC (Fig.10). A presença dessa banda foi de extrema relevância para relacionar essa componente com a SAC, visto que esse grupo está presente apenas na estrutura molecular dela (Fig.8) apresentando-se assim como uma banda seletiva de identificação.

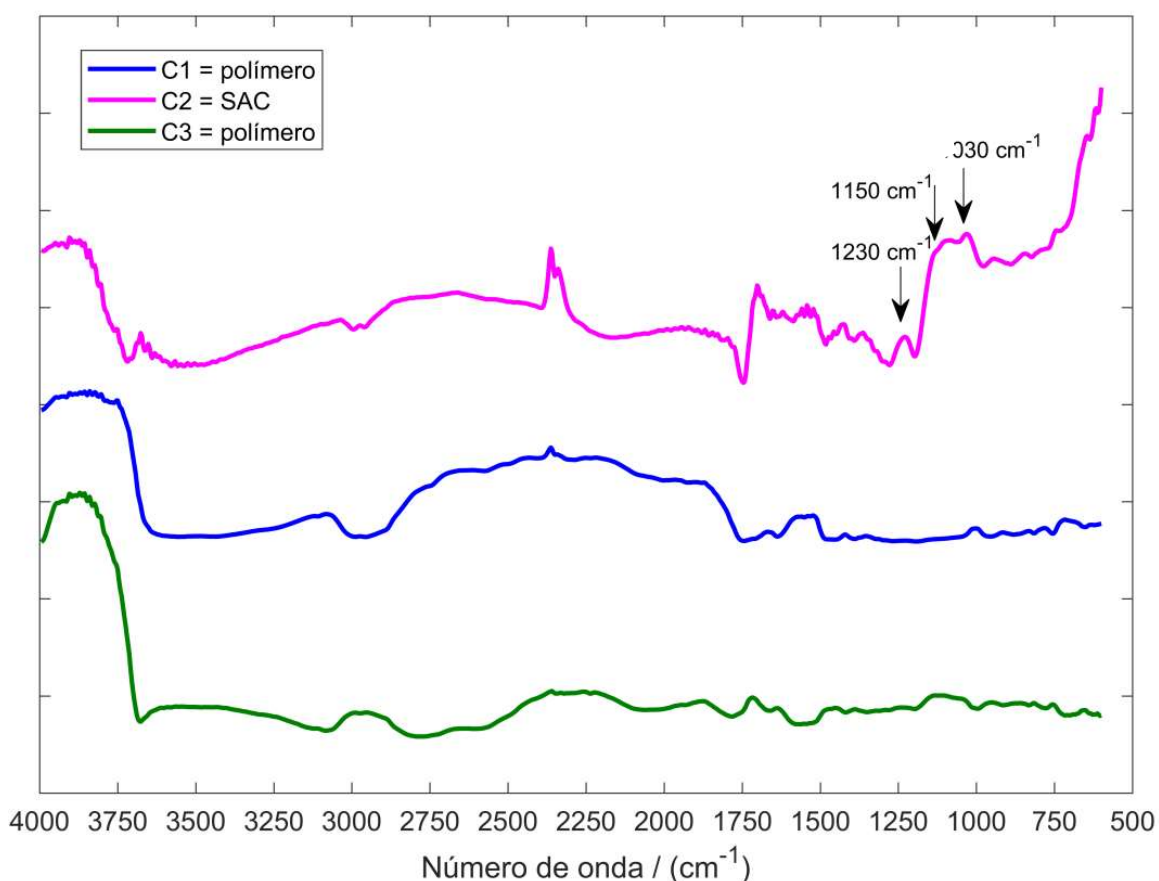


Figura 9. Espectros recuperados das três componentes estimadas por MCR – ALS. Espectros deslocados em termos de intensidade para melhor visualização das bandas.

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

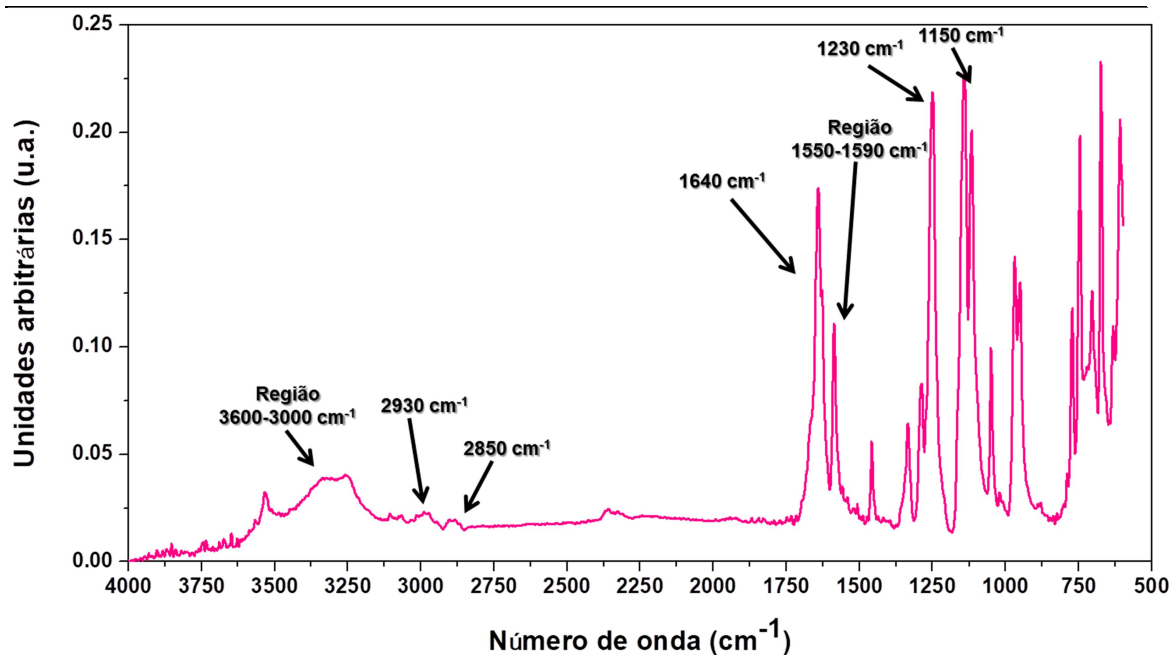


Figura 10. Espectro de infravermelho - ATR da SAC sólida (dados convertidos em absorbância). Regiões espectrais e seus respectivos grupos: 3600 – 3000  $\text{cm}^{-1}$ , estiramento O-H; 2850 e 2930  $\text{cm}^{-1}$ , estiramento e deformação axial das ligações C-H; 1640  $\text{cm}^{-1}$ , carbonila; 1500 – 1590  $\text{cm}^{-1}$ , bandas dos anéis aromáticos; 1150 e 1230  $\text{cm}^{-1}$ , estiramento assimétrico e simétrico do grupo sulfonamida.

Dos espectros foram obtidos perfis de concentração que permitiram visualizar a distribuição da espécie química relacionada a componente na região estudada (Figuras 11,12 e 13). É importante destacar que em cada uma dessas figuras estão presentes os mapas dos três polímeros analisados simultaneamente, sendo que as imagens foram empilhadas uma em cima da outra. Observando de cima para baixo no eixo das ordenadas das imagens temos: (M-Sac) pixels de 1 a 20, (ML-Sac) pixels de 21 a 40 e (N-Sac) pixels de 41-60. A Figura 11 e 12 apresentam os mapas de concentrações estimados para as componentes descritas pelo MCR e que foram atribuídas à matriz polimérica ou seus componentes (C1 e C3). Na Figura 11, observa-se que para os pixels de 1 – 20 há uma distribuição levemente heterogênea, em que nota-se expressiva intensidade de sinal para a componente relacionada ao polímero e pontos de menor concentração que podem ser atribuídos à menor presença do polímero devido a presença de SAC no material. Essa hipótese é suportada pelo fato de se observar nos pixels de 21-60 perfis de intensidade relativa com distribuição mais homogênea e aleatória.

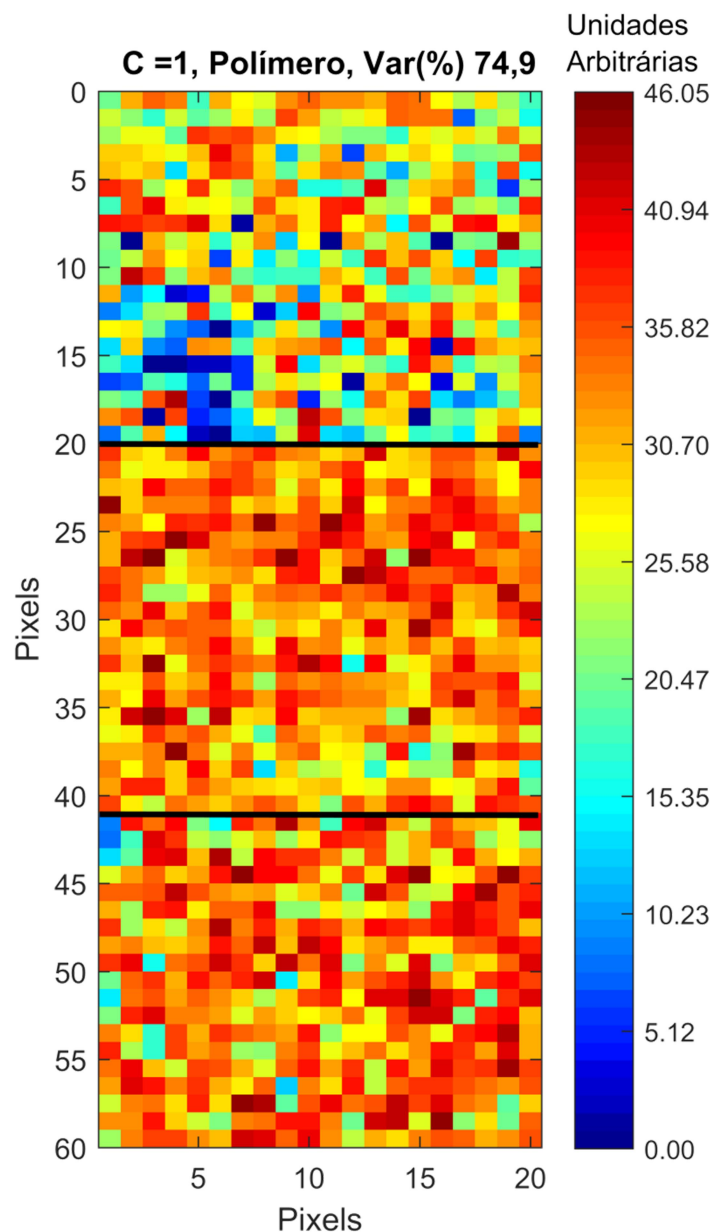


Figura 11. Perfis de concentração do M-Sac (pixels 1-20); ML-Sac (pixels 21-40), N-Sac (41-60) a partir de uma matriz aumentada considerando a componente 1.

Já com relação a C3 foi possível observar também distribuição homogênea e bastante aleatória, assim como a C1. Contudo, em C3 foram obtidos valores de intensidade relativa de menor intensidade. Considerando esse aspecto, é razoável supor que C1, com maiores valores de intensidade relativa, seja atribuído à matriz polimérica, enquanto que C3 se refira aos oligômeros ou monômeros dispersos na matriz.

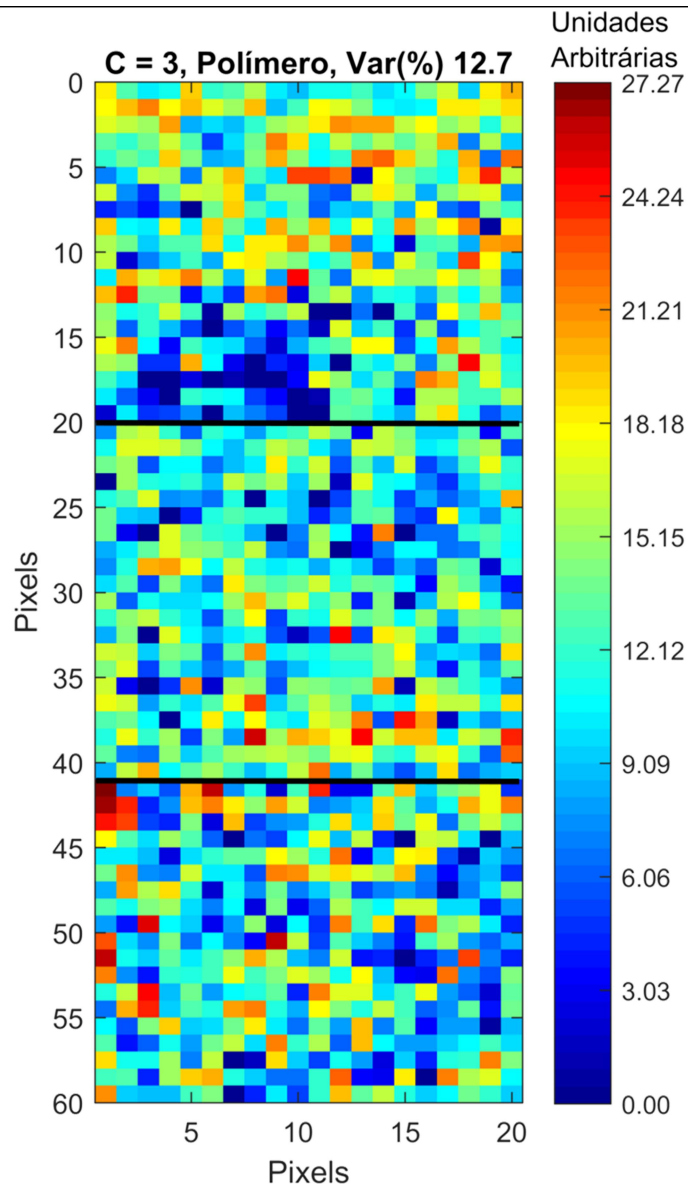


Figura 12. Perfis de concentração do M-Sac (pixels 1-20); ML-Sac (pixels 21-40), N-Sac (41-60) a partir de uma matriz aumentada considerando a componente 3.

A Figura 13 apresenta perfis de intensidade relativa atribuídos a presença da SAC, que é refletida nos maiores valores de intensidade (coloração dos pixels que tendem para a cor vermelha). Observa-se a nítida distribuição de concentração da SAC apenas nos pixels referentes ao mapa do M-Sac (pixels de 1-20 no eixo y e 1 a 20 no eixo x). Os valores de intensidade relativa são diretamente proporcionais à concentração de SAC. Portanto, considerando apenas a imagem do M-Sac, se observa uma coloração vermelha na parte inferior área mapeada, indicando maior concentração de SAC e distribuição bastante heterogênea. Para os pixels restantes não se observou pontos com valores de intensidade relativa elevados revelando que a

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

técnica foi capaz de identificar a SAC em maior quantidade no M-Sac e que este está em concentração muito inferior no ML-Sac e N-Sac.

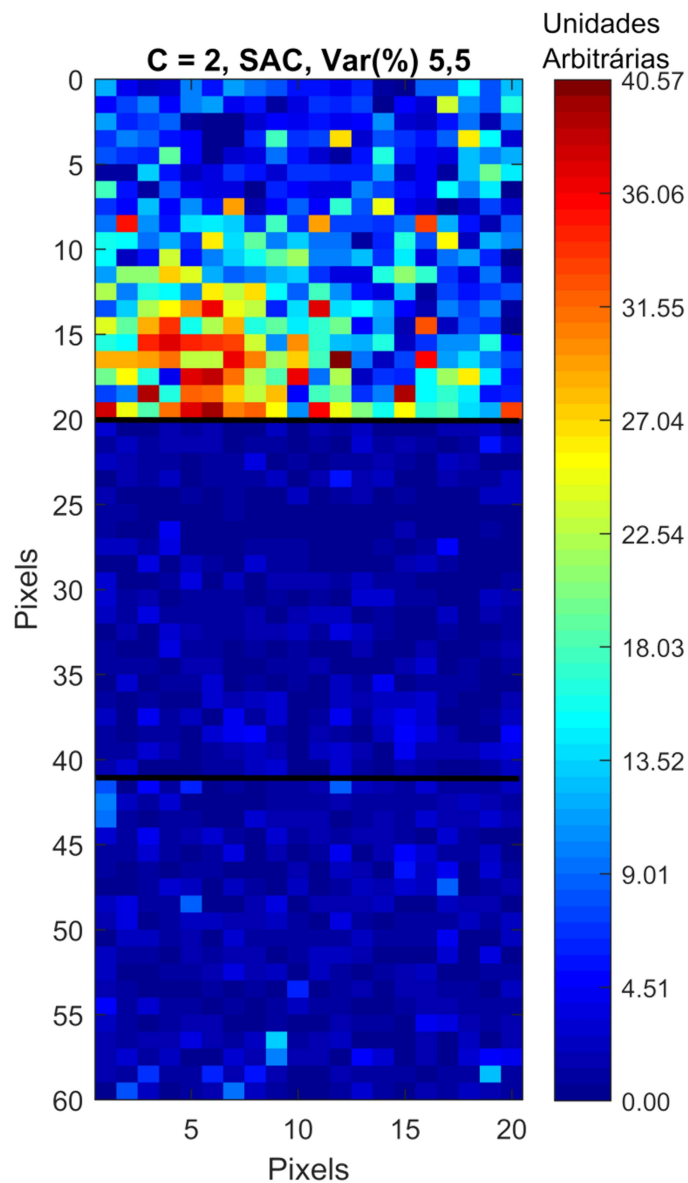


Figura 13. Perfis de concentração do M-Sac (pixels 1-20); ML-Sac (pixels 21-40), N-Sac (41-60) a partir de uma matriz aumentada considerando a componente 2.

Partindo da ideia que o MCR-ALS foi efetivo na separação dos componentes, a intensidade relativa dada em unidades relativas dos mapas é proporcional a concentração daquela espécie química na amostra. Portanto, os valores de intensidade obtidos podem ser convertidos para % de SAC em m/m através da Equação 14, em uma abordagem semi-quantitativa, onde  $CR_i$  é a concentração estimada da SAC em % (m/m) obtida através da conversão de cada pixel  $i$ ,  $\overline{CR}$  é a concentração média esperada de SAC na amostra (aproximadamente 3,05 %,



## SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

estimado pelo rendimento da síntese),  $IP_i$  é a intensidade relativa do pixel  $i$ , obtida por meio da deconvolução de sinais, e  $\overline{IP}$  é a intensidade relativa média obtida pela média aritmética das intensidades relativas de todos os pixels da imagem de C2 referente ao M-Sac. A quantidade de pixels delimitada para essa imagem representa a área mapeada de 20x20 pixels (total de 400 pixels).

$$CR_i = \frac{\overline{CR} \times IP_i}{\overline{IP}}$$

Equação 14. Estimativa da concentração de SAC em % (m/m) a partir das intensidades relativas obtidas para a segunda componente do MCR.

Dessa forma, após realizar a conversão dos dados, os perfis de concentração em percentagem da SAC em cada amostra são apresentados na Figura 14. A concentração da SAC no M-Sac foi estimada através da razão entre o rendimento reacional da síntese que foi de ~6,0 g com relação a massa de SAC adicionada (0,183 g) que resulta em 3,05 %.

De acordo com os resultados da Figura 14, a maior concentração observada de SAC no M-Sac foi de 9,8 % e a mais baixa foi de 0,0 %, com desvio padrão de 2,4. Observou-se que em torno de 36,8 % dos pixels continham concentrações maiores que a concentração média de 3,05 % da SAC estimada no polímero final. Com relação ao ML-Sac, a concentração máxima encontrada foi de 1,4 % e mínima de 0,00 % com desvio padrão de 0,3 %. Observando-se esses resultados pode-se considerar que no ML-Sac ao final do procedimento ainda restava certa quantidade de SAC no material. No entanto, para o NIP foi obtida uma concentração máxima de 3,2 % e mínima de 0,00 % com desvio de 0,2 % revelando que o MCR-ALS apresentou erros relativamente altos no N-sac. Entretanto, foi observado que no NIP apenas 25 pixels possuíram concentrações da SAC acima 1,0 % e assim, os maiores erros de estimativa da concentração de SAC no N-Sac se restringiram a uma quantidade reduzida de pixels, podendo estar relacionados a erros do MCR-ALS para a deconvolução. A minimização desse erro pode ser realizada através da adição de mais informações espectrais na deconvolução, por meio da inserção de mais amostras, ou da realização de uma calibração com MIP(s) com diferentes % de SAC. Cabe salientar que esses estudos já estão sendo conduzidos.

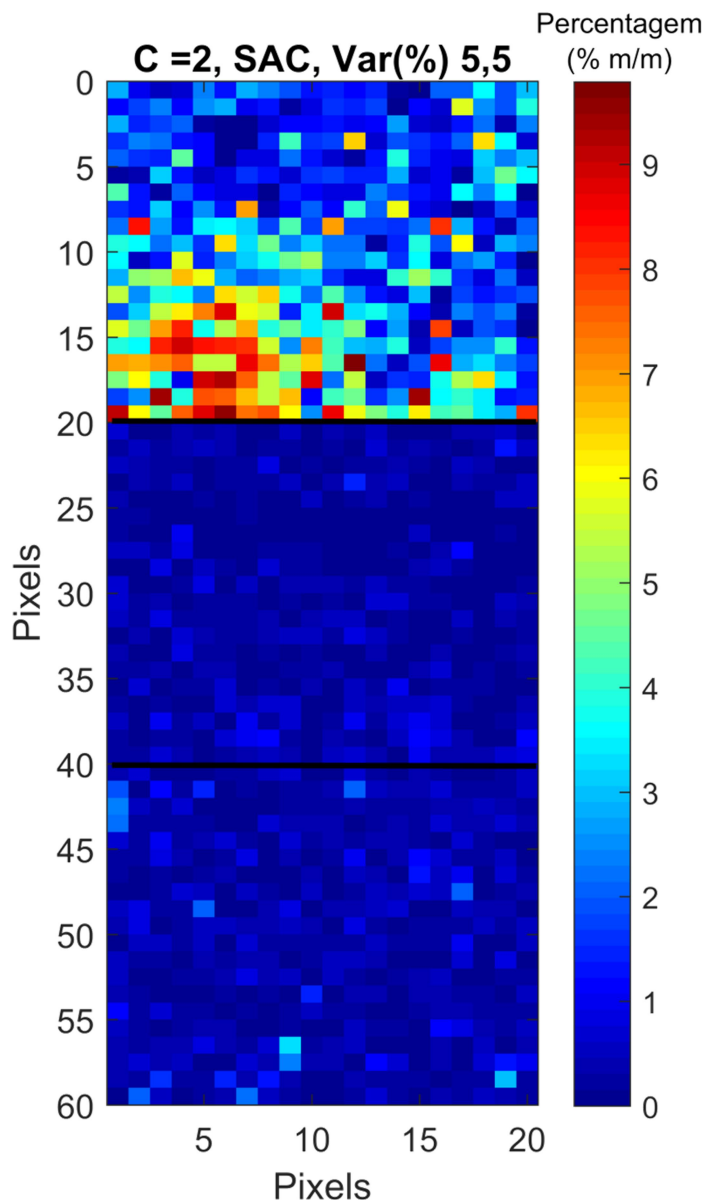


Figura 14. Perfis de concentração com conversão da escala de cores para concentração em % (m/m) da SAC no M-Sac (pixels 1-20); no ML-Sac (pixels 21-40) e no N-Sac (pixels 41-60).

Considerando que o limite de detecção geralmente atribuído à técnica de infravermelho médio (MIR) é de aproximadamente 0,1 % (m/m), em torno de 1/4 dos pixels para o ML-Sac continuam concentrações de 0 a 0,1 % (m/m) de SAC. Neste sentido, pode-se considerar que partindo do MIP sintetizado com a SAC e aplicando o método de remoção estabelecido, em 27,5 % dos pixels foi possível reduzir a concentração até o limite de detecção da técnica. Adicionalmente, considerando uma redução de 10 vezes a concentração inicial esperada para SAC (0,3 % (m/m)), observa-se que 65,2 % dos pixels da imagem continuam concentração de SAC de 0 a

0,3 %(m/m). Observando esses dados pode-se considerar que o método de lavagem foi capaz de remover grande parte da SAC presente no polímero.

Para melhor visualização do efeito da remoção da MM nos polímeros foram plotados histogramas com os perfis de concentrações estimados para C2 nas imagens de M-Sac e ML-Sac, (Fig.15). Observa-se no ML-Sac que cerca de 62 % dos pixels apresentaram concentrações abaixo de 0,3 %(m/m). É possível observar que o procedimento de lavagem removeu uma concentração expressiva da SAC. Quando comparamos os dois histogramas (Fig.14, M-Sac e ML-Sac), observa-se perfis muito distintos, sendo o de ML-Sac concentrado em teores muito inferiores em comparação ao M-Sac. O histograma obtido para o N-Sac apresentou distribuição similar ao ML-Sac, com exceção dos 14 pixels em que o MCR-ALS estimou concentrações de SAC > 1,5 % de SAC. Constituinto assim um maior erro de estimativa da SAC nesses pixels.

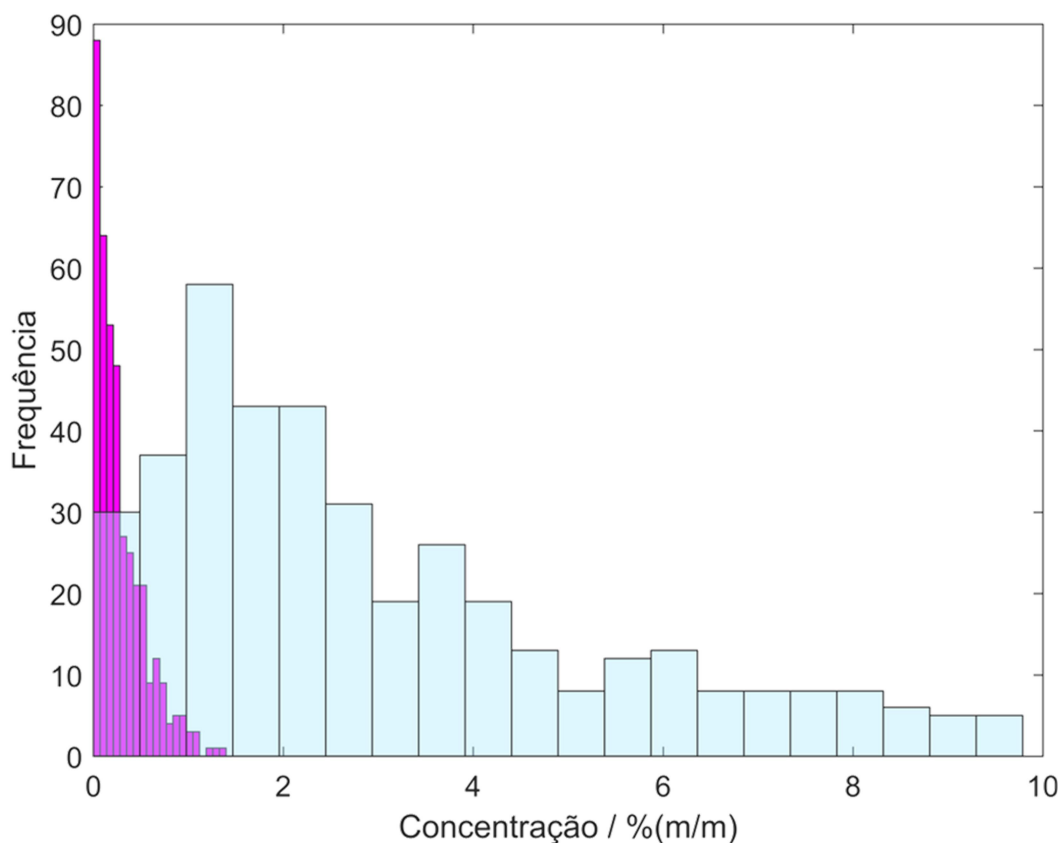


Figura 15. Histogramas dos perfis de concentração obtidos mediante a deconvolução dos dados por MCR-ALS das imagens do M-Sac e ML-Sac. Os dados consideram a componente 2.

Os ensaios realizados demonstraram que a espectroscopia MIR aliada a imagens hiperespectrais e MCR parece ser uma ferramenta promissora para indicar os parâmetros de homogeneidade dos materiais. Foi possível identificar bandas seletivas

para a SAC no espectro estimado para a componente e os mapas de concentração obtidos que possibilitaram uma distinção efetiva entre SAC e o polímero. Através desses perfis de concentração foi possível realizar estimativas condizentes acerca da concentração da SAC nos materiais. Cabe ressaltar que, caso sejam necessárias estimativas de concentração com maior exatidão, essas podem ser melhoradas por meio da deconvolução de uma maior quantidade de imagens de maneira simultânea e realizando uma calibração com diferentes concentrações da SAC.

### 3.3.3 Caracterização dos HMIPs

Os espectros de FT-IR para os polímeros, após o processo de remoção da SAC, são apresentados na Figura 16. Pode-se constatar bandas em todos os espectros que atestam a presença de grupos funcionais do APTES-MAA empregado como monômero híbrido, tal como a banda de  $3500 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ , (estiramento OH do MAA), a banda em  $1720 \text{ cm}^{-1}$  (estiramento C = O do grupo carboxílico MAA) e  $1277 \text{ cm}^{-1}$  (banda de estiramento carboxílico APTES-MAA). Com relação a formação das cadeias orgânicas, a banda de  $2935 \text{ cm}^{-1}$  normalmente indica a presença de ligações duplas em cadeias poliméricas e os sinais em  $1470$  e  $1630 \text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídos a deformações do grupo CH do EGDMA. Os sinais em  $1100$  e  $1280 \text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídos ao alongamento da ligação C-O-C<sup>33</sup>. Já as bandas de absorção demonstradas em  $476-774 \text{ cm}^{-1}$  são características das vibrações de alongamento Si-OH, alongamento simétrico de Si-O-Si e Si-O que sugerem a formação das cadeias de sílica em conjunto com as cadeias orgânicas<sup>56</sup>.

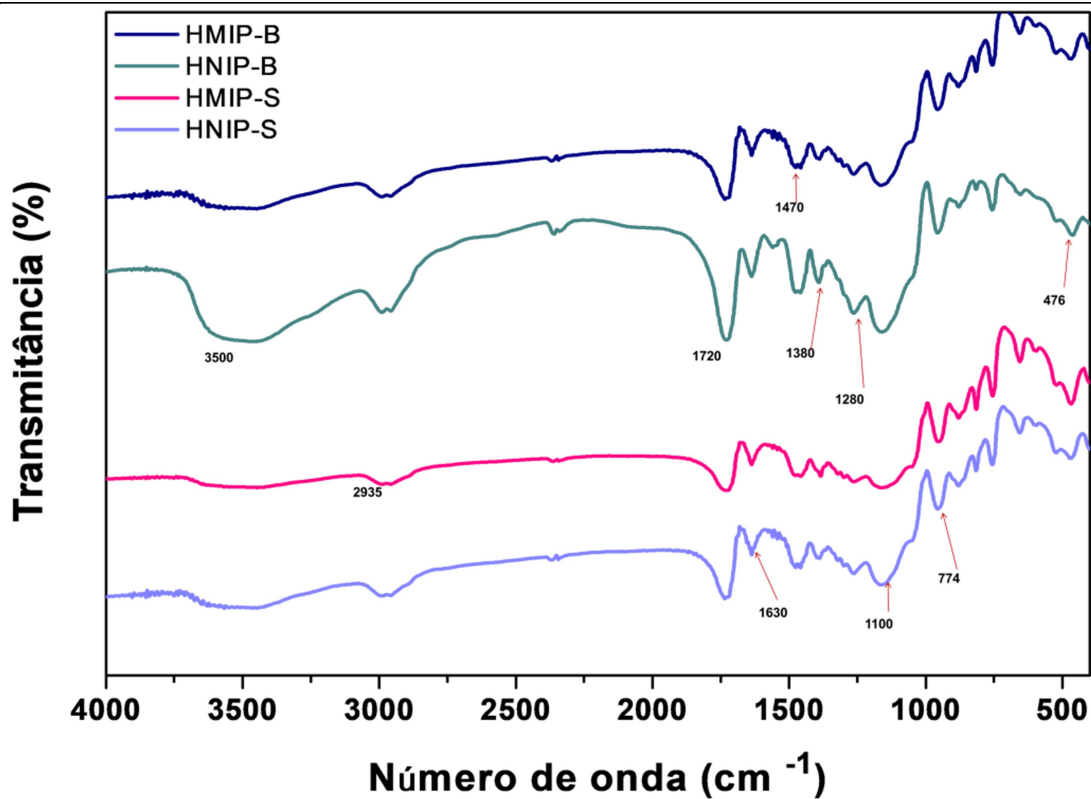


Figura 16. Espectros FTIR dos polímeros híbridos obtidos pelas condições de processo em *bulk* e suspensão.

Quanto à estabilidade térmica dos polímeros, as curvas de TG dos materiais demonstraram uma perda de massa em torno de 80°C que pode estar relacionada a evaporação de solventes residuais nos materiais (Figura 17). Na faixa de 250 °C a 500 °C encontrou-se o maior evento térmico de decomposição (em torno de 80 %) que indica perda de matéria orgânica do material. Por fim, após 500 °C foram atingidos de 3 – 5 % da massa inicial e essa faixa manteve-se constante até 1000 °C. Esse resíduo corrobora com a presença da matriz inorgânica de SiO<sub>2</sub>. Os resultados sugerem estabilidade térmica do material em aproximadamente 250 °C e são compatíveis com as análises termogravimétricas de materiais a base de sílica reportadas na literatura <sup>56</sup>.

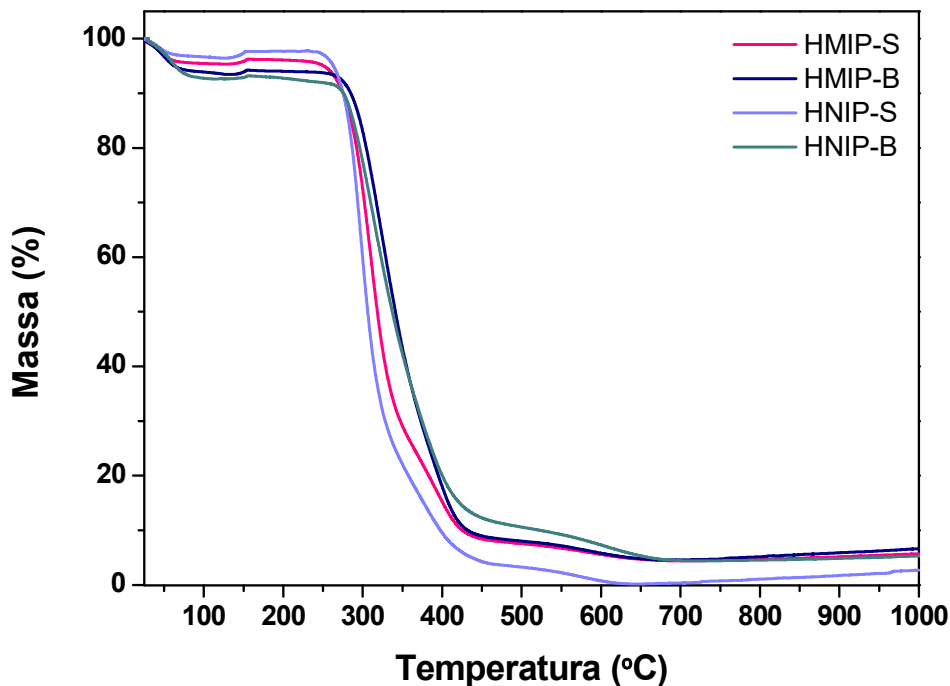


Figura 17. Curvas de TG das amostras dos com os polímeros híbridos obtidos pelas condições de processo em *bulk* e em suspensão.

As características morfológicas das partículas poliméricas e o aspecto textural dos polímeros podem ser observados pelas análises de MEV (Figs.18 e 19). Para a síntese em suspensão foram obtidas partículas esféricas definidas com aspecto uniforme, conforme observado nas imagens da Figura 18. Já as partículas heterogêneas dos polímeros obtidos pelo processo em massa estão demonstradas na Figura 19. Nos dois materiais, a porosidade aparente no HNIP é menor do que a do seu respectivo HMIP sendo mais evidenciada nos polímeros obtidos pelo processo de suspensão (Fig. 18 B e D). Tal observação foi corroborada pelos ensaios porosimétricos que resultaram em áreas superficiais mais altas para os HMIPs quando em comparação aos HNIPs (Tabela 3). Essa maior porosidade dos polímeros impressos pode estar relacionada a presença da SAC no processo de síntese. Os ensaios porosimétricos também demonstraram maior volume de poros no HMIP-S em comparação ao HNIP-S, o que também pode ser visualizado nas imagens de MEV (Fig.18). É evidente os resultados superiores com relação ao processo de suspensão quando em comparação ao processo em massa, principalmente quando se observa os resultados de área superficial e volume de poros dos polímeros impressos e controles (Tabela 3).

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

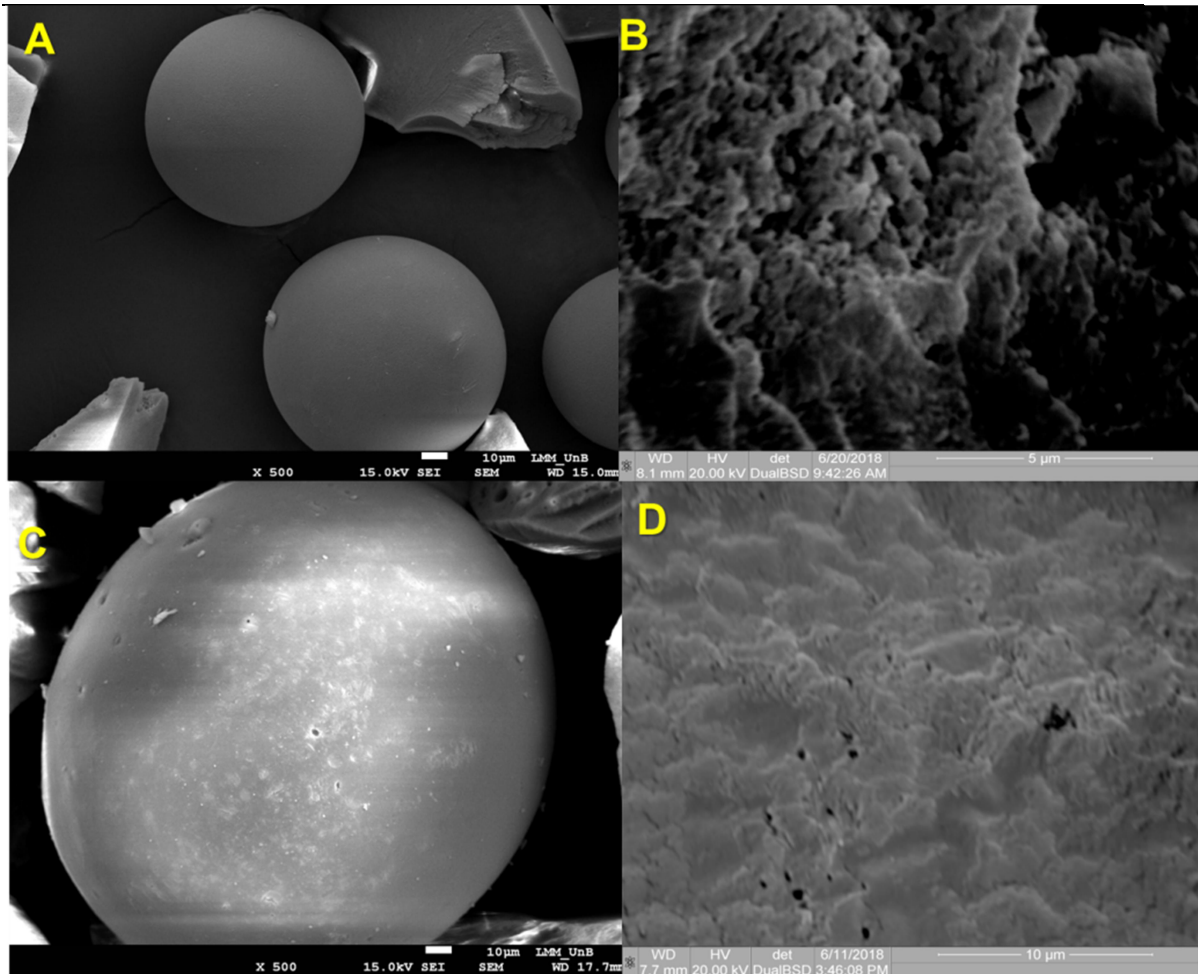


Figura 18. Fotomicrografias eletrônicas de varredura do HMIIP-S (A) com aproximação de 500 vezes e (B) de 10000 vezes e do HNIIP-S (C) com aproximação de 500 vezes e (D) de 10000 vezes.

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

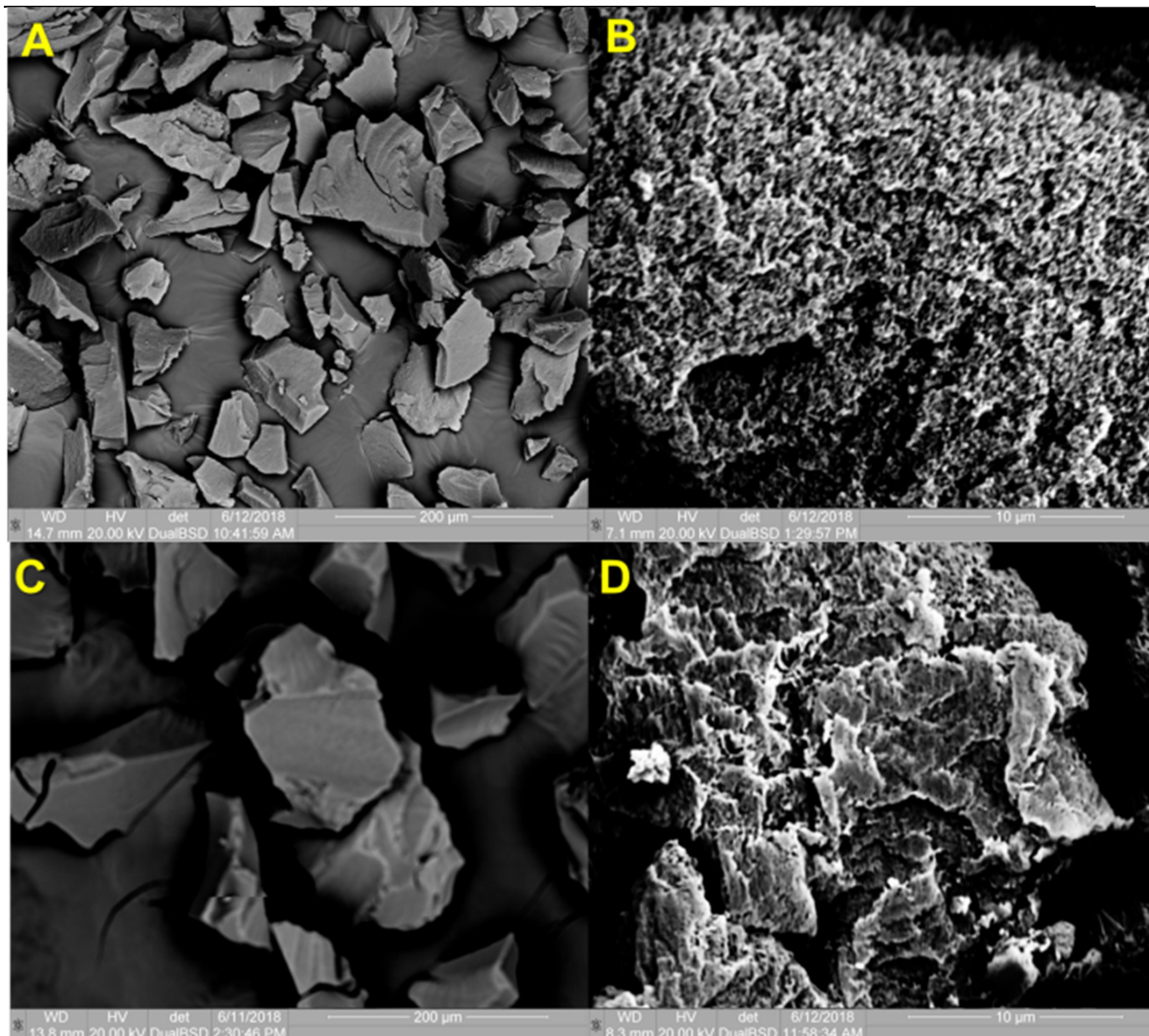


Figura 19. Fotomicrografias eletrônicas de varredura do HMIP-B (A) com aproximação de 500 vezes, (B) e de 10000 vezes e do HNIP-B (C) com aproximação de 500 vezes e (D) de 10000 vezes.

Tabela 3. Resultados dos ensaios de porosimetria dos polímeros.

Polímero	Área superficial ( $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ )	Volume de poros ( $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$ )	Diâmetro médio de poros (nm)
HMIP-B	231,392	0,253	2,63
HNIP-B	147,128	0,270	2,83
HMIP-S	199,728	0,243	2,70
HNIP-S	23,944	0,011	2,06

Com relação a classificação dos poros desses materiais, todos os polímeros podem ser considerados mesoporosos segundo a IUPAC<sup>100</sup> (diâmetro de poros entre 2 – 50 nm). Trabalhos na literatura com materiais similares atribuem essa característica as propriedades híbridas do material<sup>43</sup>. Observando a área superficial do HMIP-B percebe-se que essa foi 1,5 vezes maior do que a do HNIP-B. Esse efeito



## SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

é comum nos processos em massa devido a alta agregação das partículas. Já para a síntese em suspensão, o aumento foi mais substancial, enquanto o HMIP-S apresentou uma área de superfície 8 vezes maior que seu respectivo controle. Em relação ao volume de poros, no processo de suspensão foi mais notável a diferença entre o HMIP e o HNIP. Esses parâmetros geralmente contribuem para melhorias na cinética de adsorção por comportar maior volume de água contendo o analito a ser extraído.

Esse volume de água pode influenciar nas propriedades mecânicas e na permeabilidade da solução nos HMIPs através da taxa de intumescimento do material. A taxa de intumescimento de polímeros hidrofóbicos em presença aquosa ainda é um fenômeno complexo, que ocorre de maneira desregular <sup>101</sup> e quanto maior for o grau de sorção de água maior a deformação das cavidades impressas <sup>102</sup>. Nesse sentido, os resultados de TI (Tab. 4) para os HMIPs demonstraram uma capacidade de sorção adequada em amostras aquosas, menores que as dos polímeros hidrofóbicos relatados na literatura que é na faixa de ~1000 mg de água por g de MIP <sup>102</sup>. Assim, a água não se acumula no material, o que é mais comum nos materiais predominantemente orgânicos, favorecendo com que o mesmo possa ser reutilizável e mais robusto as alterações pela presença de água. Esses dados evidenciam que a inserção das cadeias de sílica nos materiais proporcionaram maior hidrofiliabilidade aos polímeros e, por consequência, maior adequabilidade para a aplicação dos mesmos em meio aquoso, que são as matrizes de estudo nesse presente trabalho de tese.

Tabela 4. Taxa de intumescimento dos HMIPs.

	Polímero	TI	(Q) mg de H <sub>2</sub> O/ g de HMIP
1	HMIP-B	0,35	300
2	HMIP-S	0,30	380

### 3.3.4 Estudos preliminares do pH de adsorção da SAC no HMIP-S

Tendo em vista as propriedades químicas da SAC e dos HMIPs foram realizados estudos preliminares de pH de adsorção em soluções de SAC na concentração de 20 mg L<sup>-1</sup> em pH: 3, 5, 7 e 10 com o procedimento experimental similar ao item 3.2.5.1. Os estudos demonstraram que a capacidade adsortiva do material aumenta em pH < 7,0. Esse efeito pode estar relacionado a protonação dos grupos amida advindo do APTES-MAA (pKa = 10,53) e também a presença dos grupos silanol (pKa = 4,8) da matriz de sílica incorporada que facilitam a ligação com os oxigênios não pareados da SAC. Segundo, Williams e colaboradores <sup>103</sup> esses locais são aceitadores de ligação de hidrogênio e podem se ligar mais fortemente aos

## SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

sítios amina e amida resultantes do pH ácido. Dessa forma o material pode apresentar uma superfície carregada positivamente que permite com mais facilidade a atração eletrostática da SAC e, em sequência a ligação específica de hidrogênio. Para tanto, em todos os ensaios adsortivos/extratores, as soluções de SAC foram acidificadas com HCl de modo a atingir o pH = 3,0.

### 3.3.5 Cinética e equilíbrio de adsorção dos HMIPs

Os resultados obtidos dos ensaios de cinética de adsorção estão demonstrados na Figura 20. Os dados demonstram que em torno de 20 min, 80 % da capacidade adsortiva dos materiais foi atingida ( $Q_{exp}$  para o HMIP-B foi  $0,76 \text{ mg g}^{-1}$  e para o HMIP-S  $2,72 \text{ mg g}^{-1}$ ) que indica o estabelecimento do equilíbrio adsortivo.

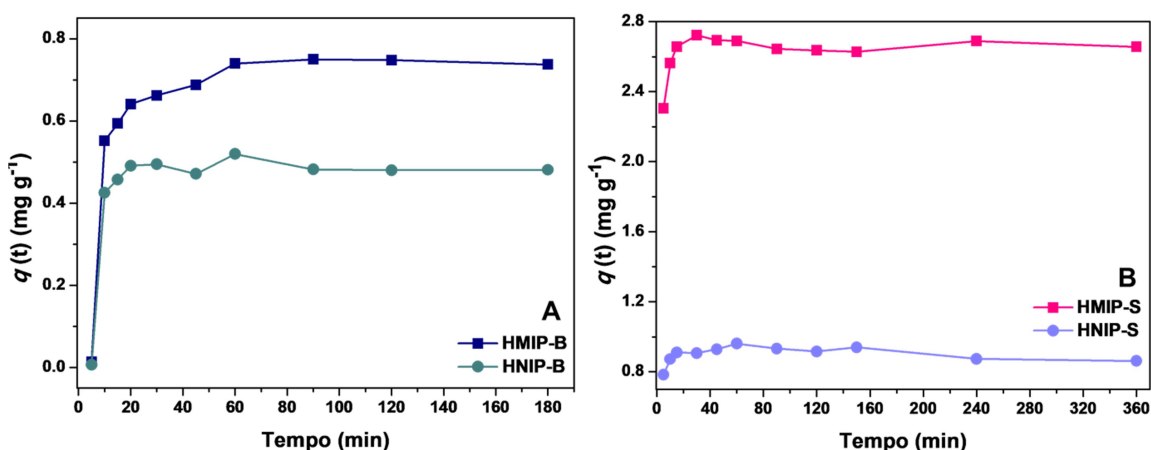


Figura 20. Efeito do tempo para a quantidade adsorvida de SAC para os polímeros HMIP-B (A) e HMIP-S (B).  $Q_{exp}$  HMIP-B:  $0,76 \text{ mg g}^{-1}$  e  $Q_{exp}$  HMIP-S:  $2,72 \text{ mg g}^{-1}$ .

Nos primeiros cinco minutos observou-se uma  $Q(t)$  calculada (Equação 1) para o HMIP-S cerca de 164 vezes maior que o HMIP-B. Esse efeito pode estar relacionado a maior acessibilidade dos sítios presentes no material em suspensão, que por apresentar um processo de síntese mais controlado de formação das cadeias poliméricas pode apresentar poros e cavidades menos profundos e mais acessíveis a SAC. Através da aplicação dos modelos cinéticos (item 2.1.4) observou-se que em ambos os processos de síntese (Tabela 5) houve ajuste dos dados ao modelo de pseudo segunda ordem. A rápida cinética de adsorção do HMIP-S foi corroborada com o  $K_2$  relatado de  $43,029 \text{ min}^{-1}$  pelo modelo, que sugere alto índice de adsorção com o tempo<sup>56</sup>. O equilíbrio adsortivo em ambos os materiais atingiu um platô após 40 e 60 min para HMIP-S e HMIP-B, respectivamente.

Neste sentido, esses resultados demonstraram que o MIP obtido pelo processo de suspensão apresentou maior cinética e capacidade de adsorção quando

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

comparado ao MIP obtido pelo processo em massa. Tais benefícios são de alta relevância quando se trabalha com processos de extração, uma vez que impactam diretamente na frequência analítica e uso de massa do material <sup>3</sup>.

O ajuste adequado dos dados empíricos ao modelo de pseudo segunda ordem ainda foi confirmado pela aproximação do  $Q_{exp}$  (Fig. 20) ao  $Q_e$  teórico (Tabela 5) para os MIPs. A modelagem de pseudo segunda ordem sugere que a taxa de ocupação dos sítios de adsorção é proporcional ao quadrado do número de locais desocupados e que o adsorbato (SAC) pode se ligar a dois locais ativos com diferentes energias de ligação. Assim, a descrição do modelo apresentou-se adequada às propriedades heterogêneas desses materiais que possuem em sua matriz polimérica tipos diferentes de local de adsorção tal como representado na Fig. 21, que podem ser eles tanto de origem química, quanto física <sup>3</sup>.

Tabela 5. Parâmetros dos modelos cinéticos aplicados aos HMIPs e HNIPs.

	Pseudo primeira ordem			Pseudo segunda ordem		
	$K_1$ (min <sup>-1</sup> )	$Q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	$R^2$	$K_2$ (min <sup>-1</sup> )	$Q_e$ (mg g <sup>-1</sup> )	$R^2$
HMIP-B	0,031	0,281	0,915	0,037	0,776	0,989
HNIP-B	0,005	0,052	0,047	0,026	0,522	0,987
HMIP-S	0,000	0,103	0,093	43,029	2,667	0,999
HNIP-S	0,000	0,052	0,001	0,156	0,858	0,999

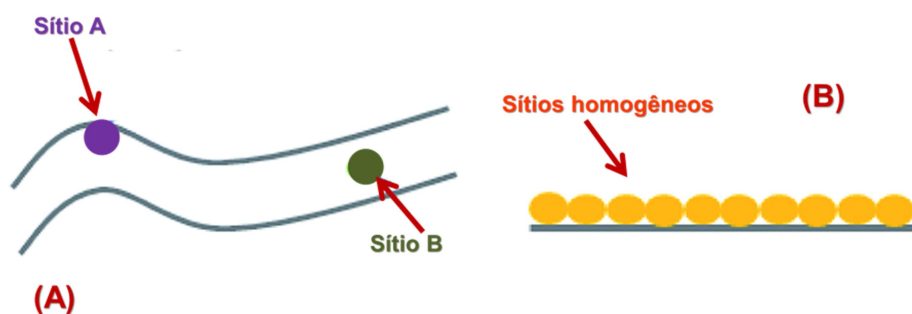


Figura 21 (A) Esquema hipotético de um adsorvente heterogêneo que contém locais diferentes de energia de adsorção em uma mesma superfície e (B) adsorvente com sítios de adsorção homogêneos. Adaptado de Kumar e colaboradores <sup>50</sup>.

O FI = 2,9 obtido para o HMIP-S, considerando a adsorção cinética, apresentou-se superior ao MIP encontrado na literatura envolvendo impressão de superfície sol-gel para SAC, onde os autores obtiveram um equilíbrio de adsorção de 200 minutos e FI = 2,16 <sup>73</sup>. Dessa maneira, o HMIP-S demonstrou rápida adsorção com uma alta capacidade adsorptiva em períodos mais baixos (~60 min).

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

Através do estudo cinético foi estabelecido o tempo de equilíbrio adsorptivo dos materiais e então através desse foi estimada a capacidade máxima de adsorção no equilíbrio  $q(e)$  usando soluções com diferentes concentrações da SAC e modelos não lineares de adsorção (item 2.1.4). A Figura 22 apresenta as isotermas de adsorção do equilíbrio e para o HMIP-S (Fig. 22, B) a religação da SAC foi 4 vezes maior em comparação a do HMIP-B (Fig.22, A) atestando novamente que os locais desse material podem estar mais acessíveis a adsorção da SAC. Os FI(s) foram expressivamente altos, sendo 4,77 e 4,69 para HMIP-B e HMIP-S, respectivamente, comprovando a alta capacidade de adsorção e seletividade em comparação aos polímeros controle (HNIPs).

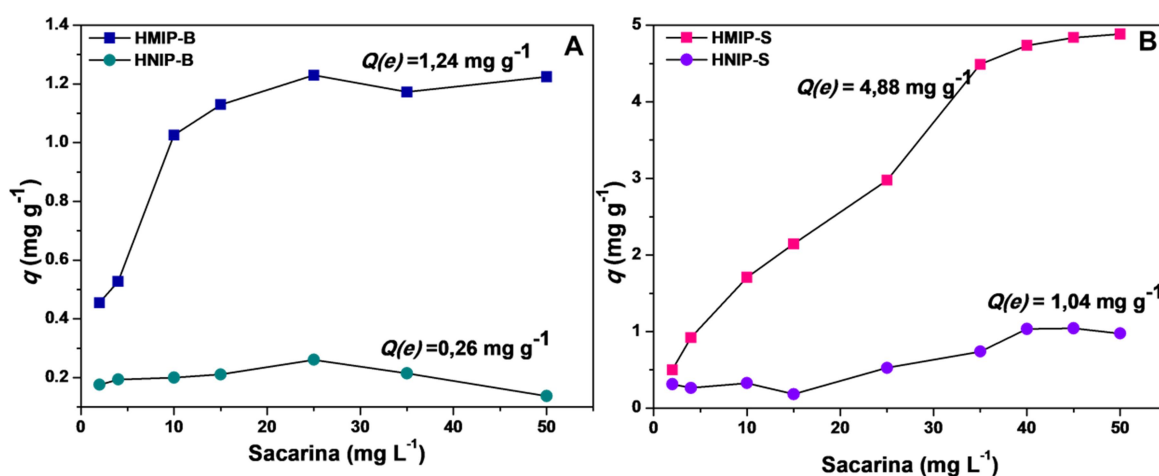


Figura 22. Isotermas de adsorção para o HMIP-B (A) e para o HMIP-S (B).

Os ajustes dos dados aos modelos isotérmicos foram conduzidos e os parâmetros obtidos por modelos não lineares estão listados na Tabela 6. Em ambos os materiais, os dados empíricos foram melhores descritos com o modelo de Langmuir-Freundlich de dois sítios (Tabela 6 e Fig. 23). Por descrever a adsorção em sítios energéticos heterogêneos distintos com distribuição de energias aleatórias<sup>50</sup>, esses resultados confirmaram o comportamento cinético de pseudo segunda ordem em ambos os HMIPs.

Tabela 6. Parâmetros isotérmicos da adsorção de SAC pelos HMIPs e HNIPs obtidos pelo processo de *bulk* (-B) e de suspensão (-S).

	Langmuir			Freundlich		
	$K_L$	$b^{**}$	$R^2$	$K_f$	$n$	$R^2$
HMIP-B	0,33	1,33	0,92	0,53	4,12	0,80
HNIP-B	3,92	0,21	-0,01	0,19	7,13	-0,02
HMIP-S	0,07	7,31	0,93	1,00	2,07	0,94
HNIP-S	0,01	7,29	0,76	0,04	1,25	0,77
	Langmuir-Freundlich (um sítio)			Langmuir-Freundlich (dois sítios)		

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

	$Q_e = \frac{b_1(K_{f1}C_{e1}^n)}{1+K_{f1}C_{e1}^n}$				$Q_e = \frac{b_1(K_{f1}C_{e1}^n)}{1+K_{f1}C_{e1}^n} + \frac{b_2(K_{f2}C_{e2}^n)}{1+K_{f2}C_{e2}^n}$						
	$K_{f1}^*$	$b_1^{**}$	$n$	$R^2$	$K_{f1}^*$	$b_1^{**}$	$n_1$	$K_{f2}^*$	$b_2^{**}$	$n_2$	$R^2$
HMIP-B	0,32	1,34	0,96	0,90	0,47	0,65	4,04	$1,1 \times 10^{-5}$	1,63	0,10	0,97
HNIP-B	1,52	0,20	1,92	-0,37	1,52	0,10	3,52	1,52	0,10	1,92	0,02
HMIP-S	$1,04 \times 10^{-5}$	271,48	0,49	0,93	1,44	3,57	1,28	2,30	1,17	1,46	0,99
HNIP-S	$8,77 \times 10^{-5}$	557,56	0,80	0,74	1,32	0,07	3,37	2,03	1,01	1,87	0,88

\*  $L g^{-1}$ ; \*\*  $mg g^{-1}$ .

As curvas expostas na Fig. 23 demonstram o ajuste do modelo de Langmuir-Freundlich de dois sítios, das quais apresentam duas zonas adsorptivas nos materiais. Os primeiros pontos delimitam o modelo de adsorção descrito por Freundlich, que pode ocorrer em locais com diferentes energias de ligação e com soluções mais diluídas. Assim, esses sítios podem ter maiores energias nos locais provenientes dos grupos carboxila derivados do MAA ou de menor energia que podem ser atribuídos ao Si-OH da APTES<sup>56</sup>. Já em maiores concentrações, o sistema fica mais complexo e o modelo descreve as zonas de adsorção da SAC compatíveis com a adsorção em monocamada Langmuiriana<sup>50</sup>, em que sítios de energia similares podem adsorver SAC até atingir o  $Q(e)$  em monocamada. A eficácia desse modelo para os polímeros em suspensão também pode ser demonstrada pela semelhança do  $Q(e)$  obtido nos dados empíricos (Figura 22, B) e pelas capacidades adsorptivas máximas teóricas previstas pelo modelo (Tab. 6, soma de  $b_1$  e  $b_2$ ), que foram: 4,74 e 1,08  $mg g^{-1}$  para HMIP-S e HNIP-S, respectivamente.

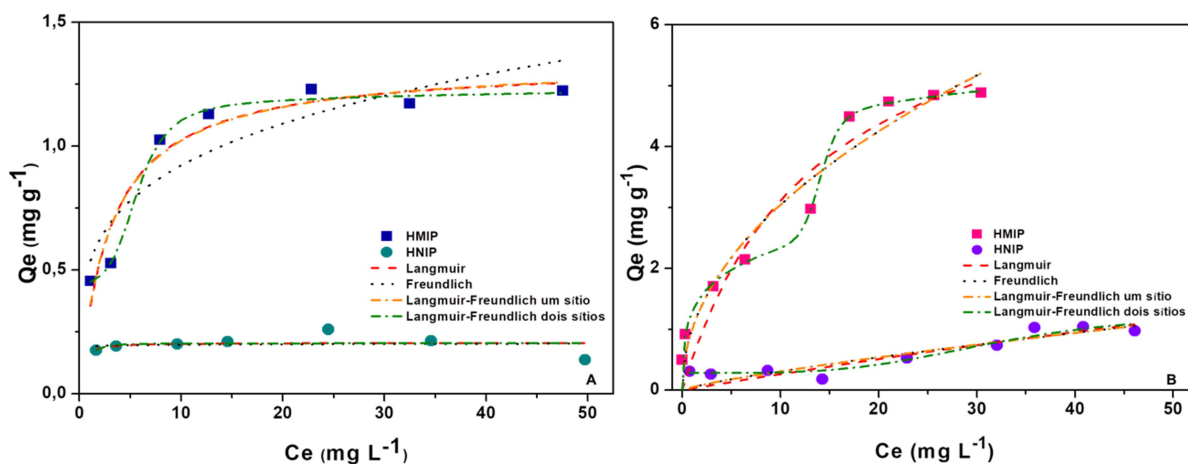


Figura 23. Isotermas de adsorção do HMIP e HNIP em *bulk* (A) e em suspensão (B) com os ajustes para os modelos descritos na Tabela 8.

Com relação ao polímero sintetizado em massa, houve ajuste dos dados ao modelo, todavia os dados teóricos apresentaram-se contraditórios aos experimentais. A  $Q(e)$  máxima obtida (Figura 22, A) para o HMIP-B foi de 1,00  $mg g^{-1}$ , a qual é menor do que o valor estimado pelo modelo teórico (2,1  $mg g^{-1}$ ) descrito na Tabela 6. Além

disso, os modelos ajustados para o HNIP em *bulk* apresentaram pobre descrição do processo adsorptivo e observaram-se notáveis oscilações entre as capacidades adsorptivas obtidas nos ensaios cinéticos (Fig. 20, A) e de equilíbrio (Fig. 22, A).

Em materiais altamente heterogêneos, como os polimerizados pelo processo em massa, irão existir muitos sítios de energias diferentes dispersos de maneira aleatória na superfície do material. Assim, sítios com alta energia de ligação eletrostática podem atrair mais moléculas alvo para sua superfície mesmo com soluções muito diluídas. Desta forma, quanto mais sítios dispersos na matriz, maior a adsorção química, o que pode explicar a alta adsorção de SAC pelo HNIP-B relatada nos ensaios cinéticos<sup>50</sup>.

Quando se migra dos ensaios cinéticos para os de equilíbrio acrescenta-se maior complexidade ao sistema, uma vez que se aumenta a concentração das espécies químicas em solução e por consequência os efeitos repulsivos interespecies. Com esses efeitos aliados a alta heterogeneidade, baixa reprodutibilidade adsorptiva e de síntese, e sítios de difícil acesso há uma forte tendência em se propagar erros sistemáticos, o que faz com que um mesmo material possa adsorver concentrações diferentes de adsorbato em um mesmo ensaio, conforme foi observado nos ensaios de adsorção com os polímeros em massa.

### 3.3.5.1 Avaliação termodinâmica do equilíbrio adsorptivo

Os parâmetros termodinâmicos da adsorção apresentam-se como uma ferramenta eficaz para atestar a existência de sítios ligações nos materiais<sup>58</sup>. Neste contexto, através do ajuste da equação de Van't Hoff (equação 11) foram obtidos  $\Delta H$  e  $\Delta S$  do processo adsorptivo, além dos valores de  $\Delta G$  para cada temperatura avaliada. Os dados obtidos estão demonstrados na Tabela 7.

Na adsorção, as forças de atração são governadas de forma a recobrir a superfície do adsorvente mediante interações com o adsorbato<sup>48</sup>. Assim, por analogia, é comum que ocorra liberação de energia quando da interação do analito com os polímeros impressos, caracterizando esse processo de adsorção como exotérmico. Os valores de  $\Delta H_{ads}$  sugeriram que a interação da SAC com os polímeros, ocorreram de forma exotérmica (Tabela 7), com forças de ligação quantificadas com valores próximos aos das ligações de hidrogênio (5 - 20 kJ mol<sup>-1</sup>), sendo mais intensas nos HMIPs do que nos HNIPs. No entanto, para o HNIP-B (Tabela 7) observou-se alta magnitude de força de ligação da SAC e embora esse dado possa parecer contraditório, esse efeito sugere que o processo adsorptivo nesse material é

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE  
IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS  
SUPERFICIAIS

comandado por interações não específicas de sítios heterogêneos dispersos na matriz do polímero.

Em geral, os valores de  $\Delta S_{ads}$  sugerem espontaneidade do processo adsortivo com aumento da entropia do sistema e diminuição da  $\Delta G_{ads}$ , com exceção do HNIP-B. Todavia, como o valor de  $|T\Delta S_{ads}|$  é menor que o valor de  $|\Delta H_{ads}|$  e  $\Delta G < 0$ , considera-se também esse processo adsortivo como espontâneo.

Tabela 7. Parâmetros termodinâmicos do processo de adsorção nos HMIPs e HNIPs.

Polímero	$\Delta H_{ads}$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	$\Delta S_{ads}$ (J mol <sup>-1</sup> )	$\Delta G_{ads}$ (kJ mol <sup>-1</sup> ) Temperatura (K)				
			283,15	293,15	303,15	313,15	323,15
HMIP-B	-18,97	0,01	-20,92	-21,07	-21,22	-21,38	-21,53
HNIP-B	-16,63	-0,02	-12,39	-12,16	-11,92	-11,69	-11,46
HMIP-S	-14,34	0,04	-15,54	-15,59	-15,64	-15,67	-15,72
HNIP-S	-3,86	0,02	-10,83	-11,07	-11,32	-11,56	-11,81

### 3.3.6 Estudos de seletividade

O estudo de seletividade avaliou as cavidades disponíveis para ocupação seletiva nos HMIPs por meio de estudos comparativos de adsorção com o polímero controle usando espécies análogas a SAC (Fig.5). O CIC e o ACE foram escolhidos devido aos grupos funcionais semelhantes aos da SAC (Fig.5) e também por serem frequentemente encontrados juntos nas mesmas amostras. Esses adoçantes também são considerados contaminantes emergentes, como a CAF, que foi incluída neste estudo por ser um dos contaminantes emergentes mais encontrados em águas superficiais ao redor do mundo <sup>76</sup>. Devido a isto, a CAF é considerada um indicador antrópico bem estabelecido em amostras ambientais <sup>76</sup> e, possui algumas semelhanças estruturais com a SAC (Fig.5), o que a torna um interferente em potencial na adsorção.

Para a quantificação das espécies foi empregado o método cromatográfico descrito em 3.2.6.1 e os tempos de retenção identificados foram de 6 min para o CIC, 8 min para o ACE, 13 min para a SAC e 20 min para a CAF (Apêndice, Figura A5). Quanto ao ciclamato, diante da sua baixa adsorvidade molar não foi possível quantificá-lo adequadamente por cromatografia, visto que sinais analíticos detectáveis foram obtidos em concentrações muito altas (~80 mg L<sup>-1</sup>). Assim, aplicou-se um método alternativo de detecção que foi devidamente otimizado para as condições neste estudo <sup>98</sup>. As análises foram feitas em soluções quaternárias contendo 15 mg L<sup>-1</sup> de cada espécie e não foi constatado interferências em exatidão e precisão do método de quantificação de CIC.

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE  
IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS  
SUPERFICIAIS

Os limites de detecção e de quantificação, LODs e LOQs (limite de quantificação, do inglês *limit of quantification*) dos métodos empregados foram estimados conforme a ANVISA <sup>104</sup> considerando as equações 15 e 16 abaixo, em que  $s$  é o desvio padrão dos resíduos e  $b$  a inclinação da curva analítica. Os dados acerca da quantificação dos analitos estão dispostos na Tabela 8.

$$LOD = \frac{3,3s}{b} \quad (15)$$

$$LOQ = \frac{10s}{b} \quad (16)$$

Equações 15 e 16: Limites de detecção e quantificação estabelecidos para os métodos.

Tabela 8. Parâmetros analíticos de quantificação do CIC, ACE, da SAC e CAF pelo método HPLC-UV (CIC, ACE e CAF) e por espectrofotometria no UV (CIC).

Analito	Faixa linear (mg L <sup>-1</sup> )	Reposta linear	R <sup>2</sup>	LOD (mg L <sup>-1</sup> )	LOQ (mg L <sup>-1</sup> )
1 CIC	5,0 – 20,0	y = 0,1641 + 0,0064 [CIC]	0,9933	0,25	0,75
2 ACE	0,05 – 17,5	y = 2000000 + 156762 [ACE]	0,9921	0,02	0,07
3 SAC		y = 26254 + 63457 [SAC]	0,9975	0,01	0,04
4 CAF		y = 10823 + 4994 [CAF]	0,9999	0,10	1,26

A presença de CAF, CIC e ACE reduziu levemente a capacidade adsorptiva seletiva do HMIP-S para a SAC, de 4,88 mg g<sup>-1</sup> para 3,78 mg g<sup>-1</sup>, considerando que foram adicionadas as altas concentrações dos interferentes. Ao observar o  $k'$  nota-se a proximidade desse valor ao FI obtido no equilíbrio adsorptivo, bastante semelhante entre os dois HMIPs (Tabela 9). Este parâmetro prevê que os HMIPs (em massa e suspensão) adsorvam 4,9 e 4,8 vezes mais SAC que seus respectivos HNIPs. Ao se comparar as constantes de distribuição (Tabela 9) nota-se também que a SAC apresentou-se mais distribuída nos HMIPs do que nos HNIPs, sugerindo assim que os polímeros impressos possuem mais sítios hábeis para adsorver a SAC.

No entanto, observando a distribuição dos interferentes nos materiais impressos, nota-se altos valores de  $kd$  para todas as espécies no HMIP-B (Tabela 9) e com isso baixos valores de coeficiente de seletividade relativa na presença dos três análogos (Tabela 9). Considerando que essas espécies também foram fortemente adsorvidas nos polímeros não impressos, é possível inferir que a maior parte dessa adsorção pode estar relacionada a trocas eletrostáticas em sítios inespecíficos, uma vez que as cavidades no material em massa possuem difícil acesso <sup>105</sup>. Assim, observando os valores de  $kd$  e  $k$  para a SAC no HMIP-S sugere-se que esse material



SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE  
IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS  
SUPERFICIAIS

além de possuir sítios mais acessíveis que o HMIP-B, possui também uma distribuição mais adequada dos mesmos nos poros do material, o que favorece maior adsorção da SAC do que dos outros interferentes. Considerando que  $kd$  representa o quanto o analito está mais retido no HMIP-S do que na solução, têm-se uma retenção bastante expressiva da SAC nesse polímero em comparação ao HNIP-S e também ao HMIP-B.

Tabela 9. Parâmetros dos efeitos de impressão ( $kd$ ,  $k$  e  $k'$ ) para SAC, CIC e CAF.

Polímero	$kd$ (mL g <sup>-1</sup> )				$k$			$k'$
	SAC	ACE	CAF	CIC	ACE	CAF	CIC	
HMIP-B	31,7 ± 0,2	157,6 ± 1,5	82,4 ± 1,3	181,5 ± 2,2	0,20	0,38	0,17	4,8
HNIP-B	6,6 ± 0,8	218,9 ± 4,3	235,5 ± 3,3	261,2 ± 1,8	0,03	0,03	0,02	
HMIP-S	358,5 ± 0,3	46,3 ± 3,0	38,8 ± 0,7	141,0 ± 1,5	7,73	9,25	2,54	4,9
HNIP-S	73,1 ± 1,1	101,1 ± 0,1	88,8 ± 2,4	216,7 ± 2,3	0,72	0,83	0,33	

Diante da avaliação realizada e dos resultados superiores apresentados pelo HMIP-S, esse polímero foi aplicado em todos os ensaios subsequentes para extração da SAC.

### 3.3.7 Extração da SAC em amostras de águas superficiais naturais

Após toda a avaliação do material aplicou-se o HMIP-S para extração da SAC em amostras de águas superficiais fortificadas. Os dados de adsorção foram comparados com uma fase sólida convencional HLB. Devido as baixas concentrações empregadas a concentração da SAC remanescente dos ensaios de adsorção foi quantificada por HPLC-UV. Os valores de recuperação obtidos para o HMIP-S foram superiores a 80% (*r.s.d.* <3,0%, Tabela 10), o que indica que o material manteve sua seletividade sem apresentar fortes interferências devido a matriz.

Em comparação a HLB, o HMIP foi superior em concentração de SAC adsorvida (Tabela 10) e ainda possibilitou a reutilização do material após empregar um procedimento adequado de recuperação, o que não pode ser feito para HLB. Dessa forma, os resultados aqui obtidos demonstram a alta potencialidade de aplicação do HMIP-S em procedimentos de extração de SAC em amostras complexas, como as águas superficiais. Cabe salientar também que a faixa de concentração estudada neste trabalho foi de 250 e 750 µg L<sup>-1</sup> que é muito menor (aproximadamente 10 vezes) que as concentrações estudadas na literatura<sup>73</sup>, devido aos altos valores de capacidade de adsorção e seletividade.

Tabela 10. Resultados de recuperação em amostras de água para diferentes concentrações de SAC utilizando o HMIP-S e HLB.

Material	Água superficial	SAC adicionada (µg L <sup>-1</sup> )	SAC adsorvida (µg L <sup>-1</sup> )	Recuperação (%)
----------	------------------	--------------------------------------	-------------------------------------	-----------------

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE  
IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS  
SUPERFICIAIS

<b>HMIP-S</b>	Ponto 1	0,00	0,00	0,00
		250	$208 \pm 0,03$	$83,5 \pm 3,4$
		750	$710 \pm 0,03$	$94,6 \pm 3,1$
	Ponto 2	0,00	0,00	0,00
		250	$215 \pm 0,01$	$86,1 \pm 1,1$
		750	$677 \pm 0,03$	$90,3 \pm 3,2$
<b>HLB</b>	Ponto 1 e 2 Amostra composta	0,00	0,00	0,00
		250	$181 \pm 0,09$	$68,10 \pm 9,1$
		750	$705 \pm 0,20$	$94,1 \pm 2,0$

### 3.3.8 Extração da SAC em água utilizando MIM.

A tecnologia de separação por membrana é vastamente empregada em processos de purificação e amostragem passiva em química analítica ambiental <sup>61</sup>. Todavia, as membranas não conseguem diferenciar compostos de estrutura similares. Dessa forma, a produção das MIMs é uma das estratégias de separação mais estudadas atualmente para maximizar a seletividade nos procedimentos de separação com membrana. Com relação a amostragem passiva, a utilização da MIM possibilita extrações *in situ* que podem suprimir ou eliminar algumas das etapas entre a amostragem e preparo de amostra proporcionando maior seletividade de separação, redução das perdas do analito, aumento da precisão analítica e melhor detectabilidade da espécie química <sup>61</sup>.

O objetivo dessa aplicação foi estudar preliminarmente as propriedades adsorptivas do HMIP-S enquanto fase ligante em uma membrana de agarose para sua posterior aplicação em amostragem direta da mesma nas amostras de águas superficiais.

Neste sentido, estudou-se o efeito da massa do HMIP-S para a extração da SAC. Com relação as percentagens estudadas, a membrana com 10 % do HMIP-S apresentou maiores adsorções da SAC, em torno de 10 µg conforme se pode observar na Figura 24. Apesar dos erros obtidos nas medidas, optou-se por fixar a concentração de HMIP-S na membrana em 10 % para além de adsorver maior massa de SAC, aumentar a precisão inter-medidas.

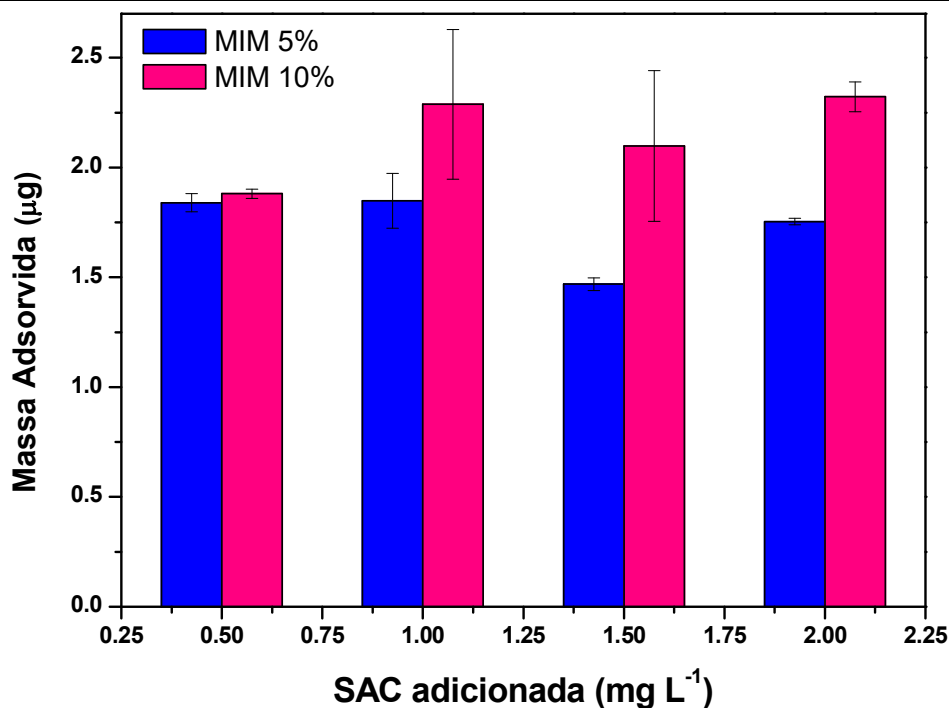


Figura 24. Massa de SAC adsorvida nas MIMs com 5 e 10 % do HMIP-S atuando como fase ligante.

Diante da massa ideal de HMIP já estabelecida, foram conduzidos estudos secundários para avaliar a adequação da membrana às condições químicas das águas superficiais. O pH de águas naturais encontra-se situado na faixa de 5–9 e a força iônica em torno de 0,01 mol L<sup>-1</sup> para águas doces e 0,5 mol L<sup>-1</sup> para água do mar<sup>72</sup>. Diante dessas condições, a capacidade adsorptiva seletiva da membrana pode ser influenciada. Assim, estabeleceu-se como fatores a força iônica foi de 0,01 a 0,1 mol L<sup>-1</sup> (NaNO<sub>3</sub>) e do pH de 5-9 devido ao objetivo de aplicação dessa membrana que será destinado a águas doces. O planejamento demonstrou que o pH 5 no nível inferior (-) apresentou-se significativo para proporcionar melhores condições adsorptivas da SAC para o intervalo de confiança de 11,10 (*t*, 95 %) – Tabela 11. Já era esperada essa melhor performance de adsorção considerando o pH 5,0, visto que os estudos de adsorção da SAC nos HMIPs revelaram melhores resultados em pH < 7,0 (Figura A4). Contudo, o fator 2 apresentou-se inerte entretanto, demonstrando que a presença dos íons não prejudica e tampouco auxilia a adsorção da SAC no material. Neste contexto, os estudos posteriores de otimização dessa membrana serão conduzidos com pH 5 e força iônica de 0,01 mol L<sup>-1</sup>.

Cabe ressaltar que apenas com esses dados iniciais de aplicação, a MIM apresentou capacidade adsorptiva com resultados similares aos outros trabalhos que utilizam MIP com fase ligante<sup>70</sup> em amostradores passivos e superiores as extrações similares utilizando HLB como fase ligante em uma membrana (>98.17 µg)<sup>99</sup>. Ainda

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE POLÍMEROS HÍBRIDOS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA ADSORÇÃO SELETIVA DE SACARINA EM ÁGUAS SUPERFICIAIS**

assim, os ensaios de adsorção foram realizados com a membrana controle e não houve adsorção significativa para a SAC na agarose. Ensaios com a membrana não impressa estão sendo conduzidos para verificar a manutenção de seletividade do material após ser imobilizado na agarose.

Os resultados obtidos até aqui indicaram que o HMIP-S apresenta-se como um material extrator de seletividade adequada para aplicá-lo como fase ligante em membranas para extrair a SAC em amostras de águas superficiais.

Tabela 11. Resultados do planejamento fatorial 2<sup>2</sup> para adsorção da SAC considerando força iônica e pH das águas superficiais.

Experimento	pH (1)	Força iônica (2)	SAC adsorvida (µg)		Média (µg)
1	-1	-1	90.27	106.07	98.17
2	1	-1	30.91	39.48	35.21
3	-1	1	91.13	91.06	91.10
4	1	1	14.83	32.28	23.56
Efeito	Valor do efeito				
Média	31				
1	-65,24				
2	-9,36				
12	-2,29				

### 3.4 CONCLUSÕES DO CAPÍTULO

A titulação espectroscópica demonstrou-se como uma ferramenta preditiva eficaz para a estequiometria de complexação da SAC ao APTES-MAA. Tendo em vista que esse monômero ainda não havia sido aplicado em sínteses com essa MM esse procedimento preliminar simplificou consideravelmente a otimização da síntese possibilitando bons resultados de seletividade e economia de reagentes. Os materiais sintetizados foram amplamente caracterizados e por meio disso foi possível evidenciar as diferenças entre os processos de síntese utilizados. Ainda com relação a caracterização, esse presente capítulo apresentou uma alternativa simples e inovadora de detecção direta da SAC no polímero que parece ser promissora para estudos de homogeneidade e certificação da remoção e/ou quantificação de MM em materiais impressos.

Com relação ao desenvolvimentos dos adsorventes, o polímero híbrido sintetizado pelo processo em suspensão apresentou maior capacidade de adsorção seletiva para a SAC, frente a outras espécies, do que o mesmo polímero obtido pelo processo em massa. Os estudos cinéticos e isotérmicos demonstraram que a adsorção da SAC ocorreu em sítios heterogêneos de maior energia, atribuídos aos sítios carboxílicos dos polímeros e também de menor energia, associados aos grupos

silanol. Os materiais apresentaram rápida taxa de adsorção com alta capacidade adsorptiva já nos primeiros minutos de contato com a SAC, o que os torna adsorventes bastante apropriados para aplicação em procedimentos de extração. Os dados termodinâmicos indicaram espontaneidade do processo adsorptivo através do aumento da entropia e diminuição da energia livre de Gibbs. As forças das ligações representadas pelos dados de variação de entalpia apresentaram-se similares a magnitude das ligações de hidrogênio, o que sugere maior predominância de sítios provenientes dessas interações dispersos pela cadeia polimérica. No que se refere à seletividade, os valores de  $k'$  foram condizentes com o FI e a  $kd$  para o HMIP-S demonstra que a distribuição dos sítios disponíveis para SAC no material é alta. O mesmo não aconteceu com o HMIP-B provavelmente devido a maior presença de sítios não específicos no material, que pode favorecer mais mecanismos de adsorção física resultando em maiores  $kd$  para outras espécies químicas, como o CIC e ACE.

Foram obtidos altos FIs (~5,0) e em relação ao HMIP-S, sua capacidade adsorptiva de 4,88 mg g<sup>-1</sup> adequada e alta seletividade de adsorção frente a espécies interferentes possibilitou altos níveis de recuperação da SAC (> 80%) em amostras de água superficial. Em comparação com a fase sólida HLB, o HMIP-S apresentou maior adsorção seletiva da SAC em menores concentrações, sendo assim uma alternativa seletiva viável para extração da SAC em matrizes complexas. Os estudos preliminares de desenvolvimento de uma membrana impressa apresentaram bons resultados de separação considerando as condições ambientais e consolida a aplicabilidade e HMIP-S para extração da SAC em diferentes condições. Assim, o próximo capítulo experimental abordará a aplicação do HMIP-S para procedimentos de SPE da SAC em matrizes complexas.

## **Capítulo 4: Extração em fase sólida molecularmente impressa para a extração de sacarina em diferentes matrizes**

---

## 4 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA MOLECULARMENTE IMPRESSA DE SACARINA EM DIFERENTES MATRIZES

### 4.1 INTRODUÇÃO

A maioria dos métodos analíticos para determinação de SAC é baseada em SPE, seguida de separação cromatográfica com detecção por espectrometria de massas<sup>105</sup>. Nesses casos, a SPE oferece um preparo de amostra reprodutível, rápido e de baixo custo, que deve ser adaptado ao método considerando a instrumentação e o grau de seletividade almejado. No entanto, as fases sólidas comerciais empregadas nesses procedimentos possuem certa limitação na seletividade, devido à possibilidade de co-extração e co-eluição de interferentes matriciais. Isso pode acarretar em diversos problemas como: turbidez, formação de emulsão e ainda suprimir ou impossibilitar a detecção do analito alvo. Assim, toda a determinação analítica pode ser prejudicada se houver um preparo de amostra inadequado<sup>105</sup>.

Devido à alta afinidade com o meio aquoso, os restritos trabalhos que aplicam os MIPs para determinação de adoçantes utilizam materiais à base de sílica como fase extratora, diante de suas propriedades adsorptivas apropriadas para a extração de íons. Como exemplo, Moein e colaboradores sintetizaram um MIP pelo processo sol-gel para extração de ACE em amostras de bebidas e foi possível obter um FI de ~5 com alta capacidade adsorptiva do material ( $450 \text{ mg g}^{-1}$ )<sup>106</sup>. Todavia, nos ensaios realizados percebeu-se que a alta concentração salina prejudica a seletividade do material devido a efeitos de competitividade de adsorção pelos sítios de atração eletrostática provenientes da sílica. Já no trabalho de An e colaboradores<sup>107</sup>, foi sintetizado um MIP híbrido inorgânico-orgânico à base de sílica e EGDMA para extração de sucralose e aspartame em amostras de várias bebidas. Através de procedimentos de incubação do material em soluções com os adoçantes foi possível obter níveis de detecção da ordem de 0,013 e 0,079  $\text{mg L}^{-1}$ , respectivamente. Os autores relataram que o material extraiu simultaneamente as duas espécies o que faz desse MIP um extrator para uma classe de espécies químicas com grupos funcionais similares e não para um analito em específico.

Para a SAC há apenas um trabalho relatado na literatura em que Zhao e colaboradores<sup>73</sup> sintetizaram um MIP sol-gel em superfície de sílica com funcionalização do ácido acrílico (monômero funcional orgânico) para extração de SAC em amostras de pêssego em calda. Curiosamente o equilíbrio adsorptivo da SAC nesse material foi descrito pela isoterma de Langmuir, que indica adsorção homogênea em sítios de energias similares, apesar da heterogeneidade adsorptiva consolidada aos

MIPs que possuem características orgânicas-inorgânicas <sup>3</sup>. O material ainda apresentou uma adsorção considerável de 2 mg de ACE por g de MIP que demonstrou-se como um interferente na adsorção da SAC. Esse forte efeito de interferência pode estar relacionado a quantidade de sítios de ligação Si-OH da base do material, que promove alta adsorção por troca eletrostática de espécies iônicas, como o ACE. Apesar da interferência constatada, os autores conseguiram um FI=2,16 e com a devida otimização da MISPE obtiveram recuperações de 86 – 118 % da SAC nas amostras analisadas com detecção por UV. Esses dados demonstram a aplicabilidade e eficiência de extração do MIP para a SAC mesmo em presença de amostras complexas utilizando uma detecção simples como a espectrofotometria no UV. Assim, a aplicação do material de alta seletividade para a SAC caracterizado no capítulo anterior poderia proporcionar níveis superiores de recuperação diante da alta seletividade observada nos estudos.

Dessa forma, o objetivo deste presente capítulo foi desenvolver dois métodos de preparo de amostra baseados em MISPE aplicando o HMIP-S para determinar a SAC em duas matrizes diferentes: chás dietéticos e águas superficiais. Neste contexto, esses estudos focarão em atestar a versatilidade e seletividade do material como uma fase sólida extratora.

## 4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.2.1 Reagentes

- Sacarina, pureza  $\geq 99$  %, Sigma Aldrich;
- Ciclamato de sódio, 98,9 %, Sigma Aldrich;
- Acessulfame de potássio,  $\geq 99$  %, Sigma Aldrich;
- Metanol, grau HPLC, pureza: 99,99 % Tedia;
- Ácido acético glacial,  $> 99,99$  %, Sigma Aldrich;
- Ácido fórmico, grau MS  $\geq 99,99$  %, Merck
- Ácido sulfúrico,  $\geq 98$  %, Vetec;
- Ácido clorídrico,  $\geq 37$  %, Vetec;
- Hidróxido de Sódio, Sigma Aldrich 98%
- Acetonitrila, grau HPLC, pureza: 99,99%, Tedia;
- Fosfato de sódio monopotássico, 98 %, Vetec.



#### 4.2.2 Equipamentos

Os mesmos equipamentos listados no item 3.2.2 e adicionalmente: bomba peristáltica, modelo: CP 78001-12, ISMATEC.

#### 4.2.3 Vidrarias e utensílios

- Tubos falcon, 15 e 25 mL;
- Tubos de ensaios, 10, 15 e 25 mL;
- Seringas de polipropileno, 5, 10, 25 mL;
- Frascos borosilicato, 100 e 250 mL;
- Vidrarias de laboratório, béqueres, balões volumétricos, balões de fundo chato;
- Membrana de PVDF para filtração, 0,22  $\mu\text{m}$ , Sigma Aldrich,;
- Membrana de nitrato de celulose para filtração, 0,45  $\mu\text{m}$ , Unifil.
- Micro pipetas automáticas;
- Bureta de 25 mL;
- Suporte universal;
- Cubeta de quartzto com tampa, volume: 3,5 mL, Ioncell;
- Tubos de Vitton (roxo-roxo), capacidade nominal :, Cole-Parmer Instrument Co;
- Tubos de ensaio com tampa, capacidade 10 mL
- Tubos Falcon de 15 mL e 45 mL;
- Fritz de polipropileno, 0.22  $\mu\text{m}$ ;
- Vials âmbar, capacidade máxima 2 mL;
- Cartuchos HLB (Oásis) – 500 mg, 6 mL.

#### 4.2.4 Confeção dos cartuchos de extração

Os cartuchos foram confeccionados utilizando seringas de 5 mL. Na parte inferior da seringa foi inserido um fritz de polipropileno e em sequência uma membrana de filtração de 0,22  $\mu\text{m}$  foi devidamente cortada e alocada por cima do fritz (Fig.25). A massa do HMIP-S foi pesada no próprio cartucho e outro fritz foi inserido na parte superior do sólido de modo a comprimir a massa do HMIP-S. Para o procedimento MISPE em amostras de bebidas (MISPE I) foram confeccionados cartuchos com duas massas diferentes: 100 e 200 mg. Para o procedimento MISPE objetivando aplicação em amostras de águas superficiais (MISPE II) utilizou-se a massa de 500 mg que foi estabelecida em termos de comparação com os cartuchos HLB que contém essa mesma massa.

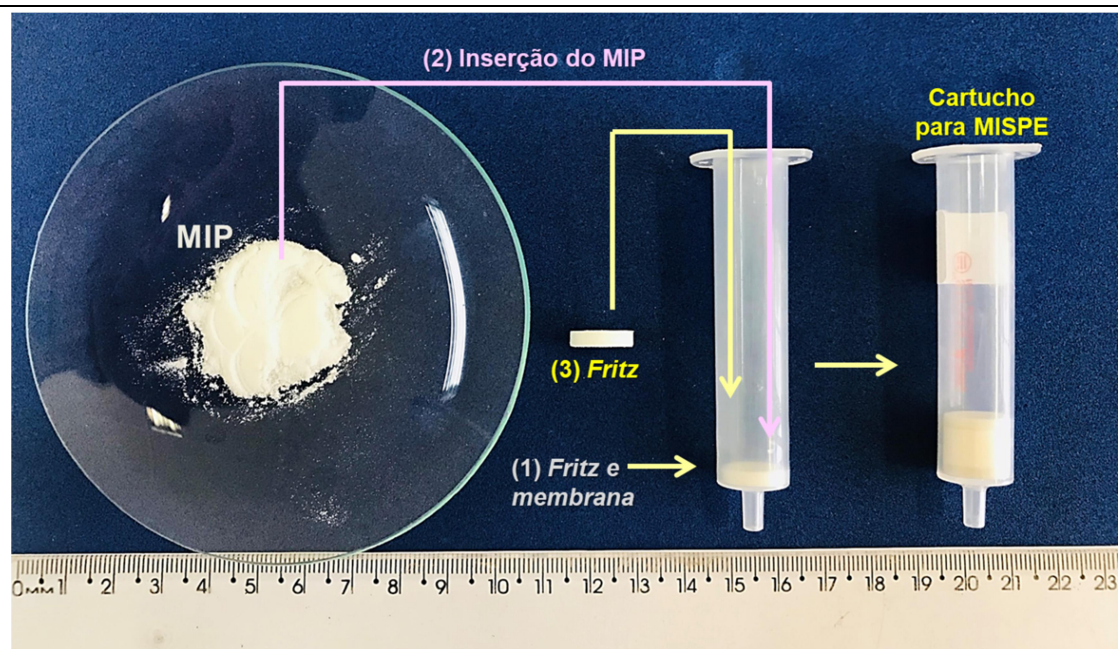


Figura 25. Esquema de montagem do cartucho MISPE. (1) adição do *fritz* inferior e membrana de PTFE 0,22  $\mu\text{m}$  devidamente recortada; (2) adição da massa aferida de HMIP-S e (3) adição do *fritz* superior para compactação da massa.

#### 4.2.5 Montagem do sistema de extração

O sistema de extração foi construído em modo *off-line* e consistiu no acoplamento dos cartuchos de extração por meio de tubos de vitton na bomba peristáltica (Fig. 26). Os cartuchos foram apoiados por meio de um suporte universal.

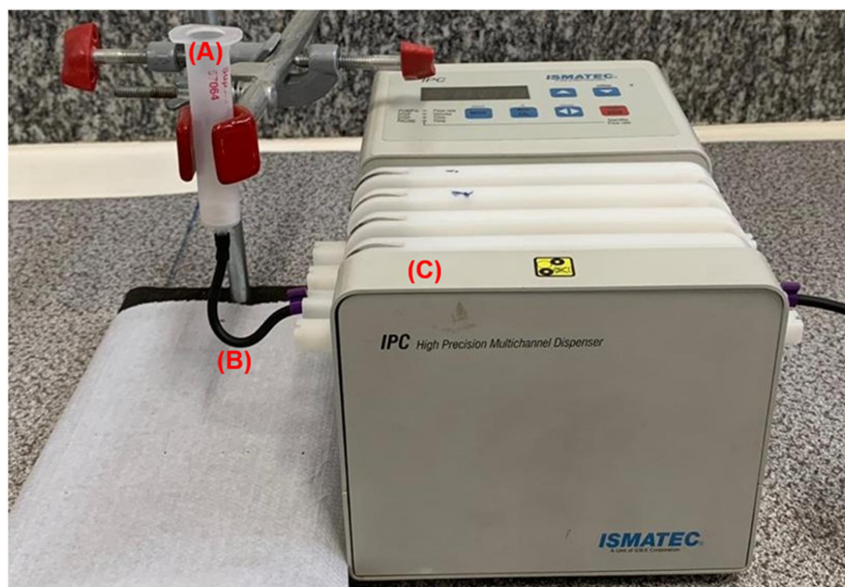


Figura 26. Sistema MISPE. (A) cartucho de extração; (B) tubo de vitton roxo/roxo e (C) bomba peristáltica. Adaptado de Domingues<sup>108</sup>.

#### 4.2.6 Avaliação dos parâmetros de MISPE para amostras de chá dietético

Para avaliar as condições ideais e as contribuições dos fatores para maiores recuperações da SAC no procedimento de MISPE I aplicou-se um planejamento fatorial 2<sup>3</sup>. Os fatores e níveis estudados estão listados na Tabela 12. Para a etapa de condicionamento verificou-se a influência da ordem dos solventes nas etapas de equilíbrio e ativação da fase sólida.

O procedimento analítico foi conduzido de acordo com as seguintes etapas com a execução aleatório: I) condicionamento: foram percolados 1 mL do solvente de equilíbrio seguidos de 1 mL do solvente de ativação (vazão 1 mL min<sup>-1</sup>) II) *loading* da amostra: 9 mL do padrão/amostra foram percolados em vazão de 0,7 mL min<sup>-1</sup>. III) lavagem: 2 mL de água destilada foram percolados a uma vazão de 1 mL min<sup>-1</sup> e IV) eluição: utilizou-se 3 mL de solventes percolados pelo HMIP-S em vazão de 0,7 mL min<sup>-1</sup>. Os eluatos foram quantificados no UV e para as amostras foi empregada a separação cromatográfica (HPLC-UV) descrita no item 3.2.6.1 do capítulo anterior com o método estabelecido que foi descrito na Tabela 8.

Tabela 12. Fatores e níveis avaliados no planejamento fatorial 2<sup>3</sup> da MISPE I da SAC.

Fatores		Níveis	
		-1	1
1	Solução usada no condicionamento (equilíbrio/ativação)	Metanol/ HCl 3,0 mol L <sup>-1</sup> pH~3	HCl 3,0 mol L <sup>-1</sup> pH~3/metanol
2	Massa HMIP-S (mg)	100	200
3	Solução eluente	Tampão hidrogenocarbonato pH = 9	Metanol pH ~9

Após o estabelecer as melhores condições do procedimento MISPE avaliou-se univariadamente o efeito da vazão de *loading* para adsorção da SAC no HMIP-S. Para tanto realizou-se três processos de extração em vazão de 0,5; 0,7 e 1,0 mL min<sup>-1</sup> com solução de SAC 5 mg L<sup>-1</sup> e a % de recuperação foi estimada por HPLC-UV. Para corroborar a seletividade e interações específicas construiu-se um cartucho de extração com 200 mg do polímero controle HNIP-S e realizou-se o procedimento de extração com a solução de SAC 5 mg L<sup>-1</sup>.

#### 4.2.7 Determinação do volume de *breakthrough* e capacidade adsortiva do HMIP-S na MISPE I

Para estimar a capacidade máxima adsortiva do cartucho construído foi conduzido um ensaio de volume de *breakthrough* da massa de HMIP-S considerando uma concentração de 1,5 mg L<sup>-1</sup> da SAC (pH ~3). Primeiramente condicionou-se o

cartucho conforme procedimento estabelecido. Com o auxílio de uma bureta de 25 mL adicionaram-se alíquotas de 5 mL em vazão de 0,7 mL min<sup>-1</sup> e cada alíquota percolada era coletada em tubos de ensaios separados. A concentração remanescente da SAC foi estimada por HPLC-UV e a curva de *breakthrough* foi plotada como uma função do volume percolado x concentração da SAC percolada.

#### 4.2.8 Aplicação do método MISPE I para determinação da SAC em amostras de chá dietético industrializado

O preparo de amostra estabelecido foi aplicado para determinação da SAC em três diferentes amostras de chá industrializado comercial. Da marca A, foram selecionadas as bebidas em lata do tipo chá verde (amostra 1) e chá branco (amostra 2). Da marca B foi selecionada uma bebida em pó solúvel do tipo chá vermelho (amostra 3). As amostras foram adquiridas no comércio local e as concentrações de SAC contidas no rótulo estão listadas na Tabela 13 abaixo.

Tabela 13. Concentração de SAC nas amostras de chá dietético.

Amostra	SAC no rótulo (mg L <sup>-1</sup> )
Amostra 1	40
Amostra 2	35
Amostra 3	31

Para percolar as amostras nos cartuchos procedeu-se o seguinte pré-tratamento: para as amostras 1 e 2 foram pipetados 50 mL das amostras que foram submetidas a banho ultrassônico por 15 min. Logo após, uma alíquota de 3 mL foi diluída em 25 mL de solução de HCl (pH ~3). Já para a amostra 3 pesaram-se 129 mg do pó em um balão de 100 mL que foi completado e homogeneizado com a solução de HCl (pH~3). Essa solução foi centrifugada (10 min, 4000 rpm) e o sobrenadante foi filtrado com uma membrana de 0,22 µm. Todas as amostras foram preparadas como replicatas autênticas (n=3).

Após o pré-tratamento das amostras as mesmas foram extraídas com o preparo de amostra de MISPE I estabelecido e para minimizar a interferência da solução eluente na separação cromatográfica realizou-se a secagem do eluato em atmosfera de N<sub>2</sub> a 60 °C e em seguida o extrato foi redissolvido em 6 mL de fase móvel.

#### 4.2.9 Avaliação da MISPE para extração da SAC em amostras de águas superficiais

Com base em trabalhos na literatura envolvendo MISPE para bebidas<sup>108</sup> e SPE para determinação de adoçantes em amostras ambientais<sup>105,109</sup> foram pré-definidas as condições analíticas para MISPE II e estão listadas na Tabela 14 abaixo. Para certificar da eficiência e seletividade do HMIP-S, os resultados foram comparados com um cartucho comercial de HLB, que é o mais utilizado para esse preparo de amostra<sup>105,109</sup>. Estabeleceram-se nesse método os mesmos parâmetros de vazão do item 4.2.6 em cada etapa.

Tabela 14. Parâmetros da MISPE II estudados para extração da SAC em amostras de água superficiais.

Etapas		Condições analíticas
1	Condicionamento	5 mL de metanol seguidos de 5 mL de água ultrapura
2	<i>Loading</i>	10 mL de SAC 3,5 mg L <sup>-1</sup> em HCl pH ~3,0
3	Lavagem	Solução de metanol em água (1/9) v/v
4	Eluição	5 mL de metanol e 2,5 mL de NH <sub>4</sub> OH 2,5 % em metanol

Para observar as perdas do analito nas etapas de condicionamento, lavagem e estimar a eficiência de eluição foram construídas curvas analíticas no UV em 232 nm para cada solvente referente a essas etapas (Tabela 14) nas concentrações de 2,5 - 20 mg L<sup>-1</sup> de SAC. O extrato da eluição foi evaporado conforme o procedimento 4.2.4 e redissolvido em 3 mL de 0,1 % de ácido fórmico em MeCN para leitura no HPLC-UV.

Com o método MISPE II estabelecido, estudos de seletividade com soluções ternárias contendo 1 mg L<sup>-1</sup> de SAC, ACE e CIC (pH~3,0) foram conduzidos e a concentração da SAC e do ACE foram determinadas por HPLC-UV. Para essa etapa, os eluatos foram submetidos ao mesmo processo de evaporação aplicado no item 4.2.7 e foram redissolvidos em 10 mL de fase móvel para certificação por UV e por HPLC-UV (item 3.2.6.1). Todos os procedimentos foram conduzidos com um cartucho HLB comercial de 500 mg de fase sólida e o cartucho de HMIP-S foi construído conforme o procedimento 4.2.4 empregando também 500 mg do material.

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.3.1 Planejamento fatorial para a MISPE I

O uso do planejamento fatorial como ferramenta de triagem foi eficaz para identificar os efeitos interdependentes e obter fatores de recuperação (~100%) e pré-concentração satisfatórios, acima dos obtidos com as fases sólidas convencionais<sup>109</sup>

EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA MOLECULARMENTE IMPRESSA DE SACARINA EM DIFERENTES MATRIZES

(Tabela 15). Observa-se níveis de recuperação superiores para a maioria dos ensaios corroborando a eficácia da HMIP-S como uma fase sólida para SPE.

Tabela 15. Resultados do planejamento fatorial  $2^3$  contendo o valor médio de recuperação da SAC nos ensaios.

Experimento	Solução de condicionamento	Massa de HMIP-S	Solução eluente	Recuperação média (%)	Desvio padrão (%)
1	-1	-1	-1	85.5	9.6
2	1	-1	-1	81.5	7.3
3	-1	1	-1	76.4	9.1
4	1	1	-1	76.7	9.6
5	-1	-1	1	64.1	6.1
6	1	-1	1	54.8	1.0
7	-1	1	1	107.5	3.5
8	1	1	1	102.1	9.7

Com relação à análise dos efeitos significativos para o planejamento, realizou-se a estimativa dos erros dos efeitos, o que resultou em um intervalo de confiança de 6,593 para  $t = 2,10$ , 95 %. Nota-se que foi possível recuperar altas concentrações de SAC com resultados acima de 100 %. Os valores dos efeitos estão listados na Tabela 16 e os mesmos foram comparados ao intervalo de confiança calculado. Através da análise comparativa nota-se que a massa do HMIP-S (efeito 2) e sua interação binária com o tipo de solução eluente (23) apresentaram-se significativos para o sistema em estudo em seus níveis superiores (+). Assim, observando os dados, a massa de 200 mg do HMIP-S e metanol (pH ~9,0) como eluente apresentaram maior contribuição para maiores recuperações da SAC após o procedimento de extração.

Tabela 16. Valores dos efeitos obtidos para o planejamento fatorial  $2^3$ .

Efeitos	Valor efeito
Média	81.063
1	-4.599
2	19.174
3	2.083
12	2.046
13	-2.753
23	26.159
123	-0.103

Com relação aos eluentes empregados, observa-se que foram utilizados dois solventes básicos, com pH de aproximadamente 9,0, para extrair a SAC adsorvida no HMIP. A utilização desse tipo de solvente se dá pela sua contribuição em deslocar o

equilíbrio de adsorção no sentido de desestabilizar as ligações de hidrogênio entre SAC e sítios do MF tornando a carga da superfície do polímero mais negativa <sup>103</sup>. Dentro deste contexto, observou-se nos efeitos do planejamento fatorial que somente a interação binária desse fator combinado a massa do HMIP apresentou-se significativa para o estudo. Todavia, o nível superior que empregou metanol como solvente pode ter contribuído de forma mais efetiva por além de desestabilizar as interações de hidrogênio entre a SAC e o HMIP, também romper ligações mais fracas como as forças de Van der Waals <sup>110</sup>. Assim, estabeleceu-se o metanol (pH ~9,0) como solvente para a etapa de eluição.

O efeito principal 1 não apresentou-se significativo nesse estudo, demonstrando que não há preferência na ordem em que esses solventes são empregados nas sub-etapas do condicionamento (ativação e equilíbrio). No entanto, devido a densidade de carga da SAC em seus sítios doadores/aceptores de ligação de hidrogênio para se ligar ao HMIP-S e SAC estabeleceu-se que a sequência de condicionamento que seria mais adequada foi de 1 mL de metanol e em seguida 1 mL de HCl pH ~3,0.

O solvente de condicionamento também reduz a transferência de impurezas para o adsorvente. Ao se condicionar a fase sólida, volumes de solvente ficam permeados nos poros do material. Dessa maneira, ao se percolar a amostra, apenas as impurezas solúveis nessa fração de solvente podem migrar para a fase sólida, restringindo assim as espécies químicas insolúveis. Posteriormente, essas impurezas podem ser facilmente removidas com a implementação de uma etapa de lavagem utilizando um segundo solvente que possua força adequada para remover esses interferentes, mas não o analito de interesse <sup>111</sup>. Normalmente, para essa etapa utiliza-se a água como solvente de lavagem quando se trata impurezas polares, conforme foi estabelecido neste procedimento (Tabela 17). Além disso, o solvente pode ainda facilitar a ligação da MM no HMIP, por meio de suas propriedades químicas. Considerando a característica iônica da SAC e os sítios de ligação disponíveis nas cavidades, a presença de H<sup>+</sup> no meio pode favorecer a adsorção do analito no HMIP no sentido de protonar sítios de ligação favoráveis a essa interação <sup>111</sup>. Levando em conta esses aspectos estabeleceu-se a sequência: metanol e HCl pH ~3,0 como a mais adequada para etapa de condicionamento.

Com relação ao tempo de contato necessário para adsorção de SAC no HMIP-S foram realizados os estudos da vazão de *loading*. Conforme demonstrado no item 3.3.6, a cinética adsortiva da SAC no HMIP-S é rápida, porém foi necessário um tempo de aproximadamente 40 min para favorecer a capacidade adsortiva cinética do

## EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA MOLECULARMENTE IMPRESSA DE SACARINA EM DIFERENTES MATRIZES

material (seção 3.3.5, capítulo 3). Como adicionou-se  $5 \text{ mg L}^{-1}$  da SAC e o eluato foi pré-concentrado 3 vezes, a concentração esperada era de  $15 \text{ mg L}^{-1}$  no eluato final. Conforme se pode observar na Figura 27 não houve diferença significativa para ambas recuperações das concentrações da SAC para as vazões de  $0,5$  e  $0,7 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $14,6$  e  $14,2 \text{ mg L}^{-1}$ , respectivamente. Todavia, o valor decresce ao subir a vazão para  $1,0 \text{ mL min}^{-1}$ . Dessa maneira, prezando pela frequência analítica do método aliada às taxas de recuperação adequadas da SAC (erro relativo  $\pm 4,6 \%$ ) fixou-se a vazão de  $0,7 \text{ mL min}^{-1}$  para os ensaios com a amostra. Assim, o procedimento final otimizado para a MISPE e está apresentado na Tabela 17.

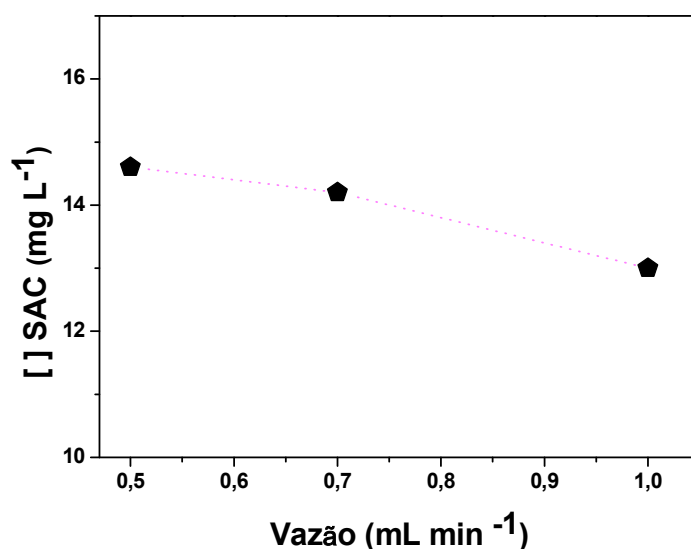


Figura 27. Efeito da vazão para adsorção da SAC no HMIP-S.

Tabela 17. Preparo de amostra MISPE estabelecido para extração da SAC em bebidas. Massa de HMIP-S empregada: 200 mg.

Etapa MISPE		Condições analíticas	Vazão ( $\text{mL min}^{-1}$ )
1	Condicionamento	1 mL de metanol e 1 mL de HCl pH $\sim 3,0$	1,0
2	<i>Loading</i>	9 mL da amostra	0,7
3	Lavagem	2 mL de água destilada	1,0
4	Eluição	3 mL de metanol pH $\sim 9,0$	0,7

Após estabelecer as condições analíticas de MISPE, avaliou-se então a seletividade do método estabelecido realizando testes com o polímero controle (HNIP-S). O polímero impresso apresentou-se em torno de 4 vezes mais seletivo para a SAC, conforme pode-se observar nos resultados expostos na Tabela 18. Enquanto fase sólida, o HMIP-S apresentou performance adsortiva superior do que outros MIPs na literatura em termos de seletividade de adsorção<sup>30,31,73,106</sup>. Além disso, esses resultados ainda demonstram que as interações da SAC e com o polímero controle



## EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA MOLECULARMENTE IMPRESSA DE SACARINA EM DIFERENTES MATRIZES

são inespecíficas e, portanto, não seletivas, comprovada pelo fato da lixiviação de 77,1% da SAC com a etapa de lavagem. Assim, através desses dados é possível atestar a que houve formação de cavidades no HMIP-S e conseqüentemente, uma extração seletiva de SAC.

Tabela 18. Resultados das percentagens de recuperação da SAC com a aplicação do método MISPE para o HNIP-S. Concentração adicionada de SAC = 5,0 mg L<sup>-1</sup>.

Ensaio	HMIP-S				HNIP-S			
	SAC recuperada (mg L <sup>-1</sup> )	Média (mg L <sup>-1</sup> )	Desvio padrão (mg L <sup>-1</sup> )	Recuperação (%)	SAC recuperada (mg L <sup>-1</sup> )	Média (mg L <sup>-1</sup> )	Desvio padrão (mg L <sup>-1</sup> )	Recuperação (%)
1	4,32	4,65	0,38	93,0	1,01	1,15	0,16	22,9
2	4,56				1,10			
3	5,06				1,32			

### 4.3.2 Volume *breakthrough* e capacidade adsortiva do HMIP-S

O volume de *breakthrough* ( $V_B$ ), ou volume de ruptura, é um parâmetro de extrema relevância em estudos com SPE. A determinação dessa propriedade do material faz-se necessária para estimar o volume máximo de amostra que pode ser percolado através da fase sólida sem lixiviação do analito para o procedimento MISPE. O  $V_B$  considera também a efetividade do condicionamento empregado, uma vez que o mesmo auxilia na disponibilidade dos sítios adsorventes para retenção<sup>111</sup>.

Para tanto, a curva de *breakthrough* foi construída de forma empírica e *off line*<sup>111</sup> e os dados referentes a esse ensaio estão demonstrados na Figura 28. O  $V_B$  estimado para esse sistema foi de 65 mL, onde apresentou o primeiro sinal detectável de SAC em 232 nm por HPLC-UV. Esse dado corresponde ao volume máximo de amostra que pode ser percolada pelo MIP sem perda considerável na massa de SAC considerando a detecção empregada.

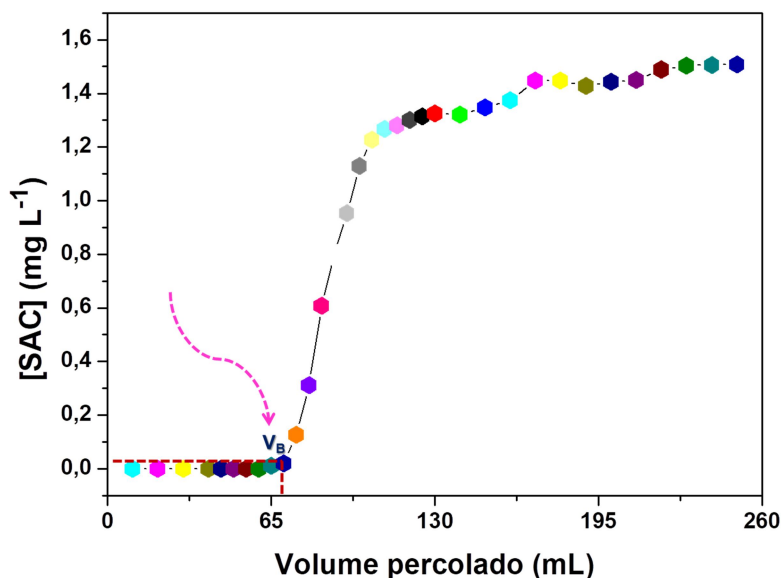


Figura 28. Curva de *breakthrough* empírica para o HMIP-S como fase sólida.  $V_B$ : volume de *breakthrough*.

Ao estimar o  $V_B$  é possível também calcular a capacidade adsortiva de *breakthrough*, que resultou em  $0,45 \text{ mg g}^{-1}$ . Observando esse valor, nota-se que o mesmo apresentou-se inferior a capacidade adsortiva máxima estimada nos estudos cinéticos (item 3.3.6), a saber  $2,72 \text{ mg g}^{-1}$ . Esse efeito já era esperado devido às diferentes condições adsortivas dos dois procedimentos. Considerando a disposição do sólido para realizar a extração, nos estudos cinéticos do capítulo anterior, têm-se o HMIP-S adsorvendo a SAC através do movimento constante do sólido com a solução que disponibiliza praticamente toda sua área superficial disponível para extração<sup>5</sup>. Quando se compacta um sólido, na construção dos cartuchos, pode ocorrer a formação de caminhos superficiais preferenciais devido a disposição fixa do material e consequente a percolação da solução dentre as partículas. Portanto, o procedimento de SPE favorece com que o tempo de contato e a migração do líquido pelos poros do material sejam menores do que o empregado na extração por incubação<sup>111</sup>.

Contudo, essa capacidade adsortiva constatada não se apresenta como um entrave em análises de amostras que contêm os analitos em nível traço, visto que é possível realizar a pré-concentração até a saturação máxima estimada do MIP. Além disso, fatores relativos ao procedimento de SPE, como a vazão e parada de fluxo da amostra no cartucho, por período determinado, podem ser realizados a fim de favorecer a migração do analito para o MIP. Todavia, em amostras mais concentradas, como é o caso das alimentícias, deve-se atentar aos fatores de diluição para evitar a saturação e consequente perda do analito no procedimento final.

### 4.3.3 Determinação de SAC por MISPE-HPLC-UV em amostras de chá dietético

Amostras de chás são matrizes complexas devido à alta variabilidade de espécies químicas enantioméricas naturais em diferentes concentrações e outros aditivos alimentares presentes quando industrializadas. O uso dos MIPs nessas análises pode simplificar expressivamente o método analítico reduzindo o custo de análise <sup>112</sup>. Para esta aplicação, as amostras de chá foram analisadas antes da extração pelo método cromatográfico previamente desenvolvido no item 3.2.6.1 e os resultados estão listados na Tabela A1 do apêndice A. Foi aplicado o teste *t* pareado (equação 17) entre os pares de dados obtidos pelo método HPLC-UV e MISPE-HPLC-UV e os métodos apresentaram-se significativamente iguais a um nível de confiança de 95 %.

$$t_{calc} = \frac{\bar{d} - 0}{s_d / \sqrt{N}}$$

Equação 17. Fórmula para aplicação do teste *t* com amostras pareadas, sendo  $\bar{d}$  é a diferença média entre os pares de amostras (=2,46) e  $s_d$  é o desvio padrão das diferenças (=6,46) para *N* resultados emparelhados. *t crítico* = 2,57 para 5 graus de liberdade.

As concentrações de SAC determinadas e as recuperações obtidas pelo método MISPE-HPLC-UV estão listadas na Tabela 19. O método estabelecido apresentou parâmetros adequados para as amostras em estudo considerando a exatidão e precisão, com valores de recuperação da SAC entre 80 e 86 % e desvios padrões relativos (*r.s.d*) entre < 5,0 %.

Tabela 19. Dados de recuperação da SAC em amostras de chá dietético mediante a aplicação dos métodos MISPE-HPLC-UV.

Amostra	[SAC] no rótulo (mg L <sup>-1</sup> )	[SAC] recuperada (mg L <sup>-1</sup> ) MISPE	<i>r.s.d</i> (%)	Recuperação (%)
Amostra 1	40	33,33 ± 1,42	4,26	85,46
Amostra 2	35	31,61 ± 1,57	4,96	80,22
Amostra 3	31	32,44 ± 0,64	1,97	86,27

Além disso, observando o cromatograma da amostra 1 (Fig. 29) antes (injeção direta da amostra) e após o procedimento MISPE, nota-se que após a extração houve uma redução expressiva do efeito matriz, com pré-concentração da SAC sem a necessidade de *clean-up* adicional da amostra com outra fase sólida. Foi obtido um extrato limpo com ausência de interferentes (Fig.29) demonstrando a eficiência, seletividade e especificidade do método resultante. Para esse procedimento, o fator de pré-concentração estabelecido foi de 3 vezes. Todavia, é possível aumentar esse valor diante da capacidade de *breakthrough* do adsorvente e da eficiência de recuperação

da solução eluente. Os resultados apresentados sugerem que o HMIP-S pode ser aplicado de forma eficiente para extração seletiva e com sensibilidade adequada para determinação para SAC também em concentrações de nível traço, como nas amostras de águas superficiais.

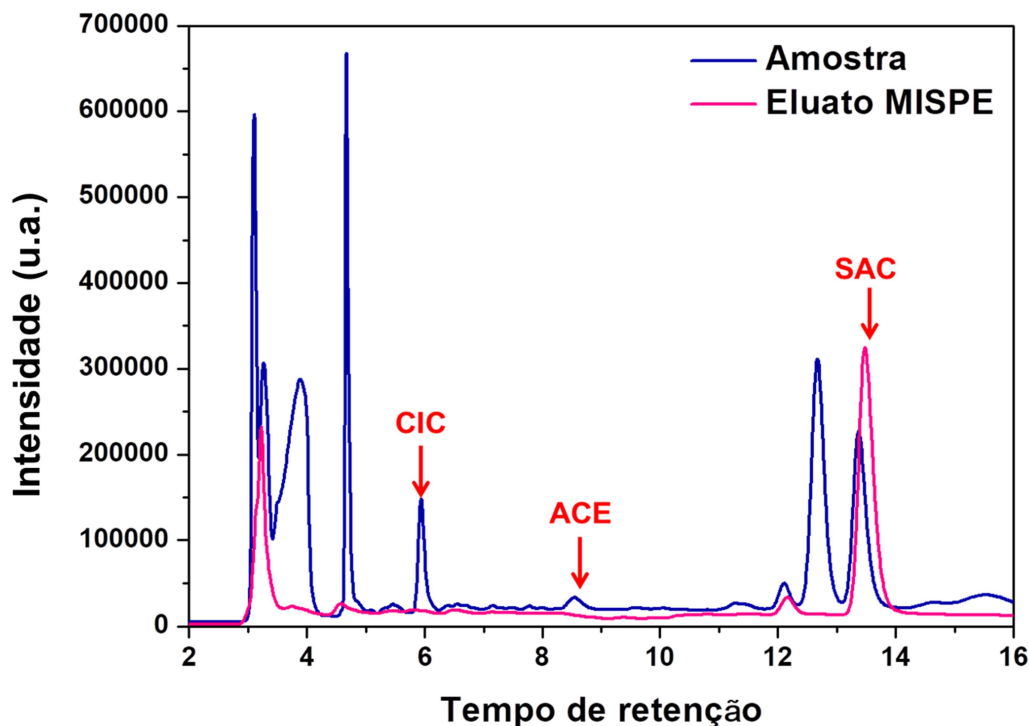


Figura 29. Separação cromatográfica da amostra 1 (chá verde) (—) e do eluato proveniente da MISPE da mesma amostra (—).

#### 4.3.4 Estudos iniciais para determinação de SAC por MISPE-HPLC-UV em amostras de água superficial

Os primeiros ensaios dessa seção experimental foram conduzidos com base em condições de SPE descritas na literatura para amostras de água superficiais<sup>109</sup>. Para a quantificar a SAC recuperada nas devidas etapas do procedimento foram realizadas curvas analíticas no UV considerando os efeitos que cada solvente poderiam acarretar na detecção. As soluções padrões da curva analítica foram preparadas em dois solventes diferentes sendo eles: (i) mistura de metanol/água e (ii) HCl pH ~3,0. A mistura de metanol/água foi dedicada a quantificar a SAC na etapa de condicionamento e lavagem e a de HCl pH ~3,0 na etapa de *loading* (Tabela 14). Para eluição, de modo a reduzir as interferências as concentrações foram quantificadas por HPLC-UV (Tabela 8). Os parâmetros analíticos de quantificação por UV para SAC estão listados na Tabela 20.

EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA MOLECULARMENTE IMPRESSA DE SACARINA EM DIFERENTES MATRIZES

Tabela 20. Parâmetros analíticos de quantificação da SAC no UV.

Solvente	Faixa linear (mg L <sup>-1</sup> )	Reposta linear	R <sup>2</sup>	LOD (mg L <sup>-1</sup> )	LOQ (mg L <sup>-1</sup> )
Metanol/água (1/9)	2,5 – 20	y = - 0,0155 + 0,0367 [SAC]	0,9991	0,51	1,72
HCl pH ~3,0		y = -0,0022 + 0,0363 [SAC]	0,9997	0,38	1,27

Quanto ao condicionamento, empregou-se o mesmo procedimento utilizado por Arbelaez e colaboradores<sup>109</sup> para a fase sólida HLB de forma a comparar a percentagem de recuperação da SAC com o HMIP-S. Após condicionar as fases sólidas, as soluções padrões foram percoladas e na solução remanescente não houve detecção da SAC para a faixa estudada que indicou extração de praticamente 99 % da SAC presente em solução para o HMIP-S e HLB. Considerando as características analíticas da quantificação (Tabelas 20 e 21), pode-se estimar então que as concentrações perdidas da SAC nessas etapas foram menores que 1,72 mg L<sup>-1</sup> devido ao LOQ estabelecido.

Já para a etapa de lavagem as concentrações também foram quantificadas abaixo do LOQ estabelecido (Tabela 20), porém próxima a concentração do LOD (Tabelas 20 e 21). Esses resultados demonstram a efetividade da mistura de metanol/água em não remover a SAC, mas remover os potenciais interferentes polares quando da aplicação em amostras. Para a etapa de eluição da SAC, os eluatos foram quantificados por HPLC-UV (Tabela 8) e foram obtidas altas recuperações da SAC (94,28 %) e expressivamente superior (1,81 vezes) para o HMIP-S em comparação ao HLB (Tabela 21). Esses resultados corroboram com a exatidão e seletividade do HMIP-S, com níveis de recuperação superiores a fase sólida convencional.

Tabela 21. Concentrações quantificadas para cada etapa de extração usando o HMIP-S e HLB.

Método/material	Etapa			
	Condicionamento	Lavagem	Eluição	Recuperação (%)
	SAC mg L <sup>-1</sup>			
MISPE (HMIP-S)	1,18	0,27	3,30	94,28
SPE (HLB)	0,89	0,34	1,81	51,71

Inicialmente a quantificação desses extratos seria determinada por espectrometria de massas, por esse motivo que as redissoluções dos extratos foram realizadas em MeCN contendo 0,1 % de ácido fórmico. No entanto, por problemas técnicos do equipamento disponível, ainda não foi possível estudar as condições ideais para quantificação com essa detecção.

Para comparar a seletividade do método MISPE II utilizando o HMIP-S e HLB, foram conduzidos estudos de extração competitiva com ACE e CIC (Item 4.2.9) e as

## EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA MOLECULARMENTE IMPRESSA DE SACARINA EM DIFERENTES MATRIZES

concentrações dos analitos foram quantificadas segundo o método HPLC-UV obedecendo os parâmetros analíticos listados na Tabela 8. Para o CIC, não foi possível quantificar o CIC devido ao alto valor de LOQ do método espectrofotométrico (Tabela 8). Os valores de recuperação para a SAC e o ACE estão listados na Tabela 22 e nota-se recuperação de 5 vezes mais SAC no HMIP-S do que em comparação ao HLB mesmo na presença de interferentes.

Tabela 22. Recuperações de SAC e ACE com a aplicação do protocolo de MISPE II.

Material	SAC adicionada (mg L <sup>-1</sup> )	SAC quantificada (mg L <sup>-1</sup> )	Recuperação de SAC (%)	ACE adicionada (mg L <sup>-1</sup> )	ACE quantificada (mg L <sup>-1</sup> )	Recuperação de ACE (%)
HMIP-S	1,0	0,67	67,42	1,0	0,08	7,99
HLB		0,13	13,49		0,01	1,00

Com relação a co-extração de ACE nota-se que o HMIP-S adsorveu mais essa espécie do que o HLB (Tabela 22). Pode-se observar um extrato mais limpo obtido pelo método com HLB (Fig.30), que sugere menor adsorção inespecífica. Com relação a esse efeito, a maior adsorção do HMIP-S para o ACE pode ser justificada com os dados de seletividade do material realizados no Capítulo 3 (Item 3.3.6). Nesses estudos observou-se altos valores de *kd* para o ACE e CIC no HMIP-S. Tendo em vista que essas espécies químicas possuem muitos sítios de aceção de ligação de hidrogênio (Fig.5), é mais provável que elas se liguem com maior força aos grupos silanol presentes no HMIP-S, do que aos sítios lipofílicos de divinilbenzeno do HLB<sup>113</sup>, justificando assim a maior adsorção do ACE no HMIP-S. Assim, para reduzir esse efeito interferente deve-se estudar solventes de lavagem mais adequados para desestabilizar essas interações superficiais (não específicas) de forma mais efetiva.

Outro aspecto que deve ser considerado é o efeito da redissolução do extrato em MeCN e ácido fórmico 0,1 %, que pode ter prejudicado a separação cromatográfica, visto que a mesma ocorre em condições controladas de pH. Observou-se uma banda cromatográfica para a SAC nessa separação (Fig.30) menos resolvida que a separação em amostras alimentícias (Fig.29). Assim, faz-se necessário estudar mais detalhadamente esse efeito.

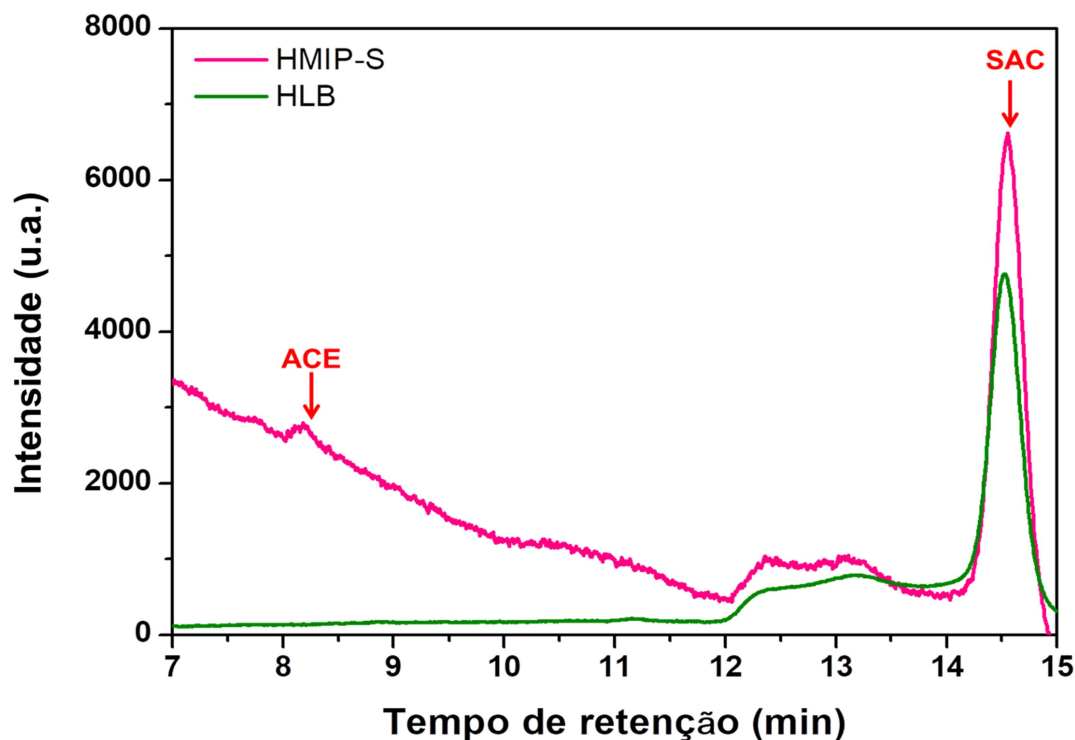


Figura 30. Cromatograma de separação do ACE e da SAC para o HMIP-S (—) e para o HLB (—).

#### 4.4 CONCLUSÕES DO CAPÍTULO

Os métodos MISPE estudados demonstraram a versatilidade do material obtido para extrair a SAC considerando matrizes aquosas. Com o uso do planejamento fatorial foi possível obter altas recuperações do analito, com um número reduzido de experimentos. O método MISPE I apresentou parâmetros adequados de exatidão e precisão, com resultados significativamente iguais a determinação por cromatografia. Foi possível obter recuperações adequadas (> 80%) da SAC presente nas três amostras de chás, com extratos expressivamente mais limpos corroborando a efetividade do preparo de amostra em extrair a SAC com maior seletividade. Os resultados preliminares de emprego do HMIP-S visando a aplicação em águas superficiais foram promissores, porém, ainda requerem ajustes para maior efetividade de separação e redução de interferência. Contudo, o procedimento MISPE II demonstrou maior eficiência de extração (94 %) e seletividade para a SAC do que a fase sólida convencional de HLB. O HMIP-S apresentou-se como um extrator versátil e eficiente da SAC em matrizes complexas e os resultados aqui obtidos ainda sugerem que o uso desse material pode acarretar vantagens instrumentais aos procedimentos analíticos, como maior tempo de vida útil das colunas de separação e detectores.

**Capítulo 5: Síntese e avaliação de polímeros molecularmente impressos para a extração de triclosan em águas superficiais**

---



## 5 DESENVOLVIMENTO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA EXTRAÇÃO DE TRICLOSAN EM ÁGUAS SUPERFICIAIS.

### 5.1 INTRODUÇÃO

O triclosan (TCS) é um fenil éter (Fig.31) com ação antimicrobiana, vastamente empregado em produtos domésticos e de higiene pessoal <sup>114,115</sup>. O amplo uso desse composto levou a acumulação de concentrações da ordem de  $\text{ng L}^{-1}$  a  $\mu\text{g L}^{-1}$  <sup>114</sup> em diversos compartimentos aquáticos, sedimentos e outras fontes de água. O TCS é altamente tóxico aos ecossistemas aquáticos e a sua presença em águas superficiais pode afetar significativamente a saúde humana causando alterações no sistema endócrino e potenciais efeitos carcinogênicos <sup>116</sup>. Ademais, em água, pode ocorrer a conversão de produtos potencialmente ainda mais nocivos que o próprio TCS, como o metil-TCS e as dioxinas <sup>117</sup>. O TCS possui uma estrutura halogenada (Figura 31), baixa solubilidade em água ( $10 \text{ mg L}^{-1}$ ) com  $\log K_{ow} = 4,76$  <sup>117</sup> e diante de todos esses aspectos pontuados, esse composto foi recentemente incluído na lista de novos contaminantes emergentes de águas sendo alvo de pesquisas atuais <sup>11,76,118–120</sup>.

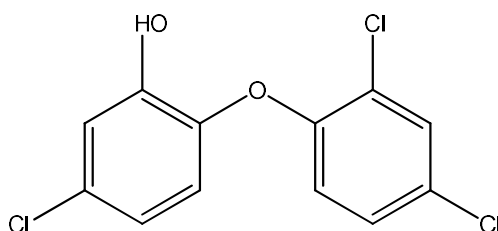


Figura 31. Estrutura molecular do TCS.

Os métodos desenvolvidos para a determinação de TCS demandam técnicas de separação e instrumentos analíticos com alta seletividade, baseados em cromatografia gasosa ou líquida por detecção de espectrometria de massas, técnicas eletroanalíticas, dentre outras <sup>121</sup>. Assim, o desenvolvimento de um MIP para essa finalidade apresenta alta relevância analítica, em termos de simplificar os métodos tradicionais de quantificação. Entretanto, conforme pode-se observar na estrutura química do TCS (Fig.31), o mesmo possui grupos funcionais limitados de aceção e doação de ligação de hidrogênio, o tornando uma MM desafiadora para produção de MIPs.

#### 5.1.1 Funcionalidade do triclosan como molécula molde

A síntese de MIPs para espécies químicas com poucos grupos funcionais é um grande desafio, uma vez que os pontos de ligação das mesmas nos monômeros

## DESENVOLVIMENTO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA EXTRAÇÃO DE TRICLOSAN EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

funcionais são limitados e isso pode prejudicar ou até impossibilitar a impressão molecular. Para o TCS existem apenas dois sítios hábeis para realizar ligação de hidrogênio e ainda há pode ocorrer a rotação das ligações éster, com relação aos dois anéis aromáticos, que podem gerar diversidades conformacionais acarretando por consequência cavidades deformadas no polímero final <sup>14</sup>.

Na literatura são poucos os trabalhos que empregam MIPs para a determinação do TCS em amostras ambientais <sup>44,122,123</sup>. Alguns trabalhos demonstram a aplicação de sensores para a sua determinação direta em produtos de higiene <sup>124</sup>. Com relação a aplicação em amostras de água, a produção desse MIP se torna ainda mais complexa devido a sua alta lipofilicidade e baixa solubilidade em água, que restringe a produção desse MIP por sínteses orgânicas.

Como exemplo, têm-se o MIP sintetizado por precipitação em superfície magnética (MMIP) por Wang e colaboradores <sup>123</sup> para separação de TCS em amostras de água. O MMIP foi sintetizado utilizando o MAA como MF e o EGDMA como AC. As etapas da MISPE foram otimizadas e através do método proposto foram obtidas recuperações em torno de 90,5 % a 108,2 % para ensaios de fortificação em amostras de água superficiais e água de torneira. Com relação às propriedades do MMIP alcançou-se um FI de 2,86, porém, o MIP apresentou capacidade adsorptiva reduzida (0,3 mg g<sup>-1</sup>) e isso pode estar relacionado com a afinidade limitada do MIP orgânico com a matriz de água.

Em outra aplicação ambiental, Verma e colaboradores <sup>44</sup> sintetizaram um MIP em *bulk* radicalar para determinação de TCS em amostras de solo. Os autores realizaram um estudo espectroscópico no UV para seleção de MFs, da qual a VP (Figura 2) se mostrou mais eficiente na complexação. Como MM, foi utilizada uma estrutura análoga ao TCS, a 4,4 diclorobenzofenona <sup>44</sup> em proporção 1:4. Foi sintetizado um MIP orgânico reticulado com EGDMA, que após estudos de SPE recuperou cerca de 83 % do TCS nos ensaios de fortificação. Então se comparou a capacidade de adsorção desse MIP com um adsorvente comercial de C18 que apresentou recuperações de em torno de 76 % de recuperação. Observando esses dados nota-se um discreto incremento de 7 % de adsorção do TCS no MIP em comparação com a C18, o que sugere uma seletividade limitada do MIP sintetizado. Além disso, os autores não realizaram estudos com o NIP que impossibilita, de fato, atestar se houve impressão molecular no material <sup>5</sup>.

A produção de um MIP para o TCS pode ser uma tarefa muito demorada e difícil visto as suas restrições químicas de impressão no polímero final. Os estudos

que envolvem a obtenção de MIPs para o TCS <sup>44,119,123</sup> realizam estudos de complexação empíricos com muitos MFs ou a produção de materiais alterando de forma univariada os componentes de síntese para comparar os FIs resultantes. Essas estratégias demandam muito tempo de bancada com gasto expressivo de reagentes. Assim, métodos computacionais de otimização têm sido bastante empregados com resultados eficientes para o *design* de MIPs com MMs complexas <sup>4</sup>.

### 5.1.2 Seleção de MFs por modelagem molecular

O uso de técnicas racionais para desenvolvimento de MIPs baseadas em estudos computacionais tem crescido consideravelmente nos trabalhos da área nos últimos anos <sup>4</sup>. Essa vertente erradica o método de tentativa e erro conduzindo estudos mais direcionados com praticamente nenhuma geração de resíduo, bem alinhada aos princípios de Química verde. Os projetos de triagem dos componentes de síntese apresentam relevância expressiva para moléculas de baixa funcionalização, uma vez que permite descartar MFs que possuam interações mais fracas com a MM. Dessa forma, o MF é selecionado mediante estimativas de intensidade de interação com a MM, em que quanto maior for a força de interação, maior a energia de ligação e estabilidade do complexo para posterior polimerização <sup>4</sup>. Assim, o uso de ferramentas computacionais pode auxiliar na obtenção de processos de impressão mais eficazes.

Tendo em vista os aspectos abordados acima, esse presente capítulo objetivou aplicar uma ferramenta computacional inovadora baseada em SAPT e estudos termodinâmicos para estimar um MF adequado para a síntese de um MIP para o TCS visando sua aplicação em processos de extração em amostras de águas superficiais.

## 5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.2.1 Reagentes

- Triclosan (Irgasan), padrão analítico, pureza  $\geq 99,9$  %, Sigma Aldrich;
- 4 – vinilpiridina; pureza:  $\geq 99$  %, Sigma Aldrich;
- Ácido metacrílico, pureza: 99 %, Sigma Aldrich;
- Acrilamida, pureza:  $\geq 99$ , Sigma Aldrich;
- EGDMA, pureza: 98 %, Sigma Aldrich;
- 2-azobisisobutironitrila (AIBN) - sólido, pureza: 98 %, Sigma Aldrich;
- Metanol, grau HPLC, pureza: 99,99 % Tedia;
- Ácido acético glacial,  $> 99,99$  %, Sigma Aldrich;
- Acetonitrila, grau HPLC, pureza: 99,99%, Tedia;

- Etanol, pureza: 99,5 %, Lab Synth.

### 5.2.2 Equipamentos

Foram utilizados os mesmos equipamentos do item 3.2.2 do capítulo 3 deste presente trabalho.

### 5.2.3 Vidrarias e utensílios

- Tubo falcon, 15, 25 mL;
- Tubos de ensaios, 10, 15 e 25 mL;
- Almofariz, pistilo;
- Seringas de polipropileno, 5, 10, 25 mL;
- Frascos borosilicato, 100 e 250 mL;
- Vidrarias de laboratório, béqueres, balões volumétricos, balões de fundo chato;
- Membrana de PVDF para filtração, 0,22  $\mu\text{m}$ , Sigma Aldrich,;
- Membrana de nitrato de celulose para filtração, 0,45  $\mu\text{m}$ , Unifil.

### 5.2.4 Parâmetros computacionais

Os estudos computacionais foram conduzidos em parceria com o Laboratório de Estrutura Eletrônica e Dinâmica Molecular – Leedmol do Instituto de Química do IQ-UnB. Cálculos de otimização geométrica e frequências vibracionais do TCS com os MFs (MAA, ACM e VP) foram realizados utilizando o pacote de química computacional Gaussian 09 disponível no Instituto de Química da UnB.<sup>125</sup> O TCS e os MFs foram otimizados separadamente empregando a DFT, através do funcional híbrido B3LYP com o conjunto de funções de base 6-311G(d) similar a outros trabalhos envolvendo cálculos teóricos com os MIPs<sup>15</sup>. Essa otimização buscou encontrar a estrutura mais estável para as espécies químicas separadamente e no complexo. Em sequência, as energias de ligação foram calculadas empregando-se a SAPT, através de um programa de acesso livre PSI4 e foram listadas todas as componentes energéticas envolvidas na complexação. Considerando as estruturas otimizadas foram estimados os parâmetros termodinâmicos de complexação no mesmo nível em que as geometrias foram obtidas, B3LYP/6-311G(d) considerando inicialmente a temperatura ambiente para avaliar a estabilidade dos complexos.

### 5.2.5 Síntese dos Polímeros Molecularmente Impressos

Tendo em vista os resultados obtidos nos estudos computacionais foram sintetizados dois MIPs com MAA e VP por polimerização em bulk. Os outros

componentes de síntese foram estabelecidos conforme trabalhos de MIPs para o TCS na literatura <sup>44,123</sup>. Portanto, as proporções para a síntese foram: 1 mmol de TCS (0,2895 g), 4 mmol dos MFs para cada síntese, que foram: **MIP/NIP-MAA**: MAA (339  $\mu$ L) , **MIP/NIP-VP** VP (430  $\mu$ L); seguido de 15 mmol de EGDMA (2,85 mL) em 4 mL de MeCN e 0,15 mmol de AIBN (0,025 g). Primeiramente misturou-se MM e MF em MeCN e a solução foi submetida a US por 15 min. Logo após, adicionou-se o EGDMA e o AIBN, e a mistura foi sonicada por mais 5 min. Em seguida as soluções foram submetidas a purga de N<sub>2</sub> (5 min) e os frascos foram completamente vedados. As polimerizações foram conduzidas a 60 °C por 24 h, com leve agitação. Em paralelo foram sintetizados os NIPs, sem a inserção do TCS na mistura de síntese. Após a polimerização, os blocos obtidos foram macerados e peneirados (56 – 125  $\mu$ m) até a obtenção de um pó homogêneo. Dessa fração 1 g dos MIPs e NIPs foram submetidos à remoção da MM, misturando-se o polímero com 40 mL de uma solução de metanol/ácido acético na proporção 9:1 (v/v) com aquecimento ~40 °C por 1 h. As soluções remanescentes do processo de lavagem foram monitoradas espectrofotometricamente em 280 nm a cada extração para se certificar da remoção completa do TCS.

### 5.2.5.1 Avaliação da impressão molecular

Após a remoção do TCS, os polímeros foram submetidos a uma avaliação de adsorção em estudos de batelada com diferentes solventes <sup>9</sup>. Nesse sentido, foram selecionados alguns solventes com características próximas da MeCN para fins de comprovação. Para esses estudos utilizou-se os seguintes solventes: 1) etanol/água 30/70 v/v (hidroalcoólica); 2) água; 3) MeCN. Pesou-se 50 mg dos polímeros (MIPs e NIPs) em tubos falcon ou tubos de ensaio de vidro (n = 3) quando utilizou-se tolueno e, adicionou-se 10 mL de uma solução de 10 mg L<sup>-1</sup> de TCS preparada em cada solvente nos respectivos tubos. Para cada solvente foi realizado um branco, com a mesma massa de polímero. Os tubos foram agitados no homogeneizador hematológico por 4 h. Em seguida, os tubos foram centrifugados e foi realizada a leitura do sobrenadante em 280 nm.

## 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.3.1 Modelagem molecular dos complexos pré-polimerização

Esses estudos buscaram avaliar a interação do TCS com os monômeros através de métodos computacionais acurados prezando o custo computacional e precisão das aproximações utilizadas. Para encontrar o arranjo das espécies químicas

## DESENVOLVIMENTO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA EXTRAÇÃO DE TRICLOSAN EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

mais susceptíveis energeticamente a complexação empregou-se a DFT. Testaram-se diferentes conformações em diversos locais das estruturas do TCS e de cada MF e as estruturas mais estáveis estão demonstrados na Figura 32.

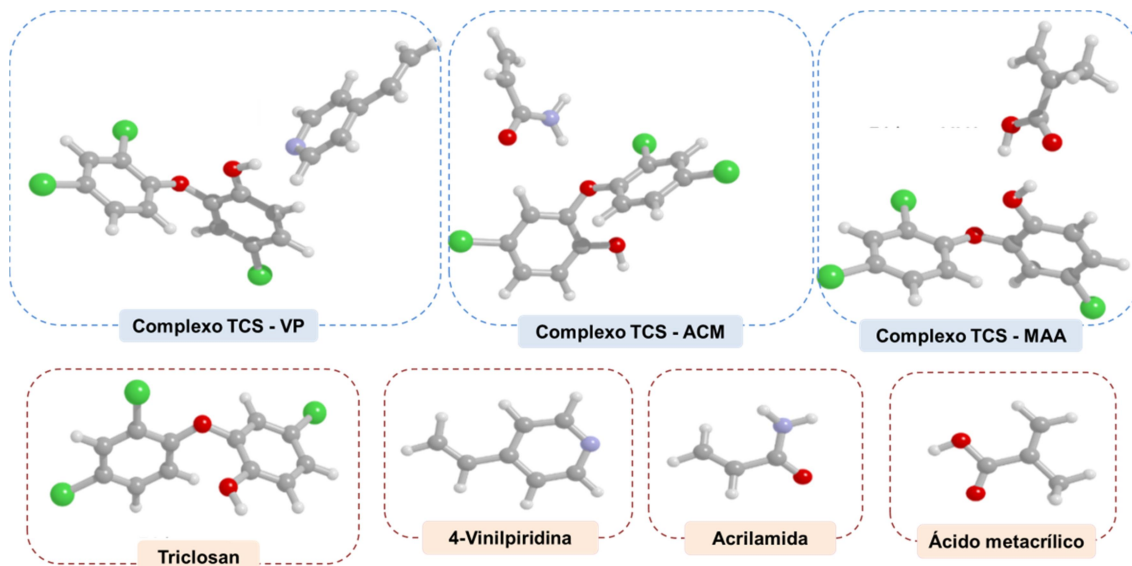


Figura 32. Estruturas mais estáveis encontradas para os complexos entre TCS e VP, ACM e MAA obtidos no nível B3LYP/6-311G(d). Átomos e suas respectivas cores - Cloro: verde; Oxigênio: vermelho; Nitrogênio: lilás; Hidrogênio: branco; Carbono: cinza.

Os únicos arranjos favoráveis a complexação foram os demonstrados na figura acima (Fig.32) evidenciando que não há diversidade nas interações intermoleculares entre o TCS e os MFs. Outras formas de complexação foram avaliadas, porém, não levaram a produtos energeticamente estáveis. Observou-se que os átomos de cloro como substituintes nos anéis aromáticos do TCS foram os principais fatores que limitaram as possibilidades de atração com o MFs.

Através dos cálculos de energia para as conformações acima se observou que os três complexos obtidos possuem altos valores de energia total negativa (Tabelas B1-B3, Apêndice B) que indica estabilidade energética para formar os complexos considerando apenas a variação de energia. Além da energia total, foram computadas as energias referentes às interações de  $E_{\text{elst}}$ ,  $E_{\text{exch}}$ ,  $E_{\text{ind}}$ ,  $E_{\text{disp}}$  para cada complexação por meio da abordagem SAPT.

Em cada produto/complexo discriminou-se os grupos químicos de maior representatividade de interação e os mesmos foram particionados para se calcular as interações. Com a análise computacional por SAPT, foi possível não somente verificar a energia envolvida na ligação de complexação, como também observar os tipos de

## DESENVOLVIMENTO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA EXTRAÇÃO DE TRICLOSAN EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

energia que mais contribui para o processo e os possíveis efeitos repulsivos com relação aos grupos das espécies <sup>23</sup>.

Para o TCS, a fragmentação se deu em três grupos: clorofenona, diclorobenzeno e hidroxila e, de forma geral, todos os MFs se ligaram apenas no grupo hidroxila. A VP e o MAA foram os MFs que se ligaram mais fortemente ao TCS, ao passo que a interação com ACM é cerca  $\cong 6 \text{ kcal mol}^{-1}$  menos estável (Apêndice B – Tabela B2).

A VP foi fragmentada nos grupos vinila e piridina (Fig.33) e as componentes energéticas indicaram que a interação  $E_{\text{elst}}$  entre o grupo vinila e hidroxila do TCS corresponde a  $\cong 57 \%$  da interação total do complexo. No entanto, a energia referente à repulsão estérica foi intensa ( $18,014 \text{ kcal mol}^{-1}$ ) da ordem de grandeza das interações eletrostáticas  $-18,732 \text{ kcal mol}^{-1}$  (ligações de hidrogênio). Neste caso, outras forças de menor intensidade estariam agindo para estabilizar o complexo.

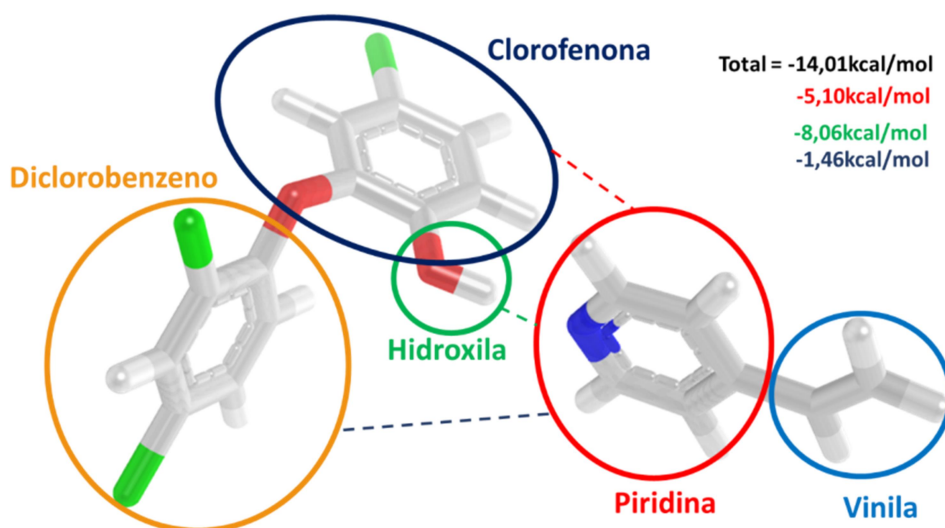


Figura 33. Esquema de fragmentação de interações intermoleculares utilizado nas análises SAPT para o complexo não covalente entre o TCS e a VP.

Observando a interação entre a piridina e a clorofenona, percebe-se que a mesma contribuiu  $\cong 36 \%$  da energia total de complexação. Os resultados sugeriram as forças de ligação mais fracas, como as energias de indução,  $E_{\text{ind}} = -8,056 \text{ kcal mol}^{-1}$  e forças de dispersão,  $E_{\text{disp}} = -5,238 \text{ kcal mol}^{-1}$  também contribuíram na estabilização do complexo. Esses dados corroboram com os resultados de adsorção do MIP sintetizado com VP para o TCS <sup>44</sup> apresentados por Verma e colaboradores, visto o incremento reduzido de extração quando em comparação a uma fase sólida de C18 indicando que interações mais fracas, como as forças de Van der Waals, foram

## DESENVOLVIMENTO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA EXTRAÇÃO DE TRICLOSAN EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

responsáveis pela adsorção. Essas interações também são dominantes em fases sólidas convencionais, como a HLB e C18.

Os resultados para a complexação do MAA com TCS foram similares ao caso anterior. O MAA foi fragmentando em ácido carboxílico e propeno (Figura 34). A Tabela B3 e Figura B3 (Apêndice B) demonstram que a repulsão estérica  $E_{\text{exch}} = 21,684 \text{ kcal mol}^{-1}$  foi também similar as energias de ligação de hidrogênio  $E_{\text{elst}} = -22,393 \text{ kcal mol}^{-1}$  sendo importantes as contribuições das forças de indução e de dispersão de London para formação do produto. Contudo, a energia de interação do complexo é fortemente governada pelas ligações de hidrogênio, visto sua ordem de grandeza  $\cong 93\%$  da complexação via hidroxila. Os dados demonstram que embora as forças mais fracas contribuam para estabilizar a repulsão, a formação desse complexo, em especial, ocorre predominantemente pela ligação de hidrogênio da carboxila com a hidroxila, sendo que a maior energia de contribuição para formação desse complexo é proveniente dessa interação (Tabela B3, linha 2). Esses valores sugerem que dentre os MFs estudados, o MAA apresentou-se mais adequado para imprimir o TCS no polímero, visto que o complexo foi estabilizado por ligações de maior força, como as ligações de hidrogênio.

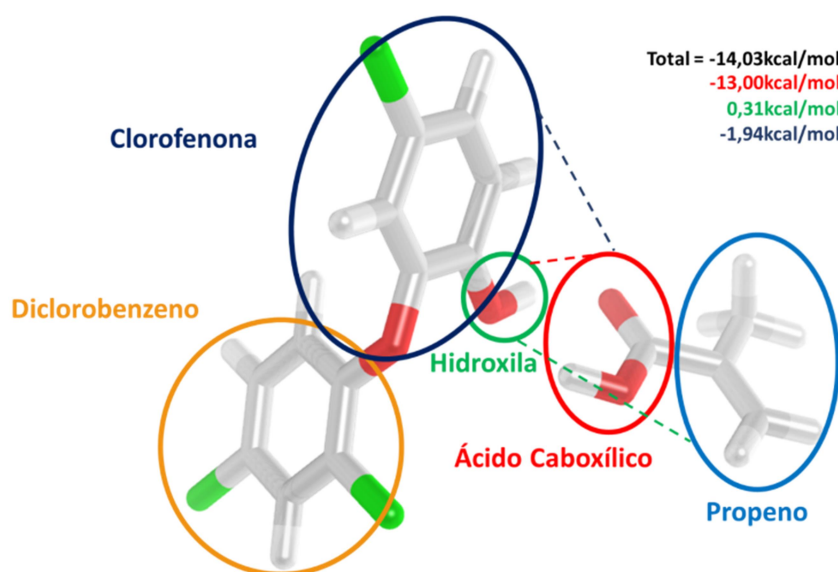


Figura 34. Esquema de fragmentação de interações intermoleculares utilizado nas análises SAPT para o complexo não covalente entre o TCS e o MAA.

Com relação a complexação com ACM, o único vetor favorável foi o da interação do grupo amida e o oxigênio na posição éster do TCS (clorofenona, Fig. 35) estabelecido preliminarmente por DFT. Dentre todos os complexos, esse foi o que demonstrou menor energia de complexação =  $-8,59 \text{ kcal mol}^{-1}$ . Desse montante a  $E_{\text{elst}}$  da amida e clorofenona representou  $\cong 79\%$  da energia total. Contudo, devido ao



forte impedimento estérico dos grupos volumosos de anéis aromáticos ligados aos átomos de cloro demonstradas nesses estudos, a formação desse complexo demonstrou pouca probabilidade de ocorrer.

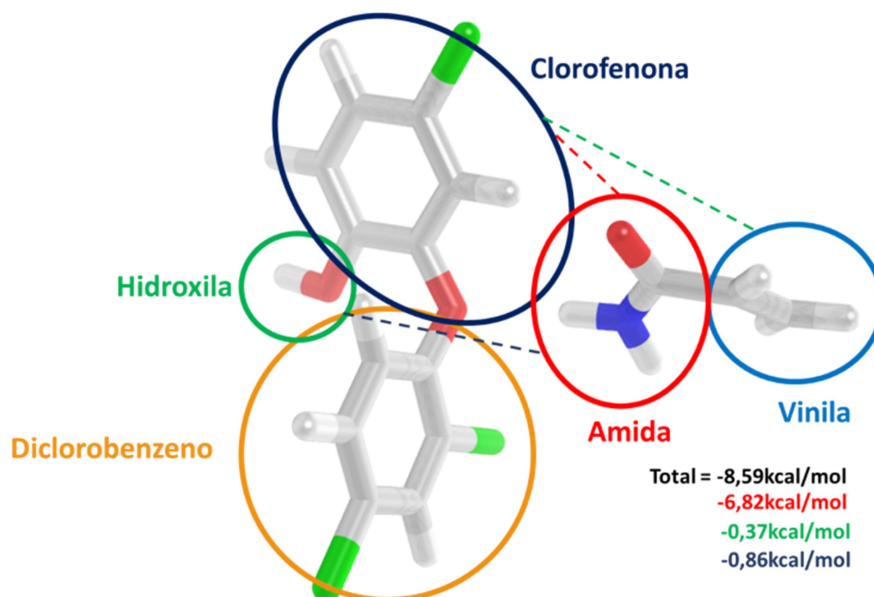


Figura 35. Esquema de fragmentação de interações intermoleculares utilizado nas análises SAPT para o complexo não covalente entre o TCS e a ACM.

Avaliando os resultados obtidos através dos estudos SAPT observa-se que dentre os monômeros estudados, os mais indicados para complexação efetiva com o TCS foram MAA e a VP com energias de interação quase equiparáveis, se utilizarmos como único critério de seleção racional as forças intermoleculares.

Adicionalmente, visando elucidar as variáveis termodinâmicas envolvidas na complexação foram realizados cálculos de frequência vibracional partindo-se das estruturas já otimizadas. As funções foram calculadas tomando-se a diferença apropriada entre a função termodinâmica de interesse para o complexo e a soma das respectivas funções termodinâmicas para o TCS e MFs em separado, conforme pode ser observado nas três equações descritas abaixo. Os dados da Tabela B4 foram substituídos nessas equações e os índices subscritos (c), para os dados termodinâmicos das equações, indicam que tais parâmetros são relacionados à complexação. Essas funções não serão incluídas na lista de equações desse trabalho de Tese por se tratar de um estudo específico a esse capítulo.

$$\Delta_c H = \sum(\varepsilon_0 + H_{corr})_{TCS:MF} - (\varepsilon_0 + H_{corr})_{TCS} - (\varepsilon_0 + H_{corr})_{MF} \quad (1)$$

$$\Delta_c G = \sum(\varepsilon_0 + G_{corr})_{TCS:MF} - (\varepsilon_0 + G_{corr})_{TCS} - (\varepsilon_0 + G_{corr})_{MF} \quad (2)$$

$$\Delta_c S = \frac{\Delta_c H - \Delta_c G}{T} \quad (3)$$

A Tabela 23 apresenta as variáveis termodinâmicas calculadas considerando a temperatura de 25 °C. As variações na entalpia sugerem que todos os complexos formados são exotérmicos e, portanto, que o aumento de temperatura não auxiliaria em melhorias na complexação. A variação de entropia sugere certa organização com relação à formação do complexo, provavelmente relacionada à restrição do movimento molecular das duas espécies atrativas (TCS e MFs). A energia livre envolvida na complexação do TCS com a ACM confirma a inviabilidade de formação deste complexo, tendo em vista que o processo não demonstrou espontaneidade ( $\Delta_c G > 0$ ). Já para MAA e VP nota-se que o processo apresenta espontaneidade termodinâmica, porém limitada. Dessa forma, esses resultados foram considerados e dois MIPs para o TCS foram sintetizados com MAA e VP conforme o próximo item experimental.

Tabela 23. Dados da termodinâmica de complexação entre o TCS e MFs a 25 °C.

	TCS -VP	TCS-MAA	TCS-ACM
$\Delta_c H$ (kcal · mol <sup>-1</sup> )	-11,22	-11,36	-4,78
$\Delta_c S$ (cal · K <sup>-1</sup> · mol <sup>-1</sup> )	-31,17	-32,12	-31,41
$\Delta_c G$ (kcal · mol <sup>-1</sup> )	-1,92	-1,79	4,58

### 5.3.2 Síntese e avaliação da impressão molecular dos MIPs

Conforme as condições experimentais descritas no item 5.2.5. realizaram-se as sínteses dos polímeros impressos: MIP-MAA e MIP-VP. Os polímeros obtidos foram macerados e peneirados das quais obtiveram-se partículas em sua maioria de 56 – 125 µm. Todos os polímeros foram submetidos ao procedimento de remoção da MM. Esse processo pode ser conduzido por diferentes soluções extratoras, a depender das propriedades físico-químicas de ligação da MM com os MF<sup>126</sup>. No entanto, de um modo geral, o solvente extrator mais utilizado é o metanol/ácido acético, devido à combinação das excelentes propriedades de solubilização do metanol aliada à presença de ácido acético que desestabiliza as ligações de hidrogênio. Para o MIP-VP, a quantidade de ciclos do procedimento de remoção do TCS foi menor (6 extrações), enquanto no MIP-MAA foram necessários 11 ciclos de extração. Isso pode indicar ligações mais fracas entre TCS-MF no MIP-VP nas potenciais cavidades diante dessa facilidade de remoção<sup>6</sup>.

Após a remoção da MM, foram realizados testes de adsorção nos MIPs e nos NIPS com diferentes solventes para avaliação de sua influência na capacidade de religação da MM<sup>13</sup>. O tempo de equilíbrio de 4 h foi adotado para esses estudos, em função dos resultados dos estudos de cinética de adsorção com MIPs similares<sup>126</sup>.

## DESENVOLVIMENTO DE POLÍMEROS MOLECULARMENTE IMPRESSOS PARA EXTRAÇÃO DE TRICLOSAN EM ÁGUAS SUPERFICIAIS

Assim, foram realizadas curvas de calibrações para o TCS em concentrações de 0,5; 2; 3; 5; 6; 8; 10 e 12 mg L<sup>-1</sup> para n = 3 replicatas idênticas para todos os solventes. Dos solventes empregados, apenas a solução hidroalcoólica e MeCN apresentaram adsorção adequada para o TCS nos MIPs. Em água, a capacidade adsorptiva dos materiais apresentou-se abaixo de 0,2 mg g<sup>-1</sup> e sem diferença efetiva na adsorção para os MIPs e os NIPs. Isso pode estar relacionado com a alta hidrofobicidade do material, que é essencialmente orgânico e assim não interage de forma efetiva com o TCS que está presente na água. Além disso, a água é um solvente bastante susceptível a realizar ligações de hidrogênio e com isso pode enfraquecer ou competir com as ligações do TCS com os potenciais sítios de ligação no polímero reduzindo a seletividade. Na presença de MeCN, os MIPs e os NIPs adsorveram completamente a massa de TCS adicionada corroborando o efeito de memória do material ao solvente de síntese <sup>25</sup>. Dos solventes empregados, apenas a adsorção com a solução hidroalcoólica apresentou diferenças de adsorção entre MIP e NIP conforme pode-se observar na Tabela 24 que indica algum incremento em eficiência de impressão. Apesar de discreto observou-se um provável FI para o polímero sintetizado com o MAA como MF. Esses dados corroboram com estudos computacionais que indicou esse MF como mais estável para se complexar ao TCS.

Tabela 24. Capacidades adsorptivas dos diferentes MIPs e NIPs em solução hidroalcoólica (70/30) sintetizados conforme o item 3.3.4.1

Capacidades adsorptivas (Q) de TCS em mg g <sup>-1</sup>			
Síntese	MIP	NIP	FI
MAA	1,91 ± 0,12	1,29 ± 0,09	1,48
VP	1,40 ± 0,09	1,97 ± 0,08	0,71

Estudos posteriores devem ser conduzidos com o monômero MAA analisando outros aspectos que podem contribuir para o incremento do FI obtido. Uma possível abordagem seria reduzir a proporção estequiométrica TCS:MAA, visto que os sítios de complexação são restritos e um excesso molar inadequado pode acarretar em muitos sítios não específicos de ligação no MIP, o que favorece para o decréscimo do FI. Outro aspecto a ser considerado é o efeito do solvente, que não foi incluído nos estudos computacionais e que pode ser um fator decisivo para a impressão molecular devido aos efeitos competitivos pelos sítios de ligação de hidrogênio. Assim, os próximos estudos com essa MM consistirão em otimizar outras variáveis envolvidas na polimerização do material que possam favorecer a impressão de cavidades no MIP

Os estudos computacionais realizados apresentaram-se como uma estratégia eficaz para prever a especificidade de ligação do TCS ao MF. As limitações energéticas relatadas foram confirmadas nos estudos empíricos. A VP, por exemplo, demonstrou-se complexar ao TCS por forças de menor intensidade. Dessa maneira, com os vários fatores envolvidos na polimerização, como a presença do AC, incidência de temperatura, influência do solvente de síntese podem ter contribuído para desestabilizar as forças complexantes do TCS-MF e assim não se obter a impressão adequada de cavidades conforme evidenciado no baixo FI desse MIP. Os resultados obtidos com relação ao MAA também apresentaram-se concordantes, uma vez a interpretação computacional indicou a formação de um complexo estável via ligação de hidrogênio com a hidroxila do TCS e do MIP resultante. Foi possível obter resultados de impressão mais adequados observando o FI maior que a unidade (= 1,48).

Um outro aspecto relevante e que vem sendo bastante estudado nos trabalhos com MIPs são os efeitos espaciais da MM para impressão de cavidades seletivas<sup>127,128</sup>. Os trabalhos têm demonstrado que a posição da MM com relação aos MFs podem direcionar o vetor de construção das cavidades produzindo diversidade de “formatos” e a quantidade de pontos de ligação determinam a complementariedade da estrutura espacial do polímero ao modelo. Assim, é essencial saber se a MM pode entrar ou não na cavidade através da orientação disponível<sup>127</sup> no MIP. Em decorrência disso, o mecanismo de reconhecimento é intensamente afetado pelo grau de correspondência das ligações presentes dentro da cavidade. Os estudos computacionais realizados, demonstraram em sua totalidade que o TCS é uma estrutura sem rigidez estrutural que assume uma posição relativa de orientação vetorial contrária para os dois anéis aromáticos (Figs 33, 34 e 35). Neste sentido, para a formação das cavidades, a orientação assumida deve a dos anéis e grupos e alternados por ser a mais estável energeticamente na polimerização. Portanto, pode ser que tenha sido formadas cavidades deformadas em termos vetoriais. Assim, uma outra solução seria estudar os efeitos de orientação da MM frente aos MFs considerando a estequiometria de complexação para então verificar a seletividade ao MIP resultante.

Contudo, apesar dos percalços, os resultados obtidos com relação a estratégia computacional para prever a complexação dos MFs com uma MM complexa como o TCS foram satisfatórios. A SAPT apresentou-se como uma ferramenta efetiva e bem interligada aos efeitos empíricos constatados. Assim, para MMs complexas, como o

TCS, o emprego de estudos prévios antes da polimerização do material é essencial em termos de economia de reagentes e tempo de bancada conduzindo assim, um desenvolvimento racional do material.

#### 5.4 CONCLUSÕES DO CAPÍTULO

Os resultados preliminares obtidos neste capítulo demonstraram que os estudos computacionais foram efetivos para indicar que nenhum MF foi adequado para produzir um MIP para o TCS. Os dados experimentais validaram as conclusões obtidas do modelo teórico de que o MIP para o TCS não é viável de ser obtido com os MFs testados. Mediante uma análise purista dos resultados, pode-se inferir que a quantificação da energia envolvida na formação do complexo pôde também indicar a intensidade de impressão/religação da MM nos MIPs. Tendo em vista os valores envolvidos na energia de ligação do MAA ao TCS ( $-14 \text{ kcal mol}^{-1}$ ), no ganho entrópico reacional e na variação de energia livre, observa-se que a magnitude desses foram baixas quando comparadas a alguns estudos da área <sup>129,130</sup>, logo, se obteve um FI reduzido com relação ao polímero controle. Estudos computacionais da literatura com outra MM, que possuía quatro sítios de interação de ligação de hidrogênio e que utilizou o MAA como MF indicaram energias de ligação da ordem de  $-30 \text{ kcal mol}^{-1}$  <sup>130</sup>. No MIP final resultante desse estudo foi obtido um FI próximo de 6,0 <sup>130</sup>, em média duas vezes maior ao obtido nesse presente trabalho. Assim, sugere-se que o mecanismo de reconhecimento molecular pode ser bastante dependente de três parâmetros decisivos, que são eles: 1) intensidade dos sítios de ligação entre MM e MF; 2) forma e rigidez do modelo e 3) orientação vetorial da cavidade construída <sup>127</sup>. Para os fatores 1 e 2 o estudo computacional demonstrou ser uma ferramenta preditiva eficaz de impressão no polímero. No entanto, os efeitos de orientação vetorial podem ter impactado na construção da cavidade do TCS. Esse seria um ponto de melhoria na seletividade do material de modo a estudar os efeitos do MAA em orientar adequadamente o TCS para imprimir cavidades mais disponíveis e efetivas para extração.

## **Capítulo 5: Conclusões Gerais e Perspectivas**

---

## 6 CONCLUSÕES GERAIS E PERSPECTIVAS

Com relação as ferramentas de avaliação do complexo pré-síntese, a titulação espectroscópica apresentou-se como um instrumento útil para estimar a estequiometria e estabilização do complexo. De maneira similar, e de eficácia equivalente, os estudos computacionais também demonstraram adequabilidade para prever as forças químicas de complexação. Ambas estratégias preditivas apresentaram resultados condizentes com os empíricos demonstrando que as forças de complexação podem influenciar na impressão das cavidades no material. Essas ferramentas são mais vantajosas de serem utilizadas, no estágio pré-síntese do que os estudos univariados e multivariados de sínteses devido a expressiva redução no consumo de insumos químicos, com redução indireta do custo financeiro, que são princípios altamente concordantes com as premissas de química analítica verde. Tendo em vista as duas técnicas utilizadas, o método computacional apresenta-se mais vantajoso para otimização do complexo pré-polimerização, visto que praticamente elimina o consumo de reagentes e diminui consideravelmente o tempo de bancada.

Considerando as duas MMs estudadas nesse presente trabalho observou-se que parâmetros relacionados aos sítios de ligação influenciaram bastante para imprimir as cavidades nos MIPs. Trabalhos atuais têm demonstrado que a seletividade dos MIPs pode ser intensamente prejudicada com a restrição de sítios de ligação no material e de acordo com a teoria de ligação de Wuff, são necessários ao menos dois pontos de ligação para a MM se encaixar bem na cavidade<sup>127</sup>. Desse modo, ao comparar a SAC e o TCS, observa-se que a multiplicidade de sítios de interação da MM com os MFs foi um fator decisivo para se obter parâmetros de impressão mais adequados nos MIPs. Em comparação ao TCS, a SAC possui mais sítios disponíveis de ligação de hidrogênio, melhores posicionados para se ligar aos MFs. Em termos de estrutura molecular, a SAC também apresenta maior rigidez estrutural, o que pode ter favorecido para a produção de cavidades com sítios de ligação mais direcionados ao modelo. Já com relação ao TCS, observou-se restrição de sítios de ligação, sendo que apenas o sítio hidroxílico apresentou-se adequado para complexação dos MFs e o outro sítio hábil identificado nos estudos não se complexaria adequadamente devido a efeitos estéricos. Assim, esses resultados sugerem que a SAC apresenta-se como uma MM mais adequada, em termos químicos para a impressão molecular quando comparada ao TCS.

Para a SAC foi possível sintetizar dois HMIPs com propriedades distintas de reconhecimento e seletividade devido ao processo de síntese conduzido. Os materiais

foram amplamente caracterizados, o que possibilitou evidenciar os resultados superiores com o HMIP-S, diante da sua alta capacidade adsorptiva, rápida adsorção cinética e seletividade frente a espécies interferentes. Considerando ambos os materiais, os resultados demonstraram que os HMIPs são materiais heterogêneos com sítios diferentes de adsorção que foram atestados por meio do modelo de pseudo-segunda ordem e pelo ajuste adequado de Langmuir-Freundlich de dois sítios. O processo adsorptivo apresentou-se termodinamicamente viável e as forças de ligação presentes foram consistentes com as ligações de hidrogênio, que sugere então predominância desse tipo de interação entre a SAC e a matriz polimérica. Foram obtidos altos FIs, sendo 4,8 para o HMIP-B e 4,9 para o HMIP-S. Todavia, nos ensaios de adsorção com espécies interferentes, o HMIP-B apresentou baixa seletividade, que pode estar relacionada à sua grande área superficial e predominância de adsorção por ligação inespecífica, resultando em maior *kd* para espécies interferentes. Já para o HMIP-S, os resultados de seletividade foram condizentes com o FI, apresentando alta distribuição de locais seletivos para SAC. A interferência da matriz da água superficial foi avaliada com ensaios de extração da SAC, por incubação do HMIP-S em solução, e foram obtidos valores médios de recuperação de  $89 \pm 2,9\%$ , com eficiência extratora superior ao adsorvente HLB considerando baixas concentrações de SAC.

As subseqüentes aplicações do HMIP-S em métodos MISPE atuaram como prova de conceito da alta seletividade do material para a SAC frente sua aplicação em matrizes complexas e diferentes amostras. O método MISPE I apresentou resultados superiores em termos de recuperação para três amostras alimentícias diferentes. Considerando que as amostras possuíam diferentes composições e matrizes físicas, o material manteve sua performance de extração que não foi substancialmente prejudicada pela interferência da matriz. O método final resultante de MISPE-HPLC-UV apresentou parâmetros satisfatórios de precisão e exatidão para a análise da SAC nas amostras, com dados significativamente iguais aos determinados por cromatografia em um nível de confiança de 95 %. Os dados comparativos de adsorção com HLB demonstraram melhor seletividade de extração para o HMIP-S, em que foi possível recuperar quase que totalmente a SAC presente (~94 %). Entretanto, os resultados demonstram que mesmo o material apresentando expressivos níveis de extração, as etapas implementadas no procedimento de SPE foram também bastante relevantes para garantir a seletividade do material, por possibilitar a remoção de espécies ligadas de forma não específica. Dessa forma, a alta capacidade adsorptiva do HMIP-S possibilitou obter baixos LOD e LOQ (0,01 e 0,04 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente) para o método analítico final (MISPE-HPLC-UV), com o uso de um detector simples e



acessível na maioria dos laboratórios. Tais características são vantajosas e concordantes com as premissas de química analítica verde.

Como perspectivas, espera-se obter um método MISPE adequado para extrair e pré-concentrar a SAC advinda de contaminação emergente em amostras de água superficial. Com relação aos bons resultados obtidos com a fabricação da MIM, espera-se aplica-la também em estudos de monitoramento ambiental desenvolvendo um amostrador passivo para a SAC em águas naturais. Essa abordagem resultou na aprovação de um segundo projeto de pesquisa, com fomento financeiro e que no momento esses estudos estão sendo conduzidos pelo grupo de pesquisa. Espera-se também com os resultados promissores obtidos nos estudos de homogeneidade com imagens hiperespectrais, refinar os testes aplicados com adição de mais amostras e/ou realização de uma calibração, de modo a estabelecer um método de monitoramento direto da concentração da MM que possa ser aplicado nos estudos também com outros MIPs.

## Capítulo 7: Referências

---

## 7 REFERÊNCIAS

- (1) Płotka-Wasyłka, J.; Szczepańska, N.; de la Guardia, M.; Namieśnik, J. Modern Trends in Solid Phase Extraction: New Sorbent Media. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2016**, *77*, 23–43.
- (2) Płotka-Wasyłka, J.; Marć, M.; Szczepańska, N.; Namieśnik, J. New Polymeric Materials for Solid Phase Extraction. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2017**, *47* (5), 373–383.
- (3) Huang, Y.; Wang, R. Review on Fundamentals, Preparations and Applications of Imprinted Polymers. *Curr. Org. Chem.* **2018**, *22* (16), 1600–1618.
- (4) Madikizela, L. M.; Tavengwa, N. T.; Tutu, H.; Chimuka, L. Green Aspects in Molecular Imprinting Technology: From Design to Environmental Applications. *Trends Environ. Anal. Chem.* **2018**, *17* (December 2017), 14–22.
- (5) Chen, L.; Wang, X.; Lu, W.; Wu, X.; Li, J. Molecular Imprinting: Perspectives and Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2016**, *45* (8), 2137–2211.
- (6) Sellergren, B. *Molecularly Imprinted Polymers: Man-Made Mimics of Antibodies and Their Applications in Analytical Chemistry*, Elsevier.; Alemanha, 2001.
- (7) Braga, L. R.; Rosa, A. A.; Dias, A. C. B. Synthesis and Characterization of Molecularly Imprinted Silica Mediated by Al for Solid Phase Extraction of Quercetin in Ginkgo Biloba L. **2014**, 4029–4037.
- (8) Gkementzoglou, C.; Kotrotsiou, O.; Koronaiou, M.; Kiparissides, C. Development of a Sandwich-Type Filtration Unit Packed with MIP Nanoparticles for Removal of Atrazine from Water Sources. *Chem. Eng. J.* **2016**, *287*, 233–240.
- (9) Shahar, T.; Tal, N.; Mandler, D. Molecularly Imprinted Polymer Particles: Formation, Characterization and Application. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2016**, *495*, 11–19.
- (10) Chrzanowska, A. M.; Poliwoda, A.; Wieczorek, P. P. Characterization of Particle Morphology of Biochanin A Molecularly Imprinted Polymers and Their Properties as a Potential Sorbent for Solid-Phase Extraction. *Mater. Sci. Eng. C* **2015**, *49*, 793–798.
- (11) Machado, K. C.; Grassi, M. T.; Vidal, C.; Pescara, I. C.; Jardim, W. F.; Fernandes, A. N.; Sodré, F. F.; Almeida, F. V.; Santana, J. S.; Canela, M. C.; et al. A Preliminary Nationwide Survey of the Presence of Emerging Contaminants in Drinking and Source Waters in Brazil. *Sci. Total Environ.* **2016**, *572*, 138–146.
- (12) Wu, X.; Huang, Y.; Liu, Z. Chemometric and Computational Strategies for Rational Design of Molecularly Imprinted Polymer. **2016**, 459–468.
- (13) Nicholls, I. A.; Adbo, K.; Andersson, H. S.; Andersson, P. O.; Ankarloo, J.; Hedin-Dahlström, J.; Jokela, P.; Karlsson, J. G.; Olofsson, L.; Rosengren, J.; et al. Can We Rationally Design Molecularly Imprinted Polymers? *Anal. Chim. Acta* **2001**, *435* (1), 9–

- 18.
- (14) Sellergren, B. Polymer- and Template-Related Factors Influencing the Efficiency in Molecularly Imprinted Solid-Phase Extractions. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **1999**, *18* (3), 164–174.
- (15) Nezhadali, A.; Mojarab, M. Computational Design and Multivariate Optimization of an Electrochemical Metoprolol Sensor Based on Molecular Imprinting in Combination with Carbon Nanotubes. *Anal. Chim. Acta* **2016**, *924*, 86–98.
- (16) Boroznjak, R.; Reut, J.; Tretjakov, A.; Lomaka, A.; Öpik, A.; Syritski, V. A Computational Approach to Study Functional Monomer-Protein Molecular Interactions to Optimize Protein Molecular Imprinting. *J. Mol. Recognit.* **2017**, *30* (10), 1–9.
- (17) Andersson, H. S.; Nicholls, I. A. Spectroscopic Evaluation of Molecular Imprinting Polymerization Systems. *Bioorg. Chem.* **1997**, *25* (3), 203–211.
- (18) Svenson, J.; Andersson, H. S.; Piletsky, S. a; Nicholls, I. a. Spectroscopic Studies of the Molecular Imprinting Self-Assembly Process. *J. Mol. Recognit.* **1998**, *11* (1–6), 83–86.
- (19) Marć, M.; Kupka, T.; Wieczorek, P. P.; Namieśnik, J. Computational Modeling of Molecularly Imprinted Polymers as a Green Approach to the Development of Novel Analytical Sorbents. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2018**, *98*, 64–78.
- (20) Dong, C.; Li, X.; Guo, Z.; Qi, J. Development of a Model for the Rational Design of Molecular Imprinted Polymer: Computational Approach for Combined Molecular Dynamics/Quantum Mechanics Calculations. *Anal. Chim. Acta* **2009**, *647* (1), 117–124.
- (21) Nezhadali, A.; Mojarab, M. Computational Design and Multivariate Optimization of an Electrochemical Metoprolol Sensor Based on Molecular Imprinting in Combination with Carbon Nanotubes. *Anal. Chim. Acta* **2016**, *924*, 86–98.
- (22) Mzukisi, L.; Tawanda, N.; Tutu, H.; Chimuka, L. Green Aspects in Molecular Imprinting Technology: From Design to Environmental Applications. *Trends Environ. Anal. Chem.* **2018**, *17* (January), 14–22.
- (23) Jeziorski, B.; Moszynski, R.; Szalewicz, K. Perturbation Theory Approach to Intermolecular Potential Energy Surfaces of van Der Waals Complexes. *Chem. Rev.* **1994**, *94* (7), 1887–1930.
- (24) Li, G.; Row, K. H. Recent Applications of Molecularly Imprinted Polymers (MIPs) on Micro-Extraction Techniques. *Sep. Purif. Rev.* **2018**, *47* (1), 1–18.
- (25) Mayes, A. G.; Whitcombe, M. J. Synthetic Strategies for the Generation of Molecularly Imprinted Organic Polymers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2005**, *57* (12), 1742–1778.
- (26) Lei, Y. Synthetic Strategies in Molecular Imprinting. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* **2015**, *123* (July 2015), 127–141.

- (27) Karlsson, C. G.; Mahony, J. O.; Karlsson, J. G.; Bengtsson, H.; Eriksson, L. A.; Nicholls, I. A. Structure and Dynamics of Monomer - Template Complexation : An Explanation for Molecularly Imprinted. **2009**, 9 (5), 13297–13304.
- (28) Calza, P.; Sakkas, V. A.; Medana, C.; Vlachou, A. D.; Dal Bello, F.; Albanis, T. A. Chemometric Assessment and Investigation of Mechanism Involved in Photo-Fenton and TiO<sub>2</sub> photocatalytic Degradation of the Artificial Sweetener Sucralose in Aqueous Media. *Appl. Catal. B Environ.* **2013**, 129, 71–79.
- (29) Souza, F. A. A.; Araújo, R.; Mendes, J. Review of Soft Sensor Methods for Regression Applications. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2016**, 152, 69–79.
- (30) Yan, H.; Wang, M.; Han, Y.; Qiao, F.; Ho, K. Hybrid Molecularly Imprinted Polymers Synthesized with 3-Aminopropyltriethoxysilane-Methacrylic Acid Monomer for Miniaturized Solid-Phase Extraction : A New and Economical Sample Preparation Strategy for Determination of Acyclovir in Urine. *J. Chromatogr. A* **2014**, 1346, 16–24.
- (31) Tang, W.; Li, G.; Ho, K.; Zhu, T. Preparation of Hybrid Molecularly Imprinted Polymer with Double- Templates for Rapid Simultaneous Purification of Theophylline and Chlorogenic Acid in Green Tea. *Talanta* **2016**, 152, 1–8.
- (32) Tarley, T.; Oliveira, F. M. De; Segatelli, M. G. Evaluation of a New Water-Compatible Hybrid Molecularly Imprinted Polymer Combined with Restricted Access for the Selective Recognition of Folic Acid in Binding Assays. *J. Appl. Polym. Sci.* **2016**, 43463, 1–10.
- (33) Qu, Q.; Tao, Z. Preparation of Hybrid-Monomer, Double-Template Molecularly Imprinted Polymers for the Purification of Green Tea Extracts. **2017**, 6525–6533.
- (34) Yoshimatsu, K.; Reimhult, K.; Krozer, A.; Mosbach, K.; Sode, K.; Ye, L. Uniform Molecularly Imprinted Microspheres and Nanoparticles Prepared by Precipitation Polymerization: The Control of Particle Size Suitable for Different Analytical Applications. *Anal. Chim. Acta* **2007**, 584 (1), 112–121.
- (35) Machado, F.; Lima, E. L.; Pinto, J. C. Uma Revisão Sobre Os Processos de Polimerização Em Suspensão. *Polímeros* **2007**, 17 (2), 166–179.
- (36) Odian, G. *Principles of Polymerization*, Wiley-Inte.; 2004.
- (37) Cheong, W. J.; Yang, S. H.; Ali, F. Molecular Imprinted Polymers for Separation Science: A Review of Reviews. *J. Sep. Sci.* **2013**, 36 (3), 609–628.
- (38) Newest Applications of Molecularly Imprinted Polymers for Extraction of Contaminants from Environmental and Food Matrices\_A Review.Pdf.
- (39) Uzun, L.; Turner, A. P. F. Molecularly-Imprinted Polymer Sensors: Realising Their Potential. *Biosens. Bioelectron.* **2016**, 76, 131–144.
- (40) Lorenzo, R. A.; Carro, A. M.; Alvarez-Lorenzo, C.; Concheiro, A. To Remove or Not to Remove? The Challenge of Extracting the Template to Make the Cavities Available in

- Molecularly Imprinted Polymers (MIPs). *Int. J. Mol. Sci.* **2011**, *12* (7), 4327–4347.
- (41) Kantarovich, K.; Tsarfati, I.; Gheber, L. A.; Haupt, K.; Bar, I. Reading Microdots of a Molecularly Imprinted Polymer by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Biosens. Bioelectron.* **2010**, *26* (2), 809–814.
- (42) Zanetti, M.; Midori, F.; Oliveira, D.; Lúcia, A.; Toffoli, D.; Ricardo, C.; Tarley, T.; Benedito, A. Synthesis and Characterization of Cross-Linked Molecularly Imprinted Polyacrylamide for the Extraction / Preconcentration of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acid from Water Samples. *React. Funct. Polym.* **2014**, *83*, 76–83.
- (43) Moreira, K.; Gava, M.; Ricardo, C.; Tarley, T. Polymers Synthesis and Adsorption Studies of Novel Hybrid Mesoporous Copolymer Functionalized with Protoporphyrin for Batch and On-Line Solid-Phase Extraction of Cd<sup>2+</sup> Ions. *React. Funct. Polym.* **2013**, *73* (6), 838–846.
- (44) VERMA, K. S.; Kang, X. Analysis of Triclosan and Triclocarban in Soil and Biosolids Using Molecularly Imprinted Solid Phase Extraction Coupled with HPLC-UV. *J. AOAC Int.* **2010**, *93* (4).
- (45) da Costa Silva, R. G.; Augusto, F. Sol-Gel Molecular Imprinted Ormosil for Solid-Phase Extraction of Methylxanthines. *J. Chromatogr. A* **2006**, *1114* (2), 216–223.
- (46) Pasquini, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, *14* (2), 198–219.
- (47) Carneiro, R. L.; Poppi, R. J. Homogeneity Study of Ointment Dosage Forms by Infrared Imaging Spectroscopy. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2012**, *58* (1), 42–48.
- (48) Ruthven, D. M. *Principles of Adsorption and Adsorption Processes*, Wiley-Inte.; 1984.
- (49) Gross, A. *Theoretical Surface Science: A Microscopic Perspective*, Springer.; 2009.
- (50) Kumar, K. V.; Gadipelli, S.; Wood, B.; Ramisetty, K. A.; Stewart, A. A.; Howard, C. A.; Brett, D. J. L.; Rodriguez-Reinoso, F. Characterization of the Adsorption Site Energies and Heterogeneous Surfaces of Porous Materials. *J. Mater. Chem. A* **2019**, *7* (17), 10104–10137.
- (51) Weber, W. J.; Smith, E. H. Simulation and Design Models for Adsorption Processes. *Environ. Sci. Technol.* **1987**, *21* (11), 1040–1050.
- (52) Plazinski, W.; Rudzinski, W.; Plazinska, A. Theoretical Models of Sorption Kinetics Including a Surface Reaction Mechanism: A Review. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2009**, *152* (1–2), 2–13.
- (53) Umpleby, R. J.; Baxter, S. C.; Bode, M.; Berch, J. K.; Shah, R. N.; Shimizu, K. D. Application of the Freundlich Adsorption Isotherm in the Characterization of Molecularly Imprinted Polymers. *Anal. Chim. Acta* **2001**, *435* (1), 35–42.

- (54) Umpleby, R. J.; Baxter, S. C.; Chen, Y.; Shah, R. N.; Shimizu, K. D. Characterization of Molecularly Imprinted Polymers with the Langmuir - Freundlich Isotherm. *Anal. Chem.* **2001**, *73* (19), 4584–4591.
- (55) Mahmoodi, N. M.; Sadeghi, U.; Maleki, A.; Hayati, B.; Najafi, F. Synthesis of Cationic Polymeric Adsorbent and Dye Removal Isotherm, Kinetic and Thermodynamic. *J. Ind. Eng. Chem.* **2014**, *20* (5), 2745–2753.
- (56) Casarin, J.; Gonçalves, C.; Gava, M.; Ricardo, C.; Tarley, T. Poly(Methacrylic Acid )/ SiO<sub>2</sub> / Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Based Organic-Inorganic Hybrid Adsorbent for Adsorption of Imazethapyr Herbicide from Aqueous Medium. *React. Funct. Polym.* **2017**, *121* (June), 101–109.
- (57) Nobile, D.; Matheus, I.; Pires, R.; Ricardo, C.; Tarley, T. Improved Selective Cholesterol Adsorption by Molecularly Imprinted Poly ( Methacrylic Acid )/ Silica ( PMAA – SiO<sub>2</sub> ) Hybrid Material Synthesized with Different Molar Ratios. *Mater. Sci. Eng. C* **2014**, *44*, 99–108.
- (58) Saavedra, L. N. M.; Baeta, B. E. L.; Pereira, M. C.; de Oliveira, L. C. A.; da Silva, A. C. Thermodynamic Study of a Magnetic Molecular Imprinted Polymer for Removal of Nitrogenous Pollutant from Gasoline. *Fuel* **2017**, *210* (August), 380–389.
- (59) Saavedra, L. N. M.; Baeta, B. E. L.; Pereira, M. C.; de Oliveira, L. C. A.; da Silva, A. C. Thermodynamic Study of a Magnetic Molecular Imprinted Polymer for Removal of Nitrogenous Pollutant from Gasoline. *Fuel* **2017**, *210* (August), 380–389.
- (60) Casarin, J.; Gonçalves, C.; Gava, M.; Ricardo, C.; Tarley, T. Insight into the Performance of Molecularly Imprinted Poly ( Methacrylic Acid ) and Polyvinylimidazole for Extraction of Imazethapyr in Aqueous Medium. **2018**, *343* (March), 583–596.
- (61) Ulbricht, M. Membrane Separations Using Molecularly Imprinted Polymers. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2004**, *804* (1), 113–125.
- (62) Bujak, R.; Gadzała-Kopciuch, R.; Nowaczyk, A.; Raczak-Gutknecht, J.; Kordalewska, M.; Struck-Lewicka, W.; Waszczuk-Jankowska, M.; Tomczak, E.; Kaliszan, M.; Buszewski, B.; et al. New Sorbent Materials for Selective Extraction of Cocaine and Benzoylcegonine from Human Urine Samples. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2016**, *120*, 397–401.
- (63) Gilart, N.; Borrull, F.; Fontanals, N.; Marcé, R. M. Selective Materials for Solid-Phase Extraction in Environmental Analysis. *Trends Environ. Anal. Chem.* **2014**, *1*.
- (64) Sun, H.-W.; Guo, Z.-Y.; Lv, Y.-K.; Zhang, W.; Zhang, J.-Q. Determination of Tetracyclines Residues in Egg, Milk, and Milk Powder by Online Coupling of A Precolumn Packed with Molecular Imprinted Hybrid Composite Materials to RP-HPLC-UV. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2013**, *38* (1), 1–7.
- (65) Zaidi, S. A. Molecular Imprinting Polymers and Their Composites: A Promising Material

- for Diverse Applications. *Biomater. Sci.* **2017**, *5* (3), 388–402.
- (66) Yu, K.; Li, L.; Wang, Y.; Jiang, G.; Zhang, Z.; Li, L.; Tian, M. Rapid Extraction of Trace Bisphenol A in Real Water Samples Using Hollow Mesoporous Silica Surface Dummy Molecularly Imprinted Polymers. *Anal. Methods* **2018**, *10* (32), 3926–3932.
- (67) Cantarella, M.; Carroccio, S. C.; Dattilo, S.; Avolio, R.; Castaldo, R.; Puglisi, C.; Privitera, V. Molecularly Imprinted Polymer for Selective Adsorption of Diclofenac from Contaminated Water. *Chem. Eng. J.* **2019**, *367* (November 2018), 180–188.
- (68) Lu, Y. C.; Guo, M. H.; Mao, J. H.; Xiong, X. H.; Liu, Y. J.; Li, Y. Preparation of Core-Shell Magnetic Molecularly Imprinted Polymer Nanoparticle for the Rapid and Selective Enrichment of Trace Diuron from Complicated Matrices. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2019**, *177* (October 2018), 66–76.
- (69) Mansour, M. S. M.; Abdel-Shafy, H. I.; Mehaya, F. M. S. Valorization of Food Solid Waste by Recovery of Polyphenols Using Hybrid Molecular Imprinted Membrane. *J. Environ. Chem. Eng.* **2018**, *6* (4), 4160–4170.
- (70) Dong, J.; Fan, H.; Sui, D.; Li, L.; Sun, T. Sampling 4-Chlorophenol in Water by DGT Technique with Molecularly Imprinted Polymer as Binding Agent and Nylon Membrane as Diffusive Layer. *Anal. Chim. Acta* **2014**, *822*, 69–77.
- (71) Mkhize, D. S.; Nyoni, H.; Quinn, L. P.; Mamba, B. B.; Msagati, T. A. M. Molecularly Imprinted Membranes (MIMs) for Selective Removal of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Environmental Waters: Fabrication and Characterization. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2017**, *24* (12), 11694–11707.
- (72) Mkhize, D. S.; Quinn, L. P.; Nyoni, H.; Mamba, B. B.; Msagati, T. A. M. Calibration and Field Application of a Molecularly Imprinted Membrane-Passive Sampler for the Sampling of Indicator Polychlorinated Biphenyls in Selected Aquatic Environments of South Africa. *Water Sci. Technol.* **2019**, *79* (5), 808–819.
- (73) Zhao, S.; Yang, X.; Zhao, H.; Dong, A.; Wang, J.; Zhang, M.; Huang, W. Water-Compatible Surface Imprinting of “Saccharin Sodium” on Silica Surface for Selective Recognition and Detection in Aqueous Solution. *Talanta* **2015**, *144*, 717–725.
- (74) Jardim, I. C. S. F. Princípios Da Extração Em Fase Sólida. In *Preparo de amostras para análise de compostos orgânicos*; LTC, Ed.; Rio de Janeiro, 2015; pp 62–79.
- (75) Dourado, C. S.; Di<sup>a</sup>, P.; Cristi, A.; Dias, B. Fotoderivatização e Extração Em Fase Sólida Em Linha Para Determinação de N-Nitrosoglifosato Em Sistema de Análises Por Injeção Sequencial Fotoderivatização e Extração Em Fase Sólida Em Linha Para Determinação de N-Nitrosoglifosato Em Sistema de Análises . **2016**.
- (76) Richardson, S. D.; Ternes, T. A. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Anal. Chem.* **2018**, *90* (1), 398–428.



- (77) Dai, C. M.; Zhou, X. F.; Zhang, Y. L.; Liu, S. G.; Zhang, J. Synthesis by Precipitation Polymerization of Molecularly Imprinted Polymer for the Selective Extraction of Diclofenac from Water Samples. *J. Hazard. Mater.* **2011**, *198*, 175–181.
- (78) Li, J.; Zhou, H.; Liu, Y. X.; Yan, X. Y.; Xu, Y. P.; Liu, S. M. Solid-Phase Extraction for Selective Determination of Bisphenol A in Drinks and Fruits by Dummy Surface Molecularly Imprinted Polymer with Direct Synthetic Method. *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.* **2014**, *31* (6), 1139–1146.
- (79) Wu, Y. T.; Zhang, Y. H.; Zhang, M.; Liu, F.; Wan, Y. C.; Huang, Z.; Ye, L.; Zhou, Q.; Shi, Y.; Lu, B. Selective and Simultaneous Determination of Trace Bisphenol A and Tebuconazole in Vegetable and Juice Samples by Membrane-Based Molecularly Imprinted Solid-Phase Extraction and HPLC. *Food Chem.* **2014**, *164*, 527–535.
- (80) Malek, A. M.; Hunt, K. J.; Dellavalle, D. M.; Greenberg, D.; Peter, J. V. S.; Marriott, B. P. Reported Consumption of Low-Calorie Sweetener in Foods , Beverages , and Food and Beverage Additions by US Adults : NHANES 2007 – 2012. **2018**, 1–8.
- (81) Agência Nacional de Vigilância Sanitária, A. *Resolução RDC 18, de 24 de Março de 2008*; Brasil, 2008.
- (82) Sang, Z.; Jiang, Y.; Tsoi, Y. K.; Leung, K. S. Y. Evaluating the Environmental Impact of Artificial Sweeteners: A Study of Their Distributions, Photodegradation and Toxicities. *Water Res.* **2014**, *52*, 260–264.
- (83) Praveena, S. M.; Cheema, M. S.; Guo, H. R. Non-Nutritive Artificial Sweeteners as an Emerging Contaminant in Environment: A Global Review and Risks Perspectives. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2019**, *170* (August 2018), 699–707.
- (84) Jmaiff Blackstock, L. K.; Hrudey, S. E.; Wawryk, N. J. P.; Jiang, P.; Li, X.-F. Recent Applications and Critical Evaluation of Using Artificial Sweeteners to Assess Wastewater Impact. *Curr. Opin. Environ. Sci. Heal.* **2018**, 1–8.
- (85) Stolte, S.; Steudte, S.; Schebb, N. H.; Willenberg, I.; Stepnowski, P. Ecotoxicity of Artificial Sweeteners and Stevioside. *Environ. Int.* **2013**, *60*, 123–127.
- (86) Hu, H.; Deng, Y.; Fan, Y.; Zhang, P.; Sun, H.; Gan, Z.; Zhu, H.; Yao, Y. Effects of Artificial Sweeteners on Metal Bioconcentration and Toxicity on a Green Algae *Scenedesmus Obliquus*. *Chemosphere* **2016**, *150*, 285–293.
- (87) Van Stempvoort, D. R.; Roy, J. W.; Brown, S. J.; Bickerton, G. Artificial Sweeteners as Potential Tracers in Groundwater in Urban Environments. *J. Hydrol.* **2011**, *401* (1–2), 126–133.
- (88) Lubick, N. Artificial Sweetener Persists in the Environment. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42* (9), 3125.
- (89) Richardson, S. D.; Kimura, S. Y. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current

- Issues. *Anal. Chem.* **2016**, *88* (1), 546–582.
- (90) Zirlwagen, J.; Licha, T.; Schiperski, F.; Nödler, K.; Scheytt, T. Use of Two Artificial Sweeteners, Cyclamate and Acesulfame, to Identify and Quantify Wastewater Contributions in a Karst Spring. *Sci. Total Environ.* **2016**, *547*, 356–365.
- (91) Tran, N. H.; Hu, J.; Li, J.; Ong, S. L. Suitability of Artificial Sweeteners as Indicators of Raw Wastewater Contamination in Surface Water and Groundwater. *Water Res.* **2014**, *48* (1), 443–456.
- (92) Yang, Y. Y.; Liu, W. R.; Liu, Y. S.; Zhao, J. L.; Zhang, Q. Q.; Zhang, M.; Zhang, J. N.; Jiang, Y. X.; Zhang, L. J.; Ying, G. G. Suitability of Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) and Artificial Sweeteners (ASs) as Wastewater Indicators in the Pearl River Delta, South China. *Sci. Total Environ.* **2017**, *590–591*, 611–619.
- (93) Ye, J.; He, L.; Guo, L.; Qiu, T.; Li, X.; Wang, Z. The Synthesis of Molecular Recognition Polymer Particles via Miniemulsion Polymerization. *React. Funct. Polym.* **2018**, *126* (November 2017), 1–8.
- (94) Koler, A.; Gornik, T.; Kosjek, T.; Jeřabek, K.; Krajnc, P. Preparation of Molecularly Imprinted Copoly(Acrylic Acid-Divinylbenzene) for Extraction of Environmentally Relevant Sertraline Residues. *React. Funct. Polym.* **2018**, *131* (June), 378–383.
- (95) Mobaraki, N.; Amigo, J. M. HYPER-Tools . A Graphical User-Friendly Interface for Hyperspectral Image Analysis. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **2018**, *172* (October 2017), 174–187.
- (96) Wang, Z.; Qiu, T.; Guo, L.; Ye, J.; He, L.; Li, X. The Synthesis of Hydrophilic Molecularly Imprinted Polymer Microspheres and Their Application for Selective Removal of Bisphenol A from Water. *React. Funct. Polym.* **2017**, *116* (January), 69–76.
- (97) Brazil MAPA, M. da A. P. e A. *Work Instruction: Quantification of Sweeteners in Beverages by HPLC*; Brazil, 2013.
- (98) Hashemi, M.; Zohrabi, P.; Abdolhosseini, S. Spectrophotometric Determination of Cyclamate in Artificial Sweeteners and Beverages after Ultrasound-Assisted Emulsification Microextraction. *Anal. Methods* **2015**, *7* (6), 2594–2602.
- (99) Wacheski, T. AMOSTRADORES O-DGT PARA A DETERMINAÇÃO DE CONTAMINANTES EMERGENTES EM MATRIZES AQUOSAS, Universidade Federal do Paraná, 2017.
- (100) Ambrus, A.; Hamilton, D. J.; Kuiper, H. A.; Racke, K. D. CHEMISTRY AND THE ENVIRONMENT DIVISION \* SIGNIFICANCE OF IMPURITIES IN THE SAFETY EVALUATION OF CROP PROTECTION PRODUCTS ( IUPAC Technical Report ). *Pure Appl. Chem.* **2003**, *75* (7), 937–973.
- (101) Chuang, W.; Young, T.; Wang, D.; Luo, R.; Sun, Y. Swelling Behavior of Hydrophobic

- Polymers in Water / Ethanol Mixtures. **2000**, *41*, 8339–8347.
- (102) Bitar, M.; Roudaut, G.; Maalouly, J.; Brandès, S.; Gougeon, R. D.; Cayot, P.; Boumaroun, E. Water Sorption Isotherms of Molecularly Imprinted Polymers . Relation between Water Binding and Iprodione Binding Capacity. **2017**, *114*, 1–7.
- (103) Williams, P. A.; Groundwater, P. W.; Overgaard, J.; Platts, J. A.; Hibbs, D. E. An Analysis of the Experimental and Theoretical Charge Density Distributions of the Piroxicam – Saccharin Co-Crystal and Its Constituents. *RSC Adv.* **2016**, 81578–81590.
- (104) Agência Nacional de Vigilância Sanitária, A. ANVISA - Resolução 899 de 2003. **2003**, 1–12.
- (105) Zygler, A.; Wasik, A.; Namieśnik, J. Analytical Methodologies for Determination of Artificial Sweeteners in Foodstuffs. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2009**, *28* (9), 1082–1102.
- (106) Mahdi, M.; Javanbakht, M.; Karimi, M. Molecularly Imprinted Sol-Gel Nano Fibers Based Solid Phase Microextraction Coupled on-Line with High Performance Liquid Chromatography for Selective Determination of Acesulfame. *Talanta* **2015**, *134*, 340–347.
- (107) An, J.; Azizov, S.; Kumar, A. P.; Lee, Y. Quantitative Analysis of Artificial Sweeteners by Capillary Electrophoresis with a Dual-Capillary Design of Molecularly Imprinted Solid-Phase Extractor. **2018**, 1315–1319.
- (108) Domingues, I. F. F.; Dourado, C. S.; Dias, A. C. B. OTIMIZAÇÃO DOS PARÂMETROS DA EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA UTILIZANDO POLÍMERO MOLECULARMENTE IMPRESSO PARA DETERMINAÇÃO DE SACARINA, Universidade de Brasília, 2019.
- (109) Arbeláez, P.; Borrull, F.; Pocurull, E.; Marcé, R. M. Determination of High-Intensity Sweeteners in River Water and Wastewater by Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2015**, *1393*, 106–114.
- (110) Bielicka-Daszkiwicz, K. Different Methods to Select the Best Extraction System for Solid-Phase Extraction. *J. Sep. Sci.* **2015**, *38* (3), 439–444.
- (111) Poole, C. F.; Gunatilleka, A. D.; Sethuraman, R. Contributions of Theory to Method Development in Solid-Phase Extraction. *J. Chromatogr. A* **2000**, *885* (1–2), 17–39.
- (112) Ashley, J.; Shahbazi, M. A.; Kant, K.; Chidambara, V. A.; Wolff, A.; Bang, D. D.; Sun, Y. Molecularly Imprinted Polymers for Sample Preparation and Biosensing in Food Analysis: Progress and Perspectives. *Biosens. Bioelectron.* **2017**, *91* (January), 606–615.
- (113) Sam, I. I.; Ent, P. L. E. P. R. E. R. E. A. T. M. Oasis HLB Cartridges Waters - Manual. *Waters - Oasis* **2014**.
- (114) Montaseri, H.; Forbes, P. B. C. A Review of Monitoring Methods for Triclosan and Its Occurrence in Aquatic Environments. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2016**, *85*, 221–231.

- (115) Bhargava, H. N.; Leonard, P. A. Triclosan: Applications and Safety. *Am. J. Infect. Control* **1996**, *24* (3), 209–218.
- (116) FDA-Food and Drug Administration <https://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm205999.htm> (accessed Apr 13, 2018).
- (117) Marques, I.; Magalhães-Mota, G.; Pires, F.; Sério, S.; Ribeiro, P. A.; Raposo, M. Detection of Traces of Triclosan in Water. *Appl. Surf. Sci.* **2017**, *421*, 142–147.
- (118) Palmiotto, M.; Castiglioni, S.; Zuccato, E.; Manenti, A.; Riva, F.; Davoli, E. Personal Care Products in Surface, Ground and Wastewater of a Complex Aquifer System, a Potential Planning Tool for Contemporary Urban Settings. *J. Environ. Manage.* **2018**, *214*, 76–85.
- (119) Chen, Y.; Lei, X.; Dou, R.; Chen, Y.; Hu, Y.; Zhang, Z. Selective Removal and Preconcentration of Triclosan Using a Water-Compatible Imprinted Nano-Magnetic Chitosan Particles. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2017**, *24* (22), 18640–18650.
- (120) Guo, J.; Iwata, H. Risk Assessment of Triclosan in the Global Environment Using a Probabilistic Approach. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2017**, *143* (February), 111–119.
- (121) Chantada-Vázquez, M. P.; Sánchez-González, J.; Peña-Vázquez, E.; Tabernero, M. J.; Bermejo, A. M.; Bermejo-Barrera, P.; Moreda-Piñeiro, A.; Wren, S. P.; Nguyen, T. H.; Gascoine, P.; et al. New Potentiometric Sensor Based on Molecularly Imprinted Nanoparticles for Cocaine Detection. *Biosens. Bioelectron.* **2016**, *96* (December 2016), 23–30.
- (122) Gao, R.; Kong, X.; Su, F.; He, X.; Chen, L.; Zhang, Y. Synthesis and Evaluation of Molecularly Imprinted Core-Shell Carbon Nanotubes for the Determination of Triclosan in Environmental Water Samples. *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217* (52), 8095–8102.
- (123) Wang, X.; Huang, P.; Ma, X.; Du, X.; Lu, X. Magnetic Mesoporous Molecularly Imprinted Polymers Based on Surface Precipitation Polymerization for Selective Enrichment of Triclosan and Triclocarban. *J. Chromatogr. A* **2018**, *1537*, 35–42.
- (124) Feng, S.; Wei, X.; Zhong, L.; Li, J. A Novel Molecularly Imprinted Photoelectrochemical Sensor Based on G-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-AuNPs for the Highly Sensitive and Selective Detection of Triclosan. *Electroanalysis* **2018**, *30* (2), 320–327.
- (125) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; et al. Gaussian 09, Revision D.01. *Gaussian 09, Revision D.01, Gaussian, Inc., Wallingford CT*. Wallingford CT 2009.
- (126) Chen, L.; Xu, S.; Li, J. Recent Advances in Molecular Imprinting Technology: Current Status, Challenges and Highlighted Applications. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40* (5), 2922.
- (127) Huang, Y.; Pan, J.; Liu, Y.; Wang, M.; Deng, S.; Xia, Z. A SPE Method with Two MIPs in

- 
- Two Steps for Improving the Selectivity of MIPs. *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 8436–8442.
- (128) Guo, L.; Ma, X.; Xie, X.; Huang, R.; Zhang, M.; Li, J.; Zeng, G.; Fan, Y. Preparation of Dual-Dummy-Template Molecularly Imprinted Polymers Coated Magnetic Graphene Oxide for Separation and Enrichment of Phthalate Esters in Water. *Chem. Eng. J.* **2019**, *361* (September 2018), 245–255.
- (129) Manickam, P.; Arizaleta, F.; Gurusamy, M.; Bhansali, S. Theoretical Studies of Cortisol-Imprinted Prepolymerization Mixtures: Structural Insights into Improving the Selectivity of Affinity Sensors. *J. Electrochem. Soc.* **2017**, *164* (5), B3077–B3080.
- (130) Bakas, I.; Ben, N.; Moczko, E.; Istamboulie, G.; Piletsky, S.; Piletska, E.; Ait-ichou, I.; Ait-addi, E.; Noguer, T.; Rouillon, R. Analytica Chimica Acta Molecular Imprinting Solid Phase Extraction for Selective Detection of Methidathion in Olive Oil. *Anal. Chim. Acta* **2012**, *734*, 99–105.

## **Apêndices**

---

## 8. Apêndice A

Dados adicionais dos estudos realizados para desenvolvimento e aplicação dos HMIPs para a SAC.

### FIGURAS

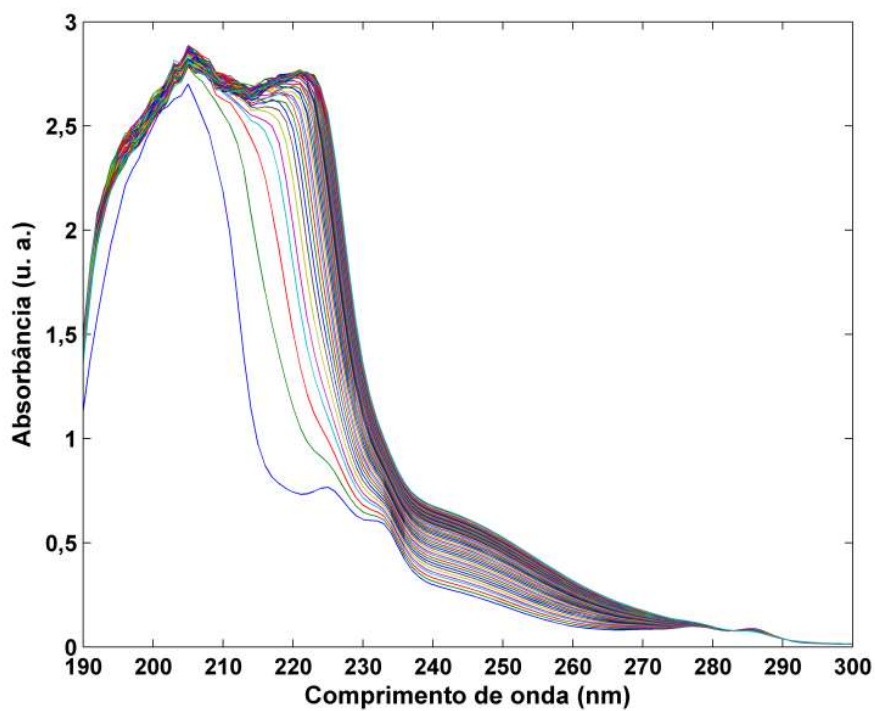


Figura A1. Espectros da titulação da sacarina com MAA.

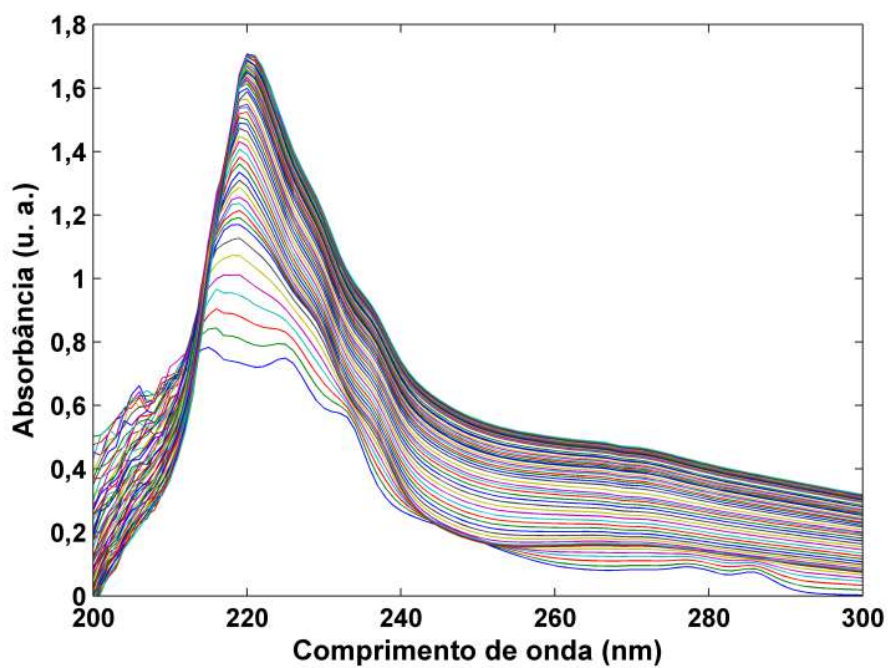


Figura A2. Espectros da titulação da sacarina com APTES-MAA.

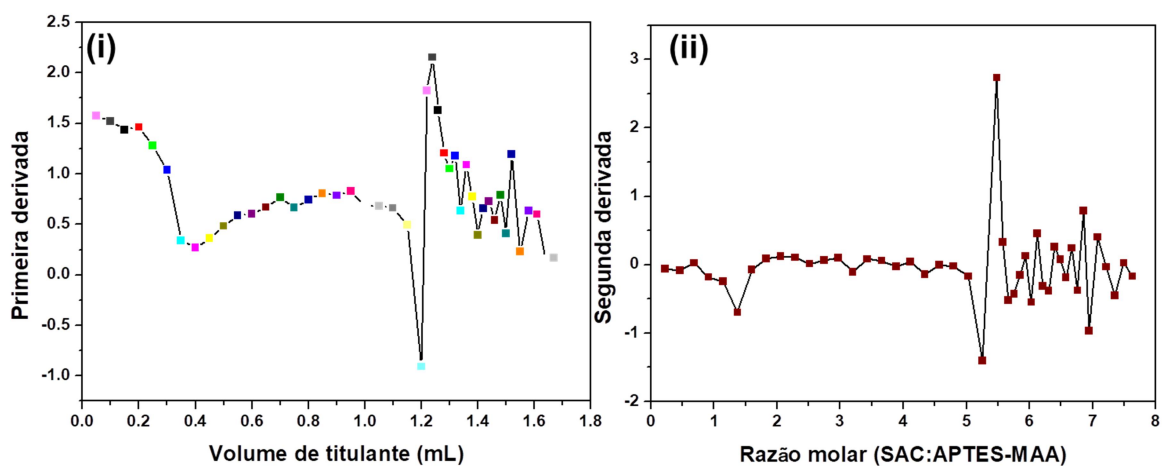


Figura A3. (A) Método da primeira derivada para determinação do volume final de adição de solução de APTES-MAA a SAC (Primeira derivada =  $\Delta A / \Delta V$ ) e (B) método da segunda derivada para determinação da razão molar no ponto final de complexação entre SAC e APTES – MAA (Segunda derivada =  $\Delta^2 \text{pH} / \Delta V^2$ ).

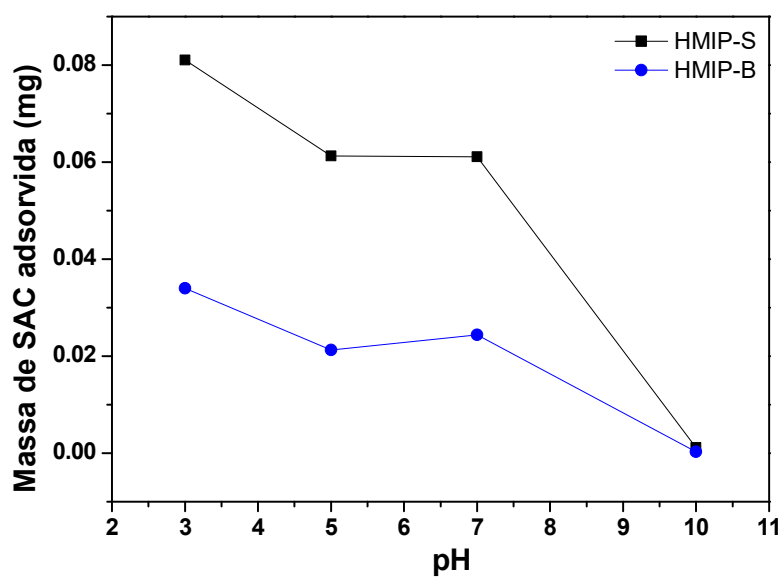


Figura A4. Efeito do pH na adsorção da SAC para os HMIPs.



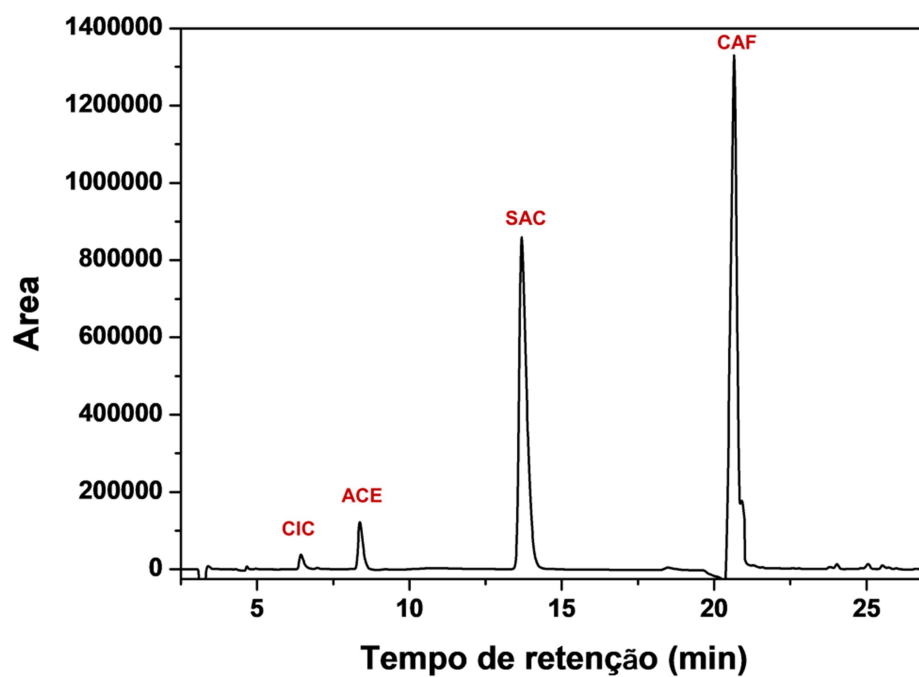


Figura A5. Cromatograma de separação do CIC (6 min);ACE (8 min), SAC (13 min) e cafeína (20 min).

### TABELAS

Tabela A1. Concentrações quantificadas de SAC nas amostras de chás dietéticos pelo método HPLC-UV.

Amostra	SAC no rótulo (mg L <sup>-1</sup> )	SAC média (mg L <sup>-1</sup> )	Desvio padrão relativo (%)
Amostra 1	40	39,00 ± 0,97	2,48
Amostra 2	35	39,40 ± 1,35	3,42
Amostra 3	31	37,60 ± 0,92	2,44

## 8. Apêndice B

Dados adicionais dos estudos realizados para desenvolvimento e aplicação dos MIPs para o triclosan.

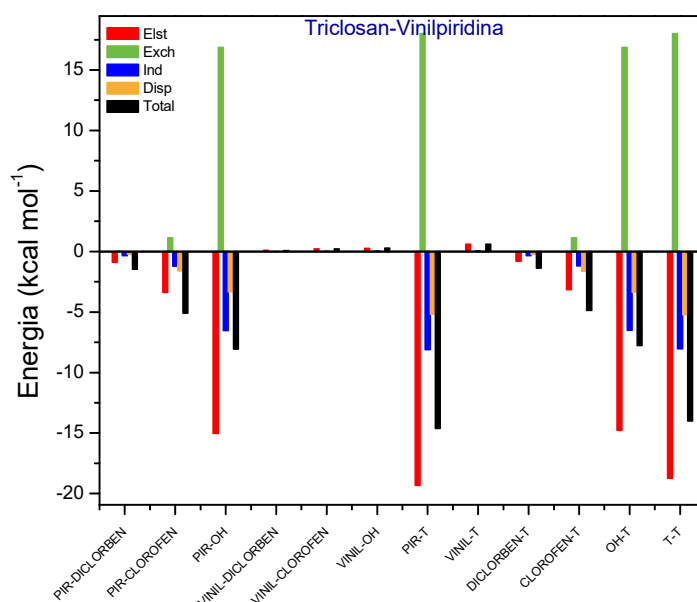


Figura B1. Componentes energéticas previstas pelo método F-SAPT para a interação entre os fragmentos de grupos funcionais para o TCS e VP.

Tabela B1. Valores das componentes energéticas previstas pelo método F-SAPT para a interação entre os fragmentos de grupos funcionais do TCS triclosan e VP obtido no nível de teoria SAPT/jun-cc-pVDZ.<sup>a</sup>

Fragmento	$E_{elst}$	$E_{exch}$	$E_{ind}$	$E_{disp}$	SAPT Total
PIRIDINA-DICLOROBENZENO	-0.9	0.01	-0.342	-0.233	-1.464
PIRIDINA-CLOROFENONA	-3.388	1.125	-1.208	-1.611	-5.1
PIRIDINA – OH	-15.046	16.877	-6.548	-3.341	-8.059
VINILA-DICLOROBENZENO	0.103	0	-0.001	-0.01	0.092
VINILA-CLOROFENONA	0.228	0.001	0.026	-0.028	0.227
VINILA-OH	0.272	0.001	0.034	-0.015	0.293
PIRIDINA – TODOS	-19.334	18.012	-8.115	-5.185	-14.623
VINILA - TODOS	0.603	0.003	0.06	-0.053	0.612
DICLOROBENZENO – TODOS	-0.797	0.01	-0.343	-0.242	-1.372
CLOROFENONA-TODOS	-3.16	1.126	-1.2	-1.639	-4.873
OH-TODOS	-14.774	16.878	-6.513	-3.356	-7.766
TODOS-TODOS	-18.732	18.014	-8.056	-5.238	-14.011

<sup>a</sup> todos os valores de energia em kcal mol<sup>-1</sup>.

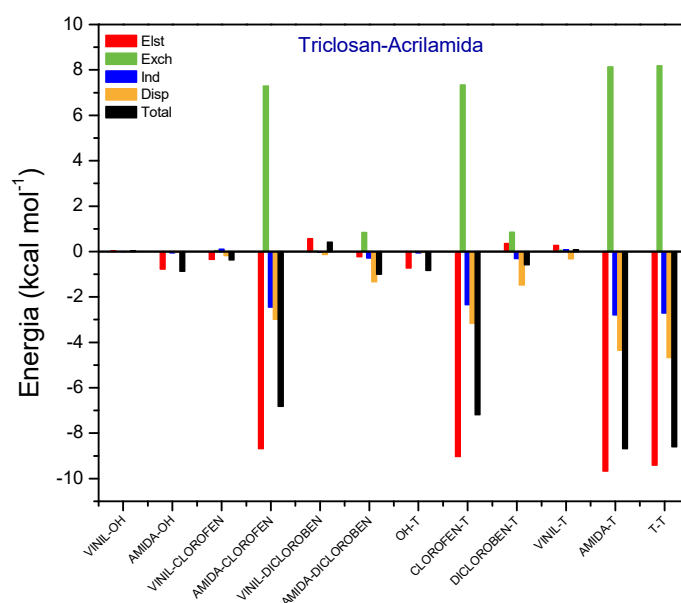


Figura B2. Componentes energéticas previstas pelo método F-SAPT para a interação entre os fragmentos de grupos funcionais para o TCS e ACM.

Tabela B2. Valores das componentes energéticas previstas pelo método F-SAPT para a interação entre os fragmentos de grupos funcionais do TCS triclosan e ACM obtido no nível de teoria SAPT/jun-cc-pVDZ.<sup>a</sup>

Fragmento	$E_{elst}$	$E_{exch}$	$E_{ind}$	$E_{disp}$	SAPT Total
VINILA-OH	0.04	0	-0.002	-0.004	0.033
AMIDA-OH	-0.769	0.001	-0.063	-0.032	-0.863
VINILA-CLOROFENONA	-0.344	0.046	0.108	-0.18	-0.368
AMIDA-CLOROFENONA	-8.684	7.291	-2.446	-2.982	-6.821
VINILA-DICLOROBENZENO	0.572	0.006	-0.024	-0.134	0.42
AMIDA-DICLOROBENZENO	-0.222	0.843	-0.285	-1.335	-0.998
OH-TODOS	-0.73	0.001	-0.065	-0.036	-0.83
CLOROFENONA-TODOS	-9.028	7.337	-2.337	-3.161	-7.189
DICLOROBENZENO-TODOS	0.35	0.849	-0.308	-1.469	-0.578
VINILA-TODOS	0.268	0.053	0.083	-0.318	0.085
AMIDA-TODOS	-9.675	8.135	-2.793	-4.349	-8.682
TODOS-TODOS	-9,40	8,188	-2,710	-4,667	-8,597

<sup>a</sup> todos os valores de energia em kcal mol<sup>-1</sup>.

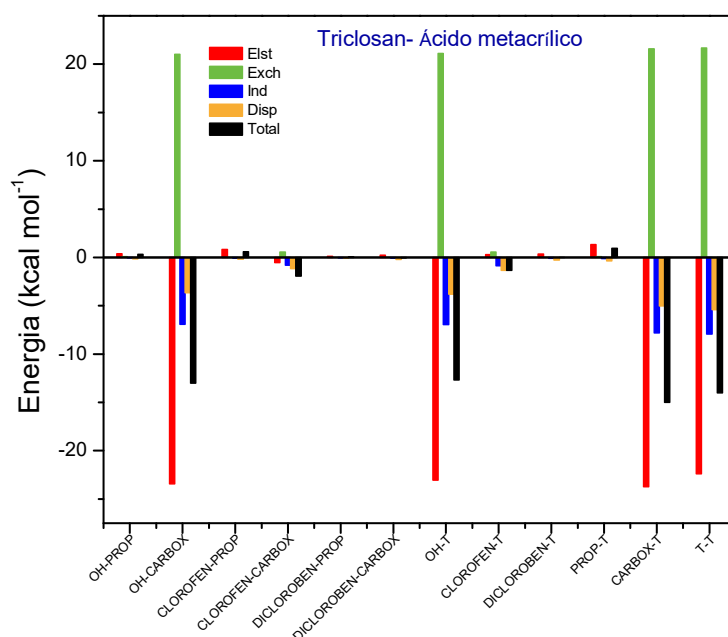


Figura B3. Componentes energéticas previstas pelo método F-SAPT para a interação entre os fragmentos de grupos funcionais para o TCS e ACM.

Tabela B3. Valores das componentes energéticas previstas pelo método F-SAPT para a interação entre os fragmentos de grupos funcionais do TCS triclosan e MAA, obtido no nível de teoria SAPT/jun-cc-pVDZ.<sup>a</sup>

Fragmento	$E_{elst}$	$E_{exch}$	$E_{ind}$	$E_{disp}$	SAPT Total
OH-PROPENO	0.396	0.094	-0.032	-0.148	0.310
OH-CARBOXILA	-23.437	21.027	-6.933	-3.664	-13.007
CLOROFENONA-PROPENO	0.826	0.006	-0.06	-0.167	0.604
CLOROFENONA-CARBOXILA	-0.525	0.549	-0.807	-1.161	-1.945
DICLOROENZENO-PROPENO	0.122	0.000	-0.023	-0.051	0.047
DICLOROENZENO-CARBOXILA	0.226	0.009	-0.061	-0.21	-0.036
OH-TODOS	-23.041	21.121	-6.965	-3.812	-12.697
CLOROFENONA-TODOS	0.3	0.554	-0.867	-1.327	-1.34
DICLOROENZENO-TODOS	0.348	0.009	-0.084	-0.261	0.012
PROPENO – TODOS	1.344	0.099	-0.116	-0.366	0.961
CARBOXILA - TODOS	-23.736	21.585	-7.801	-5.035	-14.987
TODOS-TODOS	-22.393	21.684	-7.917	-5.4	-14.026

<sup>a</sup> todos os valores de energia em kcal mol<sup>-1</sup>.

Tabela B4. . Valores termoquímicos calculados para a formação dos complexos entre TCS e MFS obtidos no nível B3LYP/6-311G(d). Todos os valores em Hartrees (1 Hartree = 627,5095 kcal mol<sup>-1</sup>).  $\epsilon_{ZPE}$  = energia de vibração no ponto zero da função de partição vibracional.

	TCS-VP	TCS - MAA	TCS -ACM	TCS	VP	MAA	ACM
$\epsilon_0 + \epsilon_{ZPE}$	-2318.21807	-2299.05036	-2239.85151	-1992.56648	-325.63292	-306.46507	-247.2763
$\epsilon_0 + E_{tot}$	-2318.19461	-2299.02752	-2239.8290	-1992.55149	-325.62623	-306.45887	-247.27089
$\epsilon_0 + H_{corr}$	-2318.19367	-2299.02658	-2239.82811	-1992.5505	-325.62529	-306.4579	-247.26995
$\epsilon_0 + G_{corr}$	-2318.27894	-2299.10887	-2239.90859	-1992.61122	-325.66465	-306.4948	-247.30468